



**HAL**  
open science

# Effet de la vitamine D sur les marqueurs métaboliques et la fonction musculaire : étude chez des sujets libanais âgés, normo-pondéraux ou obèses

Cynthia El Hajj

► **To cite this version:**

Cynthia El Hajj. Effet de la vitamine D sur les marqueurs métaboliques et la fonction musculaire : étude chez des sujets libanais âgés, normo-pondéraux ou obèses. Alimentation et Nutrition. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2019. Français. NNT : 2019CLFAS015 . tel-02521297

**HAL Id: tel-02521297**

**<https://theses.hal.science/tel-02521297>**

Submitted on 27 Mar 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, SANTE, AGRONOMIE,

ENVIRONNEMENT

CLERMONT-FERRAND

Thèse

Présentée à l'Université Clermont Auvergne

pour l'obtention du grade de DOCTEUR

(Décret du 5 juillet 1984)

Discipline : Nutrition

*Présentée et Soutenue par Cynthia Elias EL HAJJ*

**Effet de la vitamine D sur les marqueurs métaboliques et la fonction musculaire : étude  
chez des sujets libanais âgés, normo-pondéraux ou obèses.**

Le 21 Mai 2019

Jury

Rapporteur : Pr Marc Bonnefoy, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, Service Universitaire de Gériatrie, Inserm 1060-CarMeN, Lyon

Rapporteur : Dr Jean-François Landrier, Directeur de Recherche INRA, UMR INSERM 1263, INRA 1260, Université Aix Marseille, Marseille

Examineur : Dr Catherine Feart, Chargée de Recherche INSERM, UMR INSERM U1219 - Université de Bordeaux, Bordeaux

Examineur : Pr Corinne Malpuech-Brugère, Professeur des Universités, UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, INRA-Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

Examineur : Dr Christelle Guillet, Maître de Conférences des Universités, UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, INRA-Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

Directeur de thèse : Pr Stéphane Walrand, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, INRA-Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

## REMERCIEMENTS

A Messieurs et Madame les membres du jury,

A Monsieur le professeur **Marc Bonnefoy**, Monsieur le Dr **Jean-François Landrier**, Madame le Dr **Catherine Feart**, Madame le Pr **Corinne Malpuech-Brugère** et Madame le Dr **Christelle Guillet** d'accepter d'être membres du jury

A Monsieur le Docteur **Stéphane Walrand**, d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse, pour sa présence, sa motivation, ses conseils et son soutien. C'est toi qui m'as épaulé durant ce parcours de thèse. Merci d'être à mes côtés, merci pour ta confiance et ta disponibilité. Ce fut un très grand plaisir de travailler avec toi.

A Sœur **Bernadette ROUHALEM**, directrice de l'hôpital Saint Charles, pour son soutien et son enthousiasme.

A l'hôpital **Saint Charles**, Fiyadiyah, Liban, pour son aide dans la réalisation des dosages biologiques et l'inclusion des sujets de l'étude.

A **Souha FARES**, pour son aide précieuse en analyse statistique.

A ceux qui ont, de près ou de loin, aidé ou participé à l'élaboration de cette thèse.

A ma famille,

mes parents, pour leur amour et leur confiance en moi tout au long de ces années.

## Résumé

Le rôle principal de la vitamine D est de contrôler l'homéostasie phosphocalcique de l'organisme. Les études observationnelles récentes ont montré que la vitamine D est également capable de réguler la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'insuline, jouant ainsi un rôle important dans la régulation de l'homéostasie du glucose. De plus, il a été montré que la vitamine D exerce un effet sur la santé musculaire. A titre d'exemple, un déficit en vitamine D influence négativement la masse et la fonction musculaires chez les personnes âgées. Il est à noter que selon certaines études, la correction d'une déficience en vitamine D est capable d'améliorer la fonction contractile et la force musculaires dans cette population. En outre, le niveau d'activité physique diminue avec l'âge, ce qui affecte négativement la masse et les capacités musculaires, et conduit à une prise de poids, principalement sous forme de masse grasse. Or, des études ont révélé que les personnes âgées en surpoids étaient caractérisées par des concentrations sanguines de vitamine D plus basses, associées à une masse et une force musculaire plus faibles comparativement à une population de référence de même âge.

Aussi l'objectif principal de la thèse était **d'évaluer les effets d'un apport complémentaire de vitamine D sur l'homéostasie du glucose et l'indice de résistance à l'insuline, ainsi que sur la masse musculaire appendiculaire (ASMM) et la force musculaire chez des personnes âgées normo-pondérales ou en surpoids**. Ces travaux sont basés sur un essai contrôlé randomisé, réalisé en simple aveugle. En termes de résultats, nous avons montré qu'un apport de vitamine D chez des sujets âgés normo-pondéraux ou en surpoids ayant de faibles statuts a permis d'améliorer à court terme la glycémie à jeun et les marqueurs de résistance à l'insuline. L'augmentation du taux sérique de 25-hydroxyvitamine D [25 (OH) D] après la complémentation a entraîné une baisse significative des taux d'insuline à jeun et de l'indice HOMA-IR. Nous avons pu identifier une corrélation entre de faibles concentrations sériques de [25 (OH) D] et une diminution de la tolérance au glucose et un risque accru de diabète de type 2.

Concernant les marqueurs musculaires, nous avons observé qu'une complémentation en vitamine D influençait positivement la masse musculaire appendiculaire et la masse grasse chez les hommes et les femmes âgés en surpoids. Cependant, nous n'avons trouvé aucun effet significatif sur la force musculaire. Nous avons également relevé que les sujets âgés sarcopéniques en surpoids étaient caractérisés par un taux sérique de [25 (OH) D] inférieur au départ de l'étude. De plus, l'augmentation de la masse musculaire après un apport de vitamine D restait inférieure à celle des sujets normo-pondéraux.

Ce travail de thèse montre qu'il semble nécessaire de surveiller le statut en vitamine D chez le sujet âgé surtout lorsqu'il est en surpoids.

**Mots clefs : Sujets âgés, surpoids, vitamine D, HOMA-IR, résistance à l'insuline, masse musculaire, force musculaire, sarcopénie**

## Abstract

The main role of vitamin D is to control the homeostasis of the phosphorus and calcium status. Recent observational studies have shown that vitamin D is also able to regulate insulin secretion and insulin sensitivity, thus playing an important role in the regulation of glucose homeostasis. In addition, vitamin D has been shown to modulate muscle health. For example, vitamin D deficiency negatively influences muscle mass and muscle function in the elderly. Studies have clearly shown that correcting vitamin D deficiencies improves muscle contractile function and muscle strength in this population. In addition, the level of physical activity decreases with age, that negatively affects muscle mass and contractile function, and leads to weight gain, mainly due to increased body fat. However, studies have found that overweight seniors are characterized by lower blood vitamin D levels, lower muscle mass and strength compared to a reference age population.

The main objective of this work was **to evaluate the effects of vitamin D supplementation on glucose homeostasis and insulin resistance index, as well as on appendicular muscle mass (ASMM) and muscle strength in normal weight or overweight older people**. This work is based on a randomized controlled trial, performed in single blind. In terms of results, we show that vitamin D intake in normal or overweight elderly subjects, characterized by a low vitamin D status, improved short-term fasting glucose and insulin resistance markers. The increase in serum 25-hydroxyvitamin D [25 (OH) D] after supplementation resulted in a significant decrease in fasting insulin levels and in HOMA-IR index. We were able to identify a correlation between low serum concentrations of [25 (OH) D] and a decrease in glucose tolerance and an increased risk of type 2 diabetes.

Regarding muscle markers, we have shown that vitamin D supplementation has beneficial implications on appendicular muscle mass and fat mass in elderly men and women. However, we found no significant effect on muscle strength. We also found that overweight subjects had a lower serum [25 (OH) D] at baseline. In addition the increase in muscle mass after vitamin D intake was lower in this group than in normal weight subjects.

Overall, this work shows that it is necessary to monitor the vitamin D status in older people, especially in overweight subjects.

**Keywords: older people, overweight, vitamin D, HOMA-IR, insulin resistance, muscle mass, muscle strength, sarcopenia.**

## ABREVIATIONS

Absorption bi-photonique à rayons X ou Dual-energy X-ray Absorptiometry	DEXA
Accident Vasculaire Cérébral	AVC
Apport nutritionnel conseillé	ANC
c-Jun N-terminal kinases	JNK
Chaînes lourdes de myosine	MHC
Consommation maximale d'oxygène	VO2 max
Eléments de Réponse à la Vitamine D	VDRE
Enquête Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires	INCA
Extracellular signal-Regulated Kinases	ERK
Fibroblast Growth Factor	FGF 23
Groupe de Travail Européen sur la Sarcopénie des Populations âgées	EWGSOP
Hémoglobine glyquée	HbA1c
Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance	HOMA-IR
Hormone de croissance (GH) et (IGF-1)	GH
HyperGlycémie Provoquée par voie Orale	HGPO
Indice de masse corporel	IMC
Index de masse musculaire squelettique	SMI
Institute of Medicine	IOM
Insulin growth factor	IGF-1
Interleukine	IL
Masse musculaire squelettique appendiculaire	ASM

Mitogen-Activated Protein Kinases	MAPK
National Health and Nutrition Examination Survey	NHANES
Odd Ratio	OR
Parathormone ou hormone parathyroïdienne	PTH
Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma	PPAR $\gamma$
Récepteurs à la ryanodine	RyR
Récepteur à la vitamine D	VDR
Receptor Activator for Nuclear Factor Ligand	RANKL
Recommended Dietary Allowance	RDA
Retinoid X Receptor	RXR
Short Physical Performance Battery	SPPB
SUpplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants	SUVIMAX
Tissue Growth Factor-b	TGF-b
Transient receptor potential cation channel, family V, member 6	TRPV6
Ultraviolets	UV
Ultraviolets B	UVB
Unité international	UI
Vitamin D-binding protein	VDBP
Vitesse de synthèse fractionnaire	FSR
1,25- dihydroxyvitamine D	[1,25(OH)D]
25- hydroxyvitamine D	[25(OH)D]



## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Teneurs des sources alimentaires de vitamine D	P 22
Tableau 2 : Recommandations Nutritionnelles en vitamine D pour la population française	P 24
Tableau 3 : Recommandations Nutritionnelles en vitamine D pour la population libanaise	P 27
Tableau 4 : Valeurs seuils utilisées pour classifier le statut vitaminique D pour les adultes et les adolescents	P 29
Tableau 5 : Les principales causes du déficit / carence en vitamine D	P 31
Tableau 6: Résumé des différentes actions cellulaires de la vitamine D au sein du muscle squelettique	P 47
Tableau 7 : Valeurs seuils de sarcopénie pour différentes populations de référence	P 62
Tableau 8 : Mécanismes de la réduction de la réponse anabolique durant la phase postprandiale chez le sujet âgé	P 68

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1: Structure chimique de la vitamine D <sub>2</sub> .	P 19
Figure 2: Structure chimique de la vitamine D <sub>3</sub> .	P 19
Figure 3: Voie de synthèse cutanée de la vitamine D	P 20
Figure 4 : Protocole de traitement d'attaque	P 33
Figure 6 : Rôle de la vitamine D sur l'insulinosécrétion	P 63
Figure 5 : Les principaux facteurs impliqués dans l'évolution et l'apparition de la sarcopénie chez le sujet âgé	P 37

## PUBLICATIONS

*Inclues dans la thèse*

Cynthia El Hajj, Jean-Michel Chardigny, Yves Boirie, Kaissar Yammine, Mariana Helou, Stéphane Walrand. **Effect of vitamin D treatment on glucose homeostasis and metabolism in Lebanese older adults: a randomized controlled trial.** J Nutr Health Aging. 2018; 22 (9): 1128-1132

Cynthia El Hajj, Souha Fares, Jean Michel Chardigny, Yves Boirie, Stéphane Walrand. **Vitamin D supplementation and muscle strength in pre-sarcopenic elderly Lebanese people: a randomized controlled trial.** Archives of Osteoporosis. Arch Osteoporos. 2018 Dec 19;14(1):4

*Non incluse dans la thèse*

Cynthia El Hajj, Kaissar Yammine, Amal Saad, Jean-Michel Chardigny, Yves Boirie, Mariana Helou, Stéphane Walrand. **Effect of vitamin D supplementation on inflammatory markers in non-obese Lebanese patients with type 2 Diabetes.** (En cours de correction)

## COMMUNICATIONS

**Cynthia El Hajj**, Souha Fares, Jean Michel Chardigny, Yves Boirie, Stéphane Walrand (2018).

*L'effet de la supplémentation en vitamine D sur la force et masse musculaire des sujets âgés.*

2ème journée de Nutrition et technologie alimentaire. Beyrouth. **Communication orale.**

**Cynthia El Hajj**, Souha Fares, Mariana Helou, Stephane Walrand. Statut en vitamine D : étude observationnelle en court séjour de gériatrie (2018). Journées Gériatriques et soins palliatifs Beyrouth. **Communication orale.**

**Cynthia El Hajj**, Jean-Michel Chardigny, Yves Boirie, Kaissar Yammine, Mariana Helou, Stéphane Walrand (2017). *Une supplémentation en vitamine D améliore la réponse métabolique et la sensibilité à l'insuline chez le sujet âgé.* 1er Congrès de l'accompagnement du sujet âgé. Beyrouth. **Communication orale.**

**Cynthia El Hajj**, Jean-Michel Chardigny, Yves Boirie, Kaissar Yammine, Mariana Helou, Stéphane Walrand (2017). *Vitamin D treatment improves glucose homeostasis and metabolism in Lebanese older adults.* 22<sup>nd</sup> WONCA European Conference. Prague. **Communication affichée.**

**Cynthia El Hajj**, Souha Fares, Jean Michel Chardigny, Yves Boirie, Stephane Walrand. *Vitamin D supplementation and muscle strength in sarcopenic older adults.* (2017). ICFSR 2017: International Conference on Frailty & Sarcopenia Research. **Communication affichée.**

**Cynthia El Hajj**, Mariana Helou, Stephane Walrand. Profil épidémiologique d'un patient sarcopénique dans un service de gériatrie (2016). Journées Gériatriques et soins palliatifs Beyrouth. **Communication orale.**

## SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	P 14
2. LA VITAMINE D	P 17
2.1 Origine et synthèse	P 17
2.2 Stockage	P 20
2.3 Elimination et toxicité	P 21
2.4 Sources	P 21
2.5 Besoins nutritionnels	P 23
2.6 Valeurs normales adoptée de la concentration sanguine de [25(OH)D]	P 28
2.7 Seuil d'insuffisance et de déficit	P 29
2.8 Causes de déficit ou de carence	P 30
2.9 Correction d'un déficit ou d'une carence	P 32
3. LES EFFETS BIOLOGIQUES DE LA VITAMINE D	P 35
3.1 Rôles biologiques de la vitamine D	P 35
3.1.1 <i>Sur le métabolisme phosphocalcique</i>	P 35
3.1.2 <i>Sur l'insulinosécrétion</i>	P 36
3.1.3 <i>Sur la régulation de la glycémie</i>	P 39
3.1.4 <i>Sur la régulation de l'inflammation</i>	P 40
3.1.5 <i>Sur la régulation de la lipémie et les maladies cardiovasculaires</i>	P 42
3.1.6 <i>Sur la masse, la fonction et le métabolisme musculaire</i>	P 44
3.2 Perturbations des rôles biologiques de la vitamine D au cours de l'obésité et du vieillissement	P 50
3.2.1 <i>Au cours de l'obésité</i>	P 50
3.2.2 <i>Au cours du vieillissement</i>	P 52
4. LA SARCOPENIE	P 57
4.1 Définition de la sarcopénie	P 57
4.2 Moyens de mesure de la masse musculaire et les valeurs seuils de la sarcopénie	P 58
4.3 Mécanismes physiologiques de la sarcopénie	P 63
4.4 Particularités de l'obésité sarcopénique	P 74

OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE	P 77
PUBLICATIONS ORIGINALES	P 80
Publication 1	P 81
Publication 2	P 102
DISCUSSION GENERALE	P 137
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	P 147
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	P 150

# **Introduction bibliographique**

## 1. INTRODUCTION

Le vieillissement altère graduellement tous les aspects de la santé et est associé à plusieurs changements physiologiques. Ces changements touchent les systèmes cardiovasculaires, rénaux, musculaires, squelettiques, nerveux, digestifs, hormonaux, sensoriels et immunitaires. Ils limitent les activités régulières, grèvent la qualité de vie et les rendent les sujets âgés plus vulnérables aux maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires et le diabète de type II.

La vitamine D (appelée aussi « vitamine soleil »), une vitamine liposoluble découverte en 1919 par Sir Edward Mellanby, contribue au métabolisme du squelette. Son rôle principal réside en effet dans la régulation de l'absorption du calcium et du phosphore au niveau intestinal. Ces nutriments sont utilisés par l'organisme pour la minéralisation osseuse lors du renouvellement de ce tissu. La vitamine D joue également un rôle important dans d'autres fonctions physiologiques comme par exemples le métabolisme du glucose et le maintien de la masse et de la contraction musculaires. Il a été en effet démontré que la vitamine D est un facteur important nécessaire à la sécrétion de l'insuline, et que la rectification du statut en vitamine D par des apports complémentaires à l'alimentation améliore la sensibilité à cette hormone. La vitamine D possèdent des propriétés anti-inflammatoires et de ce fait, elle réduit l'expression de médiateurs de l'inflammation (cytokines IL-1 et IL-6) contribuant à la résistance à l'insuline. A noter que les personnes obèses présentent un risque plus élevé de carence en vitamine D, ce qui pourrait augmenter le risque potentiel d'inflammation chronique, de résistance à l'insuline, de syndrome métabolique et des maladies cardiovasculaires.

La sarcopénie est considérée parmi les manifestations les plus fréquentes du vieillissement d'un individu. Elle se caractérise par une diminution progressive de la masse musculaire et/ou de la

force musculaire et/ou de la performance physique. Elle atteint plus de 23% des femmes françaises âgées de plus de 60 ans. Cette pathologie handicapante réduit la capacité du mouvement, ce qui peut conduire à la perte d'autonomie chez la personne âgée et à une augmentation du risque de chutes et de fractures. L'effet de la vitamine D sur la masse et la force musculaire a été proposé dans de nombreuses études publiées à partir des années 1920. Globalement, les résultats de ces études ont permis de montrer une amélioration des performances physiques et une augmentation de la masse musculaire des sujets traités par des UVB ou par des compléments contenant de la vitamine D. Des épreuves supplémentaires font état d'un effet positif sur la force musculaire, surtout au niveau des membres inférieurs. Concernant les mécanismes mis en jeu, une action régulatrice de la vitamine D sur les flux de calcium, l'homéostasie minérale et la certaines voies de signalisation contrôlant l'anabolisme protéique ont été mises en évidence au niveau du tissu musculaire.

