

UNIVERSITE PARIS CITE
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année 2022

N°

THESE

Pour l'obtention du diplôme d'Etat de DOCTEUR EN PHARMACIE

Presenté et soutenue publiquement

Intérêt de la Vitamine D et COVID-19

Par

HUYNH Minh-Anh

Sous la direction du Pr. Jean-Pascal De Bandt

September 2022

Remerciements

Table des matières

Remerciements

Liste des figures

Liste des tables

Liste des abréviations

1	Introduction	1
2	Généralités sur la vitamine D	2
2.1	Structure	2
2.2	Métabolisme	3
2.3	Ergostérol	4
2.4	Propriétés	8
2.4.1	Propriétés classiques osseuses	8
2.4.2	Propriétés extra-osseuses	9
2.5	Dose	10
2.6	Utilisation thérapeutique	12
2.7	Toxicité	12
2.7.1	Seuil de toxicité actuel	12
2.7.2	Réévaluation du seuil de toxicité	13
3	Vitamine D et système immunitaire	16
3.1	Action de la vitamine D sur les cellules immunitaires	16
3.2	Dose de vitamine D nécessaire	17

4	Vitamine D et COVID-19	19
4.1	Physiopathologie de la COVID-19	19
4.2	Rationnel physiologique de l'usage de la vitamine D dans la COVID-19	19
4.3	Etudes pré-cliniques	19
4.4	Etudes cliniques	19
4.4.1	Etude en phase de prévention	19
4.4.2	Etudes en phase curative	19
4.4.3	Etudes en phase réanimation	19
5	Conclusion	20
	Références	21

Liste des figures

2.1	Structure chimique de la vitamine D3 ou cholécalciférol. Source : Wikipédia	3
2.2	Métabolisme de la vitamine D. Source : Norman (2008)	4
2.3	Métabolisme et régulation de la vitamine D.	5
2.4	Comparaison de la structure de l'ergocalciférol par rapport au cholécalciférol.	6
2.5	Evolution de la concentration en 25(OH)D après administration d'une dose de 50 000 UI de vitamine D ₂ ou D ₃ chez 10 patients. D'après Armas et al. (2004)	7
2.6	Effets classiques et extra-squelettiques de la vitamine D. Source : Caprio et al. (2017)	10
3.1	Effets immunomodulateurs du calcitriol.	18

Liste des tables

Liste des abréviations

- 7-DHC : 7-déhydrocholestérol
- DBP : Protéine de liaison de l'albumine
- LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level
- NOAEL : Non Observed Adverse Effect Level
- UI : Unité Internationale
- VDR : Récepteur de la vitamine D

1 Introduction

2 Généralités sur la vitamine D

2.1 Structure

La vitamine D est un nutriment vital, nécessaire pour notre métabolisme. Elle possède un rôle de vitamine qui est définie comme étant une substance organique essentielle en quantités infimes, à la nutrition de la plupart des animaux et de certaines plantes. Les vitamines agissent comme coenzymes et précurseurs de coenzymes pour réguler les processus métaboliques mais ne fournissent pas d'énergie et ne servent pas d'unités de construction (Ellison and Moran, 2020).

La vitamine D est une molécule liposoluble, semblable à une hormone stéroïde. Celle-ci possède plusieurs formes, la vitamine D₂ ou ergocalciférol, synthétisée par les plantes et les champignons, et la vitamine D₃ ou cholécalciférol, synthétisée dans la peau après une exposition aux rayons ultraviolets B ou à la lumière du soleil. Généralement, la mention de vitamine D fait référence à la vitamine D₃.

Curieusement la vitamine D possède une structure ressemblant à une hormone stéroïdienne classique, telle que le cortisol et l'aldostérone (Norman, 2008) (**Figure 2.1**). Une hormone est une substance chimique qui aide à contrôler et à réguler différentes activités dans l'organisme (Ellison and Moran, 2020). La vitamine D est capable d'agir en tant que facteur de transcription et de modifier le métabolisme de diverses manières. Pratiquement toutes les cellules de l'organisme possèdent un récepteur à la vitamine D (VDR), ce qui explique ses effets pléiotropiques dans diverses maladies (Caprio et al., 2017; Ellison and Moran, 2020; Norman, 2008). Le VDR est un récepteur faisant partie de la classe des facteurs de transcription nucléaire. Ainsi, la liaison de la vitamine D sur son récepteur conduit à une séquence classique de translocation nucléaire et de liaison à l'ADN (Bouillon et al., 2008). De plus, la vitamine D est la seule vitamine qui peut être synthétisée par l'organisme, contrairement aux vitamines A, B, C, E ce qui contribue à l'idée que la vitamine D serait plutôt une hormone.

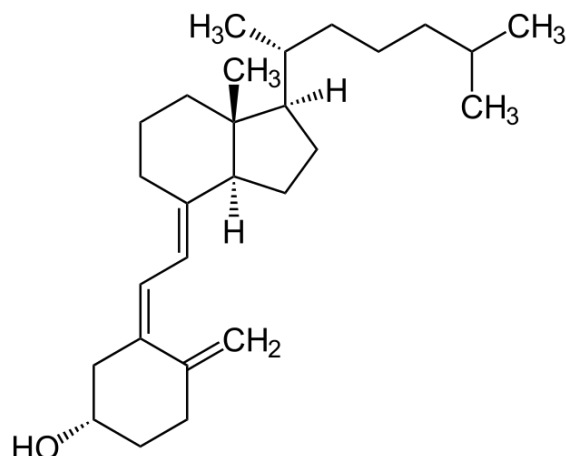


FIGURE 2.1 – Structure chimique de la vitamine D₃ ou cholécalférol. Source : Wikipédia

2.2 Métabolisme

La vitamine D provient initialement d'un composé métaboliquement inactif qui doit être transformé en plusieurs métabolites actifs dans le foie et les reins. La vitamine D₃ peut être obtenue à partir de compléments et d'apports alimentaires, mais est principalement obtenue par synthèse endogène de l'organisme. Initialement, le 7-déhydrocholestérol (7-DHC), un dérivé du cholestérol situé dans la peau, se transforme en vitamine D₃ (cholécalférol) sous l'action des ondes ultraviolettes provenant du soleil (Bikle, 2014).

La vitamine D₃ doit ensuite être métabolisée dans le foie pour obtenir la forme active qui permettra d'exercer ses effets à travers le récepteur de la vitamine D (VDR). Pour cela, elle est transportée à travers le sang par la protéine de liaison de la vitamine D (DBP), appartenant à la famille des albumines (Christakos et al., 2010; Chun, 2012). La DBP peut également lier les autres formes de vitamine D, telles que la vitamine D₂ (ergocalciférol), vitamine D₃, ou les métabolites du cholécalférol, 25-hydroxycholécalférol et 1,25-dihydroxycholécalférol.

Par la suite, la vitamine D₃ est métabolisée en 25-hydroxycholécalférol (25(OH)D₃), aussi appelée calcidiol, par une des enzymes cytochrome P450 vitamine D 25-hydroxylases (telles que CYP2R1, CYP2D11, CYP2D25) dans le foie, qui est la forme majoritaire circulante dans l'organisme (Christakos et al., 2010; Norman, 2008). Ultérieurement, cette forme est transportée par la DBP dans le rein, est filtrée par le glomérule et se retrouve hydroxylée à nouveau dans le tube proximal du rein par la CYP27B1 (25(OH) vitamin D₃ 1 α -hydroxylase) pour donner la 1,25-dihydroxycholécalférol (1,25(OH)₂D₃) ou calcitriol, nommée ainsi puisqu'elle possède trois groupes hydroxyles. Le calcitriol représente la forme active de la vitamine D, responsable de la majorité de ses effets, en se liant

au VDR contenu dans divers tissus (Dankers et al., 2017 ; Norman, 2008).

