

Mémoire de Maîtrise en médecine 212

Contribution des facteurs génétiques et non génétiques au niveau de vitamine D chez des individus infectés par le VIH

Etudiant

Foletti Giuseppe

Tuteur

Prof. Telenti Amalio
Institut de Microbiologie, CHUV

Co-tuteur

PhD, Post-doc Rotger Margalida
Institut de Microbiologie, CHUV

Expert

Prof. Fellay Jacques
Human genomics of viral infections, EPFL

Lausanne, décembre 2012

Sommaire

ABSTRACT:	3
1) INTRODUCTION	4
1.1) PHYSIOLOGIE DE LA VITAMINE D	
1.2) INSUFFISANCE EN VITAMINE D	
1.3) MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D	
1.4) FACTEURS DE RISQUE POUR LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D	
1.5) TRAITEMENT DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D	
1.6) VARIANTES GÉNÉTIQUE ET NIVEAU DE VITAMINE D	
1.7) DÉFICIENCE EN VITAMINE D DANS LA POPULATION INFECTÉE PAR VIH	
2) OBJECTIFS DE L'ÉTUDE :	14
3) MÉTHODES	14
3.1) CRITÈRES D'INCLUSION ET RECHERCHE DE DONNÉES	
3.2) REVUE DE LITTÉRATURE	
3.3) GÉNOTYPAGE	
3.4) ANALYSE DES RÉSULTATS	
4) RÉSULTATS :	17
4.1) PARTICIPANTS	
4.2) GÉNOTYPAGE	
4.3) ANALYSE DES COVARIABLES	
5) DISCUSSION ET CONCLUSIONS :	20
RÉMERCIEMENTS.....	24
BIBLIOGRAPHIE.....	25

Titre en anglais: Contribution of genetic and non genetic factors to vitamin D levels in HIV infected individuals.

ABSTRACT:

La vitamine D est connue pour son rôle dans le métabolisme osseux et dans des nombreux autres systèmes. La fréquence de carence en vitamine D est élevée dans la population générale, et elle est encore plus élevée chez les individus infectés par le VIH.

Des nombreuses études ont recherché les facteurs qu'influencent la concentration plasmatique de 25(OH)D dans la population générale. Notre travail a pour but d'analyser la contribution des facteurs génétiques et non génétiques qu'influencent le niveau de 25(OH)D plasmatique chez des individus infectés par le VIH.

La population de notre étude est constituée par 552 patients de la SHCS d'ethnie caucasienne et ayant eu au moins une mesure de la concentration plasmatique de 25(OH)D.

Nous avons développé un modèle de pharmacocinétique des populations pour étudier la contribution de chaque facteur inclus dans nos analyses. Les facteurs analysés étaient: le sexe, l'âge, le poids, le BMI, la hauteur, la saison, le tabagisme et 7 SNPs associés au niveau de 25(OH)D identifiés par les études d'association pangénomique. Ces SNPs sont situés sur 4 gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D.

Nous observons dans cette population une prévalence élevée de carence en vitamine D: 78.8% des patients ont eu des taux de 25(OH)D insuffisants et 53.1% avaient une déficience de 25(OH)D. De plus, nous observons que le niveau plasmatique de 25(OH)D est associé de façon statistiquement significative avec: la période de l'année ($p \approx 3.42 \times 10^{-42}$), le BMI ($p \approx 0.006$), le tabagisme ($p \approx 0.009$) et le SNP rs2282679 ($p \approx 0.0035$). Ce dernier se trouve sur le gène GC, qui est responsable du codage pour la transcription de la DBP, protéine qui sert au transport des métabolites de la vitamine D dans le plasma.

Ces éléments nous permettent d'expliquer 8% de la variabilité interindividuelle totale des taux de 25(OH)D retrouvée dans cette population. Une grande partie de la variabilité interindividuelle doit encore être expliquée, mais notre étude nous a permis, d'un côté de confirmer l'influence de certains facteurs identifiés dans la population générale sur une population spécifique qui est particulièrement à risque de développer une carence en vitamine D et, de l'autre côté d'examiner la contribution des polymorphismes génétiques au métabolisme de la vitamine D.

Les efforts pour comprendre toujours davantage les causes de carence en vitamine D sont importants pour pouvoir identifier les individus plus à risque, de façon à prévenir et mieux prendre en charge une condition qui est source importante de morbidité et de mortalité et qui est facile à traiter.

Mots clés : HIV, 25(OH)D, facteurs non génétiques, SNPs, pharmacocinétique des populations.

1) INTRODUCTION:

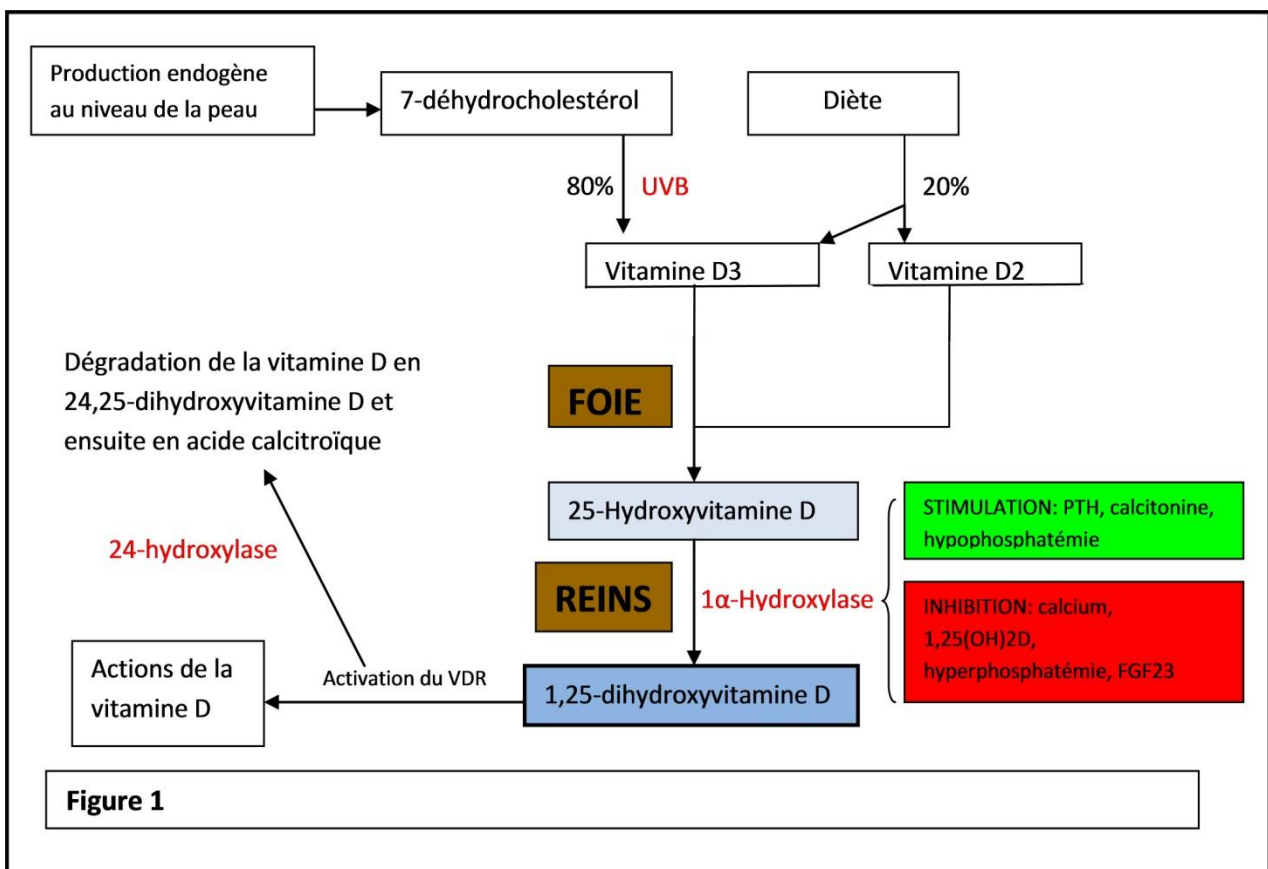
La vitamine D est le sujet de nombreux études, et particulièrement dans les dernières années, où en plus que son rôle bien connu dans le métabolisme osseux, apportent des nouvelles connaissances quant à son rôle dans d'autres systèmes.

La découverte de la présence du récepteur de la vitamine D (VDR) dans presque toutes les cellules du corps humain et de son possible rôle dans de nombreuses maladies, comme les maladies cardio-vasculaires, a beaucoup accru l'intérêt des chercheurs dans ce domaine¹.

1.1) PHYSIOLOGIE DE LA VITAMINE D:

La quantité nécessaire de vitamine D est fournie à notre corps par sa synthèse à partir de 7-déhydrocholestérol, qui se fait au niveau de la peau après exposition aux rayons UV-B², et en moindre partie par la diète sous forme de vitamine D3 ou D2 (20%): en faible quantité par le lait enrichi, les œuf, le foie et d'autres aliments, en plus grandes quantités dans l'huile de certains poissons³.

La vitamine D est hydroxylée par le foie en 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D ou calcidiol).



Successivement elle est transformée en 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂D, ou calcitriol), qui est la forme active agissant sur le VDR, par l'enzyme 1 α -hydroxylase présent dans les reins. L'activité de 1 α -hydroxylase est stimulée principalement par la parathormone (PTH), la calcitonine et l'hypophosphatémie ; elle est inhibée par le calcium plasmatique, l'hyperphosphatémie, le FGF23 ou le calcitriol lui-même.

L'activation du VDR stimule l'enzyme 24-hydroxylase, qui transforme la forme circulante de vitamine D en 24,25-dihydroxyvitamine D, qui va être transformée en acide calcitroïque, inactif et soluble dans l'eau (figure 1).

Les métabolites de la vitamine D sont liés avec une forte affinité à la Vitamin D Binding Protein (DBP), protéine plasmatique ayant une haute homologie avec l'albumine^{1,4}.

L'action classique de la vitamine D consiste dans la régulation du métabolisme phosphocalcique : elle augmente l'absorption intestinale de calcium, favorise la résorption osseuse par activation des ostéoclastes et diminue l'excrétion rénale de calcium et de phosphate².

Par ailleurs, à côté de ces effets classiques, les recherches de ces dernières années ont permis de détecter la présence du VDR dans de nombreux organes, comme la peau, l'hypophyse, le pancréas, le système cardio-vasculaire et le système immunitaire. Le rôle biologique de la vitamine D à ces niveaux semble de plus en plus évident, même si les mécanismes ne sont pas entièrement compris^{5,6}.