Devant le manque de traitement médicamenteux de cette pathologie et l'absence de moyens prophylactiques, les professionnels de santé préconisent le déploiement de nouvelles stratégies pouvant aider à prévenir la sarcopénie. Des études cliniques récentes montrent l'importance de la vitamine D pour le fonctionnement musculaire laquelle pourrait donc représenter un nutriment clé pour la prévention et le traitement de cette pathologie. Précisément, la plupart des travaux indiquent des effets bénéfiques de la supplémentation en vitamine D sur la masse, la force ainsi que la fonction musculaires, surtout chez les personnes présentant un faible statut.

La première partie de ce manuscrit consiste en une revue bibliographique agencée en trois chapitres. Le premier apportera des notions générales concernant la vitamine D ainsi que les causes d'un déficit ou d'une carence et les mécanismes impliqués dans l'action et la régulation de cette vitamine. Le second est focalisé sur les effets biologiques de la vitamine D, notamment sur



l'insulino-sécrétion et la régulation de la glycémie, suivis par les perturbations observées avec l'avancée en âge et au cours de l'obésité. De plus, ce chapitre précise les effets et les mécanismes d'action de la vitamine D sur le muscle squelettique, ainsi que leurs perturbations au cours de l'obésité et du vieillissement. Enfin, le dernier chapitre bibliographique présente la définition, les causes, les conséquences et la prévention de la sarcopénie, avec un focus sur l'effet de la vitamine D sur la prévention de cette pathologie, ainsi que sur l'obésité sarcopénique. La seconde partie de ce manuscrit présente les objectifs du travail de thèse dont les résultats sont présentés en suivant sous formes de deux articles publiés. Une discussion générale basée sur l'interprétation des données recueillies et leur discussion par rapport aux dernières recherches et essais cliniques fait également l'objet d'un paragraphe. Enfin, les perspectives qui résultent de ce travail sont présentées à la fin du manuscrit.

## 2. LA VITAMINE D

### 2.1 Origine et synthèse

La vitamine D, ou calciférol, est une vitamine liposoluble qui peut être considérée comme une pro-hormone du fait de sa structure proche de celle des hormones stéroïdes (1). Elle est considérée comme un sécostéroïde. Elle existe naturellement sous deux formes (figures 1 & 2) :

- L'ergocalciférol ou vitamine D<sub>2</sub> qui est d'origine végétale. On la retrouve essentiellement dans les céréales, les champignons et les levures. Elle a comme précurseur, la provitamine D<sub>2</sub> ou ergostérol, un dérivé du cholestérol qui est transformé en ergocalciférol sous l'action des rayons ultraviolets B (UVB).
- La cholécalciférol ou vitamine D<sub>3</sub> qui peut avoir elle-même deux origines (1):
  - Endogène, c'est à dire synthétisée dans l'épiderme à partir du 7-déhydrocholestérol ou provitamine D<sub>3</sub>, issu du cholestérol, et présent dans les membranes des cellules du derme et de l'épiderme (figure 3). Sous l'effet des rayonnements UVB, ce composé est transformé en pré-vitamine D<sub>3</sub> et rapidement converti en vitamine D<sub>3</sub> sous l'effet de la chaleur, puis transporté dans le sang par une protéine, la vitamin D-binding protein (VDBP) (1,2). La transformation s'effectue uniquement lors d'une exposition au soleil à des longueurs d'ondes comprises entre 290 et 315 nm. La production excessive de vitamine D<sub>3</sub> est transformée en composé inactif ce qui explique qu'il n'existe pas d'intoxication à la vitamine D d'origine endogène (1,3).
  - Exogène, qui est présente dans les aliments tels que les poissons gras, les produits laitiers et les œufs.

Suite à la synthèse cutanée, deux hydroxylations consécutives vont être nécessaires pour transformer le cholécalférol en composé actif:

- La première, au niveau du foie via l'activité de l'enzyme 25-hydroxylase aboutissant à la synthèse de la 25(OH)-vitamine D ou [25(OH) D] ou calcidiol;
- La deuxième hydroxylation de la [25(OH) D], au niveau du rein, plus précisément dans les cellules tubulaires, grâce à l'enzyme 1-hydroxylase aboutissant à un métabolite actif dihydroxylé, la 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamine D [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] ou calcitriol. Le calcitriol va par exemple avoir une action au niveau de la cellule intestinale, pour faciliter l'absorption active du calcium et du phosphore. C'est la forme active de la vitamine D (2).

La vitamine D dérive principalement de la biosynthèse cutanée sous l'effet du rayonnement ultraviolet B (UVB) du soleil. L'exposition directe au soleil pendant une vingtaine de minutes deux à trois fois par semaine en été (aux latitudes moyennes), apporte environ 3000 UI de vitamine D<sub>3</sub> et permet donc de synthétiser une quantité adéquate de vitamine D c'est-à-dire couvrant les besoins de l'organisme (3). Dans les pays comme la France et le Liban, la synthèse cutanée de vitamine D est plus forte pendant les mois de juin, juillet et août, et plus faible pendant la saison hivernale. Du fait de l'absorption des UVB par la mélanine, les sujets à peau noire nécessitent une exposition plus longue aux rayons solaires (environ 20 fois plus) comparativement aux sujets à peau blanche pour synthétiser la même quantité de vitamine D. De plus, une personne âgée ne possède pas la même capacité de synthèse de la vitamine D comparativement à un sujet plus jeune. Ainsi, la production cutanée de vitamine D chez la personne âgée de plus de 65 ans est 75% plus faible que celle d'un sujet jeune sous une même exposition UVB (4-5).

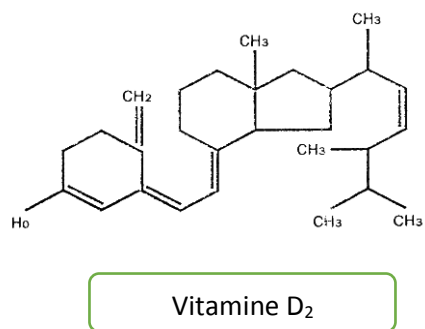


Figure 1 : Structure chimique de la vitamine D<sub>2</sub> (1).

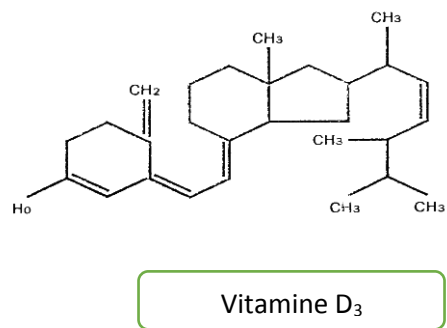


Figure 2 : Structure chimique de la vitamine D<sub>3</sub> (1).

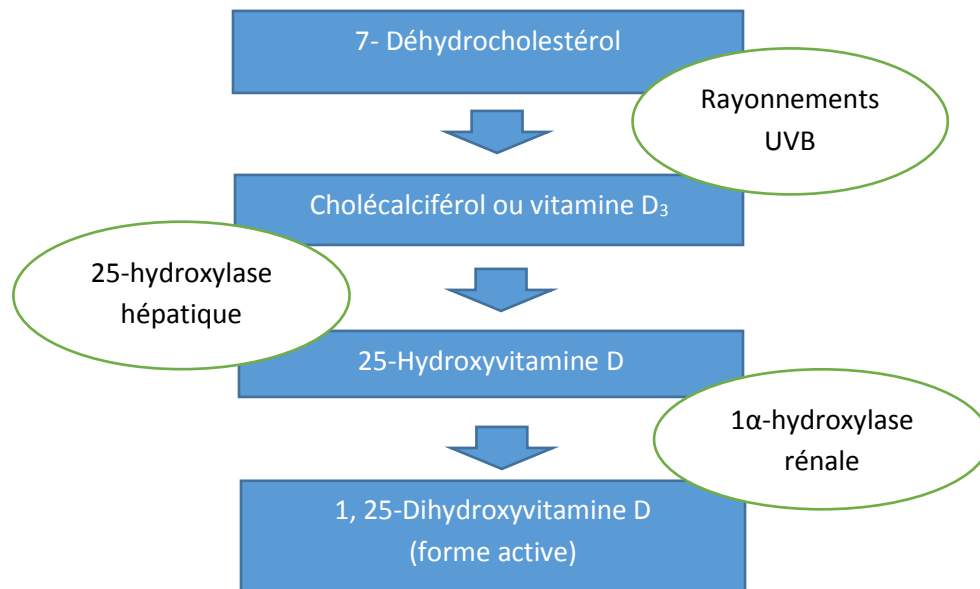


Figure 3 : Voie de synthèse cutanée et activation de la vitamine D (6)

## 2.2 Stockage

La distribution de la vitamine D dans les tissus dépend de la forme chimique de la molécule. Le cholécalférol ( $D_3$ ) qui représente 65 % de l'ensemble de la vitamine D de l'organisme est essentiellement stocké dans le tissu adipeux (à 75%) tandis que la [25(OH) D] qui représente 35 % de la vitamine D est distribuée dans différents tissus (35 % dans le tissu adipeux, 30 % dans le sérum, 20 % dans les muscles, et 15 % dans les autres tissus). La concentration sanguine des deux formes de [25(OH) D] ([25(OH)  $D_2$ ] + [25(OH)  $D_3$ ]) permet de caractériser les réserves en vitamine D de chaque individu, et doit donc être déterminée pour évaluer le statut vitaminique D de l'organisme (cf. chapitre 2.6) (6-7).

### 2.3 Elimination et toxicité

L'excès de pré-vitamine D<sub>3</sub> ou de vitamine D<sub>3</sub> dans le derme est converti en composé inactif ou retourne à son état de base, le 7-déhydrocholestérol (6-7). Il existe en effet une voie d'inactivation de la vitamine D nécessitant l'activité d'une enzyme, la 24-hydroxylase (CYP 24). Cette réaction mène à la production de métabolites inactifs [24,25 (OH)<sub>2</sub> vitamine D et 1,24,25 (OH)<sub>3</sub> vitamine D] transformés ultérieurement en acide calcitroïque inactif, lui-même éliminé via la bile par voie fécale (6-7).

Un surdosage en vitamine D ou hypervitaminose D est rare. Cet excès ne provient pas de l'alimentation, mais plutôt de la consommation d'une dose excessive d'un complément alimentaire ou pharmacologique de vitamine D. Le seuil sérique de toxicité est évalué entre 220 et 375 nmol/l (88 et 150 ng/ml) de [25(OH) D]. De même, la dose minimale ingérée possiblement toxique chez le sujet adulte semble être égale à 4 000 à 10 000 UI par jour pendant plusieurs mois (8).

Au niveau biologique, l'hypervitaminose D peut provoquer une hypophosphatémie et une hypercalcémie, accompagnée d'une baisse de la sécrétion de la parathormone ou hormone parathyroïdienne (PTH). Cette hypoparathyroïdie est caractérisée par une hypercalciurie et peut engendrer avec le temps des calculs rénaux (9).

### 2.4 Sources

Les sources alimentaires de vitamine D (Tableau 1) comprennent surtout le poisson (plus particulièrement le foie de poisson), le jaune d'œuf et le lait. Le tableau ci-dessous présente les aliments sources de vitamine D (8). Au Liban comme en France, des aliments de consommation

courante sont enrichis en vitamine D comme certaines céréales du petit déjeuner, certains produits laitiers et certains jus de fruit.

Dans le cas où l'alimentation et la synthèse cutanée ne suffisent pas à atteindre des concentrations plasmatiques de vitamine D adéquates, des compléments alimentaires peuvent être utilisés (10). Ils représentent parfois la source principale de vitamine D, en particulier en période hivernale (11). Depuis le début des années 2000, la consommation de compléments et de spécialités pharmaceutiques de vitamine D a beaucoup augmenté en France, du fait d'une prise de conscience des déficiences dans la population, surtout dans certaines sous-populations comme celle des sujets âgés (12).

Tableau 1 : Teneurs des principales sources alimentaires de vitamine D (8)

<b>Aliment</b>	<b>Portion</b>	<b>Vitamine D (UI)</b>
Huile de foie de morue	5 ml	427
Saumon	75 g	382-422
Hareng	75 g	402
Sardines, en conserve	75 g	180
Thon en conserve	75 g	144
Lait	250 ml	103-105
Œuf, jaune, cuit	2	57 – 88
Jus d'orange, enrichi de vitamine D	125 ml	50
Céréales	75 g	50
Foie	75 g	36
Beurre	100g	30

## 2.5 Besoins nutritionnels

Suite à une demande de la Commission, l'agence de sécurité alimentaire européenne, l'EFSA (European Food Safety Authority) a revu récemment les recommandations nutritionnelles concernant la vitamine D (Tableau 2) (13). Cette agence indique que la concentration sérique en [25 (OH) D], qui reflète l'apport de vitamine D obtenu à la fois par la synthèse cutanée et par l'alimentation, peut être utilisée comme biomarqueur du statut en vitamine D chez les adultes et les enfants. Compte tenu de l'état des connaissances scientifiques actuelles, l'EFSA considère qu'une concentration sérique de [25 (OH) D] de 50 nmol / L constitue une valeur cible appropriée pour tous les groupes de la population, et qu'un Apport Satisfaisant (AS) de vitamine D peut être défini à partir de cette valeur. Pour les adultes, un AS pour la vitamine D est fixé à 15 µg / jour, sur la base d'une analyse de méta-régression et considérant que, avec cet apport, la majorité de la population atteindra une concentration sérique de [25 (OH) D] proche ou supérieure à l'objectif de 50 nmol / L. Pour les enfants âgés de 1 à 17 ans, l'AS pour la vitamine D est fixé à 15 µg / jour selon le même raisonnement. Pour les nourrissons âgés de 7 à 11 mois, un AS de vitamine D est fixé à 10 µg / jour, sur la base d'essais menés chez des nourrissons. Pour les femmes enceintes et allaitantes, l'EFSA définit le même AS que pour les femmes non enceintes et non allaitantes, à savoir 15 µg / jour. . A noter que la France, via son agence nationale (ANSES), a récemment redéfini les références nutritionnelles pour la population (RNP) en vitamine D. Elle a adopté les valeurs proposées par l'EFSA. A noter que la RNP a été construite en considérant une synthèse endogène via l'exposition solaire comme étant nulle. Cette hypothèse extrême a été retenue, car il n'est pas possible d'estimer le niveau de synthèse endogène de la population, très variable en fonction des individus (notamment du fait de la couleur de la peau), du temps passé à l'extérieur



et de la latitude du lieu de vie. Néanmoins, cette RNP est difficilement atteignable par les seuls apports alimentaires actuels (ANSES 2016). En outre, l'estimation du besoin alimentaire en vitamine D fait encore l'objet de nombreux débats scientifiques. L'ANSES estime donc qu'une étude évaluant le statut en vitamine D de la population française avec une méthode de référence, en se focalisant notamment sur les populations à risque, est nécessaire en amont de la mise en place de mesures de gestion adéquates. Selon cette agence, diverses mesures de gestion non exclusives pourraient être envisagées :

- une complémentation personnalisée à travers le système de soins dirigée vers la population adulte,

- des recommandations précises d'exposition solaire, compatibles avec la prévention des cancers,

- un enrichissement des denrées en vitamine D piloté par les pouvoirs publics, supposant une analyse approfondie des enjeux sanitaires et des bénéfices et risques attendus.

Tableau 2 : Recommandations nutritionnelles en vitamine D pour la population française (1)

<b><u>Population</u></b>	<b><u>µg/jour</u></b>
Nourrissons âgés de 7 à 11 mois	10
Enfants de 1 à 12 ans	15
Adolescents de 13 à 19 ans	15
Adultes masculins	15
Adultes féminins	15

Femmes enceintes ou allaitantes	15
Personnes âgées	15

En France et au Liban, la consommation de vitamine D est généralement basse. Près de 30% de la population est en déficience voire en carence, et 70% en insuffisance. La carence en vitamine D est définie par un taux sanguin de [25 (OH) D] inférieur à 25 nmol/l (10 ng/ml) alors que la déficience est définie par un taux sanguin inférieur à 75 nmol/l (30 ng/ml) (16). D'après l'étude SUVIMAX (SUplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants) menée en 1997, la consommation a été estimée à 136 UI/j (3,4 µg/j), ce qui est inférieur aux recommandations de 15 µg/j (11). De plus, l'enquête alimentaire INCA (enquête Individuelle et Nationale sur les Consommations Alimentaires) réalisée en 1999 démontrait que pour 90 % de la population adulte, la consommation moyenne en vitamine D était de moins de 200 UI/j (5µg/j) et que 10 % des Français consommaient moins de 40 UI /j (1µg/j) (12). L'étude INCA 2 a révélé que la consommation quotidienne réelle chez les sujets âgés de 18 à 79 ans était aux alentours de 2,56 µg/, soit 4 fois moins que les RNP. A noter que la consommation moyenne par les femmes (2,4µg/j) était statistiquement inférieure à celle des hommes (2,4µg/j) (p<0.05) (14). Selon les données plus récentes de l'étude INCA 3, les apports moyens en vitamine D dans la population française apportés par l'alimentation sont de 5,2 µg/j pour les enfants de 1 à 3 ans, 2,6 µg/j pour les enfants de 4 à 10 ans, 2,9 µg/j chez les enfants de 11 à 17 ans et de 3,1 µg/j chez les adultes de 18-79 ans. Cette nouvelle enquête a confirmé que ces apports sont plus élevés chez les hommes que chez les femmes (15).

Aux Etats Unis, l'Health and Medicine Division (HMD, précédemment appelé Institute of Medicine ou IoM) a fixé des recommandations qui s'élèvent à 600 UI/j (15µg/j) pour les jeunes

adultes et à 800 UI par jour pour les adultes de plus de 70 ans. D'autres experts suggèrent que les besoins en vitamine D seraient plus importants chez le sujet adulte (16). Par exemple, l'Endocrine Society recommande de consommer quotidiennement entre 1 500 et 2 000 UI de vitamine D (soit 37.5 µg et 50 µg) (17). L'American National Osteoporosis Foundation a établi en 2009 les recommandations journalières suivantes : 400 UI (10 µg) à 800 UI (20 µg) pour les adultes avant 50 ans et 800 UI (20 µg) à 1000 UI (25 µg) pour les personnes âgées (18). Pour le groupe GRIO (Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses), les apports nutritionnels conseillés devraient s'élever à 800 à 1000 UI/j (20 à 25 µg/j) (19).