Dernièrement, le catabolisme de la vitamine D se produit par une hydroxylation par la 24-hydroxylase ou CYP24A1, une enzyme P450 mitochondriale, donnant le métabolite 1,24,25(OH)₃D₃ ou l'acide calcitroïque. Cette enzyme peut également hydroxyler le calcidiol pour donner de la 24,25(OH)₂D₃. Ces réactions permettent de diminuer la quantité de calcidiol et calcitriol disponible dans le sang ; la 24-hydroxylase sert à jouer un rôle de catabolisme de la vitamine D (Norman, 2008) (**Figure 2.2**). La quantité de calcitriol est donc déterminée par un équilibre entre les enzymes CYP27B1 et CYP24A1 (Dankers et al., 2017).

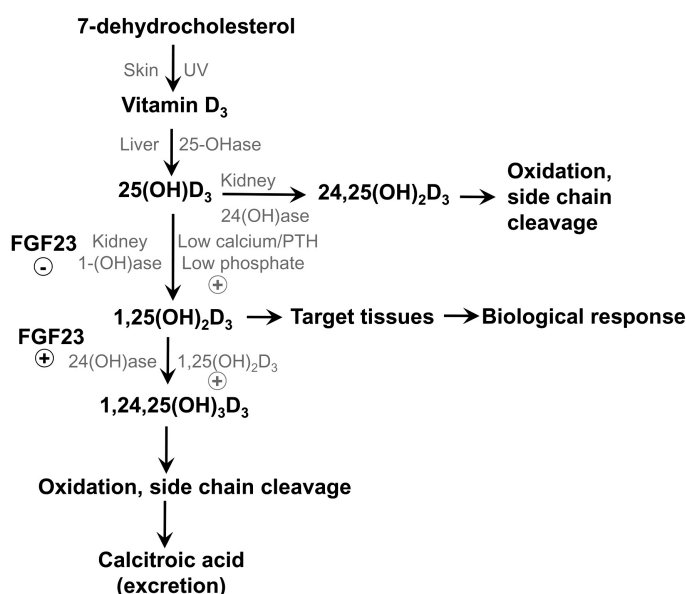


FIGURE 2.2 – Métabolisme de la vitamine D. Source : Norman (2008)

Le calcitriol est régulé par deux facteurs, l'hormone parathyroïde (PTH) et l'hormone de croissance fibroblastique 23 (FGF23). La FGF23, induite par la haute concentration de calcitriol et une faible concentration de phosphate dans le sang, favorise l'induction de la CYP24A1 qui est l'enzyme de catabolisme du calcidiol, tandis que la PTH, induite par une faible concentration de calcium et inhibée par une forte concentration de calcitriol, va induire la CYP24A1 et donc contribuer au catabolisme du calcitriol (**Figure 2.3**) (Christakos et al., 2010 ; Dankers et al., 2017).

2.3 Ergostérol

L'ergostérol ou vitamine D₂ est une autre forme de vitamine D. Les deux formes de vitamine sont perçues comme interchangeable, cependant la vitamine D₃ est considérée plus intéressante en terme

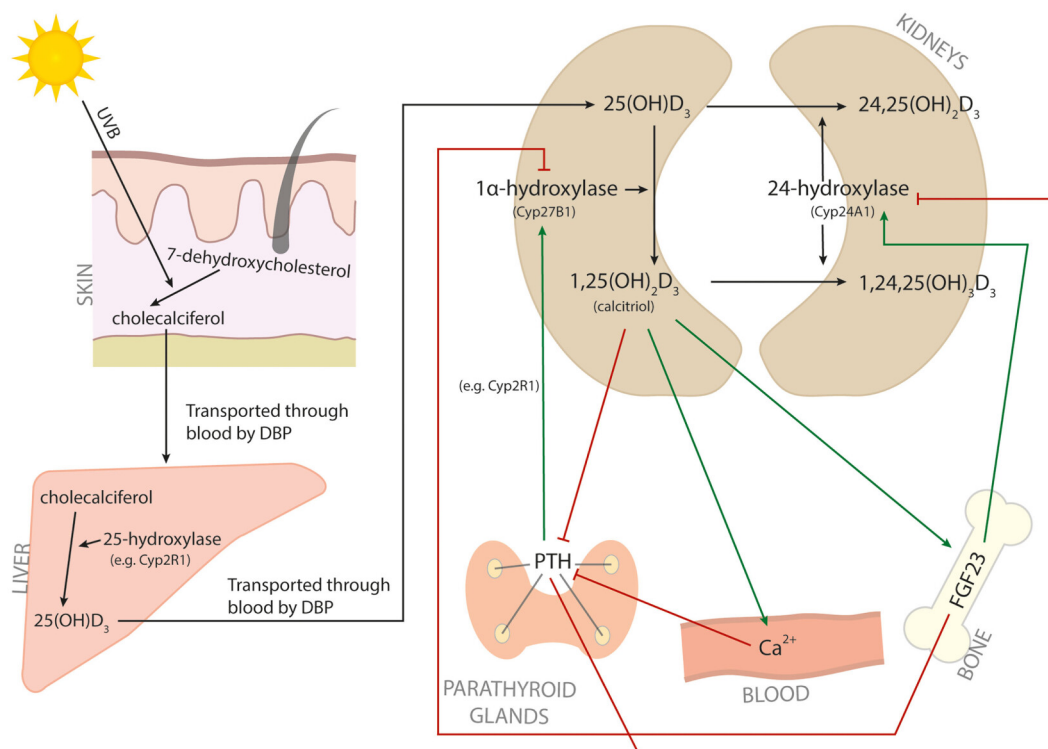


FIGURE 2.3 – Le métabolisme de la vitamine D débute lorsque le 7-déhydrocholestérol contenu dans la peau, est transformé par les rayons ultraviolets provenant du soleil en cholécalciférol. Le cholécalciférol ou vitamine D₃ est ensuite transporté par la protéine de liaison à la vitamine D, et est métabolisé dans le foie par des enzymes 25-hydroxylases telles que le CYP2R1 en calcidiol ou 25(OH)D₃. L'autre étape de du métabolisme se situe dans le rein, où après transport du calcidiol, celui-ci se retrouve métabolisé en calcitriol ou 1,25(OH)₂D₃ par le CYP27B1. Le calcitriol augmente la concentration de l'hormone de croissance fibroblastique 23 (FGF23) et l'absorption du calcium et diminue la concentration de l'hormone parathyroïde (PTH), tandis que ceux-ci exercent un rétrocontrôle négatif sur la concentration de calcitriol, en inhibant directement ou indirectement la 1-hydroxylase, ce qui va diminuer la formation de calcitriol. @Dankers.2017

de traitement, car son utilisation est plus efficace que la vitamine D₂ afin d'augmenter la concentration de calcidiol et donc pour traiter les carences. En effet, la vitamine D₂, étant de nature végétale ou fongique, possède une structure très similaire mais différente de la vitamine D₃. De ce fait, elle possède une pharmacocinétique différente, où l'étape de métabolisation est fonctionnellement différente entre la vitamine D₂ et vitamine D₃. Ainsi, lors de l'étape du catabolisme des métabolites de la vitamine D₂, la 24-hydroxylation du 25(OH)D₂ et du 1,25(OH)D₂ dans le rein conduit aux métabolites 24,25(OH)D₂ et 1,24,25(OH)D₂ respectivement. La formation de 1,24,25(OH)D₂ conduit à sa désactivation, contrairement à son analogue 1,24,25(OH)D₃ qui nécessite une oxydation supplémentaire afin d'être désactivée, et possède entre autre une affinité au VDR (jusqu'à 40% plus que 1,25(OH)D₃). De plus, la 24-hydroxylation peut se également se conduire dans le foie, conduisant à la formation de 24(OH)D₂. Le métabolite en résultant, la 1,24(OH)D₂, est moins affiné pour le VDR comparé à son analogue D₃. En revanche, la vitamine D₃ ne se subit pas cette première 24-hydroxylation et donc ne conduit pas à un métabolite qui diminuerait son affinité au VDR (Houghton and Vieth, 2006).