1.2) INSUFFISANCE EN VITAMINE D :

25(OH)D est le principal métabolite circulant dans le plasma, et reflète au mieux les apports de vitamine D par l'exposition au soleil et par la diète. La mesure du niveau plasmatique de 25(OH)D est la méthode standard pour évaluer les apports en vitamine D. Le niveau optimal de 25(OH)D pour la santé osseuse a été défini comme celui qui réduit les taux de PTH au minimum, de façon que l'absorption de calcium soit maximale^{7,8}. Des nombreuses études montrent que le plateau minimal de PTH est atteint lorsque le niveau de vitamine D est autour de 30 $\mu\text{g/L}$ ^{7,9,10}.

Cependant un consensus ne semble pas encore atteint en ce qui concerne la valeur optimale de vitamine D plasmatique.

De nombreux auteurs ont placé le seuil à 20 $\mu\text{g/L}$ ^{11,12,13,14}. Selon les considérations d'une récente étude¹⁵ qui observe que entre 20 $\mu\text{g/L}$ et 30 $\mu\text{g/L}$ de 25(OH)D il y a une variation significative de l'absorption de calcium, on définit, selon les recommandations de l'Institute Of Medicine (IOM), la déficience en vitamine D en-dessous de 20 $\mu\text{g/L}$, et une

insuffisance relative entre 20 et 30 µg/L. Le taux de vitamine D est donc considéré comme suffisant à des niveaux en-dessus de 30 µg/L¹⁶.

En utilisant cette définition, environ un milliard de personnes dans le monde ont une déficience ou une insuffisance en vitamine D^{11,12,13,14,17,18}.

1.3) MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D :

- Maladies osseuses : une déficience sévère et chronique chez le petit enfant peut amener au développement d'un rachitisme^{19,20}.

Chez l'adulte, une carence chronique amène à un hyperparathyroïdisme secondaire, qui provoque une sur activation des ostéoclastes, et ainsi un défaut de minéralisation osseuse, une diminution du BMD (Bone Mineral Density), une ostéomalacie ou une ostéoporose avec un risque augmenté de fractures pathologiques^{21,22,23,24}.

Les données montrent également qu'une supplémentation en vitamine D chez les personnes ostéoporotiques réduit la déminéralisation osseuse et le risque de développer des fractures pathologiques²⁵.

Souvent la déminéralisation osseuse s'accompagne de douleurs osseuses reproductibles à l'examen physique, sans que des fractures sous-jacentes soient présentes²⁶.

- Maladies neuromusculaires : le muscle squelettique exprime le VDR, la vitamine D pourrait donc être essentielle pour le plein fonctionnement des muscles. En effet, des études montrent que l'insuffisance en vitamine D est corrélée avec une faiblesse musculaire et un risque augmenté de chutes^{11,12,27,28,29}.
- Cancers : des études montrent que des niveaux de vitamine D inférieurs à de 20 µg/L sont associés avec une incidence augmentée de 30-50% pour le cancer du côlon, de la prostate et du sein, avec une augmentation de la mortalité due à ces cancers^{19,30,31,32,33,34,35,36,37}.

La raison pour laquelle une déficience en vitamine D augmenterait la survenue de cancers n'est pas encore bien claire. La déficience en vitamine D est définie comme une diminution de 25(OH)D. Les niveaux de 1,25(OH)2D restent pourtant normaux en raison de la régulation effectuée par les reins qui essaient de garder la concentration plasmatique de la forme active de la vitamine D constante.

Une possible explication pour le développement de cancers résiderait dans l'expression au niveau du côlon, de la prostate, du sein et d'autres organes de l'enzyme 1α-hydroxylase, qui permet localement la transformation de 25(OH)D en 1,25(OH)2D et le contrôle de gènes qui aident la prévention des cancers en contrôlant la prolifération cellulaire, la différenciation, l'apoptose et l'angiogenèse. De ce fait, une diminution de la concentration plasmatique de 25(OH)D diminue la disponibilité en

vitamine D pour ces organes, et diminuerait donc aussi leur capacité à contrôler ces mécanismes cellulaires^{11,23,38,39,40}.

La 1,25(OH)₂D serait ensuite dégradée en acide calcitroïque dans les organes cibles, de façon à ne pas perturber le métabolisme phosphocalcique^{11,17}.

- Maladies cardio-vasculaires : l'insuffisance en vitamine D pourrait aussi être associée à un risque accru d'hypertension artérielle et de maladies cardio-vasculaires. Ceci pourrait être dû au fait que la 1,25(OH)₂D est impliquée dans la production de rénine, une des plus importantes hormones dans la régulation de la tension artérielle^{11,19,41,42,43,44}.

- Maladies auto-immunes : la carence en vitamine D a également été associée à quelques maladies auto-immunes.

En particulier le psoriasis, où la vitamine D topique fait actuellement partie des traitements de première ligne^{45,46}, en raison de la quasi absence d'effets indésirables. Il a été montré que la 1,25(OH)₂D inhibe la prolifération des kératinocytes⁴⁷, d'où le rôle probable de l'insuffisance en vitamine D dans le développement de maladies hyperprolifératives de la peau, comme le psoriasis.

Des études ont observé que l'incidence de la sclérose en plaques était plus élevée aux hautes latitudes^{48,49,50,51}. D'autres études ont montré l'association entre une prise élevée de vitamine D et la diminution du risque de développer une sclérose en plaques^{52,53}.

Enfin, pour le diabète de type 1 on a aussi observé l'augmentation de sa prévalence aux hautes latitudes^{48,49}. Une étude suggère que la supplémentation en vitamine D pendant l'enfance réduit considérablement le risque de développer un diabète de type 1⁵⁴.

Des observations similaires ont été faites par rapport à la maladie de Crohn^{48,49} et la polyarthrite rhumatoïde⁵⁵.

- Schizophrénie et dépression : la déficience en vitamine D a été associée avec une incidence augmentée de schizophrénie et de dépression^{56,57}.

1.4) FACTEURS DE RISQUE POUR LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D :

Le tableau 1 décrit de manière détaillée les facteurs qui, jusqu'à aujourd'hui, ont été associés avec un taux diminué de 25(OH)D.

FACTEURS DE RISQUE DE DÉFICIENCE EN VITAMINE D

<u>FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX, DÉMOGRAPHIQUES ET GÉNÉTIQUES</u>	<u>FACTEURS COMPORTAMENTAUX</u>
<ul style="list-style-type: none"> - Peau noire^{58,59,60} - Saison et latitude^{17,61,62} - Sexe féminin^{63,64} - Race asiatique ou afro-américaine^{63,65,66} - Âge avancée^{67,68,69} - Pollution de l'air^{70,71} - Vitamin D dependent Rickets (VDDR) type I et II⁷² 	<ul style="list-style-type: none"> - Déficience diététique^{73,74} - Exposition insuffisante au soleil ou protection excessive^{61,62,75} - Grossesse ou période d'allaitement^{76,77} - Obésité^{11,60,66,78,79} - Pratique religieuse du voile^{80,81} - Bas niveau d'éducation, bas revenu^{60,82} (?) - Tabagisme^{83,84,85}
<u>MALADIES MÉTABOLIQUES ET DU SYSTÈME DIGESTIF</u>	<u>AUTRES MALADIES</u>
<ul style="list-style-type: none"> - Maladie coeliaque^{86,87} - Gastrectomie partielle ou totale, bypass gastrique^{88,89,90} - Choléstase, obstruction biliaire extra hépatique^{90,91} - Carcinome hépatocellulaire, stéatose hépatique de n'importe quelle origine^{93,94} - Maladie inflammatoire de l'intestin^{95,96} - Élévation HDL⁶⁰ - Syndrome métabolique^{97,98} - Dysfonction thyroïdienne^{99,100} - Procto-colectomie¹⁰¹ 	<ul style="list-style-type: none"> - Patients hospitalisés, institutionnalisés ou alités^{14,73} - Insuffisance rénale chronique, sy néphrotique^{102,103,104} - Mucoviscidose^{105,106} - Fibromyalgie¹⁰⁷ - Brûlures étendues^{108,109} - BPCO^{110,111} - Sclérodémie¹¹² - Cancer du sein^{113,114} - Hypogonadisme^{115,116} - Cancer de la prostate¹¹⁷ (?) - Lupus Erythémateux Systémique^{107,118,119} (?)
<u>MÉDICAMENTS</u>	
<ul style="list-style-type: none"> - Antiépileptiques^{120,121,122,123,124} - Inhibiteurs de l'aromatase^{120,124} - Héparine¹²⁰ - Agonistes GnRH^{120,121} - Rifampicine¹²⁴ - Glucocorticoïdes^{125,126,127} - Protease inhibitors¹²⁰ - Efavirenz^{128,129,130,131} - Tenofovir^{130,132} - Zidovudine^{131,133} 	
Tableau 1	

1.5) TRAITEMENT DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINE D :

Le traitement de la carence en vitamine D par la diète est très peu efficace en lui-même. Pour cette raison, chez des personnes à risque de déficience, la substitution se fait parfois sans dosage plasmatique de 25(OH)D à titre préventif, étant donné que la vitamine D n'a que peu d'effets indésirables¹³⁴.

Les besoins quotidiens en vitamine D ne sont pas toujours faciles à déterminer, mais les données semblent montrer que, selon le type de patient, l'apport quotidien de vitamine D doit correspondre à 400-800IU¹⁸.

Vitamine D2 (ergocalciférol) et D3 (cholécalférol) sont disponibles comme suppléments diététiques. Les études semblent montrer que les deux formes de vitamine D sont également efficaces pour la substitution^{135,136,137,138}.

L'Institute Of Medicine (IOM) a récemment élaboré des guidelines pour la substitution en vitamine D selon le groupe de patients^{16,18}. La dose proposée est valable indifféremment pour vitamine D2 et D3:

- Enfants 0-1 ans avec déficience en vitamine D: 2000IU journalier ou 50'000IU hebdomadairement pendant 6 semaines et maintient avec 400-1000IU journalier.
- Enfants 1-18 ans avec déficience en vitamine D: 2000IU journalier ou 50'000IU hebdomadairement pendant 6 semaines et maintient avec 600-1000IU journalier.
- Adulte avec déficience en vitamine D: 6000IU journalier ou 50'000IU hebdomadairement pendant 8 semaines et maintient avec 1500-2000IU journalier.
- Patients obèses ou souffrant d'autres maladies qui affectent le métabolisme de la vitamine D : double ou triple de la dose pour l'adulte normal.

Pour la même dose totale, la fréquence des prises n'influence pas de façon significative les taux sanguins de 25(OH)D¹³⁹. Le mode d'administration peut donc être décidé en fonction de la compliance du patient.