Selon la littérature scientifique, un apport de 1 000 à 2 000 UI (25 à 50 µg) par jour de vitamine D est généralement sans danger et devrait aider les sujets déficients à atteindre un taux adéquat de vitamine D dans le sang. Selon ces études, de tels apports pourraient aussi présenter des avantages pour le maintien de l'état de santé (16). Une étude publiée par R.P. Heaney en 2003 déterminait les besoins en vitamine D comme devant être au minimum égaux à 700 UI/j (17.5 µg/j), apport considéré toutefois comme insuffisant par ces auteurs pour certaines sous populations comme les personnes qui s'exposent peu à la lumière (9). Dans certains pays comme la Suisse, un apport de 800 UI (20 µg) est recommandé pour prévenir les fractures ostéoporotiques chez les personnes âgées (10). Dans ce même pays, certains experts ont proposé une dose d'au moins 1 000 UI (25 µg) par jour à partir de l'âge de 20 ans, notamment en l'absence d'exposition solaire. En effet, environ 50% de la population suisse présentent des concentrations sériques de [25 (OH) D] inférieures à 50 nmol / L et moins de 30% ont des concentrations de [25 (OH) D] au-dessus de 75 nmol / L (10). Les sujets obèses pourraient aussi avoir des besoins en vitamine D plus importants, car celle-ci est piégée par le tissu adipeux.

Au Liban, le pourcentage de personnes déficientes voire carencées est élevé. C'est le cas de nombreux pays de latitude basse, jouissant pourtant d'un fort taux d'ensoleillement (comme la Syrie et la Turquie). Dans ces pays, la proportion des individus (en particulier les femmes) souffrant d'une carence vitaminique D ([25(OH) D] inférieure à 30 ng/ml) s'élèvent en moyenne à 80% (20). Les principales causes sont la faible exposition au soleil et la pigmentation plus sombres de la peau. De plus, le nombre de personne ne s'exposant pas au soleil est important. Par exemple, les femmes entièrement voilées par conviction religieuse ou les personnes qui souffrent de maladies de la peau comme le vitiligo sont caractérisées par une exposition solaire très faible. Un autre facteur important est la pollution atmosphérique en particulier au sein des villes avec la production de dioxyde de soufre, un composant qui absorbe les rayonnements UV. Enfin, l'usage de crèmes anti-UV peuvent réduire l'intensité des photons UVB pénétrant la peau.

Devant la forte prévalence des déficiences en vitamine D, comprenant aussi les sujets jeunes en bonne santé, les experts appellent à rehausser les apports recommandés pour la population libanaise (Tableau 3), surtout pendant la période hivernale (20, 21).

Tableau 3 : Recommandations nutritionnelles en vitamine D pour la population libanaise

<u>Population</u>	<u>µg/jour</u>
Enfants de 1 à 3 ans	10
Enfants de 4 à 12 ans	10
Adolescents de 13 à 19 ans	15
Adultes masculins	15
Adultes féminins	15

Femmes enceintes ou allaitantes	15
Personnes âgées	15-20

## 2.6 Valeurs normales adoptées pour la concentration sanguine de [25(OH)D]

Le statut en vitamine D peut être caractérisé par la concentration sanguine de [25(OH)D]. La valeur basse physiologique de la concentration sanguine de [25(OH)D] est de 20 ng/ml mais il est préférable d'être au-delà de 30 ng / ml (1). En effet, en termes de bénéfice osseux, le seuil de référence est établi à 30 ng / ml (soit 75 nmol / l). En revanche, il semble que certains effets osseux et extra-osseux soient associés à des concentrations sanguines de [25(OH)D] plus importantes. D'après Bischoff-Ferrari et coll., une concentration sérique de [25(OH)D] comprise entre 90 et 100 nmol / L semble être optimale pour prévenir les fractures de la hanche et de toutes fractures non vertébrales chez les personnes âgées (22). En outre, selon ces auteurs, la concentration doit être située entre 90 et 120 nmol/L pour la prévention du cancer (22). Il a aussi été établi qu'une concentration sérique de [25(OH)D] comprise entre 80 et 119 nmol / L (32-47,6 ng / ml) est recommandée pour diminuer le risque de développer une insulino-résistance (23). Précisément, cette étude réalisée chez des femmes ayant reçu soit 4 000 UI de vitamine D soit des comprimés de placebo a montré que l'index d'insulino-résistance HOMA-IR et l'insulinémie à jeun étaient améliorés dans le groupe recevant la vitamine D. La forte amélioration a été observée pour des concentrations sanguines de [25(OH)D] comprises entre 80-119 nmol / L (32-47,6 ng / ml) ou plus.

## 2.7 Seuil d'insuffisance et de déficit

Le seuil de déficit en vitamine D a été établi en 2005 par Dawson Hugues et coll (24). De Cock C et coll. ont confirmé ces valeurs en 2008 (21). Les valeurs seuils suivantes sont donc actuellement utilisées pour classer le statut vitaminique D pour les adultes et les adolescents (Tableau 4).

Tableau 4 : Valeurs seuils utilisées pour classer le statut vitaminique D chez les adultes et les adolescents

<b><u>Valeurs de [25 (OH) D]</u></b>		
	<b>ng/ml</b>	<b>nmol/l</b>
<b>Insuffisance</b>	20 à 30 ng/ml	50 à 75 nmol/l
<b>Déficit modéré</b>	12 à 20 ng/ml	30 à 50 nmol/l
<b>Déficit sévère</b>	< 12 ng/ml	< 30 nmol/l
<b>Taux recommandés</b>	30 à 70 ng/ml	75 à 175 nmol/l

L'état d'hypovitaminose D s'accompagne d'une faible absorption intestinale du calcium. Cette faible absorption calcique est détectée par les glandes parathyroïdes, lesquelles vont réagir en augmentant la production de PTH. Cette élévation de la PTH va générer une activation de l'activité de la  $1\alpha$ -hydroxylase rénale et donc augmenter la production de  $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ . En conséquence, dans ces situations, il est possible d'observer des concentrations élevées de  $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$  alors que les réserves en vitamine D sont faibles. La  $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ , même si elle est la forme biologiquement active de la vitamine D, n'est donc pas le marqueur à utiliser pour estimer le statut vitaminique. Il est également recommandé de doser la concentration sanguine de PTH pour évaluer

l'état d'insuffisance en vitamine D. Ainsi, l'exacte définition de l'hypovitaminose D correspond à la concentration de [25(OH) D] en-dessous de laquelle, chez des sujets en bonne santé, la PTH augmente de façon significative (5). Touvier et coll. ont rapporté une augmentation progressive de la PTH pour des seuils de [25(OH) D] en dessous de 20 ng/ml, et pour des taux de [25(OH) D] supérieurs à 20 ng/ml, un taux de PTH correspondant à 45,5 ng/L (25).

## **2.8 Causes de déficit ou de carence**

Les variations de la synthèse endogène de la vitamine D dues à la localisation géographique et aux saisons font partie des principales causes du déficit. En effet, la synthèse endogène de vitamine D est diminuée voire nulle en hiver car les radiations solaires sont moins intenses, plus rasantes et de plus courte durée. A contrario, une exposition au soleil de 15 à 20 minutes pendant le mois de juin dans un pays de l'hémisphère Nord équivaut à la production endogène de 3 000 à 5 000 UI de vitamine D<sub>3</sub> (11). Cependant, il a été mis en évidence que le déficit est également important dans certains pays proches de l'équateur ou ayant un fort taux d'ensoleillement (26). Cette observation peut être due à l'utilisation de crème solaire qui réduit la production cutanée de [25(OH) D] ou à la couverture de la surface cutanée par les habitudes vestimentaires de ces populations. La couleur de la peau joue aussi un rôle très important. Une étude récente accomplie par Paul Lips et Renate T. de Jongh montre que les populations ayant une couleur de peau foncée sont plus souvent déficitaires en vitamine D (27). Les personnes ayant une peau noire ont besoin d'un temps d'exposition 3 à 5 fois supérieur par rapports à ceux à peau blanche (1).

Les sujets âgés ont une capacité réduite à synthétiser la vitamine D à partir des précurseurs endogènes et des rayons solaires. Ainsi, MacLaughlin et Holick ont révélé que la peau des personnes âgées renfermait moins de 7-déhydrocholestérol. De ce fait, le taux de synthèse de pré-

vitamine D<sub>3</sub> est réduit d'environ 50% (28). En conséquence, une étude a montré que le déficit en vitamine D chez le sujet âgé est considéré comme une cause la perte d'autonomie. Des activités quotidiennes à l'extérieur telles que la marche, le jardinage, etc. d'environ 2 heures par jour protègent contre ce déficit (30). De même, Gerdhem et coll. a révélé qu'une concentration sanguine basse de [25(OH) D] est fréquemment associée à un niveau faible d'activité physique (26, 29).

Des travaux précédents ont aussi rapportés l'existence d'un lien étroit entre le surpoids/obésité et de faibles statuts en vitamine D (30, 31). Ces travaux ont démontré que la masse graisseuse totale et abdominale était corrélée à des concentrations sanguines plus basse de [25(OH) D]. D'après Rachida Rafiq et coll. (30), cette relation suggère que les sujets ayant un plus grand tour de taille sont plus à risque de développer des déficiences et des carences en vitamine D. La vitamine D étant stockée dans les cellules graisseuses, il semble que la plus grande capacité de stockage chez les personnes obèses piège la vitamine D au sein de ce tissu (Tableau 5). En outre, les capacités de mobilisation de la vitamine D à partir du tissu adipeux sont actuellement très discutées. Aussi, cette vitamine pour être piégée au sein de ce tissu sans pouvoir, chez le sujet en surpoids ou obèse, participer à la régulation des statuts de l'organisme.

Tableau 5 : Les principales causes du déficit / carence en vitamine D

<b><u>Les principales causes du déficit / carence en vitamine D</u></b>	
<b>Saison</b>	En hiver plus qu'en été
<b>Latitude</b>	Dans les pays situés loin de l'Equateur (35° de latitude)
<b>Habitudes vestimentaires</b>	Surtout chez les personnes qui portent des vêtements couvrants.



<b>Couleur de la peau</b>	Les personnes ayant une peau noire ont besoin d'un temps d'exposition 3 à 5 fois supérieur par rapport à celles à peau blanche
<b>Les sujets âgés</b>	Ils ont une capacité réduite à synthétiser la vitamine D
<b>Surpoids/obésité</b>	La masse grasse est associée à des statuts bas en vitamine D

## 2.9 Correction d'un déficit ou d'une carence

En France, Souberbielle et coll. (4) et le Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO) (19) ont mis en place un protocole de traitement des carences en vitamine D suivi par des apports d'entretien. L'objectif de ce protocole est d'atteindre un taux sérique de [25(OH) D] de 30ng/ml (75nmol/L).

### Traitement de la carence ou traitement d'attaque

Le traitement d'attaque contribue à la correction du déficit en vitamine D permettant d'atteindre un taux sérique au-dessus de la valeur seuil de 30 ng/ml.

Les sujets à considérer sont les plus de 65 ans et les sujets présentant une situation de carence selon l'analyse de la [25(OH) D] plasmatique. Le traitement d'attaque est alors à adapter selon le taux sérique de [25(OH) D] :

- si la concentration sanguine de [25(OH) D] <10 ng/ml : 4 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours
- si la concentration sanguine de [25(OH) D] est comprise entre 10 et 20 ng/ml : 3 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours

- si la concentration sanguine de [25(OH) D] est comprise entre 20 et 30 ng/ml : 2 prises de 100 000 UI espacées de 15 jours

Ce schéma de traitement est indicatif et des doses de 80 000 ou 200 000 UI (2000 ou 5000µg) peuvent être utilisées selon le statut du sujet. Il est préconisé de réaliser un deuxième dosage trois mois après la fin du traitement afin de garantir que le déficit en vitamine D a été corrigé. Ce dosage permettra d'accéder au traitement d'entretien qui suivra la première phase.

Le département de médecine générale de Paris 7 Diderot en partenariat avec la Haute Autorité de Santé (HAS) (32) ont mis en évidence un schéma de supplémentation différent qui se caractérise par la phase d'attaque suivante (Figure 3) :

- si la concentration sanguine de [25(OH)D] <20 ng/ml : 1 ampoule de 100 000 UI (2500 µg ) tous les 15 jours pendant 2 mois
- si la concentration sanguine de [25(OH)D] est entre 21 et 30 ng/ml : 2 ampoules de 100 000 UI (2500 µg ) à 15 jours d'intervalle.

En outre, on choisira un apport de vitamine D<sub>3</sub> plutôt que de vitamine D<sub>2</sub> car sa demi-vie plus longue.

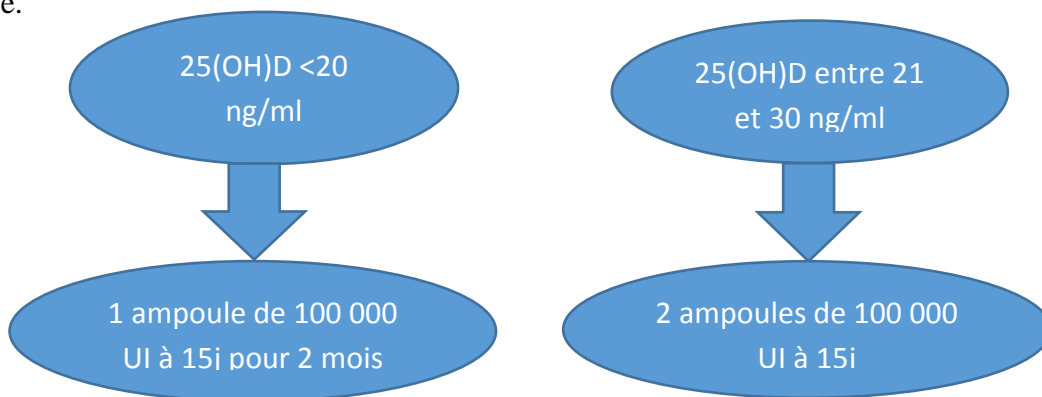


Figure 4 : Protocole de traitement d'attaque

### **Traitement d'entretien**

Le traitement d'entretien permet de garantir un taux sérique de vitamine D dans les valeurs normales à long terme. Il peut être prescrit à différentes fréquences :

- soit des apports quotidiens de 800 à 4000 UI/j (20 à 100 µg) en Vit D<sub>2</sub> ou D<sub>3</sub>
- soit des apports tous les 1, 2 ou 3 mois de 100 000 UI (2500 µg) de Vit D<sub>3</sub>

Ces doses sont particulièrement recommandées chez les personnes âgées.

## 3.LES EFFETS BIOLOGIQUES DE LA VITAMINE D

### 3.1- Rôles biologiques de la vitamine D

#### 3.1.1 Sur le métabolisme phosphocalcique

La vitamine D agit à la fois sur les parathyroïdes, le rein et l'intestin et joue ainsi un rôle principal dans le maintien de l'homéostasie phosphocalcique, et ceci via une augmentation de l'absorption intestinale du calcium et du phosphore. Au niveau intestinal, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D stimule la synthèse de :

- la protéine TRPV6 (transient receptor potential cation channel, family V, member 6) dont le rôle est de former un canal calcique au niveau de la bordure en brosse apicale de l'entérocyte, induisant l'entrée du calcium dans la cellule
- la calbindine 9K qui permet le transport du calcium dans l'entérocyte
- la protéine NPT2b, est un cotransporteur sodium-phosphate, qui contribue à l'entrée du phosphate dans l'entérocyte (30, 31)

Plusieurs travaux précédents ont montré que l'absorption du calcium est maximale quand le taux de [25(OH) D] est supérieure à 32 ng/mL, (soit 80 nmol/L). L'absorption calcique peut alors atteindre 65% (33, 34).

La 1,25(OH)<sub>2</sub> D permet de maintenir l'homéostasie calcique en augmentant l'absorption intestinale du calcium, et en agissant sur l'os, par l'intermédiaire du récepteur de la vitamine D, le VDR, situé dans les ostéoblastes. Lorsqu'il est fixé à la vitamine D, le VDR active le système RANK/RANKL, augmentant l'ostéoclastogénèse et provoquant subséquemment la libération

du calcium et du phosphore (35). A noter qu'en absence d'apports suffisants en calcium, la  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$  et la PTH augmentent la mobilisation du calcium à partir du squelette (1, 36).

Au niveau rénal, la  $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$  favorise la réabsorption tubulaire distale de calcium et la réabsorption tubulaire proximale de phosphore (30, 31).

Ces changements permettent une augmentation significative du taux de calcium et de phosphore absorbé par rapport à la quantité ingérée.

### *3.1.2- Sur l'insulino-sécrétion*

Plusieurs travaux de recherche ont permis de montrer que certaines fonctions du tissu pancréatique pourraient être en partie contrôlées par la vitamine D (37-39). Ces constatations ont été révélées suite à la découverte du récepteur à la vitamine D, de la protéine de transport de la vitamine D et de l'enzyme active  $1\alpha$ -hydroxylase au sein des cellules  $\beta$  de Langerhans, responsable de la sécrétion de l'insuline (40). Les cellules  $\beta$  du pancréas renferment en effet une activité  $1\alpha$ -hydroxylase, qui facilite l'hydroxylation de la  $25(\text{OH})$  vitamine  $\text{D}_3$  en  $1,25(\text{OH})_2$  vitamine  $\text{D}_3$  ou calcitriol. Le calcitriol, via sa fixation sur le récepteur nucléaire (VDR), participerait à la croissance des cellules  $\beta$ , ainsi qu'à la synthèse d'insuline en augmentant le taux de transcription de son gène. Des Eléments de Réponse à la Vitamine D (VDRE) ont en effet été découverts dans le promoteur du gène de l'insuline, apportant une preuve de la contribution de la vitamine D dans la synthèse d'insuline (41).

La vitamine D exerce aussi une action sur la sécrétion d'insuline en modifiant les flux calciques transmembranaires. En effet, les cellules  $\beta$  sont caractérisées par des canaux calciques voltage-dépendant qui permettent l'entrée du calcium dans les cellules. Cette entrée est nécessaire à

l'activité des endopeptidases calcium-dépendantes qui garantissent la conversion de la pro-insuline en insuline. En conséquence, un changement du flux transmembranaire de calcium a des répercussions sur l'insulino-sécrétion (41).

Du fait de ces mécanismes d'action, des études précédentes ont permis de montrer des corrélations entre le statut en vitamine D et la fonction cellulaire  $\beta$  (41,42). Une étude rapporte une corrélation significative entre le taux de [25(OH) D], la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'insuline (40) (figure 5).

