

UNIVERSITE PARIS CITE
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année 2022

N°

THESE

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

Présenté 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 of contents

Remerciements

Liste des abréviations

1	Introduction	1
2	Généralités sur la vitamine D	2
2.1	Structure	2
2.2	Métabolisme	2
2.3	Propriétés	4
2.3.1	Propriétés classiques osseuses	4
2.3.2	Propriétés extra-osseuses	6
2.4	Dose	6
2.5	Utilisation thérapeutique	8
2.6	Toxicité	8
2.6.1	Seuil de toxicité plus élevé qu'attendu	10
3	Vitamine D et système immunitaire	11
4	Vitamine D et COVID-19	12
4.1	Etudes pré-cliniques	12
4.2	Etudes cliniques	12
4.2.1	Etude en phase de prévention	12
4.2.2	Etudes en phase curative	12
4.2.3	Etudes en phase réanimation	12
5	Conclusion	13
	References	14

List of Figures

1	Structure chimique de la vitamine D3 ou cholécalciférol	3
2	Métabolisme de la vitamine D. Source : Norman (2008)	4
3	Métabolisme et Régulation de la vitamine D. Source : Dankers et al. (2017)	5
4	Effets classiques et extra-squelettiques de la vitamine D. Source: Caprio et al. (2017)	7

List of Tables

Liste des abréviations

- 7-DHC : 7-déhydrocholestérol
- DBP : Protéine de liaison de l'albumine
- UI : Unité Internationale
- VitD : Vitamine D
- VDR : Récepteur de la vitamine D

1 Introduction

2 Généralités sur la vitamine D

2.1 Structure

La vitamine D (VitD) est un nutriment vital, nécessaire pour le métabolisme. La VitD 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 & Moran, 2020).

La VitD est une molécule liposoluble, semblable à une hormone stéroïde. Celle-ci possède plusieurs formes, la vitamine D₂ ou ergocalciférol, synthétisée par les plantes, 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 VitD possède une structure ressemblant à une hormone stéroïdienne classique, telle que le cortisol et l'aldostérone (Norman, 2008) (**Figure 1**). Une hormone est une substance chimique qui aide à contrôler et à réguler différentes activités dans l'organisme (Ellison & 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 & 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.

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

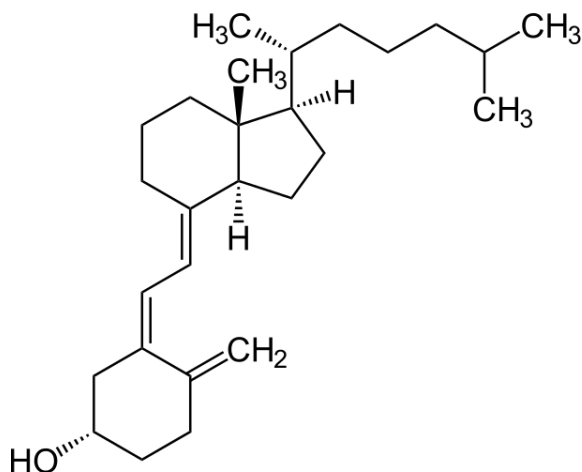


Figure 1: Structure chimique de la vitamine D₃ ou cholécalférol

en vitamine D₃ (cholécalférol) sous l'action des ondes ultraviolettes provenant du soleil.

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, 25(OH)D₃ et 1,25(OH)D₃.

Par la suite, la vitamine D₃ est métabolisée en 25(OH)D₃ ou calcidiol, par une des enzymes cytochrome P450 vitamine D 25-hydroxylases (dont 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 ou 1 α (OH)ase pour donner la 1,25-dihydroxyvitamine D₃ (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).

Finalement, 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 calcitriol et calcidiol disponible dans le sang, ainsi

la 24-hydroxylase sert donc à jouer un rôle de catabolisme de la vitamine D (**Figure 2**) [Norman (2008)]. La quantité de calcitriol est donc déterminée par un équilibre entre les enzymes CYP27B1 et CYP24A1 (Dankers et al., 2017).