Il existe aussi de formes galéniques fortement dosées de 300'000IU qui peuvent être utilisées in intraveineux ou per os. En raison du risque de chutes augmenté cette posologie doit être évitée chez les patients à risque de chute et donc en général dans la population âgée^{140,141}. Si ce risque est faible, on peut prendre en compte cette solution qui est plus simple et favorise la compliance.

1.6) VARIANTES GÉNÉTIQUE ET NIVEAU DE VITAMINE D :

a) Types d'études génétiques : étude de gènes candidats et études d'association pangénomique :

Pour rechercher des traits génétiques pouvant expliquer la présence d'un phénotype donné, les premières études ont été celles sur les gènes candidats, ciblées sur des gènes précis.

Ces études ont eu une grande utilité pour comprendre des conditions dues à des désordres génétiques portant sur un seul gène, toutefois, elles ont rencontré beaucoup de limites dans la compréhension des maladies complexes¹⁴².

Une autre méthode d'étude génétique plus récente est offerte par les études d'association pangénomique (en anglais GWAS, Genome-Wide Association Studies), qui donnent la possibilité d'analyser un grand nombre de variantes génétiques.

La différence avec les études des gènes candidats est l'analyse d'un grand nombre de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), la grande taille de la population étudiée, l'absence d'une hypothèse de départ.

Les GWAS ont permis d'identifier des milliers de SNPs associées avec des centaines de trait phénotypiques et des nombreuses maladies¹⁴³.

Malgré cela, la valeur prédictive individuelle de chaque nouvelle association identifiée est limitée (OR le plus souvent entre 1.1-1.6) par rapport au total de la composante héréditaire qui a été estimée¹⁴⁴ et souvent la plausibilité biologique des variations associées à un phénotype donné est difficile à comprendre.

b) Vitamine D et variantes génétiques :

Pour ce qui concerne le niveau plasmatique de vitamine D, quelques études sur les gènes candidats ont été faites, mais elles ont montré des résultats contradictoires^{145,146,147,148}.

Deux GWAS ont identifié 8 SNPs qui influencent de façon significative les taux de vitamine D. D'abord l'étude de Ahn et al.¹⁴⁹, qui consiste en une méta-analyse de 5 GWASs à l'intérieur de 5 cohortes pour un total de 4501 individus de race caucasienne chez lesquels le taux plasmatique de 25(OH)D avait été préalablement mesuré.

Cette étude a trouvé 3 SNPs qui sont associés avec un taux de vitamine diminué de façon significative. Le premier, rs2282679, sur le chromosome 4q12-q13, dans la région du Group-specific Component (GC) gene avec $P=1.8 \times 10^{-49}$. Il a été estimé que ce SNP expliquerait environ 1% de la variance des niveaux de vitamine D dans la population étudiée.

Le deuxième SNP ayant atteint une signification statistique ($P=3.4 \times 10^{-9}$) est rs3829251, placé dans le 15^e intron du gène *NADSYN1*, sur le chromosome 11q13.4. Ce SNP a un haut "linkage disequilibrium" avec deux autres qui se trouvent dans le gène *DHCR7*, qui est impliqué dans le métabolisme de la vitamine D, on dit alors que ce SNP se trouve sur le locus

NADSYN1/DHCR7. Cette variation expliquerait 1.2% de la variance des concentrations de 25(OH)D au niveau de la population.

Le dernier SNP identifié par cette étude est rs2060793, dans la région du gène *CYP2R1* sur le chromosome 11p15.2 avec un $P=1.6 \times 10^{-17}$. Une variance de 0.6% dans les niveaux de vitamine D serait expliquée par ce SNP.

Ensuite l'étude de Wang et al.¹⁵⁰ a analysé la population de 15 cohortes pour un total de 33'996 individus de race caucasienne.

Cette étude a confirmé un des résultats trouvés par Ahn et al. ; pour rs2282679 sur le gène *GC* une association avec un $P=1.9 \times 10^{-109}$ a été confirmée.

Sur le gène *GC* un autre SNP associé avec la concentration de 25(OH)D plasmatique a été trouvé avec un $P=6 \times 10^{-59}$; il s'agit de rs7041.

Au niveau du gène *CYP2R1* deux SNPs ont été trouvés : rs10741657 ($P=3.27 \times 10^{-20}$) et rs12794714 ($P=1.84 \times 10^{-9}$).

Un nouveau SNP a été trouvé aussi sur le gène *NADSYN1/DHCR7*, rs12785878, avec un $P=2.12 \times 10^{-27}$.

Enfin, un SNP a été associé aux concentration plasmatiques de 25(OH)D également au niveau du gène *CYP24A1*, positionné sur le chromosome 20q13. Il s'agit de rs6013897, pour lequel on trouve un $P=6.0 \times 10^{-10}$.

Dans cette étude, la contribution que chacun de ces SNPs apporterait aux variations des taux de vitamine D n'a pas été estimée.

Le tableau 2 reporte schématiquement les résultats qu'on vient d'exposer.

First Author	Reported Gene(s)	SNP	MAF ¹	p-Value	β [95%CI]
Wang	<i>CYP2R1</i>	rs10741657	0.37	3.00E-20	NR
Wang	<i>CYP2R1</i>	rs12794714	0.45	2.00E-09	NR
Wang	<i>DHCR7,NADSYN1</i>	rs12785878	0.27	2.00E-27	NR
Wang	<i>GC</i>	rs2282679	0.26	2.00E-109	NR
Wang	<i>GC</i>	rs7041	0.42	6.00E-59	NR
Wang	<i>CYP24A1</i>	rs6013897	0.20	6.00E-10	NR
Ahn	<i>GC</i>	rs2282679	0.26	4.00E-22	0.38 [0.32-0.44] unit decrease
Ahn	<i>CYP2R1</i>	rs2060793	0.39	3.00E-17	0.25 [0.15-0.35] unit increase
Ahn	<i>DHCR7,NADSYN1</i>	rs3829251	0.16	3.00E-09	0.18 [0.12-0.24] unit decrease

¹MAF, minor allelic frequency in HapMap Caucasians

Tableau 2

c) Plausibilité biologique des SNPs étudiés :

On a donc identifié 8 SNPs influençant significativement les niveaux de vitamine D dans la population caucasienne. Il est important d'observer qu'ils se trouvent au niveau de 4 loci

ayants une plausibilité biologique, c'est-à-dire que les gènes impliqués participent au métabolisme de la vitamine D, comme je l'ai schématisé sur la figure 2.

On a trouvé que les SNPs rs2060793 et rs10741657 sont très fortement associés entre eux au point de représenter le même signal.

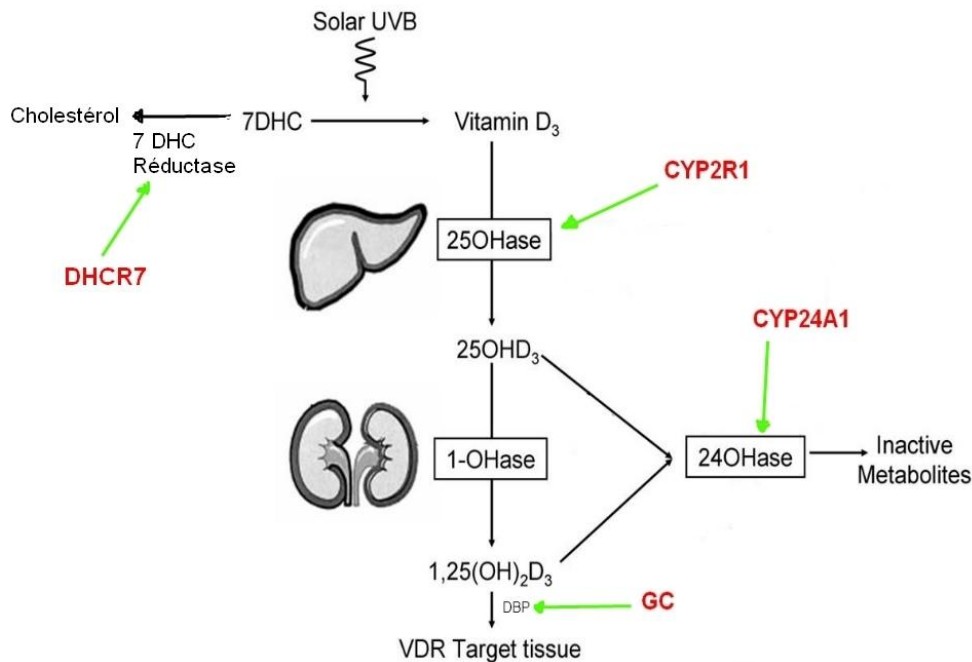


Figure 2

- 1) Gène *GC* (Group-specific Component : rs2282679 et rs7041) : situé au niveau du chromosome 4q12-q13, contient la séquence pour le codage de la Vitamin D Binding Protein (DBP) qui est une glycoprotéine de 52-59 kDa synthétisée dans le foie appartenant à la famille de l'albumine. Cette protéine lie les différentes formes de vitamine D circulantes dans le plasma et les transporte dans le sang jusqu'aux organes cibles¹⁵¹.
- 2) Gène *CYP2R1* (rs10741657, rs12794714 et rs2060793) : ce gène situé sur le chromosome 15p15.2 codifie pour un enzyme microsomial hépatique de la famille du cytochrome P450. Cette enzyme serait responsable de la 25-hydroxylation de la vitamine D2 et D3 circulant au niveau du foie et d'autres organes. Une modification de cette enzyme serait donc responsable d'une diminution de l'activité de 25-hydroxylation de la vitamine D et conduirait ainsi à une diminution des taux plasmatiques de 25(OH)D¹⁵².
- 3) Gène *NADSYN1/DHCR7* (rs3829251 et rs12785878) : c'est le gène *DHCR7*, positionné sur le chromosome 11q13.4, qui est connu pour être impliqué dans le métabolisme de la

vitamine D. En effet, il s'agit du gène qui codifie pour l'enzyme 7-dehydrocholestérol réductase, qui catalyse la production au niveau de la peau de cholestérol à partir du 7-dehydrocholestérol, en éliminant le substrat nécessaire pour la voie de synthèse de la vitamine D3 par les rayons UVB¹⁵³.

- 4) Gène *CYP24A1* (rs6013897) : ce gène, localisé sur le chromosome 20q13, codifie pour la 24-hydroxylase, qui est responsable de la dégradation de 25(OH)D et 1,25(OH)2D.

1.7) DÉFICIENCE EN VITAMINE D DANS LA POPULATION INFECTÉE PAR VIH :

Des études montrent que chez les individus infectés par le VIH, le risque de développer une ostéopénie ou une ostéoporose est plus élevé. En particulier, Brown and Qaqish ont conduit une méta-analyse de 11 études qui ont comparé la prévalence de l'ostéoporose dans une population VIH-négative et une population VIH-positive¹⁵⁴. Pour les patients inclus dans cette méta-analyse, chez la population VIH-positive on a observé que 67% avaient un BMD diminué, et 15% une ostéoporose, ce qui correspond à une OR de 6.4 et 3.7 respectivement par rapport à la population VIH-négative, le risque étant encore plus élevé pour les patients recevant une ARV (thérapie Anti Rétrovirale).