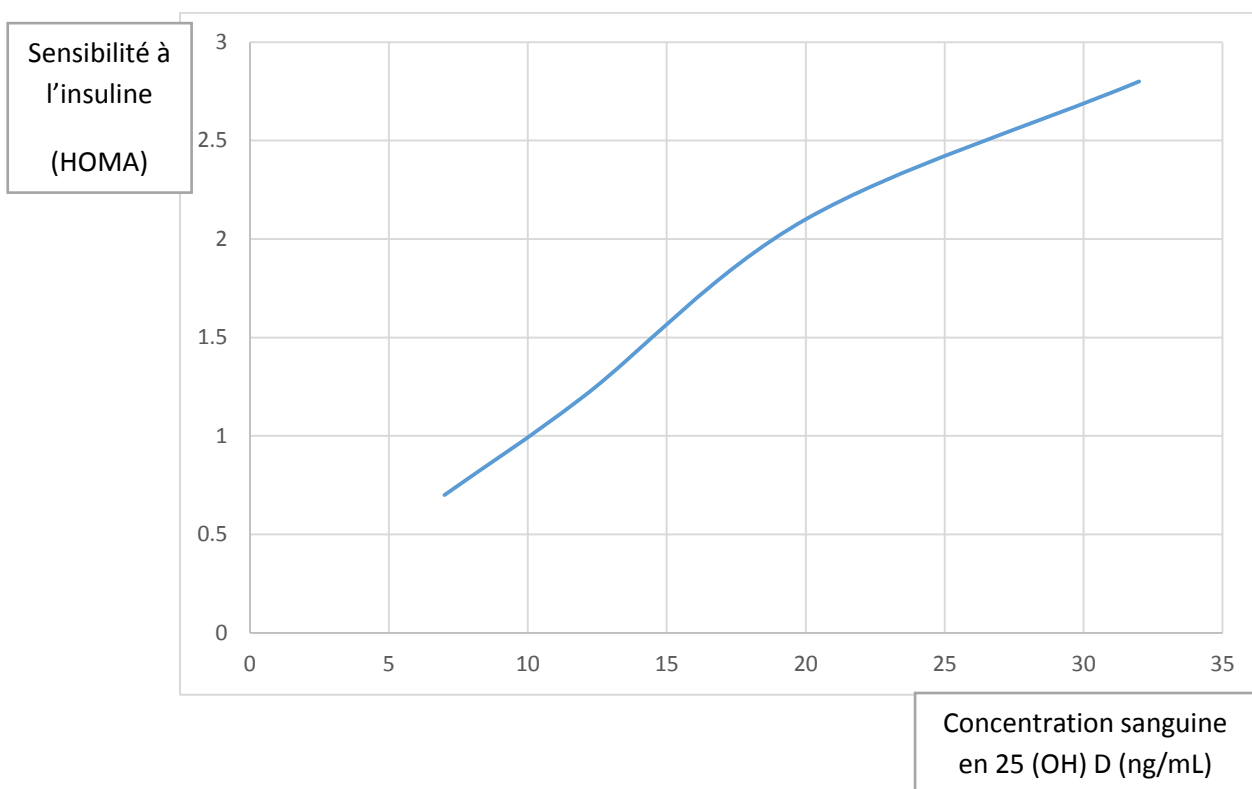


Figure 5 : Rôle de la vitamine D sur la sensibilité à l'insuline

La vitamine D joue également un rôle sur les cellules périphériques cibles de l'insuline. En effet, elle augmente l'expression du récepteur à l'insuline, soutenant ainsi le transport intracellulaire du glucose via une externalisation plus importante des transporteurs du glucose insulino-dépendants tels que les GLUT4 (44). Il a été également relevé un lien entre le statut en vitamine D et la résistance à l'insuline (38, 39). A titre d'exemple, une étude contrôlée, randomisée, réalisée en double aveugle contre placebo a été menée chez des sujets indiens non diabétiques ayant un tour de taille supérieur à 78 cm (indiquant une susceptibilité à développer une insulino-résistance). A la fin du traitement, une augmentation significative de la sensibilité à l'insuline mesurée après une charge orale de glucose était observée dans le groupe supplémenté en vitamine D<sub>3</sub> (dose de 120 000 UI (3000 µg), trois fois à quinze jours d'intervalle) (42). De même, Von Hurst et coll., dans leur étude réalisée en 2010 en Nouvelle-Zélande, comprenant 81 femmes âgées de 23 à 68 ans, ayant une insuffisance en vitamine D (< 20 ng/ml) ont confirmé qu'un apport de 4 000 UI (100 µg) de vitamine D par jour pendant six mois permettait de réduire l'insulino-résistance. Cette diminution était maximale quand le taux de [25(OH) D] était supérieur ou égal à 80 nmol/l. Une diminution du taux de l'insuline à jeun était également observée (23).

Sur un plan mécanistique, l'effet de la vitamine D sur la sensibilité à l'insuline pourrait impliquer le Peroxysome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR $\gamma$ ). PPAR $\gamma$  régule le métabolisme des acides gras au sein du tissu adipeux mais aussi dans certains tissus insulino-dépendants comme le muscle squelettique. Une augmentation de l'oxydation des acides gras via une activation de PPAR $\gamma$  par la vitamine D pourrait réduire la lipotoxicité tissulaire et ainsi améliorer la sensibilité de ces tissus à l'insuline (43).

### *3.1.3- Sur la régulation de la glycémie*

En lien avec ses propriétés insulino-sensibilisantes, des travaux de recherche ont relevé une action de la vitamine D sur la régulation de la glycémie et sur le taux sanguin d'hémoglobine glyquée. Une étude prospective comprenant 142 sujets âgés hollandais a montré une relation inverse, statistiquement significative, entre le statut en vitamine D (taux plasmatique de [25(OH) D]) et la glycémie mesurée 60 minutes après une HyperGlycémie Provoquée par voie Orale (HGPO) (44). A noter également, une corrélation significative entre les concentrations sanguines de [25(OH) D] et l'insulinémie mesurée 0, 60 et 120 minutes après l'HGPO. Un autre travail réalisé chez 524 adultes non-diabétiques a montré une corrélation inverse entre la concentration sanguine de vitamine D et la glycémie mesurée à jeun et 2 heures après une HGPO (45). De plus, une étude comptant 381 sujets libanais, âgés de 18 à 30 ans, a révélé une relation inverse entre le taux de [25(OH) D] et la glycémie à jeun mais exclusivement chez les femmes (46). En revanche, Chui et coll. (47) n'ont pas observé de corrélation entre la concentration de [25(OH) D] et la glycémie que celle-ci soit mesurée à jeun ou 1 heure, 1h30 et 2h après une HGPO. Cette différence pourrait être dû à l'échantillon choisi pour cette dernière investigation, à savoir des sujets jeunes sains, n'ayant aucune histoire médicale de diabète ni d'intolérance au glucose.

L'étude de la NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) effectuée entre 2003 et 2006 chez 3 206 sujets américains ayant reçu une supplémentation en vitamine D a permis de relever une diminution de la glycémie à jeun et 2 h après une HGPO. Cette association n'était pas modifiée après ajustement pour l'IMC. À noter également qu'une corrélation inverse entre les concentrations sanguine de [25(OH) D] et d'HbA1c a été observée (48).

D'autres travaux ont mis en évidence des associations entre les statuts en vitamine D et le risque de diabète de type 2. En effet, d'après les analyses des données de la NHANES, le taux sérique de



vitamine D est inversement corrélé à la prévalence du diabète de type 2 (49). Cette étude menée chez 23 258 sujets américains a permis de montrer que les sujets présentant les meilleurs statuts en vitamine D (c'est à dire présents dans le quartile le plus élevé de [25(OH) D] plasmatique) ont moins de risque de devenir diabétiques que les sujets avec les concentrations les plus basses. Knet et coll. (50) en 2008 ont montré dans une étude prospective cas-témoins et comptant 7 503 sujets âgés entre 40 et 74 ans et suivis pendant 22 ans,, qu'un taux sérique élevé en vitamine D permettait de protéger les sujets contre le diabète de type 2. Cependant, ce résultat n'était statistiquement significatif que chez les hommes. Une autre étude observationnelle issue d'une cohorte de 83 779 femmes suivies pendant 20 ans a relevé une diminution du risque de diabète de type 2 de 33% après une augmentation des apports en vitamine D (de 400 UI/j à 800 UI/j, soit 10 µg/j à 20 µg/j) (51).

#### *3.1.4- Sur la régulation de l'inflammation*

Les propriétés antiinflammatoires de la vitamine D ont surtout été observés dans des modèles animaux souffrant de pathologies auto-immunes et inflammatoires, comme l'arthrite rhumatoïde et certaines maladies vasculaires (38, 39, 52, 53). D'autres données issues de protocoles menés *in vitro* suggèrent que la forme active de la vitamine D exerce plusieurs fonctions immunomodulatrices, particulièrement via la suppression de l'expression des cytokines proinflammatoires et la régulation de différentes fonctions des cellules immunitaires. Ainsi, la consommation d'un complément de vitamine D a été associée à une réduction des concentrations sanguines des cytokines proinflammatoires chez des patients souffrant d'ostéoporose ou

d'insuffisance cardiaque, alors qu'elle n'exerçait aucun effet chez des volontaires en bonne santé (54).

Au niveau mécanistique, des éléments de réponse au VDR ont été découverts dans le promoteur des gènes de certaines cytokines proinflammatoires. La vitamine D interagirait aussi avec les facteurs de transcriptions engagés dans la régulation de la production des cytokines (55, 56). Enfin, la vitamine D pourrait réduire l'activation du facteur nucléaire  $\kappa$ - $\beta$  (Nf $\kappa$ - $\beta$ ), qui constitue un élément important dans le contrôle de la production et de l'action des cytokines proinflammatoires (57).

On considère actuellement que le diabète de type 2 est associé à des taux élevés des marqueurs sanguins de l'inflammation. Ces marqueurs peuvent d'ailleurs prédire le risque de diabète de type 2 (38, 39, 52, 53). L'inflammation systémique est impliquée dans la résistance à l'insuline, spécifiquement dans l'utilisation tissulaire du glucose induite par l'insuline (58). Une insulino-déficience peut aussi se produire après une élévation des teneurs sanguines des cytokines proinflammatoires, car ces composés sont capables de déclencher l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques. Or, l'apoptose dépend de la concentration de la cellule en calcium (59). La vitamine D préviendrait donc l'apoptose des cellules  $\beta$  par les cytokines en régulant les flux de calcium de part et d'autre de la membrane de ces cellules (59). De ce fait, la vitamine D pourrait aider à maintenir la survie des cellules  $\beta$ . Une étude récente réalisée par Karkeni et coll. (60) a permis de montrer que la vitamine D pourrait modifier l'expression des microRNA dans les adipocytes en modulant la voie de signalisation NF- $\kappa$  $\beta$ , ce qui pourrait dévoiler un mécanisme de régulation de l'inflammation par la vitamine D. Selon une autre étude menée par Ding et coll. (61), la vitamine D est capable de diminuer l'expression de certaines chimiokines (Ccl2, Il8 et Ccl5) jouant un rôle déterminant dans l'accumulation des leucocytes au niveau du site inflammatoire. Karkeni et coll

(62) ont également confirmé dans un autre travail réalisé *in vitro* que la vitamine D limite l'expression des chimiokines au sein des adipocytes et des macrophages.

*In vivo*, une supplémentation de 800 UI de vitamine D<sub>3</sub> par jour pour une période de 4 mois chez des femmes ménopausées diminuait les taux sériques de différents marqueurs d'inflammation comme IL-8 et IL-12 (63). De même, chez des sujets post-ménopausées ostéoporotiques, une prise quotidienne de 20 UI (ou 0,5µg) de 1,25(OH)D avec 1g de calcium pendant 6 mois diminuait les concentrations sanguines de IL-1 et de TNF-α (64). Une autre étude (65) a relevé en revanche qu'un apport complémentaire de 700 UI (17.5 µg) de vitamine D et 500 mg de calcium (*versus* placebo), n'exerçait aucun effet sur les taux sériques de CRP et d'IL-6.

### *3.1.5- Sur la régulation de la lipémie et les maladies cardiovasculaires*

Des études observationnelles ont montré une association entre de faibles concentrations sériques de [25(OH) D] et la présence de facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, notamment une dyslipidémie (66-70). De ce fait, les sujets présentant une carence en vitamine D ont un risque plus élevé (+ 62%) de développer un événement cardiovasculaire, comme un accident vasculaire cérébral (AVC) ou un infarctus (71). La vitamine D semble exercer des effets cardiovasculaires bénéfiques par de nombreuses voies, comme par exemples une diminution de l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone, une réduction de la pression artérielle, mais également des effets anti-inflammatoires, anti-fibrotiques et anti-thrombotiques (72) ou encore une inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, préservant ainsi la fonction endothéliale (73).

La vitamine D peut aussi exercer des effets directs et indirects sur la modification des profils lipidiques sanguins. Ainsi, cette vitamine D semble pouvoir diminuer les taux sériques des triglycérides en augmentant l'activité de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux (74). De plus, la vitamine D pourrait réduire l'absorption des acides gras par la formation de complexes insolubles calcium-acides gras dans l'intestin, entraînant une diminution du taux sanguin de cholestérol-LDL (75).

Une étude transversale récente réalisée chez 3788 sujets Chinois a relevé une corrélation inverse statistiquement significative entre le taux sérique de [25(OH)D] et celui des triglycérides (coefficient  $\beta = -0,077$ ,  $p < 0,05$ ) et du cholestérol LDL (coefficient  $\beta = -0,245$ ,  $p < 0,05$ ). Une corrélation positive a aussi été observée dans ce travail avec les concentrations sanguines de cholestérol HDL (coefficient  $\beta = 0,038$ ,  $p = 0,018$ ) (76). Les mêmes observations avaient déjà été relevées par une autre étude chinoise montrant que des concentrations sériques basses de [25(OH)D] étaient associées à un risque plus élevé de dyslipidémie. Précisément, des statuts normaux en vitamine D étaient corrélés positivement au cholestérol HDL et négativement au cholestérol LDL (77). Ces résultats retrouvés dans la plupart des études s'intéressant à ce sujet au sein de différentes populations (46, 66, 78, 79), suggèrent donc une corrélation entre la carence en vitamine D et certaines anomalies lipidiques, en particulier l'augmentation des taux sériques du cholestérol total et du cholestérol LDL, ainsi que la diminution des taux sériques de cholestérol HDL. A noter cependant que d'autres études comme celles de Salehpour et coll. et de Zitterman et coll. (80-82), ont relevé une augmentation significative des taux de cholestérol LDL après une supplémentation en vitamine D ( $P < 0,001$  entre le groupe placebo et le groupe vitamine D). Ce

résultat contradictoire pourrait être dû à une supplémentation insuffisante en vitamine D ou à une trop courte durée de supplémentation (83-85).

### *3.1.6- Sur la masse, les fonctions et le métabolisme musculaire*

L'importance de la vitamine D pour le muscle squelettique est établie de longue date par plusieurs études cliniques et animales s'intéressant à l'effet de la vitamine D sur la masse et les fonctions contractiles musculaires.

Les études cliniques, bien que peu fréquentes, ont montré qu'une supplémentation en vitamine D chez les enfants et les adultes déficitaires permet d'améliorer significativement les performances musculaires. Par exemple, il a été démontré qu'une supplémentation à l'aide de 1400 à 14000 UI de vitamine D<sub>3</sub> (35 à 350 µg) par semaine pendant 1 an augmentait significativement la masse maigre chez des jeunes filles âgées de 10 à 17 ans (86). Une autre étude portant sur un groupe de femmes âgées d'une trentaine d'années en moyenne a révélé qu'un traitement comprenant des injections intramusculaires de vitamine D conduit à une amélioration significative de la force maximale de contraction volontaire du quadriceps (87). Un apport supplémentaire de 60 000 UI de vitamine D<sub>3</sub> (1500 µg) par semaine pendant 8 semaines chez d'autres sujets du même âge mais souffrant d'une hypovitaminose D a montré une augmentation significative de la force de préhension, de la force du muscle du mollet et de la distance parcourue en 6 min (88). Plus récemment, Diamond et coll. (89) ont mis en évidence qu'une supplémentation journalière de 2000 à 5000 UI (50 µg à 125 µg) de vitamine D<sub>3</sub> pendant 3 mois permettait également d'augmenter la force musculaire chez des sujets plus vieux, de 45 ans en moyenne.

Des études animales, réalisées en particulier chez la souris (souris VDR<sup>-/-</sup>), ont indiqué que la présence du VDR (récepteur à la vitamine D) était indispensable au développement de la

musculature. Yoshizawa et coll. (90) ont aussi montré que l'absence du VDR dès le stade embryonnaire provoquait un retard de croissance post-natale et une mortalité rapide. Au niveau musculaire, le diamètre des fibres musculaires était plus petit chez les souris dépourvues de VDR. A noter que les muscles exprimaient toujours des marqueurs de différenciation musculaire (Myf5, myogénine) ou encore la chaîne lourde de la myosine comparée aux muscles des souris présentant le récepteur de la vitamine D. Ces modifications étaient en outre indépendantes de l'hypophosphatémie et de l'hypocalcémie observées chez les souris VDR<sup>-/-</sup> (91). Bhat et coll. (92) ont également étudié le rôle de la vitamine D dans le développement musculaire mais en provoquant une carence chez les rats. Pour cela, ils ont soumis des rats mâles soit à un régime de maintien contenant 1000 UI (25 µg) de vitamine D<sub>3</sub> par kg de régime, soit à un régime de maintien ne contenant pas de vitamine D<sub>3</sub>, pour une période de 18 semaines. Les rats ont été mis en stabulation sous lumière à incandescence afin de prévenir la production endogène de vitamine D. A la fin de la période, la [25(OH) D] n'était plus détectable dans le sérum des rats ayant reçu le régime sans vitamine D<sub>3</sub>. De plus, la masse maigre et le poids des muscles des pattes étaient diminués comparés aux rats contrôles. La déplétion en vitamine D avait aussi induit une réduction de l'aire des fibres musculaires de type II. Une augmentation du taux de dégradation protéique était notée au niveau musculaire après le protocole de déplétion, due à une augmentation de l'activité du complexe ubiquitine/protéasome ATP dépendant, alors que la synthèse protéique était réduite. De plus, inversement à l'étude précédente dans laquelle les expressions des marqueurs de différenciation étaient maintenues, l'expression des transcrits de la myogénine et de MyoD étaient diminuées (92). Cette différence de résultats peut être expliquée par la différence du modèle utilisé. Néanmoins, l'ensemble des études utilisant les modèles animaux indiquent que la vitamine D présente un rôle fondamental dans l'homéostasie musculaire, particulièrement dans la régulation

de la prolifération et de la différenciation musculaires. Dans ce contexte, et pour étudier l'effet direct de la vitamine D sur le muscle, l'approche *in vitro* a été largement utilisée (93-95). Ces études démontrent que les cellules musculaires sont des cibles directes de la vitamine D. De ce fait, il est donc nécessaire d'identifier les voies de signalisation activées par la vitamine D et contrôlant les mécanismes de prolifération et différenciation.

### Mécanismes d'action de la vitamine D sur le muscle

Plusieurs travaux de recherche ont montré que la forme active de la vitamine D (1,25(OH)<sub>2</sub> vitamine D) régule le métabolisme des cellules musculaires en contrôlant l'expression de différents gènes et voies intracellulaires (tableau 6). Globalement, la vitamine D modifie les fonctions de la cellule musculaire par 3 mécanismes principaux (96) :

1) par la régulation positive ou négative de la transcription de gènes cibles, c'est l'effet génomique de la vitamine D,

2) par l'induction de voies de régulation intracellulaires ne dépendant pas d'un mécanisme transcriptionnel, c'est l'effet non-génomique de la vitamine D,

3) par l'existence de variants alléliques du récepteur de la vitamine D (VDR).