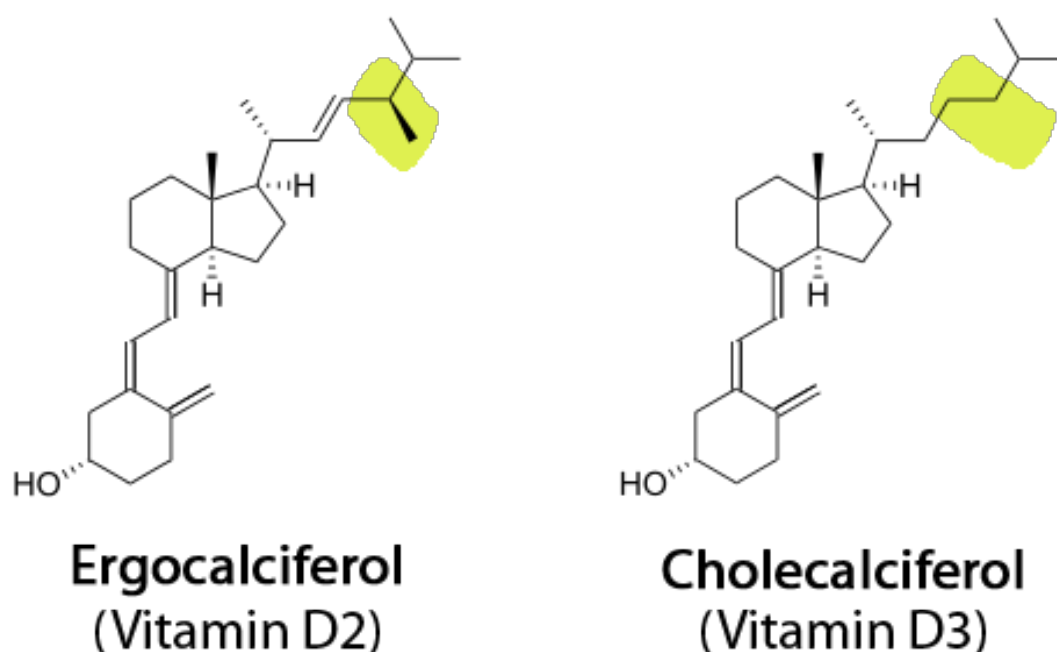


FIGURE 2.4 – Comparaison de la structure de l'ergocalciférol par rapport au cholécalciférol. La structure de l'ergocalciférol comprend une double liaison et un groupement méthyl (CH₃) supplémentaire par rapport au cholécalciférol. Cela implique une voie de métabolisation différente, notamment une voie d'élimination plus rapide, et donc une diminution de la concentration en métabolite biologiquement actif issue de l'ergocalciférol. [?]

Ainsi, cette différence de structure cause une différence dans l'évolution de la concentration de 25(OH)D. Une expérience consistant en une administration d'une dose de 50 000 UI pour les deux

types de vitamine D permet de comparer l'évolution des concentrations respectives en 25(OH)D (**Figure 2.5**). La vitamine D₂ est inférieure à la vitamine D₃ concernant le maintien d'une concentration adéquate de 25(OH)D, puisqu'elle s'élimine beaucoup plus rapidement, malgré une phase d'absorption identique les trois premiers jours. On observe ainsi qu'au jour 14, la concentration de 25(OH)D obtenue par ergostérol est redevenue identique à celle au jour 1, tandis que celle obtenue par vitamine D₃ continue de croître (Armas et al., 2004).

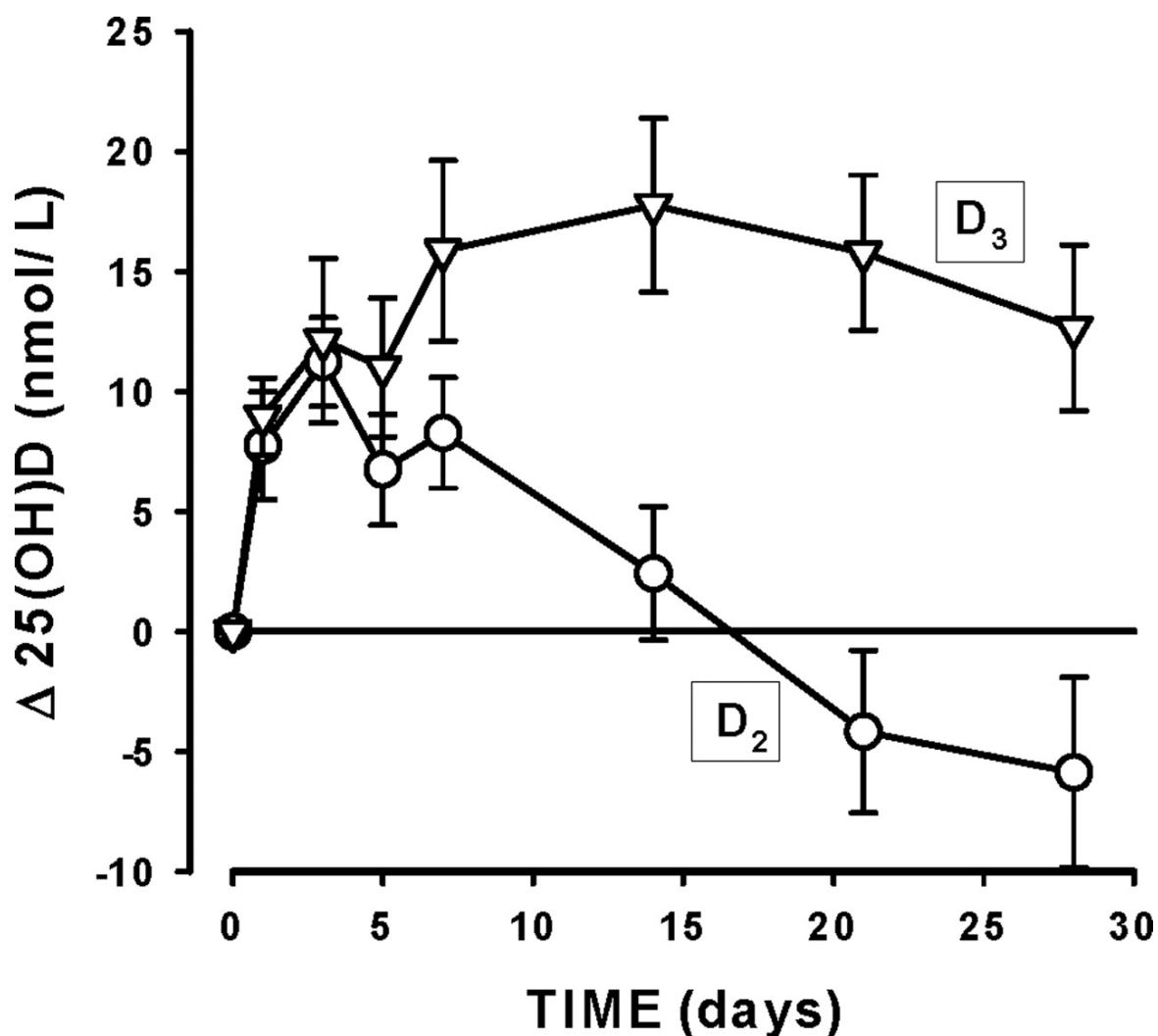


FIGURE 2.5 – Evolution de la concentration en 25(OH)D après administration d'une dose de 50 000 UI de vitamine D₂ ou D₃ chez 10 patients. D'après Armas et al. (2004) .