Des études montrent que la population VIH-positive est également plus à risque d'être victime d'une déficience en vitamine D^{155,156}.

Une étude conduite dans la SHCS a permis d'observer une prévalence de déficience en vitamine D entre 42-52% chez les participants de la cohorte en printemps, et entre 14-18% en automne¹⁵⁷.

Les facteurs qui sont à la base de la prévalence augmentée de l'ostéoporose dans la population VIH-positive ne sont pas complètement compris. En plus des facteurs de risque habituels, l'inflammation chronique provoquée par l'infection a été associée avec une augmentation de la résorption osseuse¹⁵⁸, et l'HIV pourrait avoir une action lui-même sur l'activité des ostéoclastes¹⁴⁷.

Un autre facteur important qui influence le métabolisme osseux chez les patients infectés par le VIH sont les ARV. Les études concordent sur le fait que une population traitée par ART est plus à risque de développer une carence en vitamine D par rapport à une population qui ne reçoit pas d'ARV^{128,154,157}. Pour ce qui concerne les traitements spécifiques, parfois les résultats sont controversés. Efavirenz semble être le traitement plus fortement associé avec un taux diminué de 25(OH)D plasmatique^{128,129,130,131}. Plus difficile à définir est l'impact d'une ARV contenant Zidovudine^{131,133}, Tenofovir^{130,132}, ou des inhibiteurs de la protéase (PI)¹²⁰, qui ont été parfois associés avec un risque accru de carence en vitamine D.

2) OBJECTIFS DE L'ÉTUDE :

Le but de cette étude consiste à évaluer l'influence des facteurs génétiques et non-génétiques sur la concentration plasmatique de 25(OH)D chez des patients VIH-positifs.

3) MÉTHODES :

3.1) CRITÈRES D'INCLUSION ET RECHERCHE DE DONNÉES :

Les patients ont été recrutés dans les Centres Universitaires de Lausanne et Bâle, parmi les participants à la Swiss HIV Cohort Study (SHCS). Les critères d'inclusion étaient : infection au VIH, ethnie caucasienne et au moins un dosage du taux plasmatique de 25(OH)D effectué.

Depuis 2009, les centres participants à la SHCS ont un programme actif de dépistage de la déficience en vitamine D et de substitution si le niveau mesuré de 25(OH)D plasmatique est inférieur à 30 µg/L.

Chez les insuffisants, le programme prévoit une substitution par une prise per os d'une mono dose annuelle de 300'000IU (Vitamin D3 Streuli 300'000IU), afin de compenser suffisamment le manque de vitamine D et de faciliter la compliance chez des patients prenant déjà des nombreux médicaments.

Les dates et la dose donnée pour la substitution de la vitamine D ont été obtenues en cherchant dans les dossiers infirmiers des patients.

3.2) REVUE DE LITTÉRATURE :

Une recherche d'articles concernant les facteurs de risque pour la déficience en vitamine D a été effectuée et mise à jour la dernière fois en octobre 2012. Cette recherche a été faite en utilisant PubMed, afin de pouvoir correctement prendre en compte l'influence des différents facteurs sur le taux plasmatique de 25(OH)D.

3.3) GÉNOTYPAGE :

Le génotypage de l'ADN des patients inclus dans l'étude a été fait avec TaqMan[®] allelic discrimination en utilisant Assay-On-Demand[®] de Applied Biosystems. Le principe de son fonctionnement est illustré par la figure 3 : la lecture du génotype se fait pendant PCR (Polymerase Chain Reaction) en utilisant deux types de sondes chacune associée avec un marqueur fluorescent (VIC et FAM) qui se lie soit en présence de l'allèle fréquent, soit en présence de l'allèle rare. Une fois que la sonde s'est liée au brin d'ADN correspondant le marqueur fluorescent est libéré et détecté par le TaqMan[®].

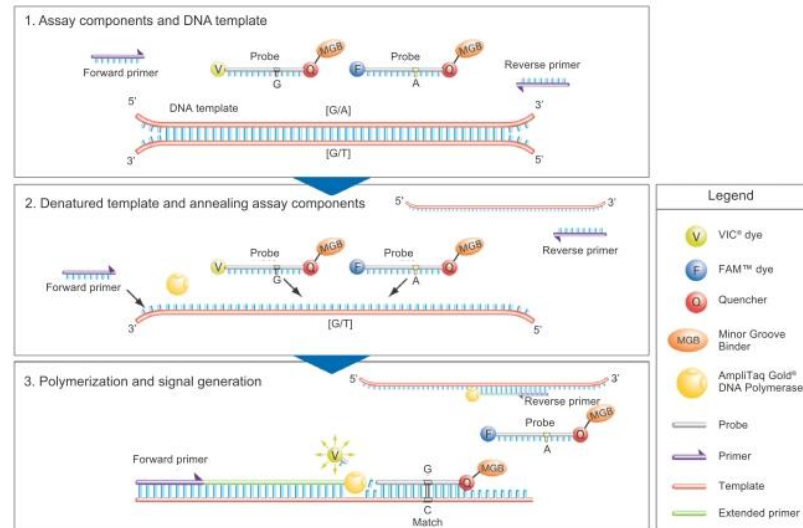


Figure 3. Allelic discrimination is achieved by the selective annealing of TaqMan[®] MGB probes.

Figure 3 : TaqMan allelic discrimination (figure adaptée de <http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home.html>)

Nous avons inclus dans notre étude les mêmes SNPs identifiés par les études d'association pangénomique de Ahn¹⁴⁹ et Wang¹⁵⁰. Entre les 8 SNPs identifiés, 2 sont en très forte association entre eux et représentent le même signal (rs2060793 et rs10741657). Le génotypage d'un des deux suffit pour assurer la présence de l'autre, c'est pour cela que nous avons décidé de faire le génotypage d'un des deux seulement.

D'abord nous avons essayé avec rs2060793, mais l'essai n'a pas marché. Alors nous avons substitué rs2060793 avec rs10741657.

Le tableau 3 montre les gènes analysés avec le signal fluorescent qu'identifie les différents allèles.

Gene/(nearest gene)	dbSNP_rs	ABI-assay_ID	VIC	FAM	Gene_Fwd	Genome_Fwd
NADSYN1/DHCR7	rs12785878	C_32063037_10	G	T	T>G	T>G
CYP2R1	rs12794714	C_1131665_10	A	G	C>T	G>A
GC	rs2282679	C_26407519_10	G	T	A>C	T>G
GC	rs7041	C_3133594_30	A	C	G>T	C>A
NADSYN1	rs3829251	C_27497388_10	A	G	G>A	G>A
CYP24A1	rs6013897	C_29958084_10	A	T	T>A	T>A
CYP2R1	rs2060793	C_2958431_10	A	G	C>T	G>A
CYP2R1	rs10741657	C_2958430_10	A	G	C>T	G>A

Tableau 3

3.4) ANALYSE DES RÉSULTATS :

Les résultats obtenus ont été analysés par la Dresse Guidi et la Dresse Csajka du service de Pharmacologie clinique du CHUV, selon un modèle de pharmacocinétique des populations, permettant de modéliser l'influence des facteurs génétiques et non-génétiques sur la taux plasmatique de vitamine D.

4) RÉSULTATS :

4.1) PARTICIPANTS :

Un nombre total de 552 patients ont été inclus (509 de Lausanne et 43 de Bâle). L'âge des patients se situe entre 20 et 77 ans, en moyenne 49 ans; 409 (74.1%) sont de sexe masculin; 267 (48.4%) sont fumeurs actifs; le BMI est entre 14.84 et 44.74 kg/m², la moyenne se situant à 23.9 kg/m²; 91.6% des mesures de l'ARN de HIV plasmatiques ont donné un résultat inférieur à 400 copies/mL, pour le compte des lymphocytes CD4 la moyenne se trouve à 623.

La concentration de 25(OH)D plasmatique était inférieure à 30 µg/L chez 435 patients (78.8%), et inférieure à 20 µg/L chez 293 patients (53.1%).

Le traitement ARV le plus fréquent dans cette population est la combinaison avec Emtricitabine/Efavirenz/Tenofovir (ETC EFV TNV), utilisé par 129 patients (23.4%). En regardant les médicaments séparément, le plus utilisé est le Tenofovir (347 patients, 62.9% du total), suivi par l'Emtricitabine (306 patients, 55.4%). 215 patients (38.9%) ont un régime ARV contenant un Inhibiteur de Protease (PI), 202 patients (36.6%) ont un régime ARV contenant Efavirenz et 138 patient (25%) ont un régime ARV contenant Lamivudine.

4.2) GÉNOTYPAGE :

Le tableau 4 résume les résultats du génotypage.

SNP ID	GÈNE	FRÉQUENCE ALLÉLIQUE OBSERVÉE DANS NOTRE ÉTUDE		FRÉQUENCE ALLÉLIQUE REPORTÉE EN HapMap		GÉNOTYPE (1=allèle fréquent, 2=allèle rare)		
						11	12	22
rs2282679	GC	A=0.74	C=0.26	A=0.74	C=0.26	53%	41%	6%
rs7041	GC	G=0.56	T=0.44	G=0.58	T=0.42	28%	55%	17%
rs10741657	CYP2R1	G=0.66	A=0.34	G=0.63	A=0.37	41%	50%	9%
rs12794714	CYP2R1	G=0.51	A=0.49	G=0.55	A=0.45	26%	51%	23%
rs3829251	NADSYN1/DHCR7	G=0.84	A=0.16	G=0.84	A=0.16	70%	27%	3%
rs12785878	NADSYN1/DHCR7	T=0.73	G=0.27	T=0.73	G=0.27	54%	36%	10%
rs6013897	CYP24A1	T=0.77	A=0.23	T=0.79	A=0.21	59%	34%	7%

Tableau 4

4.3) ANALYSE DES COVARIABLES :

Le modèle pharmacocinétique élaboré est basé sur la définition d'un RATE, qui décrit la concentration de base de 25(OH)D plasmatique et peut être vu comme le taux de production de cette dernière. Il dépend des apports amenés par l'exposition aux UV-B et par la diète. Dans le modèle utilisé, les constantes d'absorption et d'élimination sont équivalentes.