Le récepteur de la vitamine D a été observé dans les cellules musculaires aussi bien dans des modèles animaux (96) que chez l'Homme (97, 98). Dans ce tissu, le VDR semble être situé au niveau de la membrane nucléaire, bien que selon certaines études, il serait aussi présent au sein de la membrane plasmique. Concernant le récepteur nucléaire, le complexe VDR-[1,25(OH)<sub>2</sub>D] une fois formé est transloqué au noyau de la cellule où il s'unit au récepteur de l'acide rétinoïque, le retinoid X receptor (RXR). L'hétérodimère RXR-VDR s'associe, en présence des ligands, à

l'ADN au niveau des éléments de réponse à la vitamine D (VDRE). Ce complexe de transcription est responsable des effets génomiques de la vitamine D (99).

Tableau 6 : Résumé des différentes actions cellulaires de la vitamine D au sein du muscle squelettique (103).

<b><u>Effets</u></b>	<b><u>Modèles d'étude</u></b>	<b><u>Mécanismes d'action</u></b>
Différenciation cellulaire	Myotubes en culture, souris KO VDR-/-	Génomique et activation de la MAPK kinase
Prolifération cellulaire	Myotubes en culture, rats âgés	Génomique et activation de la MAPK kinase et de la voie Notch
Homéostasie calcique	Myotubes en culture	Régulation de la captation du calcium par la cellule et par le réticulum sarcoplasmique
Anabolisme protéique	Myotubes en culture, rats	Régulation de la synthèse protéique, activation de la voie mTOR
Catabolisme protéique	Rats	Réduction de l'activité du complexe ubiquitine/protéasome ATP dépendant
Utilisation du glucose	Myotubes en culture	Activation de la voie de l'insuline



Il a été montré dans des myotubes en culture que les effets génomiques de la vitamine D permettent entre autre de réguler l'absorption et les flux calciques cellulaires, plus précisément la capture du calcium par le réticulum sarcoplasmique après la contraction (96). De plus, également via son action génomique, la vitamine D participe au contrôle de la prolifération cellulaire et de la différenciation des cellules satellites en fibres musculaires matures (98-102). La liaison de la [1,25(OH)<sub>2</sub>D] à son récepteur contribue aussi à la stimulation de la synthèse protéique par les acides aminés et l'insuline (104, 105).

A noter que l'utilisation d'inhibiteurs de la transcription génique et de la synthèse protéique sur des cellules musculaires en culture n'empêche pas tous les effets musculaires de la vitamine D. En outre, la vitamine D est capable de créer des changements rapides de certaines voies métaboliques au sein de la cellule musculaire, qui ne peuvent être temporellement expliqués par un effet génomique plus lent. En effet, la forme active de la vitamine, la [1,25(OH)<sub>2</sub>D], peut agir de façon rapide, c'est-à-dire sans altérer l'expression génique, via des récepteurs VDR situés sur la membrane plasmique, précisément au niveau des radeaux lipidiques (100-102, 106, 107). Le traitement de cellules musculaires en culture par la [1,25(OH)<sub>2</sub>D] induit l'activation de seconds messagers interférant dans plusieurs voies de régulation intracellulaires et provoquant une élévation de l'absorption du calcium via les canaux calciques voltage-dépendants (136, 137). Des travaux récents (108-111) révèlent que les réponses en aval résultent d'une activation commune et rapide de la voie de signalisation des mitogen-activated protein kinases (MAPK). Ces voies relient des signaux extracellulaires à leurs cibles intracellulaires provoquant à terme l'initiation de la myogenèse, de la prolifération, de la différenciation ou de l'apoptose (100-102,112). Chez les mammifères, la famille des MAPK est constituée de quatre sous-groupes de protéines régulatrices : extracellular signal-regulated kinases (ERK-1/2), c-Jun N-terminal kinases (JNK), ERK5 et p38

MAPK (113). Après leur activation, ces intermédiaires contrôlent des voies cellulaires via une cascade de phosphorylations d'autres kinases et de facteurs de transcription. Les ERK jouent un rôle important dans la voie de transduction du signal modulant les mécanismes de croissance et de différenciation cellulaires (114, 115). La [1,25(OH)<sub>2</sub>D] active brusquement (en 1 min) ERK-1/2, la phospholipase C et c-myc au niveau des myoblastes (100-102, 105). Ces mécanismes induisent la translocation d'une forme phosphorylée active de la protéine ERK-1/2 à travers le cytoplasme vers le noyau et provoque la synthèse de la protéine responsable de la croissance cellulaire (c-myc). Il en découle une stimulation de la prolifération des cellules musculaires (116). Dernièrement, il a été relevé que la prolifération des cellules musculaires progénitrices (cellules satellites) est contrôlée par la vitamine D via une autre voie appelée la voie Notch (117). De ce fait, une déficience en vitamine D chez des rats âgés induisait une atrophie musculaire liée à une diminution de l'activation de la voie Notch et de l'activité de prolifération cellulaire (105).

Une autre étude (118) a montré que la vitamine D pourrait contrôler les voies intracellulaires de régulation du métabolisme protéique. La vitamine D semble stimuler l'initiation de la traduction protéique (Akt/mTOR/p70S6k/4EBP1), provoquant une activation de la synthèse protéique dans les myotubes. Subséquemment, la vitamine D renforce l'impact de l'insuline et de la leucine sur l'anabolisme protéique au niveau du muscle squelettique, probablement via une augmentation de l'expression génique des récepteurs et des transporteurs de ces composés (118).

Enfin, plusieurs polymorphismes du VDR ont été observés, influencés par le génotype du VDR. Ces polymorphismes semblent avoir des conséquences sur la force et la fonction musculaires, ainsi que sur leur maintien avec l'âge. A titre d'exemple, une différence de 23 % de la force déployée par le muscle quadriceps et de 7 % de la force de préhension a été examinée entre deux types de polymorphismes homozygotes distincts par un site de restriction (109, 110)

## **3.2- Perturbations des rôles biologiques de la vitamine D au cours de l'obésité et du vieillissement**

### *3.2.1- Au cours de l'obésité*

Les personnes en surpoids ou obèses présentent un risque plus élevé de déficience voire de carence en vitamine D. Ce phénomène est en partie dû à la séquestration de la vitamine D par le tissu adipeux augmentant la prévalence de l'hypovitaminose D chez les sujets en surpoids et/ou obèses (119-120). Il renforce les facteurs de risque potentiel d'inflammation chronique, de résistance à l'insuline, de syndrome métabolique et de maladies cardiovasculaires. Horng-Yih Ou et coll. (121) ont rapporté à partir leurs travaux que la corrélation entre la concentration sérique de [25 (OH) D] et la sensibilité à l'insuline diffère de manière significative entre des sujets en surpoids et des sujets normo-pondéraux. De façon surprenante, ces auteurs ont observé des associations plus fortes entre la concentration sérique de [25 (OH) D] et la sensibilité à l'insuline chez les sujets en surpoids que chez les sujets de poids normal, ce qui suggère que les sujets en surpoids atteints d'hypovitaminose D pourraient bénéficier davantage d'un apport de vitamine D que les sujets de poids normal. De plus, dans ce travail la concentration sérique de [25 (OH) D] pour optimiser la sensibilité à l'insuline était d'environ 40 ng/ml. Or, l'analyse des données 2003-2004 de NHANES a révélé que l'hypovitaminose D est très fréquente chez les sujets en surpoids et obèses (121). Rodriguez et coll. (122) ont révélé qu'une augmentation de  $1\text{kg}/(\text{m})^2$  de l'IMC était associée à une diminution de 0.48 ng/ml des taux sanguins de [25 (OH) D]. De même, Taheri et al. (123) ont montré que la concentration sérique de [25 (OH) D] était inversement corrélée à l'IMC chez des sujets adultes Iraniens diabétiques et non-diabétiques.

En outre, il a été montré qu'une carence en vitamine D accompagnée d'un IMC élevé entraîne une augmentation de 47% de la résistance à l'insuline (124). Une autre étude portant sur des personnes âgées prédiabétiques a évalué les différences de sensibilité à l'insuline en fonction des taux de vitamine D. Les résultats ont montré une corrélation négative entre les concentrations plasmatiques de vitamine D, l'index HOMA-IR et l'insulinémie, révélant que la sensibilité à l'insuline est réduite chez les patients âgés présentant un déficit en vitamine D (125). D'autres études suggèrent aussi que l'expression du VDR et l'activité des enzymes 25-hydroxylase et la 1 $\alpha$ -hydroxylase qui interviennent dans le métabolisme de la vitamine D sont diminuées chez le sujet obèse (126, 127). En résumé, les statuts et le métabolisme de la vitamine D sont modifiés chez les sujets en surpoids ou obèses, participant très certainement aux altérations métaboliques observées au sein de cette sous-population. Selon « The Endocrine Society », un apport de 3 000 UI à 6 000 UI (75  $\mu$ g à 150  $\mu$ g) de vitamine D par jour serait ainsi nécessaire pour les personnes obèses afin de réduire les risques métaboliques, ce qui correspond à 5 à 10 fois l'apport conseillé par l'Institute of Medicine (IOM), aux États-Unis (127).

De façon similaire, l'hypovitaminose D et l'obésité ont été associées à des risques de chutes et de fractures chez les personnes âgées (128-132). L'obésité entraîne également de faibles niveaux de performances physiques, et mène à des troubles de l'équilibre et à une diminution de la force relative des membres inférieurs (130, 131).

Bien que des études présentant les effets d'une hypovitaminose D sur la santé musculosquelettique chez les personnes âgées obèses ne sont pas abondantes, une étude transversale portant sur 252 adultes obèses (IMC  $\geq$  40 kg / m<sup>2</sup>) âgés de 40 ans en moyenne a montré une corrélation négative entre les taux sériques de [25(OH) D] et la durée de marche mesurée sur 500 m (133). Une autre

étude récente publiée par Dang et coll. en Février 2019 a identifié une association entre de faibles niveaux de vitamine D et une diminution de la force du quadriceps ainsi que de la montée des escaliers chez les femmes âgées en surpoids et obèses (134). De même, un travail publié en 2015 par Ilich et coll. (135), et portant sur des femmes ménopausées obèses (n = 258; % body fat  $\geq 35$ ), sarcopéniques et non sarcopéniques, a révélé que les scores les plus bas pour la force de préhension et de la vitesse de marche a été aperçu chez les sujets obèses sarcopéniques.

Ces différents résultats indiquent que l'obésité affecte la fonctionnalité de l'individu, surtout chez les personnes âgées, augmentant le risque de fractures et d'handicap survenant de la diminution de la masse musculaire et de l'augmentation de la masse grasse.

### *3.2.2- Au cours du vieillissement*

La déficience et la carence en vitamine D sont fréquentes chez les sujets âgés, notamment chez les sujets institutionnalisés (136, 137). Avec l'avancée en âge, la concentration sérique de la vitamine D diminue en raison de la réduction des capacités de synthèse cutanée induite par une chute de 25 % des concentrations de 7-déhydrocholestérol, de la plus faible exposition au soleil, de la diminution de la fonction rénale et d'une mauvaise alimentation (138). De plus, il est souvent admis que l'hypovitaminose D est associée à une diminution de la sensibilité à l'insuline dans cette population.

Une étude réalisée par Dalgard et coll. (139) chez des personnes âgées entre 70 et 74 ans a conclu que les sujets ayant une concentration de [25 (OH) D] inférieure à 50 nmol / L avaient un risque doublé de développer un diabète de type 2 par rapport à ceux ayant une concentration sérique supérieure. Ils ont également observé une augmentation de la concentration d'HbA1c associée à une diminution de la concentration en [25 (OH) D]. Cette association était indépendante de l'IMC,

du taux de triglycérides sanguins, du statut tabagique et du sexe. Ces données suggèrent ainsi un rôle protecteur de la vitamine D concernant le développement du diabète type 2 chez le sujet âgé (140).

Une autre étude transversale portant sur 3 009 hommes et 4 199 femmes âgées de plus de 55 ans ayant participé à l'enquête « Korean National Health and Nutrition Examination Survey » en 2008-2010 montrait que les sujets ayant les taux sériques de [25(OH) D] les plus faibles étaient caractérisés par un index HOMA-IR, marqueur de la résistance à l'insuline, plus élevé (141).

De même, une étude (142) s'est intéressée aux relations entre la concentration sanguine de [25(OH) D] et la glycémie chez 903 sujets âgés en bonne santé, âgés en moyenne de 74 ans, sans diagnostic de prédiabète ou de diabète de type 2 et suivis durant plus de 10 ans. Dans ce travail, les chercheurs ont observé un risque de développer un diabète de type 2 réduit de 70% chez les sujets présentant une concentration sanguine de [25(OH) D] supérieure à 30 ng / ml et de 80% chez ceux présentant une concentration sanguine de [25(OH) D] supérieure à 50 ng / ml.

Ainsi, les sujets âgés ayant des concentrations sanguines de [25(OH) D] <30 ng / ml sont caractérisés par un facteur de risque jusqu'à 5 fois plus de développer un diabète de type 2 comparativement aux sujets ayant des concentrations supérieures à 50 ng / ml.

D'autre part, une carence en vitamine D pourrait participer à l'altération du système cardio-vasculaire chez les personnes âgées (103, 143). Barnard & Colon-Emeric (144) se sont intéressés à l'ensemble des études observationnelles et expérimentales reliant les statuts en vitamine D et le risque de maladies cardio-vasculaires chez les sujets âgés. D'après ces données issues de 42 études, la prévalence de l'insuffisance en vitamine D (<30ng/ml) chez les personnes âgées de plus de 65 ans était entre 40 et 100% et était associée à une augmentation de la pression artérielle systolique, ainsi qu'un risque plus élevé de maladies cardio-vasculaires et de mortalité. Un travail mené par

Giovannucci et coll. (145) a remarqué que des taux sériques bas de [25(OH)D] étaient associés à un risque plus élevé d'infarctus du myocarde chez le sujet vieillissant, même après ajustement des facteurs corrélés aux maladies cardio-vasculaires. Cette conclusion était conforme aux résultats d'une autre étude transversale confirmant que des concentrations sériques basses de [25(OH)D] étaient associées à un dysfonctionnement myocardique (146).

En ce qui concerne le lien entre le statut en vitamine D et la fonction ou la masse musculaires au cours du vieillissement, les travaux ayant établi des associations sont nombreux. La diminution de la force musculaire avec l'avancée en âge est associée à une réduction des concentrations sériques en [25 (OH) D] (117). De même, dans un groupe de sujets âgés de plus de 60 ans, des concentrations sériques de [25 (OH) D] comprises entre 16 et 37,6 ng/ml étaient liées à de meilleures performances musculaires jugées par des tests de vitesse de marche et de « seated-to-stand test »<sup>1</sup> comparées à des sujets caractérisés par des concentrations inférieures à 16 ng/ml (118). Ces résultats ont été confirmés par d'autres études mettant en évidence qu'une concentration sérique de [25(OH) D] basse est associée à de faibles performances physiques (150). Le seuil des 16 ng/ml correspondant à une détérioration plus rapide des performances physiques avec l'âge a été confirmé par une étude longitudinale (147). A noter également que les personnes âgées carencées en vitamine D présentent un risque plus important de chutes associé à une altération des fonctions contractiles musculaires (148, 149).

---

<sup>1</sup> Sit-to-stand test : test consistant à mesurer le temps nécessaire à un sujet pour se lever d'une chaise et s'y rasseoir 5 fois de suite.

Partant de ces constats, des essais de supplémentation en vitamine D ont été conçus avec pour objectif d'améliorer la fonction musculaire des personnes au-delà de 60 ans, et prévenir les chutes et les fractures associées. Des méta-analyses ont regroupé des études cliniques évaluant l'effet de suppléments en vitamine D sur les risques de chutes. Globalement, ces analyses ont mis en évidence que, chez les personnes âgées de 65 ans et plus, la supplémentation en vitamine D, à raison de 700 à 1000 UI par jour (17.5 µg à 20 µg par jour), provoque une diminution d'environ 19% de risque de chutes en améliorant les fonctions musculaires (150, 151). En effet, une autre méta-analyse menée par Muir S. et coll. (152) a montré qu'une consommation quotidienne de 800 à 1000 UI (20 à 25 µg) de vitamine D permettait d'augmenter la force musculaire. A noter que ces effets, en particulier sur la force musculaire, étaient significatifs uniquement chez les sujets présentant une déficience en vitamine D au départ de l'étude (152).

Une étude réalisée par Bischoff-Ferrari et coll. chez des femmes âgées de 24 à 91 ans a confirmé que l'expression du VDR diminue avec l'âge dans le muscle (153). Ce changement pourrait provoquer une réduction des effets de la vitamine D dépendants du VDR, comme la prolifération et la différenciation des cellules musculaires. Cependant, la diminution de l'expression du VDR au cours du vieillissement musculaire pourrait être réversible par la correction du statut en vitamine D. En effet, Ceglia L. et coll. (154) ont démontré, chez des femmes âgées de plus de 65 ans ayant un déficit en vitamine D, qu'une prise journalière de 4000 UI (100 µg) de vitamine D<sub>3</sub> pendant 4 mois augmentait significativement l'expression musculaire du VDR et de l'aire transversale des fibres musculaires, surtout au niveau des fibres de type II. Ce travail a été confirmé par une autre étude montrant que la supplémentation en vitamine D augmentait l'aire transversale des fibres musculaires de type II (155). Or, une perte des fibres musculaires, spécifiquement des fibres de



type II, est notée au cours du vieillissement. Aussi, un apport de vitamine D pourrait permettre de freiner la perte de ces fibres chez la personne âgée, et par conséquent permettre de lutter contre la sarcopénie liée à l'âge (cf. chapitre suivant).

Concernant les mécanismes mis en jeu, les travaux de recherche sur l'impact de la vitamine D sur la prolifération et la différenciation des cellules musculaires squelettiques âgées sont très limités. Malgré cela, il a été montré que l'activité des PKC (protéines kinases C) totales, impliquée dans l'activation de la kinase Raf-1 et de la voie des MAP kinases engageant MEK et ERK1/2 et menant à la régulation de gènes cibles de la prolifération et de la différenciation musculaires était augmentée après un traitement à la  $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$  dans des homogénats musculaires de rats jeunes (3 mois) (156). De plus, une augmentation de la translocation de PKC $\alpha$  du cytosol à la membrane musculaire a été observée. En revanche, le traitement par la  $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$  d'homogénats musculaires issus de rats âgés (24 mois) ne semblait pas provoquer de stimulation de l'activité des PKC totales, ni d'augmentation de la translocation de PKC $\alpha$  du cytosol à la membrane musculaire (156). Subséquemment, on peut déduire que la capacité de réponse des PKC au traitement à la vitamine D pourrait être altérée avec l'avancée en âge au niveau musculaire, altérant l'action de ce nutriment sur la prolifération et la différenciation des cellules de ce tissu.