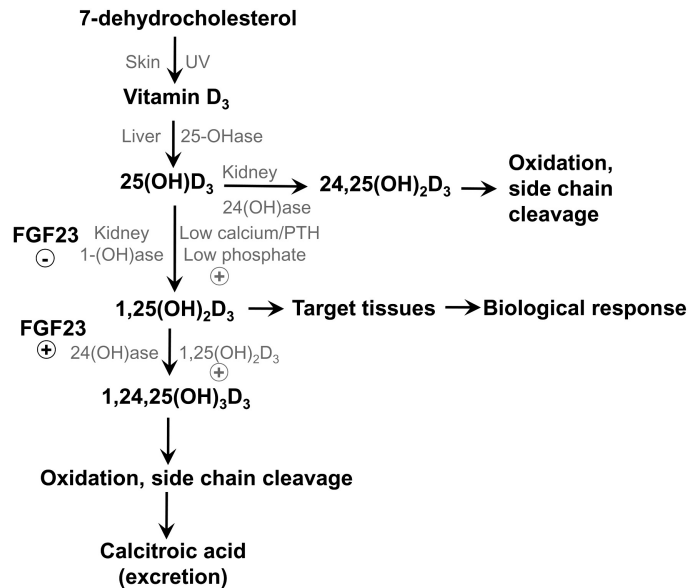


Figure 2: Métabolisme de la vitamine D. Source : Norman (2008)

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 l'anabolisme du calcitriol (**Figure 3**) [Dankers et al. (2017); Christakos et al. (2010)].

2.3 Propriétés

2.3.1 Propriétés classiques osseuses

- Homéostasie du calcium :

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

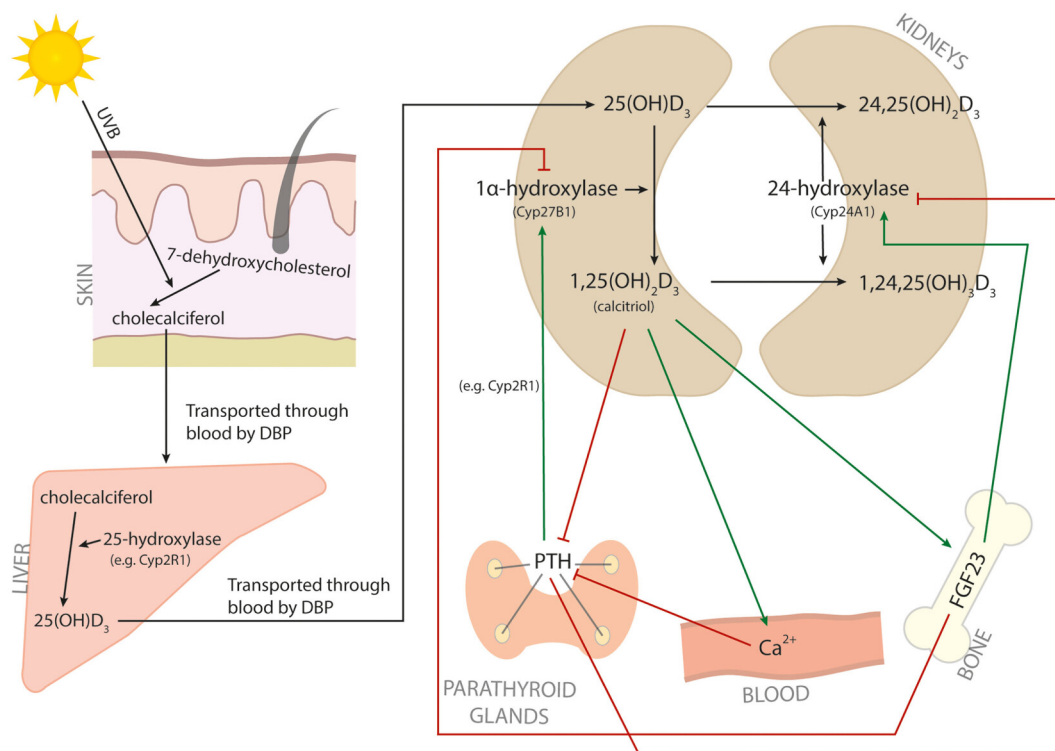


Figure 3: Métabolisme et Régulation de la vitamine D. Source : Dankers et al. (2017)

de PTH conduit à une augmentation de RANKL ce qui favorise la résorption des os par les ostéoclastes afin d'obtenir du calcium.

- Transport intestinal du calcium : Calcitriol et VDR joue un rôle dans le transport intestinal du calcium, par une voie transcellulaire à l'aide de transporteurs de calcium.
- Réabsorption du calcium par le rein : L'action du calcitriol sur le VDR conduit à une stimulation de la réabsorption du calcium dans le tubule contourné distal du rein (Carmeliet et al., 2015).