Le modèle estime les valeurs moyennes et la déviation standard pour les différents facteurs étudiés. Le Coefficient de Variation (CV) mesure la précision de l'estimation faite. Le RATE est estimé à 0.14 $\mu\text{mol}/\text{jour}$ (CV=8%). La variabilité interindividuelle du RATE est un indicateur de la variabilité de ce paramètre dans la population étudiée. Dans notre population, nous retrouvons une variabilité interindividuelle élevée pour le RATE: dans le modèle initial (sans contribution des facteurs ayant une influence) elle est à environ 41%. Dans le modèle final, qui prend en compte l'influence de tous les facteurs modifiant de façon statistiquement significative la concentration de 25(OH)D dans le sang, la variabilité interindividuelle est de 38%, ce qui signifie que les facteurs étudiés expliquent environ 8% de la variabilité totale observée pour le RATE, et donc indirectement aussi sur la valeur de base.

Les facteurs testés avec ce modèle sont : les 7 SNPs génotypés, le sexe, l'âge, le poids, le BMI, la hauteur, la saison et le tabagisme.

La période de l'année a une influence évidente sur la concentration de base de 25(OH)D, avec une $p \approx 3.42 \times 10^{-42}$ (CV=2%). Le RATE change en fonction du mois de l'année avec une diminution de la disponibilité de 25(OH)D pendant la période hivernale, et un pic de production le 229^e jour de l'année (en août).

Le poids a une influence significative ($p \approx 0.002$) sur le taux de vitamine D plasmatique, avec le RATE qui diminue de 30% lorsque le poids double par rapport à la médiane, qui se situe à 71kg. De la même façon que le poids, le BMI influence de façon statistiquement significative le niveau de vitamine D ($p \approx 0.006$, CV=24%), avec une diminution de 30% lorsque le BMI double par rapport à la médiane, située à 23.3 kg/m^2 .

Le tabagisme montre aussi un effet significatif ($p \approx 0.009$, CV=27%). Le RATE diminue de 9% chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs. Il n'est pas possible de définir un rapport dose-effet par rapport à la consommation de tabac.

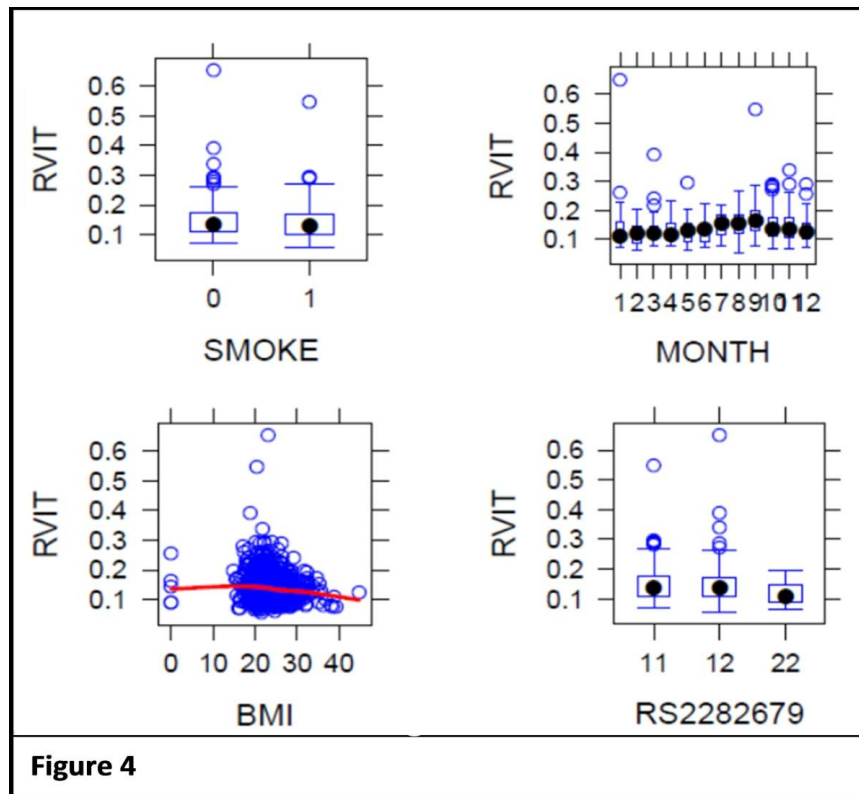
Par rapport aux SNPs testés, un SNP a manifesté une influence statistiquement significative. Il s'agit de rs2282679, qui est associé à une diminution de la concentration de base de 23% chez les porteurs homozygotes de l'allèle rare C, avec une $p \approx 0.0035$ (CV=31%).

Les autres résultats n'ont pas montré un effet significatif :

nous observons que ni le sexe ni l'âge n'ont une influence statistiquement significative (respectivement, $p \approx 0.06$ et $p \approx 0.5$) sur la concentration plasmatique de 25(OH)D.

Les autres SNPs aussi n'ont pas montré d'effet statistiquement significatif: rs7041 ($p \approx 0.21$), rs10741657 ($p \approx 0.8$), rs12794714 ($p \approx 0.35$), rs3829251 ($p \approx 0.37$), rs12785878 ($p \approx 0.21$) et rs6013897 ($p \approx 0.8$).

La figure 4 montre les résultats significatifs.



5) DISCUSSION ET CONCLUSIONS :

Chez 78.8% des patients inclus dans notre étude nous avons trouvé des taux de vitamine D insuffisants (<30µg/L) et chez 53.1% une déficience en vitamine D (<20µg/L). Ces données confirment l'observation que dans la population avec infection au VIH le risque de carence en vitamine D est plus élevé par rapport à la population générale.

Cette observation avait déjà été faite dans la SHCS par Müller et al. en 2010¹⁵⁷ et par d'autres études à Boston¹⁵⁵ et aux Pays-Bas¹⁵⁶.

Par notre travail, nous avons essayé de déterminer quels sont les facteurs qu'influencent de façon significative les taux plasmatiques de 25(OH)D dans une population VIH-positif. Nous avons d'abord recherché attentivement dans la littérature les facteurs qui peuvent influencer le niveau plasmatique de vitamine D et, du moment que la contribution de facteurs génétiques est de plus en plus évidente en ce qui concerne le métabolisme de la vitamine D, nous avons ajouté à nos analyses les SNPs qui ont montré une association avec la concentration plasmatique de 25(OH)D identifiés par les études de Wang¹⁵⁰ et Ahn¹⁴⁹. Il est particulièrement intéressant d'évaluer la contribution de ces SNPs à la concentration plasmatique de 25(OH)D en raison de leur plausibilité biologique. En effet, ils se situent tous au niveau de 4 gènes (*GC*, *CYP2R1*, *NADSYN1/DHCR7*, *CYP24A1*) qui sont impliqués dans le métabolisme de la vitamine D.

En raison de l'adjonction des analyses sur le génotype, nous avons inclus dans notre étude exclusivement des individus d'origine caucasienne, du moment que les travaux de Wang et Ahn ont été conduits sur une population d'origine caucasienne.

Nous avons utilisé un modèle de pharmacocinétique des populations pour l'analyse des résultats.

Une approche similaire mais uniquement avec des facteurs non-génétiques a été menée récemment en France par Foissac et al.¹⁵⁹, par l'analyse des taux plasmatiques de 25(OH)D chez 422 patients VIH-positifs âgés de 16 à 85 ans. On observe dans cette étude une concentration moyenne de 25(OH)D de 16 µg/L, avec seulement 15% des patients atteignant une concentration suffisante (>30 µg/L) et 17% ayant des valeurs <10 µg/L, ce qui est comparable à ce qu'on trouve dans notre population. Les facteurs testés étaient : l'âge, le sexe, la saison, le poids, le BMI et le traitement (en particulier ARV).

Ils ont observé que la saison et le phototype de la peau avaient une association significative avec le taux de 25(OH)D.

Dans notre étude, les covariables testées étaient : les 7 SNPs génotypés, le sexe, l'âge, le poids, le BMI, la taille, la saison et le tabagisme.

L'analyse statistique a montré que la saison est associée avec le taux plasmatique de 25(OH)D, avec un pic en fin d'été (le 229^e jour, en août) et des valeurs diminuées en hiver et en printemps ($p \approx 3.42 \times 10^{-42}$, CV=2%).

La variabilité du taux de vitamine D selon la saison est le facteur le plus connu ce qui a déjà été observé dans des nombreuses études sur la population générale^{61,62} et sur la population VIH-positive¹⁵⁹.

Du moment que la majeure partie de la vitamine D disponible pour le métabolisme provient de sa photosynthèse au niveau de la peau à partir du 7-dehydrocholestérol, il est compréhensible que dans les périodes où l'ensoleillement est moins intense, la synthèse épidermique de vitamine D soit diminuée.

En effet, comme il est bien illustré dans le travail de Webb¹⁶⁰, si l'angle zénithal solaire est élevé, comme c'est le cas pendant la période hivernale, la quantité d'UV-B qui atteint la peau est plus petite. Pour cette raison la photo production de vitamine D au niveau de la peau est diminuée.

Pour ce qui concerne le BMI, nous avons aussi trouvé une association significative avec le taux plasmatique de 25(OH)D ($p \approx 0.006$, CV=24%). Le modèle a montré comment l'augmentation du BMI est en relation avec une diminution du niveau de vitamine D. En effet, nous avons estimé qu'un doublement du BMI par rapport à la médiane (=23.3 kg/m²) diminuerait le niveau de vitamine D de 30%. Dans les études sur une population VIH-positive cette association n'a pas encore été mise en évidence à notre connaissance. Par contre c'est une observation qui a été faite à plusieurs reprises dans la population générale : par exemple dans l'étude de Wortsman et al. (2000)⁷⁸, celle de Snijder et al. (2005)⁷⁹ et, plus récemment, par une plus large étude conduite par Forrest et al. (2010)⁶⁰ sur une population de 4495 adultes nord-américains.

La raison pour laquelle un BMI élevé est associé à une diminution de la disponibilité de la vitamine D n'a pas encore été complètement éclaircie. Le travail effectué par Wortsman et al.⁷⁸ s'est focalisé sur cette question en émettant plusieurs hypothèses de départ basées sur des études précédentes : une moindre exposition aux rayons UV des personnes avec BMI élevé¹⁶¹; une production accrue de la forme active de la vitamine D (1,25(OH)2D) qui exercerait un feedback négatif sur la synthèse hépatique de 25(OH)D¹⁶²; une augmentation de la clairance de la vitamine D en raison de sa séquestration par le tissu adipeux¹⁶³.

Son travail l'a amené à retenir la séquestration par les cellules du tissu adipeux comme hypothèse la plus probable pour expliquer la baisse du taux de 25(OH)D plasmatique chez les sujets obèses. Cette hypothèse est soutenue par le fait que la vitamine D est une molécule liposoluble et que son stockage dans la graisse sous-cutanée est connu. La vitamine D produite dans la peau après exposition aux rayons UV-B serait ainsi absorbée par le tissu adipeux sous-cutané avant de passer dans la circulation sanguine.