D'autres perturbations des effets possibles de la vitamine D au niveau musculaire ont été mises en évidence au cours du vieillissement, comme par exemple une réduction de ses effets sur la régulation de la synthèse protéique. Ces mécanismes pourraient participer au développement ou à l'accélération de la sarcopénie chez la personne âgée. Ils sont développés dans le chapitre suivant.

## 4. LA SARCOPENIE

### 4.1 Définition de la sarcopénie.

Le mot « sarcopénie » fût défini pour la première fois en 1989 par Irwin Rosenberg pour décrire la perte progressive et inévitable de la masse musculaire squelettique liée au vieillissement. Ce mot découle d'une origine grecque, sarx pour « chair » et penia pour « manque » et désigne précisément le « manque de chair » s'installant avec l'âge (157). Chez l'homme, la perte de la masse musculaire commence à partir de l'âge de 30 ans et augmente à l'âge de 50 ans alors que chez la femme elle s'accélère après la ménopause. Cette perte correspond à une diminution annuelle d'environ 1% de la masse musculaire squelettique (158), soit précisément entre -0,64% et -1,29% chez les hommes et entre -0,53% et -0,84% chez les femmes.

La sarcopénie joue un rôle primordial dans le processus de déclin fonctionnel et dans l'apparition de la fragilité chez le sujet âgé (159). En effet, la sarcopénie mène à une détérioration générale de l'état physique de la personne âgée ce qui peut provoquer des chutes, une perte d'autonomie, une augmentation des hospitalisations et une diminution de l'espérance de vie (160). Considérée désormais comme une pathologie à part entière, la sarcopénie constitue actuellement un centre d'intérêt important car cette situation participe à une augmentation des dépenses de santé publique (161).

En 2010, le Groupe de Travail Européen sur la Sarcopénie des Populations Agées (EWGSOP) présentait une définition consensuelle de la sarcopénie. Selon ce groupe d'experts, la sarcopénie est une perte progressive et généralisée de la masse, de la performance et de la force du muscle squelettique accompagnée couramment de chutes, de fractures et d'une perte d'autonomie. Elle provoque de ce fait une incapacité à accomplir les activités basiques de la vie quotidienne (162).

Cette définition a pour la première fois pris en considération non seulement la masse mais aussi la fonction musculaire (163). Récemment en 2018, les experts de l'EWGSOP2 ont précisé que la réduction de la force musculaire peut être considérée comme un paramètre principal de la sarcopénie, en considérant la force musculaire comme étant la mesure la plus fiable de la fonction musculaire (163). En d'autres termes, la sarcopénie est probable lorsque la force musculaire mesurée au niveau des membres supérieures (force de préhension) ou inférieures (force d'extension du genou) est réduite. Le diagnostic est confirmé par la présence d'une faible masse musculaire. Enfin, selon cette révision du consensus, la sarcopénie est considérée comme grave lorsque la force musculaire, la quantité / qualité du muscle et les performances physiques sont diminuées (163).

En résumé, des groupes d'experts du monde entier ont établi un lien fort entre l'évolution de la masse et des performances musculaires avec le vieillissement et le maintien de l'état de santé (164, 165). La sarcopénie a été, de ce fait, récemment reconnue par l'OMS comme une maladie musculaire avec un code de diagnostic CIM-10-MC (166, 167).

A noter que dans les travaux originaux présentés dans ce manuscrit de thèse, nous avons considéré le changement de la masse et de la force musculaires pour définir les sujets sarcopéniques. A noter cependant que dans le deuxième article publié, les relecteurs nous ont demandés de classifier les sujets comme pré-sarcopéniques.

#### **4.2 Moyens de mesure de la masse musculaire et les valeurs seuils de la sarcopénie**

##### Techniques d'imagerie médicale :

Trois techniques différentes d'imagerie médicale peuvent être utilisées pour évaluer la masse musculaire ou la masse maigre d'un individu : la tomographie (CT scan), l'imagerie par résonance

magnétique (IRM) et l'absorptiométrie bi-photonique à rayons X (DEXA). Bien que le CT scan et l'IRM soient considérés comme les systèmes les plus précis pour la distinction de la masse grasse des autres tissus de l'organisme, leur coût très élevé ne permet pas leur usage en routine.

La DEXA, technique très utilisée pour estimer la masse musculaire, est un alternatif approprié pour le travail de recherche ainsi que pour la pratique clinique. Elle permet de distinguer la masse grasse du tissu osseux et de la masse maigre.

En utilisant cette méthode, Baumgartner et coll. (168) ont déterminé un indice de masse musculaire comme étant la masse musculaire squelettique des membres (ou masse musculaire appendiculaire), exprimée en kilogramme et divisée par la taille en mètre au carré. Les individus sont alors atteints de sarcopénie si cet indice est inférieur à deux écarts-types par rapport aux moyennes des valeurs examinées chez des jeunes adultes sains, de moins de 40 ans. Définie de cette façon, la sarcopénie est associée significativement aux incapacités physiques indépendamment de l'âge, de l'origine ethnique ou de la masse grasse. De plus, cette définition a permis de publier plusieurs valeurs seuils de sarcopénie, et ceci selon la population examinée dans l'étude. Par exemple, Baumgartner et coll. (168) et Melton et coll. (169) ont défini la sarcopénie par un indice de masse musculaire inférieur à 7,26 kg/m<sup>2</sup> pour les hommes et 5,45 kg/m<sup>2</sup> pour les femmes. Newman et coll. (170) ont considéré des sujets sarcopéniques pour un indice de masse musculaire inférieur à 7,23 kg/m<sup>2</sup> pour les hommes et 5,67 kg/m<sup>2</sup> pour les femmes. Delmonico et coll. (171) ont rapporté des valeurs limites d'indice de masse musculaire de 7,25 kg/m<sup>2</sup> pour les hommes et de 5,67 kg/m<sup>2</sup> pour les femmes.

Toutefois, l'utilisation de ces seuils a plusieurs limites. La DEXA ne permet pas de distinguer l'infiltration de graisse dans le muscle, qui peut être augmentée avec l'âge. De plus, cette évaluation de la masse musculaire n'est pas adaptée aux personnes obèses qui possèdent une masse grasse

élevée ainsi qu'une masse musculaire augmentée relativement à leur poids corporel total. L'indice de masse musculaire peut donc méjuger la prévalence de la sarcopénie chez les sujets obèses et la surévaluer chez les sujets maigres (170, 171).

#### Bio-impédancemétrie :

La bio-impédancemétrie est une méthode d'analyse de la composition corporelle de façon non invasive en évaluant les rapports entre la masse maigre et la masse grasse. L'avantage de cette méthode est qu'elle simple d'utilisation, peu coûteuse et pratique à réaliser chez les sujets qu'ils soient ambulatoires ou alités. De ce fait, cette technique est la meilleure alternative à la DEXA en pratique clinique.

Janssen et coll. ont publiés des valeurs seuils de sarcopénie à partir d'une estimation bio-impédancemétrique en prenant en considération soit l'indice de masse musculaire soit l'index de sarcopénie (172, 173). Dans une première étude (172), ils ont défini une équation de prédiction de la masse musculaire en se basant sur des données bio-impédancemétriques. L'indice de masse musculaire est alors calculé en utilisant la masse musculaire totale, c'est-à-dire pas uniquement la masse musculaire appendiculaire. Il est défini comme étant la masse musculaire corrigée par la masse totale du sujet en kilogrammes multipliée par cent. Les hommes ayant un indice supérieur à 37% sont considérés comme ayant une masse musculaire normale. Les sujets caractérisés par un indice situé entre 31 et 37%, sont classés comme ayant une sarcopénie de type 1, alors que ceux présentant un indice inférieur à 22% souffrent d'une sarcopénie de type 2. Pour les femmes, une masse musculaire normale correspond à un indice supérieur à 28%, une sarcopénie de type 1 s'il est compris entre 22 et 28% et une sarcopénie de type 2 s'il est inférieur à 22%. Les valeurs de

masse musculaire calculées par cette équation étaient fortement corrélées avec celles obtenues par imagerie par résonance magnétique.

D'autres auteurs utilisant la même technique ont défini un autre indice pour diagnostiquer la sarcopénie. Pour eux, les sujets sont atteints d'une sarcopénie de type 1 si l'indice mesuré se situe entre un et deux écart-types par rapport à une population jeune de référence (18-39 ans). Pour la sarcopénie de type 2, l'indice doit être inférieur à deux écart-types (172).

Dans une deuxième étude, Janssen et coll. (173) ont défini des valeurs limites de sarcopénie en se basant sur le calcul de l'indice de masse musculaire. Ces valeurs seuils de sarcopénie ont été définies pour les hommes et les femmes en tenant compte du risque accru de développer des troubles fonctionnelles (>60 ans). Pour les hommes, les valeurs seuils étaient définies par un indice inférieur ou égal à 8,50 kg/m<sup>2</sup>. Les indices entre 8,51 et 10,7 kg/m<sup>2</sup> étaient corrélés à un risque élevé et moyen de handicap physique. Pour les femmes, les valeurs seuils étaient un indice de masse musculaire inférieur ou égal à 5,75 kg/m<sup>2</sup>. De même, les indices entre 5,76 et 6,75 kg/m<sup>2</sup> étaient corrélés à un risque élevé et moyen de handicap physique.

Une étude française (174) a défini des valeurs limites de sarcopénie en tenant compte d'une population de référence portant sur 782 sujets français sains de moins de 40 ans. Les valeurs seuils choisies dans ce travail étaient un indice de masse musculaire inférieur à 8,6 kg/m<sup>2</sup> pour les hommes et à 6,2 kg/m<sup>2</sup> pour les femmes et un indice de sarcopénie inférieur à 34,4% pour les hommes et 26,6% pour les femmes. D'autres travaux portant sur différentes populations de référence ont été également publiés ; les valeurs sont notées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Valeurs seuils de diagnostic de la sarcopénie pour différentes populations de référence

<u>Population de référence</u>	<u>Valeurs seuils de sarcopénie</u>	<u>Valeurs seuils de sarcopénie</u>
	<u>pour les hommes (kg/m<sup>2</sup>)</u>	<u>pour les femmes (kg/m<sup>2</sup>)</u>
European Working Group on Sarcopenia in Older People- EWGSOP (162)	7,26	5,54
The society for sarcopenia, cachexia, and wasting disorder (174)	6,81	5,18
Population Espagnole (175)	6,08	4,79
The Korea National Health and Nutrition Examination Survey- KNHNNES (176)	6,58	4,59
Asia Working Group for Sarcopenia- AWGS (177)	7,0	5,4
Population Iranienne (178)	7,0	5,4

Dans les travaux originaux du présent travail, nous avons adopté les seuils de Baumgartner et coll. pour classer les participants, ce qui correspond à un indice de masse musculaire inférieur à 7.26 kg/m<sup>2</sup> pour les hommes et 5.45 kg/m<sup>2</sup> pour les femmes.

### 4.3 Mécanismes physiopathologiques de la sarcopénie

La sarcopénie représente un syndrome multifactoriel dont l'étiologie est complexe (figure 6). Les perturbations hormonales, les modifications métaboliques associées à la prise alimentaire et la réduction du niveau d'activité physique constituent les principaux facteurs impliqués dans l'évolution et l'apparition de la sarcopénie chez le sujet âgé sain. Au niveau tissulaire, une altération de l'anabolisme protéique, une augmentation des phénomènes inflammatoires et du stress oxydant (179), l'installation d'une insulino-résistance (180-184). D'autres phénomènes comme une augmentation de la rétention des acides aminés alimentaires par le territoire splanchnique ont été décrits (185). L'avancée en âge joue un rôle important dans l'apparition et le développement de ces différents mécanismes, associés à d'autres facteurs aggravants tels que l'inactivité physique (2, 51, 57, 58) et la dénutrition protéique (186-187), qui vont accélérer le développement de la sarcopénie.

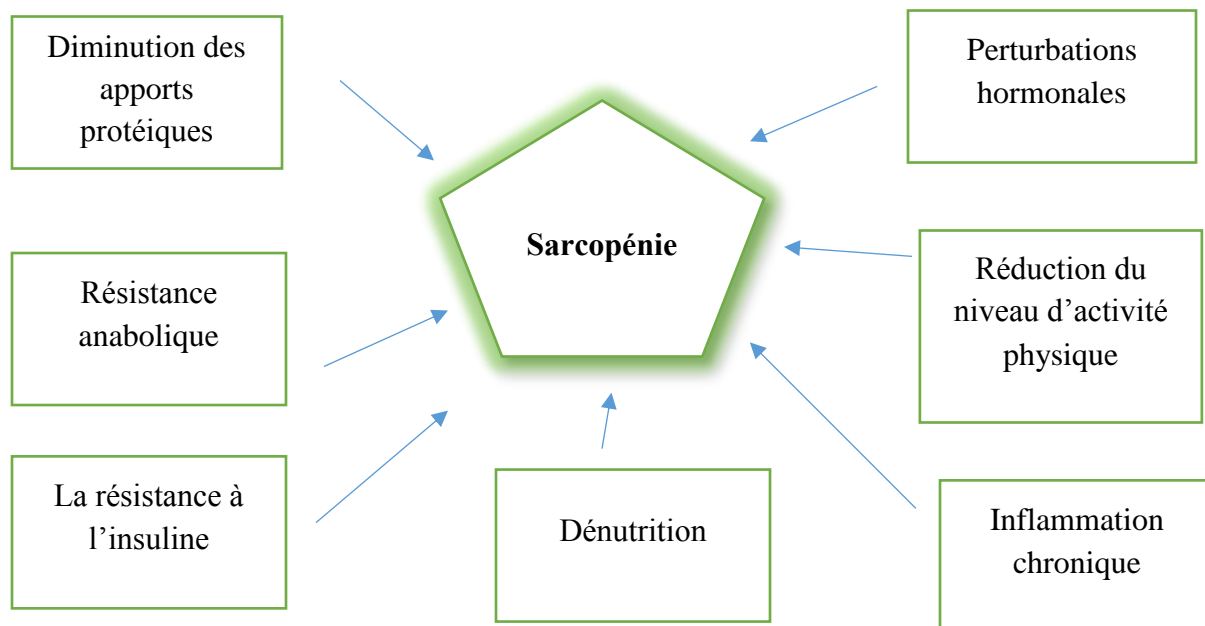


Figure 5 : Les principaux facteurs impliqués dans l'apparition et l'évolution de la sarcopénie chez le sujet âgé



La sarcopénie est généralement due à une atrophie musculaire représentée par une diminution de la taille et une réduction du nombre des fibres musculaires, particulièrement des fibres de type II (179).

### Les altérations hormonales

Le vieillissement provoque des modifications de la production et de la sensibilité à certaines hormones notamment les hormones ayant une activité anabolisante sur le muscle squelettique comme l'hormone de croissance (GH), l'insulin-like growth factor-1 (IGF-1), la testostérone et l'insuline. Ces hormones régulent le métabolisme protéique au niveau musculaire, en augmentant l'anabolisme et/ou réduisant le catabolisme des protéines (180). Une diminution des taux de GH / IGF-1 est généralement observée chez les personnes âgées (188). Cette modification contribue aux changements de la composition corporelle, c'est à dire à l'augmentation de la masse grasse, en particulier au niveau viscéral, et la diminution de la masse maigre, notamment musculaire (189). Selon certains travaux, de faibles taux d'IGF sériques sont associés chez la femme âgée à une réduction de la force des muscles extenseurs du genou, à une faible vitesse de marche et à une réduction de la mobilité (190). Le vieillissement est également associé chez l'homme à une diminution des capacités de production de testostérone, une hormone qui favorise la synthèse des protéines musculaires (191).

L'insuline, hormone hypoglycémiante, joue également un rôle dans la régulation du métabolisme protéique musculaire. Son action se situe à différents niveaux : elle stimule le transport des acides aminés dans les cellules, active la synthèse protéique et inhibe la protéolyse (182). Au cours du vieillissement, l'efficacité de l'insuline à contrôler le métabolisme protéique semble réduite (182).

Les travaux de Guillet et coll. (192) ont clairement montré que l'inhibition de la dégradation protéique corporelle est réduite chez les sujets âgés non diabétiques même à des niveaux physiologiques ou élevés d'insuline. A noter dans ce travail, une perfusion d'acides aminés potentialise de la même façon la suppression de la dégradation protéique induite par l'insuline chez des sujets jeunes ou âgés, ce qui suggère une dérégulation spécifique du renouvellement protéique par l'insuline avec l'âge. Au niveau des mécanismes mis en jeu, Wand et coll. (185) ont montré que l'altération du métabolisme de l'insuline chez la souris âgée augmentait l'expression des ubiquitines ligases et favorisait le catabolisme protéique.

#### L'inactivité physique :

L'avancée en âge est généralement accompagnée par un style de vie plus sédentaire et une inactivité physique chronique. Ce mode de vie favorise la progression de la sarcopénie ainsi que le développement de l'insulinorésistance, et diminue l'effet anabolisant de l'insuline sur le muscle squelettique. Cependant, les personnes menant un mode de vie plus actif sont caractérisées par un déclin de la masse musculaire moins important par rapport aux sujets sédentaires (193, 194). Une étude clinique a montré que la pratique d'exercices de résistance en continu, durant une période moyenne de 12 à 17 ans, permettait d'éviter le développement de la sarcopénie (195). Une deuxième étude portant sur 845 sujets âgés de plus de 45 ans a montré que la masse musculaire mesurée par DEXA était significativement plus élevée chez les individus caractérisés par un niveau habituel d'activité physique élevé, que ce soit pour leurs loisirs ou leur activité professionnelle (196). Une autre étude réalisée chez des sujets âgés a rapporté que des exercices en force contre résistance réalisés avec une intensité minimale (40 % de la force maximale) 3 fois par semaine

pendant 4 mois étaient capables d'augmenter la force déployée par les muscles extenseurs du genou (197). Barberi et coll. (198) ont aussi remarqué dans leur étude publiée en 2015 que 5-10 minutes d'exercices d'intensité modérée ou élevée provoquent une élévation de la production d'IGF-1, permettant une augmentation du diamètre des fibres musculaires ainsi que de la force.