Ainsi, la vitamine D₃ est généralement capable d'augmenter la concentration en 25(OH)D environ deux fois plus qu'avec la vitamine D₂, comme le montre Trang et al. (1998) lors d'une comparaison avec une dose unique de 4000 UI. Une comparaison de l'aire sous la courbe entre les deux formes montre un potentiel 3 fois plus important chez la vitamine D₃ (Armas et al., 2004).

L'ergocalciférol continue d'être généralement encore utilisée en tant que supplément aux Etats-Unis (Houghton and Vieth, 2006). Cependant, cette forme de traitement reste moins efficace voire est insuffisante pour corriger les déficiences en vitamine D comparé au cholécalciférol, comme le montre certains essais cliniques (Boyle et al., 2005).

Le cholécalciférol étant une forme de vitamine D possédant une meilleure capacité à augmenter la concentration de vitamine D au long terme, elle devrait être privilégiée lors de suppléments. Pour ces raisons, nous ne discuterons seulement que de la vitamine D₃ lorsque nous examinerons l'usage et le potentiel thérapeutique de la vitamine D.

2.4 Propriétés

2.4.1 Propriétés classiques osseuses

La vitamine D a été identifiée pour la première fois comme un nutriment essentiel au début du XXe siècle, lorsque Mellanby propose en 1921 que l'huile de foie de morue pouvait prévenir les cas de rachitismes dont les causes étaient inexpliquées, le rachitisme étant une maladie caractérisée par le ramollissement et l'affaiblissement des os (Mavrotas, 2021). La même année, Hess et Unger ont rapporté que l'exposition des enfants à la lumière du soleil était un traitement efficace contre le rachitisme. (Holick, 2015) L'importance de la vitamine D s'est accrue puisque les scientifiques ont découvert son rôle crucial dans le métabolisme du calcium et du phosphore. Depuis lors, de nombreuses études ont été menées pour étudier le rôle de la vitamine D dans la santé des os, et il est désormais largement admis que la vitamine D joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé des os et des dents. Une carence en vitamine D est associée à un risque accru d'ostéomalacie (une affection qui entraîne une diminution de la masse osseuse) et d'ostéoporose (une affection caractérisée par des os fragiles et cassants).

De nos jours, l'action de la vitamine D est reconnue comme étant médiée par la liaison de son métabolite actif, le calcitriol, au récepteur VDR (Dankers et al., 2017 ; Norman, 2008). La vitamine D joue notamment un rôle dans l'homéostasie du calcium. Le métabolisme du calcium passe par l'absorption du calcium dans l'intestin, et sa réabsorption dans le foie. Le calcium est absorbé grâce à des transporteurs transcellulaires (actifs) et paracellulaires (passifs), grâce au signalement du calcitriol. Celui-ci est considéré comme le principal facteur régulateur de l'absorption intestinale de calcium. Lorsque les flux de calciums sont insuffisants afin de maintenir l'équilibre calcique, les os peuvent constituer un réservoir de calcium temporaire. La réabsorption du calcium par le rein passe par l'action du cal-

citriol sur le VDR qui à une stimulation de la réabsorption du calcium dans le tubule contourné distal du rein (Carmeliet et al., 2015).

De plus, la liaison du calcitriol sur le VDR situé dans les ostéoprogéniteurs entraîne une augmentation de l'absorption de calcium dans les os (diminution de RANKL, facteur de transcription activant les ostéoclastes, et augmentation de LRP5) (Carmeliet et al., 2015). Lorsque la calcémie est basse, l'augmentation de PTH conduit à une augmentation de RANKL ce qui favorise la résorption des os par les ostéoclastes afin d'obtenir du calcium.

2.4.2 Propriétés extra-osseuses

La découverte des propriétés extra-osseuses de la vitamine D n'a pu commencer que grâce au clonage du récepteur VDR en 1987. Par la suite, son identification dans la majorité des tissus et populations cellulaires a augmenté l'intérêt scientifique et le nombre d'études fondamentales et cliniques autour du rôle pléiotropique de la vitamine D [Rosen et al. (2012)]. La présence du VDR est ubiquitaire, cependant certaines cellules ou tissus possèdent une expression faible de VDR tels que les globules rouges, les muscles striés matures, et certaines cellules hautement différenciés du cerveau tel que les cellules de Purkinje du cervelet (Bouillon et al., 2008).

L'intérêt est ainsi renouvelé pour la vitamine D, en particulier dans le cancer, les maladies cardiovasculaires (obésité et diabète de type 2, métabolisme du glucose) et les maladies auto-immunes (diabète de type 1, sclérose en plaques, troubles thyroïdiens auto-immuns) (Caprio et al., 2017; Danckers et al., 2017).

- La vitamine D exerce en plus de son action endocrine classique, médiée par le rein, une action locale paracrine de la vitamine D sur le VDR, par le biais d'une expression locale de CYP27B1 des cellules concernées (Cannell and Hollis, 2008; Carmeliet et al., 2015).

Cependant les bénéfices extra-squelettiques associés à la vitamine D ne serait visible que lorsque la concentration de vitamine D serait supérieure au seuil de 40 ng/mL, et plus précisément, de calcitriol, puisque c'est le marqueur actuel utilisé pour mesurer la concentration de vitamine D dans le sang (Caprio et al., 2017), ce qui nécessite une dose journalière nettement supérieure que celle recommandée habituellement.

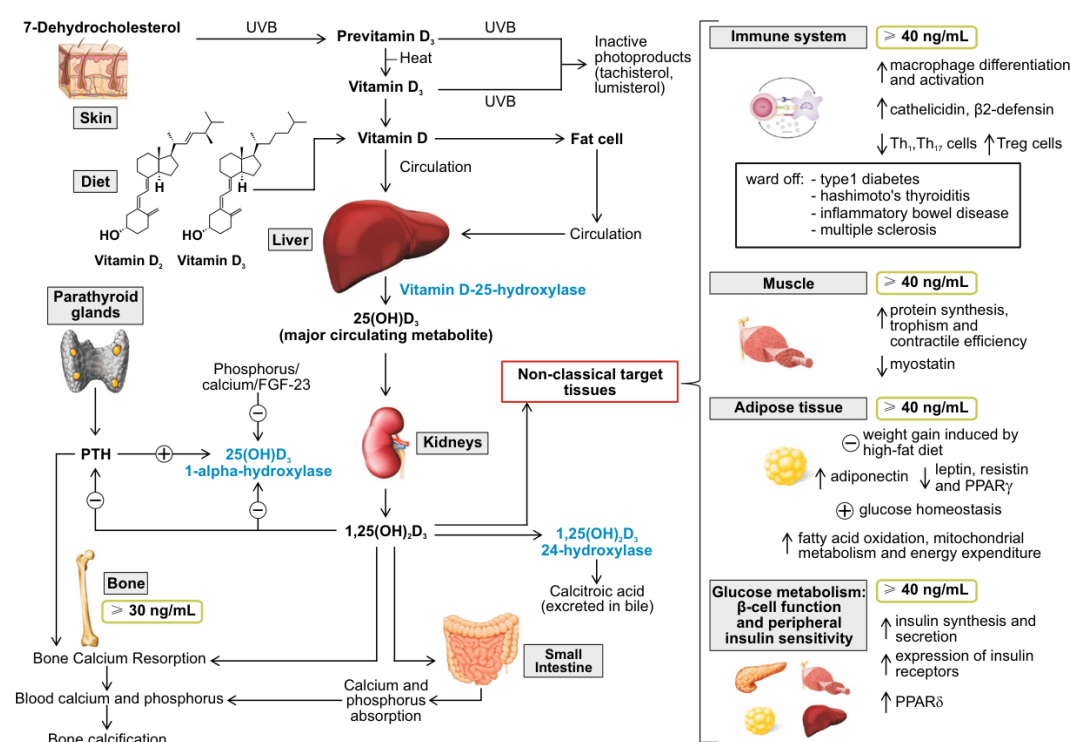


FIGURE 2.6 – Effets classiques et extra-squelettiques de la vitamine D. Source : Caprio et al. (2017)