Le tabagisme montre aussi un effet significatif ($p \approx 0.009$, CV=27%), avec une concentration de 25(OH)D qui diminue de 9% chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs.

Dans ce cas également, les études sur une population VIH-positive n'ont pour l'instant pas mis en évidence une association significative entre tabagisme et taux de 25(OH)D, alors que des études sur la population générale ont déjà montré cette association^{83,85}.

Le mécanisme par lequel la cigarette diminuerait le niveau plasmatique de vitamine D n'est pas complètement clair. Une des difficultés sur ce terrain est la grande quantité de substances contenues dans les cigarettes, d'où la possibilité de la coexistence de plusieurs mécanismes à la fois. Une possible explication est l'augmentation du métabolisme hépatique provoqué par les hydroxyquinones, ce qui pourrait altérer le métabolisme de 25(OH)D, du moment que le métabolisme hépatique des fumeurs est également augmenté pour un autre stéroïde : l'œstrogène¹⁶⁴.

En ce qui concerne les SNPs testés, un SNP a montré une association significative sur le taux de 25(OH)D : rs2282679 ($p \approx 0.0035$, CV=31%). Ce polymorphisme est associé à une diminution de la concentration de base de 23% chez les individus porteurs d'un génotype homozygote pour l'allèle rare (CC).

Dans les études d'association pangénomique effectués par Wang¹⁵⁰ et Ahn¹⁴⁹, rs2282679 était celui avec la plus forte association avec le niveau de 25(OH)D.

La position de ce SNP sur le gène *GC*, qui est responsable du codage de la DBP, synthétisée dans le foie et responsable du transport des différentes formes de vitamine D circulantes dans le plasma, suggère la présence d'une explication biologique pour cette association.

En effet, dans l'étude de Wang¹⁵⁰ rs2282679 était fortement associé avec la concentration plasmatique de DBP ($p = 4.0 \times 10^{-42}$), avec l'allèle rare associé à des concentrations diminuées de cette protéine.

Également dans une autre étude sur 741 femmes jeunes, Sinotte et al.¹⁶⁵ (2009) ont étudié des SNPs sur le gène *GC*, rs7041 et rs4588, chacun responsable du changement d'un acide aminé dans la chaîne protéique. Même si des SNPs différents étaient étudiés, la même corrélation a été trouvée entre : génotype homozygote pour l'allèle rare, diminution des concentrations plasmatiques de DBP et, en même temps, diminution des concentrations plasmatiques de 25(OH)D. Dans notre étude l'influence de rs7041 sur le taux de vitamine D a été étudiée, mais le résultat n'est pas statistiquement significatif. Ceci pourrait être dû à un manque de puissance de notre étude.

Dans le travail effectué par Lauridsen et al. (2005)¹⁶⁶ les formes de DBP associées avec un niveau diminué de 25(OH)D plasmatique sont métabolisées plus rapidement et, de cette façon, même la demi-vie de 25(OH)D serait diminuée par l'action des enzymes qui transforment la 25(OH)D libre dans le plasma en ses métabolites inactifs. Ce mécanisme a également été montré par Safadi et al. dans leur étude sur des souris DBP-Knock Out¹⁶⁷.

Les autres cofacteurs analysés n'ont pas montré une association statistiquement significative avec les taux plasmatiques de 25(OH)D.

Un article de MacLaughlin et Holick de 1985⁶⁹ a montré une diminution de plus de deux fois par rapport à la capacité de production de vitamine D chez des individus entre 77 et 82

ans comparé avec des jeunes entre 8 et 18 ans. Dans notre étude, une possible explication du manque d'association significative entre âge et concentration de 25(OH)D pourrait être dû au fait que moins de 10% des individus inclus dans l'étude ont plus de 65 ans.

La variabilité interindividuelle du niveau de base de 25(OH)D calculée par le modèle initial, qui ne prend pas en compte la contribution des cofacteurs influençant le métabolisme de la vitamine D, correspond environ à 41%. Après l'évaluation des différents cofacteurs significatifs, la variabilité interindividuelle est d'environ 38%. Cela signifie que 8% de la variabilité interindividuelle totale est expliquée par les facteurs étudiés ; il y a donc encore une grande partie de variation pour laquelle nous n'avons pas trouvé d'explications.

Le fait que seule une moindre partie de la variabilité interindividuelle soit explicable peut être dû, en partie, à la difficulté de prendre en compte tous les facteurs qui sont connus agir sur la concentration de 25(OH)D et à l'éventuelle existence d'autres SNPs qui n'ont pas encore été mis en évidence. En effet, les SNPs analysés dans notre étude ont tous une fréquence allélique largement au-dessus de 5%. Des polymorphismes moins fréquents influençant le taux de 25(OH)D pourraient ne pas encore avoir été identifiés.

Cette constatation montre l'intérêt de poursuivre l'étude des variations génétiques dans la compréhension du métabolisme de la vitamine D chez les différents individus. De plus, à cause des limites de temps imposées dans ce travail, un certain nombre de facteurs connus pour leurs influence sur la concentration plasmatique de vitamine D n'ont pas encore été évalués et inclus dans les résultats ; il s'agit surtout de l'évaluation de l'influence des différentes combinaisons d'ARV et de la contribution des ARV individuellement.

En conclusion, dans cette étude nous avons évalué l'influence des différents facteurs non-génétiques trouvés dans la littérature et des facteurs génétiques identifiés par deux études d'association pangénomique sur la concentration plasmatique de 25(OH)D.

Les résultats obtenus ont permis d'identifier une association entre la 25(OH)D plasmatique et : la saison, le BMI, le tabagisme et un SNP (rs2282679) sur le gène *GC*. Ces facteurs permettent d'expliquer 8% de la variabilité interindividuelle totale.

L'effort pour une meilleure compréhension des causes de la haute prévalence de déficience en vitamine D dans la population VIH-positive, où cette condition est particulièrement fréquente, est important en raison des conséquences graves pour la santé auxquelles cette condition chroniquement subie peut amener; principalement les fractures osseuses qui sont conséquence de la survenue de l'ostéoporose. L'ostéoporose est, en effet, une conséquence à long terme de la déficience en vitamine D.

L'identification précise des causes de déficience en vitamine D dans une population qui est déjà vulnérable en soi est important, afin de mieux prévenir et prendre en charge une condition qui peut conduire à une invalidité importante et qui est facile à traiter.

RÉMERCIEMENTS:

En dernier, j'aimerais remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire : en particulier le Professeur Amalio Telenti et tout l'Institut de Microbiologie, ma cotutrice Margalida Rotger qui m'a suivi pas après pas; les patients qui ont donné leur consentement pour participer à la SHCS; la Doctoresse Guidi et la Doctoresse Csajka qui du Service de Pharmacologie Clinique; Madame Claudia Foletti qui a corrigé mon français; à toutes les personnes qui se sont intéressées à mon travail pendant sa réalisation et qui ont contribué à en reconnaître l'importance ou qui, simplement par leur présence, m'ont permis d'en goûter toute la beauté.

BIBLIOGRAPHIE:

- 1- Stefan Pilz et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clinical Endocrinology* (2011) 75, 575–584.
- 2- Hector F DeLuca. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(suppl):1689S–96S.
- 3- R. Bouillon, G. Carmeliet, E. Daci, S. Segaert and A. Verstuyf. Vitamin D Metabolism and Action. *Osteoporos Int* (1998) Suppl. 8:S13–S19.
- 4- P. Lips. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 92 (2006) 4–8.
- 5- Armin Zittermann, Jan F. Gummert. Non classical Vitamin D Actions. *Nutrients* 2010, 2, 408-425; doi:10.3390/nu2040408.
- 6- Yongji Wang, Jingzhu Zhu, Hector F. DeLuca. Where is the vitamin D receptor? *Archives of Biochemistry and Biophysics* 523 (2012) 123–133.
- 7- Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int*. 1997;7:439-443.
- 8- Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*. 2003;22:142-146.
- 9- Heaney RP. Functional indices of vitamin D status and ramifications of vitamin D deficiency. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6, suppl):1706S-1709S.
- 10- [Durazo-Arvizu RA, Dawson-Hughes B, Sempos CT, et al. Three-phase model harmonizes estimates of the maximal suppression of parathyroid hormone by 25-hydroxyvitamin D in persons 65 years of age and older. *J Nutr* 2010; 140:595.](#)
- 11- Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81:353-73.
- 12- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18-28.
- 13- Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998;351:805-6.
- 14- Thomas KK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, et al. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med* 1998;338:777-83.
- 15- Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
- 16- IOM (Institute of Medicine) 2011 Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington DC: The National Academies Press.
- 17- McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 1992;93:69-77.
- 18- Holick MF et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, July 2011, 96(7):1911–1930.
- 19- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6, suppl):1678S-1688S.
- 20- Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006; 116:2062-72.
- 21- Eriksen EF, Glerup H. Vitamin D deficiency and aging: implications for general health and osteoporosis. *Biogerontology*. 2002;3:73-77.
- 22- Exton-Smith AN, Hodkinson HM, Stanton BR. Nutrition and metabolic bone disease in old age. *Lancet*. 1966;2:999-1001.
- 23- Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:362-371.
- 24- Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2001;22:477-501.
- 25- Daly RM et al. Calcium- and Vitamin D3-Fortified Milk Reduces Bone Loss at Clinically Relevant Skeletal Sites in Older Men: A 2-Year Randomized Controlled Trial.
- 26- Plotnikoff GA, Quigley JM. Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. *Mayo Clin Proc*. 2003;78:1463-1470.
- 27- Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged ≥60 y. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:752-758.
- 28- Boland R. Role of vitamin D in skeletal muscle function. *Endocr Rev*. 1986;7:434-448.
- 29- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, et al. Effect of vitamin D on falls: a meta-analysis. *JAMA*. 2004;291:1999-2006.