Les mécanismes physiopathologiques qui peuvent influencer la perte musculaire associée à l'inactivité physique sont variés. En effet, l'inactivité physique réduit la tension soutenue par les muscles et réduit l'état d'activation des facteurs protéiques impliqués dans la stimulation de la protéosynthèse (199). En outre, il a été démontré que le vieillissement se traduit par des taux élevés de cytokines proinflammatoires, et particulièrement de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$ , au sein du muscle inactif (184). Ces marqueurs de l'inflammation accélèrent la protéolyse musculaire par l'activation du système ubiquitine protéasome. Précisément, l'inflammation augmente la fixation de l'ubiquitine sur les protéines concernées par la dégradation et favorise leur transport vers le protéasome pour faciliter leur hydrolyse. Ces deux phénomènes, qui se caractérisent par une diminution de la synthèse protéique et un accroissement de sa dégradation réduit le contenu en protéines musculaires et subséquemment provoque la progression de la sarcopénie.

#### La résistance anabolique postprandiale :

Le muscle est principalement formé de protéines, dont une partie est renouvelée chaque jour, via les processus de synthèse et de dégradation. L'équilibre entre ces deux processus doit être maintenu afin que la masse protéique musculaire reste stable. Or, il est perturbé avec l'avancée en âge, avec une diminution de la synthèse et un accroissement du catabolisme des protéines musculaires.

Le métabolisme protéique est surtout régulé par la prise alimentaire. Les protéines sont généralement reconstituées durant la phase postprandiale et utilisées pendant la phase post-absorptive, d'où l'importance de compenser les pertes des protéines musculaires par une prise alimentaire adéquate. Des études antérieures ont montré que chez le sujet âgé, la prise alimentaire permet d'augmenter la synthèse des protéines corporelles et de réduire leur dégradation (186, 187). Ces phénomènes sont possibles par une augmentation des sécrétions hormonales et de la distribution des nutriments aux muscles en période postprandiale. Aussi, un régime inadéquat, c'est à dire pauvre en protéines ne permet pas de stimuler la protéosynthèse après le repas, même si la sécrétion d'insuline est augmentée. Ceci indique que la régulation postprandiale de la synthèse des protéines dépend principalement des acides aminés alimentaires (186, 187). Il a été établi chez le rat âgé comme chez l'homme âgé, que la protéosynthèse est moins stimulable par le repas que chez des individus jeunes, même si le repas est composé d'un apport protéique optimal (200). On appelle ce phénomène la « résistance anabolique au repas ». Celle-ci altère le processus de compensation des pertes de protéines musculaires de la phase de jeûne, et provoque par conséquent une diminution de la masse musculaire de l'individu au fil du temps.

Toutefois, il existe un seuil anabolique minimal pour soutenir la synthèse protéique musculaire après la prise alimentaire. Ce seuil anabolique est indispensable pour conditionner l'intensité ainsi que la durée de la réponse anabolique durant la phase postprandiale. Au cours du vieillissement, ce seuil anabolique augmente, ce qui réduit l'amplitude de la stimulation de la synthèse protéique musculaire par les acides aminés. De plus, la biodisponibilité des acides aminés pour le muscle, qui module la réponse anabolique, est réduite au cours du vieillissement du fait d'une augmentation de l'extraction splanchnique des acides aminés alimentaires (185). Ainsi, deux phénomènes s'additionnent, une réduction des capacités de distribution des acides aminés alimentaires au

muscle accompagnée d'une diminution de la sensibilité du muscle pour ces nutriments. De ce fait, la résistance anabolique postprandiale est l'un des mécanismes les plus à même d'expliquer la perte protéique musculaire liée à l'âge.

Tableau 8 : Mécanismes de la réduction de la réponse anabolique durant la phase postprandiale chez le sujet âgé

Les évènements qui modifient <b>la réponse anabolique</b> durant la phase postprandiale chez le sujet âgé
<ul style="list-style-type: none"><li>- ♦ Une diminution des apports alimentaires riche en protéines</li><li>- ♦ Un accroissement de l'extraction splanchnique des acides aminés alimentaires<ul style="list-style-type: none"><li>- ♦ La résistance musculaire à l'insuline</li><li>- ♦ La résistance musculaire aux acides aminés<ul style="list-style-type: none"><li>- ♦ L'inactivité physique</li></ul></li></ul></li><li>- ♦ L'inflammation chronique liée au vieillissement</li></ul>

En conséquence, les recommandations concernant les apports protéiques du sujet âgé sont actuellement très discutées. Ainsi, Rizzoli et coll. (201) ont indiqué que les recommandations d'apport chez les sujets présentant une résistance anabolique devraient être entre 1,0 à 1,2 g / kg par jour, repartis sur les trois repas quotidiens. Paddon-Jones et coll. (202) ont proposé des recommandations sur la base de 25 à 30 g de protéines de haute qualité par repas protéger les individus de la sarcopénie. D'autres chercheurs ont remarqué que l'absorption des acides aminés et la protéosynthèse dans le muscle étaient limitées après une consommation de 10 g de protéines,

mais s'intensifiaient remarquablement après une consommation de 20 g de protéines et atteignaient un maximum après l'ingestion de 35 g de protéines (203).

De plus, il a été rapporté que chez les sujets âgés, un apport plus important de protéines provoquerait une augmentation des capacités de protéosynthèse et une diminution de la protéolyse au niveau musculaire (204). Walrand et coll. (205) ont étudié l'effet d'un régime alimentaire adéquat en protéines (AP, 1g/kg/j) ou riche en protéines (HP, 2g/kg/j) sur la vitesse de synthèse des protéines musculaires. Ces auteurs n'ont pas montré de différence entre les deux groupes concernant la vitesse de synthèse protéique musculaire. Néanmoins, ce paramètre n'a été mesuré qu'en conditions post-absorptives dans cette étude, expliquant certainement l'absence de différence entre les deux doses de protéines. Dans un travail, la même équipe a évalué l'effet sur la synthèse protéique musculaire de deux doses de protéines ayant des vitesses d'assimilation différentes. Ils ont choisi une source de protéines soit sous forme de 15 ou 30 g de caséines (CAS, protéines lentement assimilées) soit 15 ou 30 g de protéines solubles de lait (PRO, protéines rapidement assimilées). Les résultats ont montré que la synthèse des protéines musculaires en phase postprandiale n'était augmentée uniquement dans le groupe PRO ( $P < 0,02$ ) quelle que soit la quantité de protéines ingérée. Ce résultat peut être expliqué par le fait que les protéines solubles de lait se digèrent plus rapidement, et sont plus riches en acides aminés indispensables, participant à l'augmentation de l'anabolisme musculaire, comme la leucine. A ce sujet, il a aussi été montré qu'un apport de leucine pourrait améliorer la stimulation postprandiale du métabolisme protéique chez les sujets âgés. En effet, une supplémentation en leucine libre au cours du repas semble exercer un effet positif sur la synthèse des protéines musculaires (206-208).

## Le déficit en vitamine D

Des nombreuses études transversales confirment un rapport existant entre de faibles taux sériques de [25 (OH) D] (<50 nmol / L) et une réduction des performances physiques (118, 147, 209-211) ainsi qu'une diminution de la force et la masse musculaires (114, 147, 209, 210, 212) et une perte d'autonomie chez les personnes âgées (209, 212). Une méta-analyse récente comprenant 17 études transversales et cinq études longitudinales (n = 54 à 4100) a révélé que les personnes âgées présentant un faible statut en vitamine D ont une vitesse de marche plus lente par rapport aux personnes ayant un statut normal (-0,18 m / s en carence en vitamine D;  $\leq 25$  nmol / L) (213). La performance physique était pareillement corrélée à une insuffisance en vitamine D. Vaes et coll. (214) ont confirmé plus récemment les associations étroites entre une hypovitaminose D, la vitesse de marche (n = 745) et les tests de performance (n = 488) chez les hommes et les femmes âgés de plus de 65 ans. Ce lien a été également confirmé par Zhou et coll. (215), dans une méta-analyse publiée en 2016. Une carence en vitamine D a été aussi associée à de faibles niveaux de performances physiques (216, 217) et une réduction de la force du poignet (218) chez des personnes âgées en bonne santé. A noter que d'autres travaux de recherche (147, 219) n'ont pas relevé de telles associations. Un travail récent par Granic et coll. (220) et portant sur un groupe de sujets âgés de 85 ans et plus a observé, sur une période de cinq ans, une diminution plus importante de la force du poignet chez les hommes ayant les concentrations sanguines de 25(OH) D les plus faibles. Cette diminution n'était pas notée chez les femmes. L'ensemble de ces observations montre que l'amélioration du statut vitaminique D pourrait prévenir la diminution de la force musculaire et retarder l'apparition d'un handicap chez les personnes âgées.

L'effet positif de la supplémentation en vitamine D sur la force du poignet a ainsi été rapporté dans une étude menée chez des femmes âgées ménopausées ayant reçu 1 000 UI/j (25µg/j) de vitamine

D<sub>3</sub> sur une période de 9 mois (221). Une autre étude portant sur des sujets âgés vivant dans une maison de retraite et présentant une concentration sérique de [25(OH) D] <30 ng/mL (75 nmol / L) a permis de noter une optimisation de la force du quadriceps et de la performance physique jugée par une batterie de tests (vitesse de marche, levé d'une chaise,...), après un apport 600 000 UI (15 000 µg) de cholécalférol pendant 3 mois (222). Ranathunga et coll. (223) ont également confirmé une association entre la force du poignet et la concentration plasmatique de [25(OH) D]. Wu et al. (224) ont révélé que l'obtention d'une concentration sérique de [25(OH) D] entre 29 à 33 nmol/L permettait d'améliorer la santé musculosquelettique chez les femmes adultes. Ces constats confirment la recommandation de certaines agence de sécurité alimentaire, concernant la protection de la santé musculosquelettique, préconisant que la concentration sérique de [25(OH) D] ne devrait pas passer en dessous de 25 nmol / L chez le sujet âgé (225). A ce sujet, Kotlarczyk et coll. (226) ont proposé que la concentration sérique de [25(OH) D] chez les personnes âgées soit comprise entre 30 et 40 ng / ml (~ 75–100 nmol / L), pour permettre une fonction musculaire optimale.

Des méta-analyses ont évalué l'effet de la supplémentation en vitamine D sur la masse et la force musculaires chez les sujets âgés vivant dans des institutions (152, 227-229). Annweiler et coll. (227) ont constaté que les sujets présentant initialement un déficit/carence en vitamine D étaient caractérisés par une meilleure réponse à la supplémentation. Muir et coll. (152) ont déduit dans leur méta-analyse qu'une supplémentation en vitamine D, indépendamment de la dose ingérée, améliore la performance physique (3 études; n = 551) et l'équilibre postural des individus (trois études; n = 413). Ils ont également observé que des doses quotidiennes élevées de vitamine D (800 UI à 1000 UI ou 20 µg à 25 µg) permettent d'améliorer l'équilibre et la force musculaire des membres inférieurs (152). De même, une autre méta-analyse a noté un effet bénéfique de la



supplémentation en vitamine D, avec ou sans calcium, sur la force musculaire chez les personnes âgées surtout chez les personnes vivant en institutions (229). Cependant, une étude réalisée par Bischoff-Ferrari et coll. en 2016 n'ont pas confirmé les effets bénéfiques de doses mensuelles de 24 000 UI (600 µg) ou de 60 000 UI (1500 µg) de vitamine D pour une période de 12 mois sur la performance musculaire (par SPPB) chez des sujets de 78 ans en moyenne (230). Cette dernière étude montre que les bénéfices de la supplémentation en vitamine D sur les fonctions musculaires sont observés avec des doses de vitamine D comprises entre 800 et 1 000 UI/jour (20 µg et 25 µg/jour), mais pas forcément avec des doses plus élevées.

#### La production de cytokines proinflammatoires

Il a été établi ultérieurement que la production et les concentrations sanguines des cytokines proinflammatoires comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-1- $\beta$  augmentent avec l'âge, contribuant au catabolisme protéique musculaire (231). Des concentrations élevées de TNF- $\alpha$ , IL -6, et CRP ont été négativement associées à la masse musculaire (232) et à la force musculaire (233). Une étude de cohorte portant sur 323 femmes âgées de plus de 72 ans a évalué les concentrations sanguines des cytokines proinflammatoires et la perte musculaire. Dans ce travail, plus les concentrations d'IL-6 étaient élevées, plus la perte de la masse maigre est importante (234). De plus, le TNF- $\alpha$  altère la synthèse des protéines au sein du muscle squelettique et inhibe l'action de l'insuline. Cette dernière action contribue indirectement à la réduction de la synthèse et à l'augmentation de la dégradation des protéines au sein de ce tissu (231, 232).

A noter que la diminution de la masse musculaire avec l'âge entraîne une accumulation de masse grasse, capable de produire ces composés inflammatoires. Schragar et coll. (235) ont en effet

constaté que le développement de la masse adipeuse augmente la production des marqueurs d'inflammation, qui à leur tour affecte négativement la force musculaire. En outre, Stenholm et coll. (136) ont montré qu'un pourcentage élevé de masse grasse corporelle et une faible force de préhension sont corrélés à une augmentation des concentrations sanguines de la CRP. Par conséquent, une inflammation de bas grade pourrait être l'un des principaux facteurs engagés dans le cercle vicieux de la sarcopénie et de l'adiposité chez les personnes âgées.

### L'altération de l'innervation

Des « facteurs neurogéniques » sont aussi mis en cause, avec une réduction du nombre de motoneurones alpha et une augmentation de la dénervation des unités motrices. Le sujet âgé perd aux alentours de 50 % de ses motoneurones, surtout les motoneurones alpha des membres inférieurs sollicitant les fibres de type II. De même, le processus de dénervation-réinnervation d'unités motrices devient plus lent avec l'âge, ce qui participe aux modifications de la typologie musculaire. Ainsi, la production des fibres de type II (fibres rapides, glycolytiques) est réduite, et un regroupement des fibres musculaires au profit des fibres de type I (fibres lentes, oxydatives) est induit. D'autres facteurs musculaires liés à la transduction du signal sont incriminés en provoquant une réduction de la mobilisation du calcium intracellulaire, du fait d'une réduction des capacités fonctionnelles des récepteurs ryanodine de type RyR (237).

#### 4.4 Particularités de l'obésité sarcopénique

La définition de l'obésité sarcopénique rassemble la définition de l'obésité et celle de la sarcopénie (discutée antérieurement).

Un excédent du tissu adipeux provenant d'un déséquilibre entre la dépense énergétique via principalement l'inactivité physique et des apports énergétiques inadéquats, sont les causes principales qui mènent à l'obésité. L'indice de masse corporel (IMC) ainsi que le pourcentage de masse grasse et la mesure du tour de taille sont utilisés pour dépister et classer le degré d'obésité. Chez la personne obèse, on retient un  $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$  ou un pourcentage de masse grasse entre 20% et 37% chez les hommes, et entre 32% et 48% chez les femmes pour définir cet état. De plus, la mesure du tour de la taille est aussi considérée, et des mesures supérieures à 88 cm pour une femme et 102 cm pour un homme sont les seuils caractéristiques de l'obésité. L'obésité en générale, et particulièrement l'obésité abdominale, sont des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (238) et du diabète de type 2 (239) car l'accumulation de graisses dans la région abdominale est associée à l'insulino-résistance (240).

Goodpaster et coll. (241) ont montré que les augmentations observées de la masse grasse viscérale et du tissu adipeux intramusculaire chez la personne âgée sont corrélées à une détérioration du métabolisme glucidique, indépendamment de l'obésité. Ceci indique que l'IMC n'est pas l'index le plus adapté pour déterminer les altérations métaboliques induites à l'obésité chez le sujet âgé, étant donné les transformations corporelles associées au vieillissement. D'ailleurs, la perte de la masse musculaire accompagnée d'une prise de masse grasse, particulièrement viscérale, peuvent masquer l'obésité à cet âge avancé.

Concernant la prévalence de l'obésité sarcopénique, les chiffres varient entre 5% et 15% des personnes âgées. En outre, plus la personne est âgée, plus la prévalence devient importante (242). Inévitablement, on observe un accroissement de la masse grasse accompagnée d'une diminution de la masse musculaire avec l'âge. Jusqu'à présent, les modalités de définition de l'obésité sarcopénique n'ont pas été claires. Les essais cliniques sur l'obésité sarcopénique ne sont pas très abondants, et ils portent généralement sur les facteurs de risque cardiovasculaires plutôt que sur la fonction physique (243, 244). La mesure de la masse musculaire et de la composition corporelle ainsi que les critères de diagnostics de la sarcopénie et de l'obésité varient selon les études cliniques. La majorité de ces études définissent l'obésité en tenant compte du pourcentage de masse grasse.

L'obésité sarcopénique provoque des altérations fonctionnelles et métaboliques plus importants que l'obésité seule ou que la sarcopénie seule. Bien que deux travaux de recherche (245, 246) n'aient pas noté de changements fonctionnels chez les sujets obèses sarcopéniques, une étude française (247) plus récente, réalisée chez des femmes âgées (>75 ans) a rapporté que les femmes obèses sarcopéniques présentaient un risque plus élevé d'altération de la mobilité comparativement à celles ayant un poids normal et non sarcopéniques ou à celles uniquement sarcopéniques. Zoico et coll. (248) ont relevé que les sujets obèses sarcopéniques ont 4 fois plus de risque de développer une incapacité fonctionnelle comparativement à des sujets de même âge non obèses. De plus, il a été démontré que les sujets obèses sarcopéniques présentent fréquemment des troubles de la marche plus graves que les sujets âgés sarcopéniques (249, 250).

Une étude longitudinale (251) d'une durée de huit ans réalisée chez des sujets âgés a permis de montrer que les personnes obèses sarcopéniques avaient un risque plus élevé de perte d'autonomie avec le temps, jugée sur les capacités d'exécution des tâches quotidiennes, par rapport à ceux qui

n'étaient pas obèse et sarcopéniques. L'étude de cohorte InCHIANTI (252), comprenant 930 sujets âgés suivis pendant six ans a observé une réduction plus importante de la vitesse de marche chez les personnes obèses sarcopéniques comparativement aux non sujets obèses/non sarcopéniques, aux sujets sarcopéniques et aux sujets obèses.

Les effets cardiovasculaires et métaboliques des sujets souffrant d'obésité sarcopénique n'ont pas été considérablement étudiés. Une étude menée par Srikanthan et coll. en 2010 (253) a relevé que les sujets atteints d'une obésité sarcopénique présentaient un risque supérieur de développer une insulino-résistance. Cependant, d'autres études n'ont pas confirmé une association plus forte entre l'obésité sarcopénique et le risque de survenue des maladies métaboliques ou cardiovasculaires lorsque ces sujets ont été comparés à des sujets de même âge mais uniquement obèses (254, 255).

Villareal et coll. (256) ont évalué, dans un essai contrôlé et randomisé, l'impact de la perte de poids et de l'activité physique sur les performances physiques chez des sujets âgés obèses (n=107). Les résultats ont montré que l'amaigrissement et l'entraînement physique, combinés, produit une amélioration importante des performances dans cette population.

En résumé, les conséquences de l'obésité et de la sarcopénie sur la fonction et les performances musculaires semblent s'additionner. De ce fait, d'après Zamboni et coll. (257), l'obésité sarcopénique peut être à l'origine d'une augmentation de la morbidité et de la mortalité des sujets âgés.