2.5 Dose

- La mesure de la dose de la vitamine D peut se faire en plusieurs unités. Classiquement, la vitamine D se mesure en UI (Unité Internationale). La concentration de vitamine D est définie en ng/mL ou nmol/L. Pour passer de ng/mL en nmol/L, il suffit de multiplier par 2.5 (Pramyothin and Holick, 2012). $1g = 40UI$ ou $1UI = 0.025g$.
- Une comparaison de la dose de vitamine D pour 1000 UI par jour, ou l'équivalent de la dose en semaine ou en mois dans un essai clinique chez des patients (âge moyen de 53 ans; taux de base moyen de 25(OH)D de ~13 ng/mL) montre qu'une supplémentation en cholécalférol augmente la concentration de celle-ci de 1.3 ng/100 UI (Bouillon, 2017).
- Cependant la FDA (Food and Drugs Administration) a décidé depuis Janvier 2021 de passer à une dose écrite en microgramme, ce qui oblige les fabricants à montrer l'information en microgramme, bien que la dénomination en UI reste possible en parallèle. (Federal Register / Vol. 81, No. 103 / Friday, May 27, 2016)
- D'après Carmeliet et al. (2015) les recommandations en 2015 sont de 400-800 UI/j. Cependant une dose plus élevée pourrait être bénéfique concernant les effets extra-osseux, en fonction des

résultats d'un large essai clinique d'ici 2018-2020.

- Actuellement, la société d'endocrinologie recommande chez l'adulte (19 - 50 ans) 600 UI/j pour maximiser la santé osseuse et le fonctionnement musculaire, admettant cependant que les bénéfices extra-squelettiques associés à cette dose leur est inconnu.
- De plus, pour des patients carencés, ils suggèrent qu'une plus forte dose de 1500 UI/j à 2000 UI/j serait nécessaire pour maintenir constamment une concentration supérieure à 30 ng/mL (Holick et al., 2011).
- Un autre acteur, l'ANSES, stipule que les recommandations journalières de cholécalciférol sont de 15 µg par jour soit l'équivalent d'une dose de 600 UI/j, s'appuyant sur les recommandations de l'Autorité européenne de sécurité des aliments) (ANSES, 2022)

Cannell and Hollis (2008) proposent une dose idéale de vitamine D basée sur un raisonnement lié à l'optimisation des bénéfices métaboliques apportées par la vitamine D. En effet, une concentration idéale de 34 ng/mL pour optimiser l'absorption intestinale calcique serait moindre que celle pour optimiser les performances neuromusculaires (38 ng/mL). De plus, une concentration naturelle de vitamine D produite par l'exposition au soleil de 30 hommes passant du temps à travailler à l'extérieur pendant l'été serait autour de 50 ng/mL, mais Cannell note que plus de 50% de ces hommes reviennent à un niveau inférieur à 30 ng/mL d'ici la fin de l'été, ce qui indiquerait que le soleil ne peut maintenir un niveau adéquat de vitamine D.

Un autre raisonnement reposant sur la pharmacocinétique de la vitamine D est proposé par Cannell and Hollis (2008). En effet, le cholécalciférol (premier substrat des enzymes métabolisant la vitamine D) est immédiatement consommé et métabolisé en calcidiol et calcitriol par les enzymes, ce qui rend le cholécalciférol indétectable dans le sang, indiquant que toutes les molécules de vitamine D sont utilisées dans des réactions métaboliques. Hollis et al. (2007) ont étudié la cinétique des réactions enzymatiques concernant la vitamine D, et ont déterminé que la vitesse maximale pour laquelle la réaction enzymatique de la 25-hydroxylase arrive à saturation est lorsque le calcidiol arrive à 40 ng/mL. Le substrat initial (cholécalciférol) est donc alors détectable dans le sang au-delà de cette concentration, et la réaction enzymatique devient alors saturable et régulée, comme il s'agit les autres systèmes hormonaux stéroïques (Cannell and Hollis, 2008). Hollis et al. (2007) suppose ainsi que les humains fonctionnent à un niveau en-deçà de la V_{\max} de la 25-hydroxylase à cause d'une déficience de son substrat, le cholécalciférol, et que le niveau "normal" de vitamine D serait donc atteint lorsque le système ne devient donc pas limité par la quantité de substrat mais par ses propres régulations.

2.6 Utilisation thérapeutique

La vitamine D est surtout utilisée en thérapie afin de prévenir les carences. Elle permet de prévenir du rachitisme chez les enfants et de l'ostéoporose chez les adultes et surtout chez les personnes âgées. De plus, le calcitriol, forme active de la vitamine D, est utilisé pour traiter des maladies métaboliques liées à la thyroïde, telle que les hypoparathyroïdies, les ostéodystrophies rénales, les ostéomalacies vitaminorésistantes, les pseudohypoparathyroïdies et les rachitismes vitaminorésistants (VIDAL, 2013).

2.7 Toxicité

2.7.1 Seuil de toxicité actuel

L'hypercalcémie est une toxicité fréquemment mentionnée comme étant dangereuse pour des doses de vitamine D₃ supérieures à 4000 UI/j pour des adultes avec une limite supérieure de sécurité de la concentration de vitamine D₃ de 50 ng/mL (125 nmol/L) selon l'Institut de Médecine (IOM) (Holick et al., 2011 ; IOM, 1997). En revanche, la Société d'Endocrinologie recommande une marge de sécurité de 100 ng/mL (250 nmol/L) afin d'éviter l'hypercalcémie (Holick et al., 2011), en rapportant que la majorité des études sur la vitamine D suggèrent que le taux de vitamine D nécessite d'être supérieur à 150 ng/mL avant de considérer une éventuelle toxicité.

La toxicité de la vitamine D se manifeste par une hypercalcémie et hypercalciurie, accompagnée par une activité très faible de PTH (Marcinowska-Suchowierska et al., 2018), observée par un apport exogène de vitamine D, dépassant le seuil suggéré par Holick et al. (2011) de 150 ng/mL. Les symptômes associés à une hypervitaminose D peuvent se manifester par des maux de tête, nausées, vomissements, une perte de poids, ou une fatigue intense.

La toxicité de la vitamine D est considéré comme rare mais dangereuse (Holick, 2015 ; Marcinowska-Suchowierska et al., 2018).

La toxicité de la vitamine D est donc souvent due à un apport exogène, puisque les apports endogènes ne permettent pas une concentration de vitamine D aussi élevé. Cependant, il existe une toxicité endogène rapportée dans la littérature à partir d'une production excessive de 25(OH)D et de 1,25(OH)₂D dans des troubles congénitaux, tels que le syndrome de Williams-Beuren, qui s'accompagne d'une déficience en 24-hydroxylase, et donc ne permet pas la métabolisation de 25(OH)D₃ and 1,25(OH)₂D₃ en métabolites inactifs (Holick, 2015 ; Marcinowska-Suchowierska et al., 2018).

Ce syndrome cause ainsi une hypercalcémie, néphrolithiase, et néphrocalcinose (Azer et al., 2021).

La toxicité de la vitamine D endogène peut également survenir lors de troubles de formation de granulomes et dans les lymphomes, ainsi dans l'hypercalcémie idiopathique infantile, qui serait selon Holick (2015), un syndrome de Williams-Beuren non reconnu dans les années 1950s.