- 30- Gorham ED, Garland CF, Garland FC, et al. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005;97:179-94.
- 31- Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, et al. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:451-9.
- 32- Ahonen MH, et al. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control* 2000;11:847-52.
- 33- Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, et al. Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1502-8.
- 34- Garland CF, Gorham ED, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 2006;96:252-61.
- 35- Zhao XY, Feldman D. The role of vitamin D in prostate cancer. *Steroids*. 2001;66:293-300.
- 36- Polek TC, Weigel NL. Vitamin D and prostate cancer. *J Androl*. 2002;23:9-17.
- 37- John EM, Schwartz GG, Dreon DM, Koo J. Vitamin D and breast cancer risk: the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1975 to 1992: National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999;8:399-406.
- 38- Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res*.2000;87:214-220.
- 39- Ylikomi T, Laaksi I, Lou YR, et al. Antiproliferative action of vitamin D. *Vitam Horm*. 2002;64:357-406.
- 40- DeLuca H. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:1689S-1696S.
- 41- Schmidt-Gayk H, Goossen J, Lendle F, Seidel D. Serum 25-hydroxycholecalciferol in myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 1977;26:55-58.
- 42- Zittermann A, Schleithoff SS, Tenderich G, Berthold HK, Körfe R, Stehle P. Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:105-112.
- 43- Lu Wang et al. Circulating 25-Hydroxy-Vitamin D and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Prospective Studies. [Circ Cardiovasc Qual Outcomes](#). 2012 Nov 13.
- 44- Karakas et al. Low Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Associated with Increased Risk of Myocardial Infarction, Especially in Women: Results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study.
- 45- Holick MF. Clinical efficacy of $1,25$ -dihydroxyvitamin D₃ and its analogues in the treatment of psoriasis. *Retinoids* 1998;14:12-17.
- 46- Perez A, Chen TC, Turner A, et al. Efficacy and safety of topical calcitriol ($1,25$ -dihydroxyvitamin D₃) for the treatment of psoriasis. *Br J Dermatol*. 1996;134:238-246.
- 47- Smith EL, Walworth NC, Holick MF. Effect of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ on the morphologic and biochemical differentiation of cultured human epidermal keratinocytes grown in serum-free conditions. *J Invest Dermatol*. 1986;86:709-714.
- 48- Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, $1,25$ -dihydroxyvitamin D₃, and the immune system. *Am J Clin Nutr* 2004;80:Suppl 6:1717S-1720S.
- 49- Ponsonby A-L, McMichael A, van der Mei I. Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology* 2002;181-182:71-8.
- 50- VanAmerongen BM, Dijkstra CD, Lips P, Polman CH. Multiple sclerosis and vitamin D: an update. *Eur J Clin Nutr* 2004;58:1095-109.
- 51- Leibowitz U, Sharon D, Alter M. Geographical considerations in multiple sclerosis. *Brain*. 1967;90:871-886.
- 52- Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832-8.
- 53- Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62:60-5.
- 54- Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin M-R, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birthcohort study. *Lancet* 2001;358:1500-3.
- 55- Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50:72-7.
- 56- McGrath J, Seltzer JP, Chant D. Longterm trends in sunshine duration and its association with schizophrenia birth rates and age at first registration — data from Australia and the Netherlands. *Schizophr Res* 2002;54:199-212.
- 57- Gloth FM III, Alam W, Hollis B. Vitamin D vs. broad spectrum phototherapy in the treatment of seasonal affective disorder. *J Nutr Health Aging* 1999;3:5-7.

- 58- Melamed ML et al. 25-Hydroxyvitamin D Levels, Race, and the Progression of Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 20: 2631–2639, 2008.
- 59- Clemens TL, Adams JS, Henderson SL, Holick MF. Increased skin pigmentation reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. 1982 *Lancet* 1:74–76.
- 60- Forrest KY, Stuhldreher WL. Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. *Nutrition Research* 31 2011, 48–54.
- 61- Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. 2008 *J Clin Endocrinol Metab* 67:373–378.
- 62- Chen TC, Chimeh F, Lu Z et al. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. 2007 *Arch Biochem Biophys* 460:213–217.
- 63- Zadshir A, Tareen N, Pan D et al. The prevalence of hypovitaminosis D among US adults: data from the NHANESIII. 2005 *Ethn Dis* 15: 97S–101S.
- 64- Vanderwielen RPJ, Lowik MRH, Vandenberg H et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. 1995 *Lancet* 346:207–210.
- 65- Hannan MT, Litman HJ, Araujo AB et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density in a racially and ethnically diverse group of men. 2008 *J Clin Endocrinol Metab* 93:40–46.
- 66- A Benjamin, A Moriakova, N Akhter, D Rao, H Xie, S Kukreja, E Barengolts. Determinants of 25-hydroxyvitamin D levels in African-American and Caucasian male veterans. 2009 *Osteoporos Int* 20:1795–1803.
- 67- Weisman Y, RJ Schen, Z Eisenberg, S Edelstein, A Harell. Inadequate status and impaired metabolism of vitamin D in the elderly. 1981 *Isr J Med Sci* 17:19-21.
- 68- Omdahl, JL, PJ Garry, LA Hunsaker, WC Hunt, and JS Goodwin. Nutritional status in a healthy elderly population: vitamin D. 1982 *Am J Clin Nutr* 36:1225-1233.
- 69- Julia MacLaughlin and Michael F. Holick. Aging Decreases the Capacity of Human Skin to Produce Vitamin D3. *J Clin Invest* Volume 76, October 1985, 1536-1538.
- 70- Agarwal KS, Mughal MZ, Upadhyay P et al. The impact of atmospheric pollution on vitamin D status of infants and toddlers in Delhi India. 2002 *Arch Dis Child* 87:111–113.
- 71- Hosseinpanah F, Pour SH, Heibatollahi M, Moghbel N, Asefzade S, Azizi F. The effects of air pollution on vitamin D status in healthy women: a cross sectional study. *BMC Public Health*. 2010 Aug 29;10:519.
- 72- Marx SJ. Vitamin D and other calciferols. In: Scriver CR (ed) *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill Inc., New York 1995,3091-3107.
- 73- Van Dam RM, Snijder MB, Dekker JM et al. Potentially modifiable determinants of vitamin D status in an older population in the Netherlands: the Hoorn Study. 2007 *Am J Clin Nutr* 85:755–761.
- 74- Brustad M, Sandanger T, Aksnes L, Lund E. Vitamin D status in a rural population of northern Norway with high fish liver consumption. *Public Health Nutr* 2004 7:783–789.
- 75- Matsuoka LY, Wortsman J, Hanifan N, Holick MF. Chronic sunscreen use decreases circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D: preliminary study. 1988 *Arch Dermatol* 1124:1802–1804.
- 76- Judkins A, Eagleton C. Vitamin D deficiency in pregnant New Zealand women. 2006 *N Z Med J* 119:U2144.
- 77- Challa A, Ntourntoufi A, Cholevas V et al. Breastfeeding and vitamin D status in Greece during the first 6 months of life. 2005 *Eur J Pediatr* 164:724–729.
- 78- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. 2000 *Am J Clin Nutr* 72:690–693.
- 79- Snijder MB, van Dam RM, Visser M et al. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. 2005 *J Clin Endocrinol Metab* 90:4119–4123.
- 80- Fuleihan EG, Deeb M. Hypovitaminosis D in a sunny country. 1999 *N Engl J Med* 340:1840–1841.
- 81- El Sonbaty MR, AbdulGhaffar NU. Vitamin D deficiency in veiled Kuwaiti women. 1996 *Eur J Clin Nutr* 50:315–318.
- 82- Harris SS, Soteriades E, Coolidge JA et al. Vitamin D insufficiency and hyperparathyroidism in a low income, multiracial, elderly population. 2000 *J Clin Endocrinol Metab* 85:4125–4130.
- 83- Cutillas-Marco E, Fuertes-Prosper A, Grant WB, Morales-Suárez-Varela M. Vitamin D deficiency in South Europe: effect of smoking and aging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2012 Jun;28(3):159-61.
- 84- Grimnes G et al. Effect of smoking on the serum levels of 25-hydroxyvitamin D depends on the assay employed. *Eur J Endocrinol*. 2010 Aug;163(2):339-48. Epub 2010 May 17.

- 85- Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 1999 Dec;53(12):920-6.
- 86- American Gastroenterological Association. Technical Review on Osteoporosis in Gastrointestinal Diseases. *Gastroenterology* 2003;124:795-841.
- 87- Mora S, Barera G, Ricotti A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1998;67: 477–481.
- 88- Thompson GR. Vitamin D deficiency after gastrectomy. *Sci Basis Med Annu Rev* 1970;;260–275.
- 89- Gertner JM, Lilburn M, Domenech M. 25-hydroxycholecalciferol absorption in steatorrhea and postgastrectomy osteomalacia. *BMJ* 1977;1:1310–1312.
- 90- Jason M Johnson, James W Maher, Eric J DeMaria, Robert W Downs, Luke G Wolfe, and John M Kellum. The Long-term Effects of Gastric Bypass on Vitamin D Metabolism. *Ann Surg* 2006;243: 701–705.
- 91- Jung RT, Davie M, Siklos P, Chalmers TM, Hunter JO, Lawson DEM. Vitamin D metabolism in acute and chronic cholestasis. *Gut* 1979; 20: 840-7.
- 92- Thompson GR, Lewis B, Booth CC. Absorption of vitamin D₃-³H in control subjects and patients with intestinal malabsorption. *J Clin Invest* 1966; 45: 94-102.
- 93- Hepner GW, Roginsky M, Moo HF. Abnormal vitamin D metabolism in patients with cirrhosis. *Dig Dis* 1976; 21: 527-32.
- 94- Jung RT, Davie M, Hunter JO, Chalmers TM, Lawson DEM. Abnormal vitamin D metabolism in cirrhosis. *Gut* 1978; 19: 290-3.
- 95- A Kuwabara et al. High prevalence of vitamin K and D deficiency and decreased BMD in inflammatory bowel disease. *2009 Osteoporos Int* 20:935–942.
- 96- Bartram SA, Peaston RT, Rawlings DJ et al. Multifactorial analysis of risk factors for reduced bone mineral density in patients with Crohn's disease. *2006 World J Gastroenterol* 12:5680–5686.
- 97- Ford ES, Ajani UA, McBuire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care* 2005;28:1228-30.
- 98- Lind L, Hanni A, Lithell H, Hvarfner A, Sorensen OH, Ljunghall S. Vitamin D is related to blood pressure and other cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Am J Hypertens* 1995;8:894-901.
- 99- Rotondi M, Chiovato L. Vitamin D deficiency in patients with Graves' disease: probably something more than a casual association. *Endocrine.* 2012 Aug 25.
- 100- Tamer G, Arik S, Tamer I, Coksert D. Relative vitamin D insufficiency in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid.* 2011 Aug;21(8):891-6. Epub 2011 Jul 13.
- 101- Khanna R, Shen B. Adverse metabolic sequelae following restorative proctocolectomy with an ileal pouch. *Gastroenterol Hepatol.* 2012 May;8(5):322-6.
- 102- Elder GJ, Mackun K. 25-Hydroxyvitamin D deficiency and diabetes predict reduced BMD in patients with chronic kidney disease. *J Bone Miner Res* 2006; 21:1778.
- 103- Gonzalez EA, Sachdeva A, Oliver DA, Martin KJ. Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease. A single center observational study. *2004 Am J Nephrol* 24: 503–510.
- 104- Khamiseh G et al. Vitamin D absorption, plasma concentration and urinary excretion of 25-hydroxyvitamin D in nephrotic syndrome. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1991 Feb;196(2):210-3.
- 105- Hahn TJ, AE Squires, LR Halstead, and DB Strominger. Reduced serum 25-hydroxyvitamin D concentration and disordered mineral metabolism in patients with cystic fibrosis. *1979 J Pediatr* 94:38–42.
- 106- Tangpricha V et al. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr;97(4):1082-93. Epub 2012 Mar 7.
- 107- Huisman AM, White KP, Algra A, et al. Vitamin D levels in women with systemic lupus erythematosus and fibromyalgia. *J Rheumatol.* 2001;28:2535-2539.
- 108- Gordon L Klein, Tai C Chen, Michael F Holick, Craig B Langman, Heather Price, Mario M Celis, David N Herndon. Synthesis of vitamin D in skin after burns. *Lancet* 2004; 363: 291–92.
- 109- Klein GL, Langman CB, Herndon DN. Vitamin D depletion following burn injury in children: a possible factor in post-burn osteopenia. *J Trauma* 2002; 52: 346–50.
- 110- Persson LJ, Aanerud M, Hiemstra PS, Hardie JA, Bakke PS, Eagan TM. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with low levels of vitamin D. *PLoS One.* 2012;7(6):e38934. Epub 2012 Jun 21.