2.3.2 Propriétés extra-osseuses

- La découverte de la présence de VDR dans la majorité des tissus et populations cellulaires, a augmenté l'appréciation du rôle pléiotropique de la vitamine D (Rosen et al., 2012) et les recherches associées.
- 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).
- Intérêt 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; Dankers et al., 2017)
- Action paracrine de la VitD sur le VDR, expression locale de CYP27B1 (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, ce qui nécessit une dose journalière nettement supérieure que celle recommandée habituellement.

2.4 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

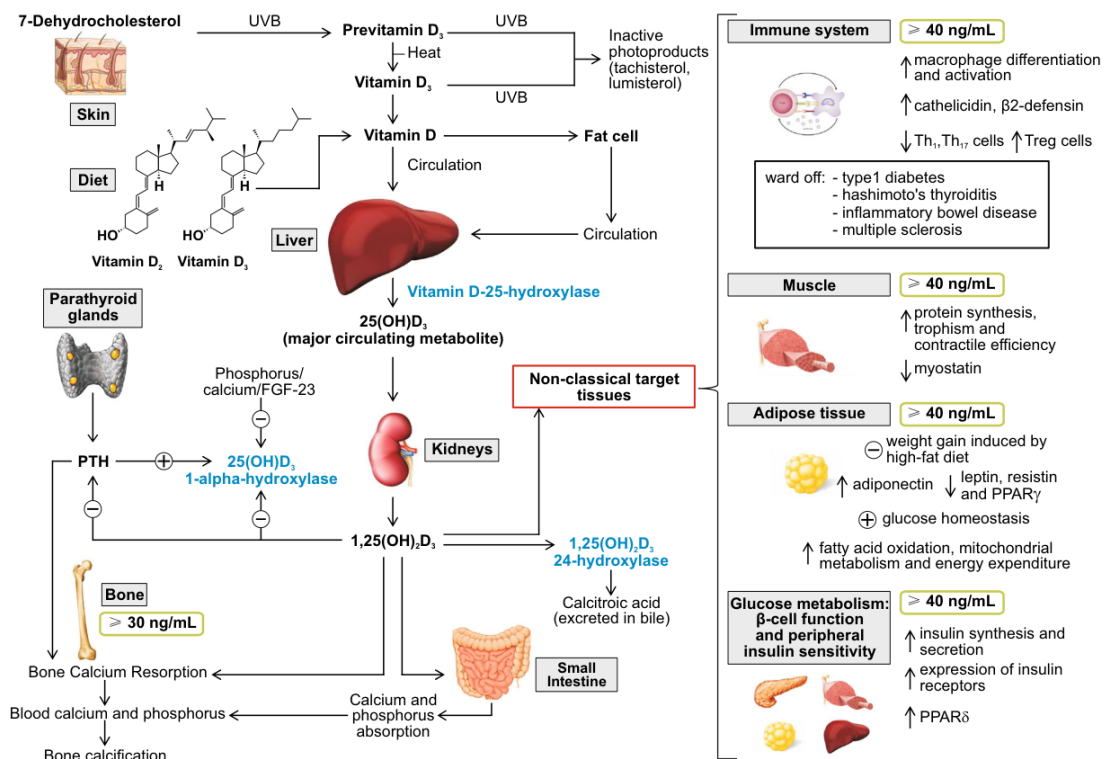


Figure 4: Effets classiques et extra-squelettiques de la vitamine D. Source: Caprio et al. (2017)

ou nmol/L. Pour passer de ng/mL en nmol/L, il suffit de multiplier par 2.5 (Pramyothin & 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 cholécalciférol 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 associé 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)

2.5 Utilisation thérapeutique

2.6 Toxicité

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 con-

centration 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.

- 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).

2.6.1 Seuil de toxicité plus élevé qu'attendu

- 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.
- 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) ont 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'évènement débutant vers la fin du 19^{ème} début 20^{ème}. Ainsi, plus de 80% des enfants possédaient des déformations associés 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 (Holick, 2015).

3 Vitamine D et système immunitaire

Dankers et al. (2017)

4 Vitamine D et COVID-19

4.1 Etudes pré-cliniques

4.2 Etudes cliniques

4.2.1 Etude en phase de prévention

4.2.2 Etudes en phase curative

4.2.3 Etudes en phase réanimation

5 Conclusion

References

- 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.
- 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>.
- 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>.
- Caprio, M., Infante, M., Calanchini, M., Mammi, C., and Fabbri, A. (2017). Vitamin D: not just the bone. Evidence for beneficial pleiotropic extraskeletal 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>.
- 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/fimm.2017.00697>.

3389/fimmu.2016.00697.

Dudenkova, 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>.

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>.

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>.

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>.

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>.

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>.