L'ANSM a publié un avis sur le bon usage de la vitamine D, suite à des cas rapportés de surdosage de vitamine D entraînant une hypercalcémie, parfois accompagnée de lithiase et néphrocalcinose chez les enfants et nourrissons, après avoir pris une dose plus de deux fois supérieure à la dose recommandée (400 UI par jour de 0 à 18 ans chez l'enfant en bonne santé sans facteur de risque, 800 UI par jour de 0 à 18 ans chez l'enfant présentant un facteur de risque) pendant plusieurs semaines, et deux cas d'intoxication sévère à la vitamine D après avoir pris un complément alimentaire acheté sur internet contenant une dose de 10 000 UI par goutte. Il est notable de constater que ces cas surviennent suite à une très grande dose de vitamine D par kg chez les nourrissons et enfant, dont la dose devrait différer chez l'adulte (ANSM, 2021).

2.7.2 Réévaluation du seuil de toxicité

Le protocole Coimbra au Brésil utilise des doses de vitamine D nettement supérieures aux doses attendues les recommandations, pour traiter des patients ayant des pathologies autoimmunes de la peau, telles que le psoriasis ou vitiligo. Amon et al. (2022) ont effectué une étude sur la sécurité du protocole pour répondre aux préoccupations autour du risque d'hypercalcémie et de problèmes rénaux. Les patients prennent en moyenne $35,291 \pm 21,791$ UI par jour, et peuvent même aller jusqu'à 300 000 UI par jour pour certaines pathologies. Pour la sclérose en plaque le protocole recommande jusqu'à 1000 UI/kg/j, avec jusque là pas d'effets indésirables avec plusieurs mois de traitements Lemke et al. (2021). Il existe un cas rapporté où un patient de 38 ans était en hypercalcémie avec une concentration de 3,0 mmol/L, après 7 mois de traitement 100 000 UI de vitamine D par jour. Les auteurs supposent que le patient possédait un gène causant des doses élevées de PTH et donc une hyperthyroïdie, ce qui serait la cause du cas clinique observé. Lemke et al. (2021) concluent que les cas de toxicité de vitamine D sont ainsi rares, mais que dans le cadre de leur protocole, un dépistage d'une hyperthyroïdie et une surveillance endocrinologique serait nécessaire.

Similairement, une étude clinique réalisée sur des patients atteints de cancer utilise des doses de 10 000 UI de vitamine D~3~ sans observer d'effets indésirables (Amir et al., 2009).

Une étude rétrospective conduite sur 20 308 patients dans une période de 10 ans de suivi a été réalisée dans le but de déterminer l'incidence de l'hypercalcémie, principale toxicité considérée de

la vitamine D. Dudenkov et al. (2015) examinent les patients ayant plus de 50 ng/mL et l'incidence des cas d'hypercalcémies associés à des événements cliniques. Les auteurs concluent que malgré que l'incidence de patients ayant un taux supérieur à 50 ng/mL ait augmenté, l'incidence de cas de toxicité clinique aiguë de vitamine D reste la même.

Puisque d'autres effets bénéfiques semblent apparaître lorsque la dose de vitamine D est supérieure à la dose recommandée (600-800 UI/j), Hathcock et al. (2007) cherché à identifier la NOAEL (Non Observed Adversed Effect Level), seuil pour laquelle aucun effet indésirable n'est observé. Sur la base de deux études cliniques robustes, les auteurs ont considéré qu'une dose de 10 000 UI par jour, correspondant à 100 ng/mL serait adéquate pour définir la NOAEL, associant une augmentation de la vitamine D sans pour autant observer un changement anormal de la calcémie. Aucun effet indésirable n'a été observé dans les essais cliniques utilisant une dose inférieure à ce seuil. Les auteurs notent que les cas de toxicité rapportés à la vitamine D surviennent pour des concentrations de vitamine D, allant à des doses supérieures à 280 ng/mL jusqu'à 640 ng/mL. De plus, les auteurs ont identifié une LOAEL (Lowest Observed Adversed Effect Level), seuil pour laquelle des effets indésirables sont observés, sur la base d'une étude nécessitant 77 000 UI/j, ce qui correspond à 240 ng/mL, une dose entraînant l'hypercalcémie. Les auteurs notent également que les patients utilisés dans l'étude ont une sensibilité accrue à la vitamine D, et donc que le seuil identifié est donc conservatif, et augmente l'assurance du seuil NOAEL et LOAEL.

Les origines de la dose si basse en vitamine D viennent d'une succession d'événement débutant vers la fin du 19^{ème} début 20^{ème}. Ainsi, plus de 80% des enfants possédaient des déformations associées au rachitisme ainsi qu'un retard de la croissance osseuse et des difformités osseuses en Europe et sur la côte Est des Etats-Unis. En 1921, Hess et Unger rapportent que l'exposition au soleil guérissent les enfants du rachitisme, ce qui a entraîné la fortification du lait en vitamine D2 (produite à partir de l'ergostérol végétal) et d'autres aliments tels que du pain, des boissons gazeuses, de la bière, de la crème anglaise et même des hot-dogs. Vers les années 1950s, plusieurs cas ont été signalé en Angleterre de nourrissons présentant des anomalies faciales accompagnées d'hypercalcémie et de sténose aortique supra-valvulaire. Les médecins concluent indirectement en se basant sur la littérature et les données cliniques disponibles qu'il s'agit d'une intoxication à la vitamine D. Cela a engendré un mouvement contraire où les recommandations sur les doses de vitamine D ont été établies conservativement afin d'éviter l'hypercalcémie chez les nourrissons, ainsi que l'interdiction dans de nombreux pays de fortifier le lait avec de la vitamine D. Cependant, avec rétrospection, la littérature suggère que les nourrissons alors rapportés avaient le syndrome de Williams-Beuren, et

donc étaient hypersensible à la vitamine D et présentaient les symptômes rapportés. Il ne s'agissait donc pas d'une situation clinique normale liée à la toxicité vitamine D mais à l'hypersensibilité à la vitamine D (Holick, 2015).

3 Vitamine D et système immunitaire

3.1 Action de la vitamine D sur les cellules immunitaires

La vitamine D exerce son effet sur le système immunitaire grâce à la présence de la 1- α -hydroxylase aussi appelée cytochrome CYP27B1, permettant la conversion du 25(OH) $_2$ D $_3$ (calcidiol) en 1,25(OH) $_2$ D $_3$ (calcitriol), la forme active de la vitamine D $_3$. Ainsi, cette forme active est responsable des actions sur le système immunitaire, en se liant à son récepteur, le VDR. Ce récepteur fait partie de la famille des récepteurs nucléaires, et régule la transcription en se liant à un domaine de liaison à l'ADN appelé VDRE (Vitamin D Response Element). La liaison du calcitriol sur le VDR crée un complexe protéique qui permet de modifier la transcription des gènes cibles.

L'action de la vitamine D peut être jugée intracrine puisqu'elle se déroule à l'intérieur de la cellule, et non à l'extérieur de la cellule, ce qui correspondrait à une action autocrine.

Immunologic effects of vitamin D on human health and disease

Plusieurs cellules immunitaires peuvent synthétiser l'enzyme clé permettant la conversion du 25(OH) $_2$ D $_3$ en 1,25(OH) $_2$ D $_3$, le cytochrome CYP27B1 ou aussi appelée 1- α -hydroxylase. L'induction de cette enzyme concerne des cellules telles que les monocytes, cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B et T (Dankers et al., 2017 ; Meza-Meza et al., 2020), qui survient grâce à un stimuli immun, médié en partie par l'interféron-gamma (IFN- γ).

Plusieurs signaux sont nécessaires à l'induction de la 1- α -hydroxylase, tels que la présence d'activateurs de macrophages comme le lipopolysaccharide (LPS) et le TNF- α (Overbergh et al., 2006). Le TLR est également capable à son tour d'induire une immunité médiée par la vitamine en régulant positivement l'expression de VDR and les gènes codant pour la 1- α -hydroxylase (Liu et al., 2006).