- 111- Franco CB et al. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with osteoporosis and low levels of vitamin D. *Osteoporos Int*. 2009 Nov;20(11):1881-7. Epub 2009 Mar 20.
- 112- Rios-Fernández R et al. Bone mass and vitamin D in patients with systemic sclerosis from two Spanish regions. *Clin Exp Rheumatol*. 2012 Aug 4.
- 113- Napoli N et al. High prevalence of low vitamin D and musculoskeletal complaints in women with breast cancer. *Breast J* 2010 Nov-Dec;16(6):609-16.
- 114- Crew KD, Shane E, Cremers S, McMahon DJ, Irani D, Hershman DL. High prevalence of vitamin D deficiency despite supplementation in premenopausal women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2009 May 1;27(13):2151-6. Epub 2009 Apr 6.
- 115- Lee DM et al. Association of hypogonadism with vitamin D status: the European Male Ageing Study. *Eur J Endocrinol*. 2012 Jan;166(1):77-85. Epub 2011 Nov 2.
- 116- Wehr E, Pilz S, Boehm BO, März W, Obermayer-Pietsch B. Association of vitamin D status with serum androgen levels in men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010 Aug;73(2):243-8. Epub 2009 Dec 29.
- 117- Varsavsky M et al. Serum 25 OH vitamin D concentrations and calcium intake are low in patients with prostate cancer. *Endocrinol Nutr*. 2011 Nov;58(9):487-91. Epub 2011 Oct 20.
- 118- Kamen DL. Vitamin D in Lupus. *New Kid on the Block? Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2010;68(3):218-22.
- 119- Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T et al. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. 2009 *Osteoporos Int* 20, 427–433.
- 120- Gröber U, Holick MF, Kisters K. Vitamin D and drugs. *Med Monatsschr Pharm*. 2011 Oct;34(10):377-87.
- 121- Bohannon AD, Lyles KW. Drug-induced bone disease. *Clin Geriatr Med*. 1994 Nov;10(4):611-23.
- 122- Välimäki MJ, Tiihonen M, Laitinen K, et al. Bone mineral density measured by dual-energy x-ray absorptiometry and novel markers of bone formation and resorption in patients on antiepileptic drugs. *J Bone Miner Res* 1994; 9:631.
- 123- Sotaniemi EA, Hakkarainen HK, Puranen JA, Lahti RO. Radiologic bone changes and hypocalcemia with anticonvulsant therapy in epilepsy. *Ann Intern Med* 1972; 77:389.
- 124- Hahn TJ. Drug-induced disorders of vitamin D and mineral metabolism. *Clin Endocrinol Metab* 1980; 9:107.
- 125- Skversky AL, Kumar J, Abramowitz MK, Kaskel FJ, Melamed ML. Association of glucocorticoid use and low 25-hydroxyvitamin D levels: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2001-2006. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Dec;96(12):3838-45.
- 126- Davidson ZE, Walker KZ, Truby H. Clinical review: Do glucocorticosteroids alter vitamin D status? A systematic review with meta-analyses of observational studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Mar;97(3):738-44. Epub 2011 Dec 21.
- 127- David J. Baylink, M.D. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis *N Engl J Med* 1983; 309:306-308 August 4, 1983.
- 128- C. Allavena, C. Delpierre, L. Cuzin, D. Rey, N. Viget, J. Bernard, P. Guillot, C. Duvivier, E. Billaudand , F. Raffi. High frequency of vitamin D deficiency in HIV-infected patients: effects of HIV-related factors and antiretroviral drugs. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 2222 –2230.
- 129- Brown TT, McComsey GA. Association between initiation of antiretroviral therapy with efavirenz and decreases in 25-hydroxyvitamin D. *Antivir Ther* 2010;15:425–429.
- 130- Welz T, Childs K, Ibrahim F, PoultonM, Taylor CB, Moniz CF, et al. Efavirenz is associated with severe vitamin D deficiency and increased alkaline phosphatase. *Post FA* 2010. *Aids* 24:1923–1928.
- 131- Fox J, Peters B, Prakash M, Arribas J, Hill A, Moecklinghoff C. Improvement in vitamin D deficiency following antiretroviral regime change: results from the MONET trial. 2011 *AIDS Res Hum Retrovir* 27:29–34.
- 132- Stellbrink HJ et al. Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. 2010 *Clin Infect Dis* 51:963–972.
- 133- Van Vonderen M, Lips P, van Aagtmael M, et al. First line zidovudine/lamivudine/lopinavir/ritonavir leads to greater bone loss compared to nevirapine/opinavi/ritonavir. *AIDS* 2009;23:1367-76.
- 134- Peter Burckhardt. Vitamine D et ostéoporose. *Forum Med Suisse* 2006;6:788–793.
- 135- Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5387-5391.
- 136- Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, Reitz R, Salameh W, Ameri A, Tannenbaum AD 2008 Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 93:677–681.
- 137- Biancuzzo RM et al. Fortification of orange juice with vitamin D 2 or vitamin D 3 is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am J Clin Nutr* 2010. 91:1621–1626.

- 138- Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D 3 is more potent than vitamin D 2 in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 96:E447–E452.
- 139- Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, et al. Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3430-5.
- 140- Smith H et al. Effect of annual intramuscular vitamin D on fracture risk in elderly men and women—a population-based, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rheumatology* 2007;46:1852–1857.
- 141- Sanders KM et al. Annual High-Dose Oral Vitamin D and Falls and Fractures in Older Women: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*, May 12, 2010—Vol 303, No. 18.
- 142- Strachan T, Read A. *Human Molecular Genetics* (4 ed.). Garland Science. pp. 467–495. ISBN 978-0-8153-4149-9.
- 143- Hindorf LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS, Manolio TA. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *2009 Proc Natl Acad Sci USA* 106:9362–9367.
- 144- Eichler EE, Flint J, Gibson G, Kong A, Leal SM, Moore JH, Nadeau JH. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nat Rev Genet* 2010, 11:446–450.
- 145- [Orton SM](#) et al. Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr.* 2008 Aug;88(2):441-7.
- 146- [Bu FX](#) et al. Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet.* 2010 Nov;128(5):549-56.
- 147- Fakruddin JM, Laurence J. HIV envelope gp120-mediated regulation of osteoclastogenesis via receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) secretion and its modulation by certain HIV protease inhibitors through interferon-gamma/RANKL cross-talk. *J Biol Chem* 2003; 278:48251–48258.
- 148- [Engelman CD](#) et al. Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sep;93(9):3381-8.
- 149- Ahn J et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Human Molecular Genetics*, 2010, Vol. 19, No. 13 2739–2745.
- 150- Wang TJ et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. 10 June 2010 DOI:10.1016/S0140-6736(10)60588-0.
- 151- Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta* 2006; 372: 33–42.
- 152- Cheng, J.B., Levine, M.A., Bell, N.H., Mangelsdorf, D.J. and Russell, D.W. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. 2008 Proc. Natl Acad. Sci. USA, 101, 7711–7715.
- 153- Waterham, H.R. and Wanders, R.J. Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Biochim. Biophys. Acta* 2000, 1529, 340–356.
- 154- Brown TT and Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 2006, 20:2165–2174.
- 155- M. Rodriguez et al. High Frequency of Vitamin D Deficiency in Ambulatory HIV-Positive Patients. *AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES*, Volume 25, Number 1, 2009.
- 156- Van Den Bout-Van Den Beukel CJ, Fievez L, Michels M, Sweep FC, Hermus AR, Bosch ME, Burger DM, Bravenboer B, Koopmans PP, Van Der Ven AJ: Vitamin D deficiency among HIV type 1-infected individuals in the Netherlands: effects of antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008, 24:1375-1382.
- 157- Mueller NJ, Fux CA, Ledergerber B et al. High prevalence of severe vitamin D deficiency in combined antiretroviral therapy-naïve and successfully treated Swiss HIV patients. *AIDS* 2010; 24: 1127–34.
- 158- Aukrust P, Haug CJ, Ueland T, Lien E, Muller F, Espevik T, et al. Decreased bone formative and enhanced resorptive markers in human immunodeficiency virus infection: indication of normalization of the bone-remodeling process during highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:145–150.
- 159- Foissac et al. Vitamin D3 supplementation scheme in HIV-infected patients based upon a pharmacokinetic modeling of 25-hydroxycholecalciferol. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2012.
- 160- Ann R. Webb. Who, what, where and when—influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 92 (2006) 17–25.
- 161- Compston JE et al. Vitamin D status and bone histomorphometry in gross obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 2359-2363, 1981.
- 162- Bell NH et al. Evidence for Alteration of the Vitamin D-Endocrine System in Obese Subjects. *J. Clin. Invest.* July 1985, 370-373.
- 163- Liel Y, Ulmer E, Shary J, Hollis BW, Bell NH. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcif Tissue Int* 1988;43:199–201.

- 164- Orrenius S, McConkey DJ, Bellomo G, Nicotera P (1989): Role of Ca²⁺ in toxic cell killing. *Trends Pharm. Pharmacol. Sci.* 10, 281 – 285.
- 165- Sinotte, M., Diorio, C., Berube, S., Pollak, M. and Brisson, J. Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009;89,634–640.
- 166- Lauridsen AL, Vestergaard P, Hermann AP, et al. Plasma concentrations of 25-hydroxy-vitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D are related to the phenotype of Gc (vitamin D-binding protein): a cross-sectional study on 595 early postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2005;77:15–22.
- 167- Safadi FF, Thornton P, Magiera H, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999;103:239–51.