La vitamine D possède une action globalement anti-inflammatoire et donc régulatrice de l'inflammation (**Figure 3.1**). Elle agit à la fois sur le système immunitaire inné et adaptatif. A l'initiation de la réponse inflammatoire, le calcitriol est essentiel afin de répondre à une infection. En agissant sur les macrophages, la vitamine D peut induire leur activation et leur différenciation, et augmente la

production de peptides défensifs comme la cathélicidine et la β 2-défensine (Caprio et al., 2017).

Le calcitriol est capable entre autre d'induire la reconnaissance des pathogènes par le biais du TLR et le switch phénotypique de macrophage M1 vers M2 par la régulation positive d'IL-10. Le calcitriol inhibe également des cytokines majeures pro-inflammatoires, l'IL-6 et le TNF- α (Caprio et al., 2017 ; Meza-Meza et al., 2020).

De plus, la vitamine D agit également sur le système immunitaire adaptatif avec des effets inhibiteurs. Elle est capable d'induire une tolérance immunitaire en favorisant l'adoption d'un phénotype immature (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B), par une diminution de l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) ainsi que des marqueurs de co-stimulation, nécessaires à l'activation de la réponse immune, tels que le CD40, CD80 et CD86 (Caprio et al., 2017 ; Meza-Meza et al., 2020).

Elle est également capable d'induire le changement phénotypique de sous-population de lymphocytes T CD4⁺, favorisant le passage de la population T auxiliaire (Th) Th1 et Th17 vers la population Th2. La sous-population Th2 régule à son tour les populations Th1 et Th17 dans un équilibre, diminuant ainsi globalement l'activité cytotoxique médiée par les cellules, qui est exacerbée dans les maladies autoimmunes et infections par des pathogènes (Holick et al., 2011 ; Meza-Meza et al., 2020).

Il a aussi été montré que l'action de la vitamine D sur son récepteur VDR était nécessaire au fonctionnement des lymphocytes T régulateurs iNKT et CD8 $\alpha\alpha$ (Cheroutre and Lambolez, 2008). Les lymphocytes T CD8 $\alpha\alpha$ possèdent un caractère régulateur contrairement au lymphocyte CD8 $\alpha\beta$ classique. Ainsi, ces lymphocytes T régulateurs contribuent à l'homéostasie du tractus intestinal (Cantorna, 2010). A l'inverse, les lymphocytes FoxP3⁺ T_{reg} sont fonctionnellement indépendant de l'expression de VDR pour effectuer leurs fonctions régulatrices (Cantorna, 2010).

La vitamine D est également capable d'agir non-classiquement par des actions non-génomique, à savoir des actions de type protéine-protéine, telle que l'inhibition de la kinase IKK β , un régulateur de la voie canonique de NF- κ B, une des cytokines pro-inflammatoire clé de la réaction immunitaire (Hii and Ferrante, 2016).

3.2 Dose de vitamine D nécessaire

Hewison et al. (2007)

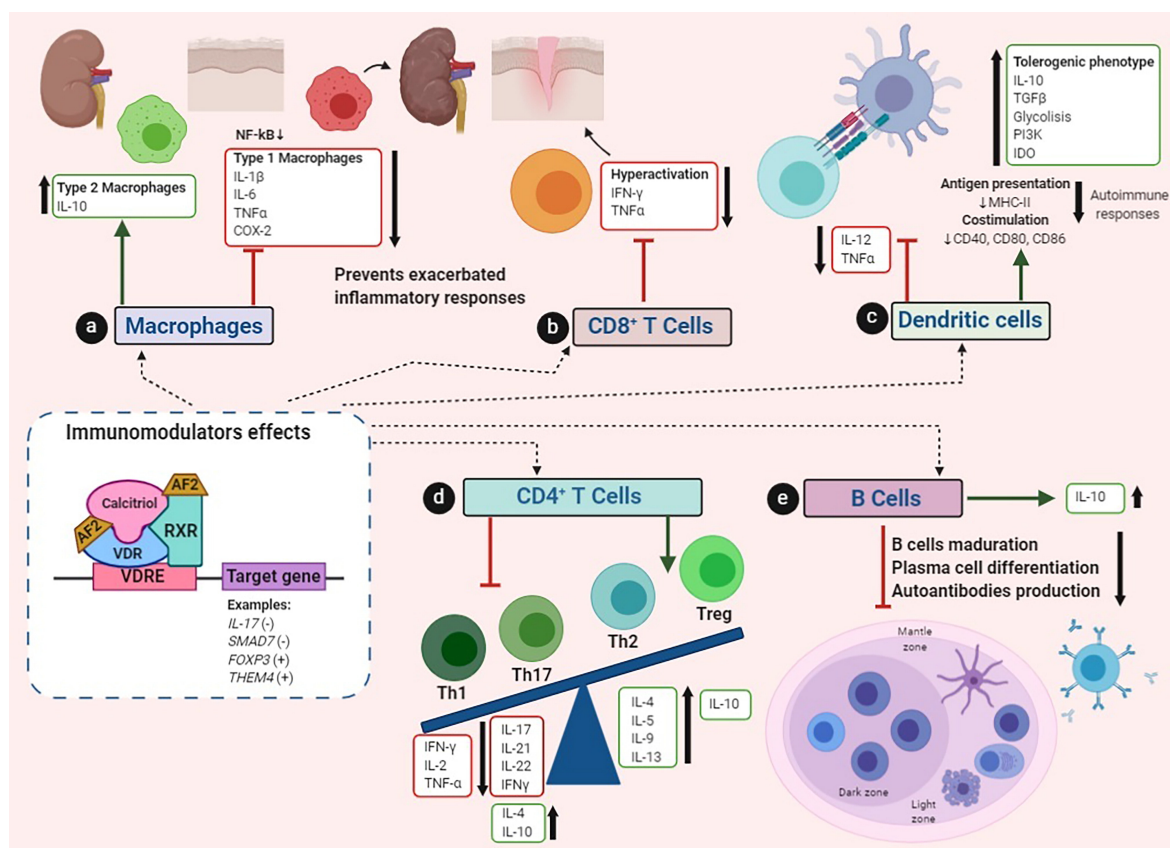


FIGURE 3.1 – Effets immunomodulateurs du calcitriol. Source : [Meza-Meza.2020]

4 Vitamine D et COVID-19

4.1 Physiopathologie de la COVID-19

4.2 Rationnel physiologique de l'usage de la vitamine D dans la COVID-19

Li et al. (2002) ont établi une relation entre la rénine et le système rénine-angiotensine-aldostérone. Ainsi la vitamine D₃ sous sa forme active a été observée comme étant un régulateur négatif de ce système permettant de réguler la pression artérielle.

4.3 Etudes pré-cliniques

1.Qayyum, S., Slominski, R.M., Raman, C., and Slominski, A.T. (2022). Novel CYP11A1-Derived Vitamin D and Lumisterol Biometabolites for the Management of COVID-19. *Nutrients* 14, 4779. 10.3390/nu14224779.

4.4 Etudes cliniques

4.4.1 Etude en phase de prévention

4.4.2 Etudes en phase curative

4.4.3 Etudes en phase réanimation

5 Conclusion

Références

- Amir, E., Simmons, C.E., Freedman, O.C., Dranitsaris, G., Cole, D.E.C., Vieth, R., Ooi, W.S., and Clemons, M. (2009). A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D(3) in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer* 116, 284–291. <https://doi.org/10.1002/cncr.24749>.
- Amon, U., Yaguboglu, R., Ennis, M., Holick, M.F., and Amon, J. (2022). Safety Data in Patients with Autoimmune Diseases during Treatment with High Doses of Vitamin D3 According to the “Coimbra Protocol”. *Nutrients* 14, 1575. <https://doi.org/10.3390/nu14081575>.
- ANSES (2022). NOTE d’appui scientifique et technique de l’Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail.
- ANSM (2021). Vitamine D chez l’enfant : recourir aux médicaments et non aux compléments alimentaires pour prévenir le risque de surdosage.
- Armas, L.A.G., Hollis, B.W., and Heaney, R.P. (2004). Vitamin D 2 Is Much Less Effective than Vitamin D 3 in Humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89, 5387–5391. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0360>.
- Azer, S.M., Vaughan, L.E., Tebben, P.J., and Sas, D.J. (2021). 24-Hydroxylase Deficiency Due to CYP24A1 Sequence Variants : Comparison With Other Vitamin D-mediated Hypercalcemia Disorders. *Journal of the Endocrine Society* 5, bvab119. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvab119>.
- Bikle, D.D. (2014). Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chemistry & Biology* 21, 319–329. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>.
- Bouillon, R. (2017). Optimal vitamin D supplementation strategies. *Endocrine* 56, 225–226. <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1245-1>.
- Bouillon, R., Carmeliet, G., Verlinden, L., Etten, E. van, Verstuyf, A., Luderer, H.F., Lieben, L., Mathieu, C., and Demay, M. (2008). Vitamin D and Human Health : Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. *Endocrine Reviews* 29, 726–776. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0004>.
- Boyle, M.P., Noschese, M.L., Watts, S.L., Davis, M.E., Stenner, S.E., and Lechtzin, N. (2005). Fai-

lure of High-Dose Ergocalciferol to Correct Vitamin D Deficiency in Adults with Cystic Fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 172, 212–217. <https://doi.org/10.1164/rccm.200403-387oc>.

Cannell, J.J., and Hollis, B.W. (2008). Use of vitamin D in clinical practice. *Alternative Medicine Review : A Journal of Clinical Therapeutic* 13, 6–20.

Cantorna, M.T. (2010). Mechanisms underlying the effect of vitamin D on the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society* 69, 286–289. <https://doi.org/10.1017/s0029665110001722>.

Caprio, M., Infante, M., Calanchini, M., Mammi, C., and Fabbri, A. (2017). Vitamin D : not just the bone. Evidence for beneficial pleiotropic extraskelatal effects. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 22, 27–41. <https://doi.org/10.1007/s40519-016-0312-6>.

Carmeliet, G., Dermauw, V., and Bouillon, R. (2015). Vitamin D signaling in calcium and bone homeostasis : A delicate balance. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 29, 621–631. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.06.001>.

Cheroutre, H., and Lambomez, F. (2008). Doubting the TCR Coreceptor Function of CD8 $\alpha\alpha$. *Immunity* 28, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.01.005>.

Christakos, S., Ajibade, D.V., Dhawan, P., Fechner, A.J., and Mady, L.J. (2010). Vitamin D : Metabolism. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 39, 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.02.002>.

Chun, R.F. (2012). New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell Biochemistry and Function* 30, 445–456. <https://doi.org/10.1002/cbf.2835>.

Dankers, W., Colin, E.M., Hamburg, J.P. van, and Lubberts, E. (2017). Vitamin D in Autoimmunity : Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Frontiers in Immunology* 7, 697. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00697>.

Dudenkov, D.V., Yawn, B.P., Oberhelman, S.S., Fischer, P.R., Singh, R.J., Cha, S.S., Maxson, J.A., Quigg, S.M., and Thacher, T.D. (2015). Changing Incidence of Serum 25-Hydroxyvitamin D Values Above 50 ng/mL : A 10-Year Population-Based Study. *Mayo Clinic Proceedings* 90, 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.02.012>.

Ellison, D.L., and Moran, H.R. (2020). Vitamin D Vitamin or Hormone? *Nursing Clinics of North America* 56, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.10.004>.

Hathcock, J.N., Shao, A., Vieth, R., and Heaney, R. (2007). Risk assessment for vitamin D. *The American Journal of Clinical Nutrition* 85, 6–18. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.1.6>.

Hewison, M., Burke, F., Evans, K.N., Lammas, D.A., Sansom, D.M., Liu, P., Modlin, R.L., and

- Adams, J.S. (2007). Extra-renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in human health and disease. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 103, 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.078>.
- Hii, C.S., and Ferrante, A. (2016). The Non-Genomic Actions of Vitamin D. *Nutrients* 8, 135. <https://doi.org/10.3390/nu8030135>.
- Holick, M.F. (2015). Vitamin D Is Not as Toxic as Was Once Thought : A Historical and an Up-to-Date Perspective. *Mayo Clinic Proceedings* 90, 561–564. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.03.015>.
- Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P., Murad, M.H., Weaver, C.M., and Society, E. (2011). Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency : an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96, 1911–1930. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0385>.
- Hollis, B.W., Wagner, C.L., Drezner, M.K., and Binkley, N.C. (2007). Circulating vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D in humans : An important tool to define adequate nutritional vitamin D status. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 103, 631–634. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.066>.
- Houghton, L.A., and Vieth, R. (2006). The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84, 694–697. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.4.694>.
- IOM (1997). Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. <https://doi.org/10.17226/5776>.
- Lemke, D., Klement, R.J., Schweiger, F., Schweiger, B., and Spitz, J. (2021). Vitamin D Resistance as a Possible Cause of Autoimmune Diseases : A Hypothesis Confirmed by a Therapeutic High-Dose Vitamin D Protocol. *Frontiers in Immunology* 12, 655739. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.655739>.
- Li, Y.C., Kong, J., Wei, M., Chen, Z.-F., Liu, S.Q., and Cao, L.-P. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *Journal of Clinical Investigation* 110, 229–238. <https://doi.org/10.1172/jci15219>.
- Liu, P.T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B.H., Krutzik, S.R., Ochoa, M.T., Schaubert, J., Wu, K., Meinken, C., et al. (2006). Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-Mediated Human Anti-microbial Response. *Science* 311, 1770–1773. <https://doi.org/10.1126/science.1123933>.
- Marcinowska-Suchowierska, E., Kupisz-Urbańska, M., Łukaszewicz, J., Płudowski, P., and Jones,

- G. (2018). Vitamin D Toxicity—A Clinical Perspective. *Frontiers in Endocrinology* 9, 550. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00550>.
- Mavrotas, J. (2021). 1153 Rickets : 100 years on from Mellanby's "accessory factor". Abstracts A250.2–A251. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2021-rcpch.435>.
- Meza-Meza, M.R., Ruiz-Ballesteros, A.I., and Cruz-Mosso, U. de la (2020). Functional effects of vitamin D : From nutrient to immunomodulator. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62, 1–21. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862753>.
- Norman, A.W. (2008). From vitamin D to hormone D : fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *The American Journal of Clinical Nutrition* 88, 491S–499S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.2.491s>.
- Overbergh, L., Stoffels, K., Waer, M., Verstuyf, A., Bouillon, R., and Mathieu, C. (2006). Immune Regulation of 25-Hydroxyvitamin D-1 α -Hydroxylase in Human Monocytic THP1 Cells : Mechanisms of Interferon- γ -Mediated Induction. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91, 3566–3574. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0678>.
- Pramyothin, P., and Holick, M.F. (2012). Vitamin D supplementation : guidelines and evidence for subclinical deficiency. *Current Opinion in Gastroenterology* 28, 139–150. <https://doi.org/10.1097/mog.0b013e32835004dc>.
- Rosen, C.J., Adams, J.S., Bikle, D.D., Black, D.M., Demay, M.B., Manson, J.E., Murad, M.H., and Kovacs, C.S. (2012). The Nonskeletal Effects of Vitamin D : An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews* 33, 456–492. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1000>.
- Trang, H.M., Cole, D.E., Rubin, L.A., Pierratos, A., Siu, S., and Vieth, R. (1998). Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68, 854–858. <https://doi.org/10.1093/ajcn/68.4.854>.
- VIDAL (2013). Calcitriol : substance active à effet thérapeutique.