# **Objectifs du travail de thèse**

Le vieillissement provoque des changements métaboliques et physiologiques, qui se caractérisent en particulier par une réduction de la sensibilité à l'insuline et une perte de la masse et de la force musculaires. Au vu de la littérature, la vitamine D semble réguler l'homéostasie du glucose et influence positivement les marqueurs lipidiques. Elle joue aussi un rôle important sur la santé musculaire, mettant en exergue une possible association entre la déficience en vitamine D et la perte des fonctions du muscle squelettique avec l'âge. Des études précédentes ont également montré qu'une supplémentation en vitamine D améliorerait la fonction contractile et la force musculaires, ainsi que le métabolisme glucido-lipidique. De plus, des travaux ont révélé que les personnes âgées obèses étaient caractérisées par des concentrations sanguines de vitamine D plus basses, accompagnées d'une réduction relative de la masse et de la force musculaires, pouvant contribuer au développement de l'obésité sarcopénique.

A notre connaissance, les preuves concernant l'effet de la supplémentation en vitamine D sur ces modifications physiologiques sont toujours manquantes, en particulier chez les sujets âgés vivant au Liban. De ce fait, **l'objectif général de ce travail de thèse était d'évaluer l'effet de la correction d'une hypovitaminose D sur les marqueurs du métabolisme glucido-lipidique et la masse et la force musculaires de personnes âgées libanaises normo-pondérales ou obèses.**

En effet, bien que le climat soit ensoleillé au Liban, le déficit et la carence en vitamine D demeurent un problème majeur de santé publique, en particulier chez la personne âgée. Comme décrit dans la partie bibliographique, l'insuffisance d'apport et de synthèse endogène de vitamine D participe à la fois aux perturbations métaboliques (dyslipidémies, insulino-résistance) et à la perte de la masse et des fonctions musculaires chez le sujet âgé.

L'objectif du travail de thèse était donc, dans un premier temps, d'évaluer l'impact du déficit et l'effet d'une complémentation en vitamine D sur les paramètres métaboliques et la résistance à l'insuline. Dans un second temps, les effets sur la force et la masse musculaire ont été déterminés. Etant donné l'importance de la masse adipeuse sur les statuts en vitamine D, sur les paramètres métaboliques et sur les fonctions musculaires, nous avons fait le choix d'inclure dans nos études à la fois des sujets âgés pré-sarcopéniques normo-pondéraux ou obèses. Ce travail représente donc l'un des premiers au sujet des effets de la déficience en vitamine D et d'apport complémentaire de vitamine D sur des indicateurs métaboliques ainsi que sur la masse et les fonctions musculaires chez des sujets pré-sarcopéniques en fonction de leur statut pondéral (sujets normo-pondéraux et sujets en surpoids).

Les deux publications présentées dans ce document répondent à l'objectif. La première étude (randomisée, réalisée en double aveugle contre placebo) a permis de déterminer l'effet d'un déficit et d'une complémentation en vitamine D sur les marqueurs de statut de cette vitamine, les indexes de résistance à l'insuline et les anomalies lipidiques chez la personne âgée vivant au Liban.

La seconde publication présente les résultats d'une étude randomisée réalisée en double aveugle contre placebo chez des sujets âgés sains normo-pondéraux ou obèses ayant un déficit en vitamine D. Cette étude a permis de déterminer l'effet positif de la complémentation en vitamine D à court terme sur la masse et les performances musculaires dans cette population.



# **Publications originales**

## **Première publication**

Effet du traitement par la vitamine D sur le métabolisme du glucose et les anomalies lipidiques  
chez les personnes âgées libanaises : étude randomisée, en double aveugle

### **Présentation de la première publication**

Des études précédentes ont clairement montré que le déficit et la carence en vitamine D altèrent le métabolisme du glucose et des lipides au sein de l'organisme. On sait par exemple qu'il existe des récepteurs de la vitamine D au sein des cellules  $\beta$  du pancréas ainsi que dans le foie, les muscles squelettique et le tissu adipeux, ces derniers consistant les organes-cibles de l'action de l'insuline. De plus, il est communément établi que l'âge affecte la sensibilité à l'insuline et le métabolisme lipidique.

L'objectif principal dans cet essai randomisé et réalisé en double aveugle versus placebo était d'évaluer l'effet de la complémentation en vitamine D sur l'homéostasie du glucose, l'indice de résistance à l'insuline et les marqueurs lipidiques chez des sujets âgés sains de plus de 65 ans vivant à Beyrouth-Liban.

Cette étude a été conduite à l'hôpital Saint Charles, Beyrouth-Liban. Après sélection, les participants ont été randomisés pour recevoir soit un complément de 10000 IU de cholécalciférol (Euro-Pharm International, Canada) ou un comprimé placebo (contenant par portion : 66,3% de cellulose, 33,2% d'amidon et 0,5% de stéarate de magnésium) à prendre trois fois par semaine pendant une période de six mois.

Une méthode de randomisation a été réalisée et les participants (73 ans en moyenne) ont été répartis au hasard en deux groupes au début de l'étude : (i) sujets recevant de la vitamine D (n = 60), (ii) sujets recevant le placebo (n = 55). L'indice de résistance à l'insuline HOMA (homeostasis model assessment) était le critère principal. L'homéostasie du glucose et les marqueurs lipidiques étaient également mesurés au début du traitement et à 6 mois.

En terme de résultats, la supplémentation en vitamine D entraînait une amélioration significative des taux sanguins de [25 (OH) D] et une diminution significative des concentrations sanguines de la PTH, de la glycémie à jeun et de l'index HOMA-IR dans le groupe d'intervention par rapport au placebo. En revanche, aucun changement significatif n'était observé concernant les niveaux sanguins d'HbA1c quel que soit le groupe considéré. Les concentrations sanguines de cholestérol total et de cholestérol LDL étaient également diminuées de manière significative dans le groupe recevant la vitamine D.

La vitamine D à une dose de 30000 UI par semaine en 3 prises durant une période de 6 mois semble diminuer la glycémie à jeun, réduire la résistance à l'insuline et améliorer les marqueurs lipidiques chez les sujets âgés sains. Notre étude confirme que le maintien des statuts en vitamine D est bénéfique et pourrait prévenir l'apparition de maladies métaboliques (diabète de type 2, maladies cardiovasculaires,...) dans cette population âgée non diabétique.

**Cette étude a fait l'objet d'un article intitulé "Effect of vitamin D treatment on glucose homeostasis and metabolism in Lebanese older adults: a randomized controlled trial", publiée dans la revue « The Journal of Nutrition, Health and Aging » (El Hajj C, Chardigny JM, Boirie Y, Yammine K, Helou M, Walrand S. Effect of Vitamin D Treatment on Glucose Homeostasis and Metabolism in Lebanese Older Adults: A Randomized Controlled Trial. J Nutr Health Aging. 2018; 22(9):1128-1132).**

**Effect of vitamin D treatment on glucose homeostasis and metabolism in Lebanese older adults: a randomized controlled trial**

Cynthia El Hajj<sup>a, b</sup>, MS, Jean-Michel Chardigny<sup>b</sup>, Ph.D, Yves Boirie<sup>b, c</sup>, Ph.D, Kaissar Yammine<sup>d</sup>, MD, MPH, PhD, Mariana Helou<sup>e</sup>, MD, Stéphane Walrand<sup>b</sup>, Ph.D

<sup>a</sup> Département de Diététique et de Nutrition, Hôpital Saint-Charles, Beirut, Lebanon

<sup>b</sup>INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, France

<sup>c</sup>CHU Clermont-Ferrand, Service de Nutrition Clinique, 63003 Clermont-Ferrand, France

<sup>d</sup>Department of Orthopedic Surgery, Lebanese American University-Rizk Hospital, Beirut, Lebanon - Center for Evidence-based Anatomy, Sports & Orthopedic Research, Jdeideh, Lebanon.

<sup>e</sup> Department of Medicine, School of Medicine, Lebanese American University, Beirut, Lebanon.

\*Corresponding author: [cynthiaeliashajj102@gmail.com](mailto:cynthiaeliashajj102@gmail.com), Tel: +9613409590

## **Abstract**

**BACKGROUND:** A low serum 25-hydroxyvitamin D [(25(OH) D)] concentration was shown to correlate with higher fasting blood glucose (FBG) and insulin levels. Since age affect insulin sensitivity and the metabolism, we aimed in this randomized controlled trial to investigate the effect of vitamin D supplementation on glucose homeostasis and index of insulin resistance in elderly subjects living in Beirut, Lebanon.

**METHODS:** Participants (n= 115) deficient in vitamin D were randomly divided into two groups, a group receiving 30,000 IU cholecalciferol/week for a period of 6 months, and a placebo group. The index of insulin resistance HOMA (homeostasis model assessment) was the primary outcome. Glucose homeostasis and metabolic markers were also measured at start of treatment and at 6 months.

**RESULTS:** Vitamin D supplementation led to significant improvements in blood levels of [25(OH) D] ( $P < 0.0001$ ), and a significant decreased of HOMA, PTH and FBG concentrations ( $P < 0.0001$ ) in the intervention group compared to placebo. No significant changes were observed in HbA1c levels for both groups. Total cholesterol and LDL cholesterol concentrations have also decreased significantly in the intervention group ( $P < 0.0001$ ).

**CONCLUSION:** Short-term supplementation with cholecalciferol improved vitamin D status, and markers of insulin resistance in healthy elder population. This trial was registered at ClinicalTrials.gov; Identifier number#:NCT03478475

## Keywords

Vitamin D, HOMA-IR, glucose, HbA1c, insulin resistance

## Abbreviations

25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; BMI, body mass index; FBG, fasting blood glucose; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA, homeostatic model assessment; IR, insulin resistance; PTH, parathyroid hormone

## Introduction

Vitamin D is known to regulate calcium homeostasis and consequently bone formation and resorption. However, hypovitaminosis D appears to be involved in the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus (T2DM), and an inverse relationship between serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], fasting blood glucose (FBG) concentrations and T2DM prevalence has been reported (1-2), especially in elderly population.

The major pathophysiological aspects of T2DM are impaired insulin sensitivity and insulin secretion. Vitamin D deficiency has been associated with insulin resistance as well as decreased  $\beta$ -cell function in many observational studies (3-5). The few published randomized controlled trials of the role of vitamin D supplementation on glucose metabolism yielded inconsistent results (4, 6, 7).

Although Lebanon has a sunny climate, it is currently listed as one having the highest rates of low vitamin D concentrations worldwide (8, 9). In addition, a high obesity rate is well documented in the literature (21, 22), which also increases the prevalence of diabetes among its population. Overweight and obesity are shown to be associated with risk of T2DM due to higher insulin resistance (IR) which is a major factor in the pathogenesis of T2DM in the elderly. Studies reported that IR increases with age, and the development of IR may be highly correlated with abdominal adiposity and low serum [25(OH) D] levels as well (10, 11).

The objective of this randomized controlled trial was to analyze the effect of vitamin D supplementation on glucose homeostasis and IR indexes in non-diabetic elderly subjects with vitamin D deficiency. We hypothesize that vitamin D supplementation would decrease the level of the relevant metabolic markers.

## **Subjects and methods**

### **Participants**

The initial sample was composed of 128 ambulatory elderly subjects, selected for being non-diabetic and having vitamin D deficiency (according to the Institute of Medicine 2011 criteria, vitamin D deficiency is defined by serum [25(OH) D] less than 30 ng/ml) (23). Exclusion criteria were patients with a history of type-2-diabetes, congestive heart failure, liver failure, renal failure, cancer, or taking oral hypoglycemic drugs or statin therapy, or patients having metabolic bone disease. The recruitment was performed in the outpatient clinics of Saint Charles hospital, Beirut. A written informed consent was signed by all the subjects which was approved by the Ethics Committee of the hospital's review board.

### **Study design**

This was a randomized, controlled, double blind study. Between May 2015 and July 2015, participants were randomized into 2 groups; the vitamin D group received a supplement of 10,000 IU cholecalciferol (Euro-Pharm International, Canada) three times per week and the placebo group who received three times per week a tablet containing microcrystalline cellulose (66.3%), starch (33.2%), and magnesium stearate (0.5%), per serving. The interventions were led for a period of 6 months. Biochemical analyses were performed at baseline and at six months.

Subjects were randomized using a simple randomization method, which was conducted by tossing a coin. Afterwards, the participants were assigned to either of the two groups. Only the pharmacist in charge of the supplements was aware of the group allocation. A first follow up by phone calls was done with each subject at 3 months to reinforce compliance, and a second follow-up at 6 months of intervention. Supplement bottle counts were used to measure patient compliance.

### **Anthropometric measurements and biochemical analysis**

Anthropometric measurements and biochemical analysis were taken at baseline and after 6 months of supplementation.

#### *Primary outcome*

The Homeostatic model assessment of IR (HOMA-IR) index was the primary outcome. It was calculated to reflect insulin sensitivity from fasting glucose and fasting serum insulin. The HOMA-IR formula was as following:  $HOMA-IR = [\text{insulin (mU/L)} \times \text{glucose (mg/dL)}] / 22.5$  where IR is the mutual of percentage sensitivity with a normal value of 1.0. The effect of both interventions on vitamin D serum level and HOMA-IR index was compared within the same group (before and after) and between both groups. Subgroup analyses were also conducted based on baseline vitamin D serum level, baseline HOMA-IR index, baseline FBG and baseline HbA1c.

#### *Secondary outcomes*

A multi-frequency segmental body composition analyzer (Tanita BC-418 Segmental Body Composition Analyzer, Illinois, USA) was used to perform anthropometric measurements,



including weight (kg) and height (m). BMI was calculated using the regular formula (body weight in kilograms divided by the square of the body height in meters [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ]). Subjects were classified as obese when BMI was  $\geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$

Blood specimens were collected after a 12-hr overnight. And then, aliquots of the serum samples were frozen and stored at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis. All analyses were assayed at baseline and 6 months. Fasting blood concentrations of vitamin D [25(OH)D] were measured by radioimmunoassay (DiaSorin, Stillwater, MN). The reference range in our laboratory for normal values of 25(OH)D concentrations is 33–90 ng/mL. Hypovitaminosis was considered with values  $< 30 \text{ ng}/\text{ml}$ . FBG was measured using a hexokinase assay on blood collected into fluoridated tubes.; inter-assay CV 1.8 % at 6.6 mmol/l. Fasting blood insulin (FBI) was measured using two-site immunoassays with either  $^{125}\text{I}$  or alkaline phosphatase labels. The HbA1c values were analyzed by an automatic analyzer, ROCHE, Cobas 8000 (C701 & C702). PTH was measured using a two-site immunoradiometric assay with an  $\text{NH}_2$ -terminal monoclonal antibody as capture. Total cholesterol, LDL, and HDL cholesterol were measured with the RA1000 autoanalyzer (Bayer Diagnostics, Suffolk, U.K.) via standard automated enzymatic methods; intra-assay CV 4.0 % at 57.6 pmol/l. The past medical history and current medical treatment were recorded for every patient.

### **Statistical analyses**

We used descriptive statistics to compare basic characteristics for both groups. Parametric tests were used to compare outcome means within the same group (paired  $t$  test) and between both groups (independent  $t$  test). ANOVA was used to test for time trends between and within treatment arms. Multivariate regression models were implemented to further investigate the

impact of vitamin D supplementation on HOMA-IR index after adjusting for several relevant and possible predictors such as age, baseline BMI, baseline vitamin D serum level, baseline HOMA-IR index, baseline FBG and baseline HbA1c. The StatsDirect statistical software (version 3.0.187) was used to conduct the analyses. A p-value <0.05 was considered statistically significant.

## **Results**

### **Subjects and baseline characteristics**

Initially, 128 subjects were randomly assigned to either vitamin D (n = 64) or placebo (n = 64) groups. Fourteen subjects (10.8%) were lost to follow-up and did not complete the study. No discontinued intervention or dropout was encountered during the follow-up (Figure 1). The baseline characteristics of the two groups were similar with non-significant differences (Table 1). Subjects had a median age of 73.3 ( $\pm 2.05$ ) and a BMI of 29.4 ( $\pm 5.48$ ), and 56 (48.7%) were women. None were diabetic. All other biochemical and hormone concentrations were similar across treatment arms.

### **Response to vitamin D supplementation**

#### *Serum 25(OH) D concentrations at 6 months*

Mean serum [25(OH) D] at 6 months increased in both vitamin D and placebo groups; 10.13  $\pm$  2.87 to 28  $\pm$  3.83 ng/ml (p <0.0001) and 10.56  $\pm$  3.14 to 15.7  $\pm$  5.7 (p <0.0001), respectively. However, the increase was more substantial in the vitamin D group.

#### *Glycemic indices and cholesterol levels at 6 months*

After 6 months of treatment, HbA1c and HDL mean levels did not differ between both groups. On the other hand, 3 indexes showed a significant decrease in both groups; while the mean FBG level decreased significantly in both groups after 6 months, it decreased more substantially in the vitamin D group compared to that of the placebo. The mean total cholesterol level, owing only to LDL level change, decreased significantly and similarly in both groups. Two-factor ANOVA showed a significant difference between the two groups in the changes over time for FBG only ( $P = < 0.0001$ ).

#### *HOMA-IR at 6 months*

After 6 months, a significant difference in HOMA-IR level was found in the vitamin D group [ $2.63 \pm 0.81$  to  $2.4 \pm 0.77$  ( $p < 0.0001$ )] when compared to the placebo group [ $2.72 \pm 0.89$  to  $2.69 \pm 0.89$  ( $p = 0.1$ )]. Gender-based subgroup analyses yielded the following: in men, HOMA-IR decreased from  $2.54 \pm 0.82$  to  $2.35 \pm 0.77$  ( $p = 0.0004$ ) whereas in women it decreased from  $2.73 \pm 0.8$  to  $2.55 \pm 0.77$  ( $P = 0.0005$ ).

#### *Predictors of HOMA-IR at 6 months*

In the vitamin D group, HOMA-IR at 6 months was associated with baseline HOMA-IR ( $R^2 = 0.89$ ,  $P < 0.0001$ ) and with [25(OH)D] at 6 months ( $R^2 = 0.09$ ,  $P = 0.01$ ). Besides those two variables, no association was found between HOMA-IR at 6 months and any other variable. When pooling both groups and adjusting for age, baseline HOMA-IR, BMI, baseline FBG, baseline HbA1c, baseline [25(OH)D] and [25(OH)D] at 6 months, multivariate regression analysis showed strong correlations with baseline HOMA-IR ( $P < 0.0001$ ), baseline [25(OH)D] ( $p = 0.01$ ) and [25(OH)D] at 6 months ( $P = 0.0002$ ). The model yielded high a prediction level ( $R^2 = 94\%$ ,  $F = 239.524$ ,  $P < 0.0001$ ). The significance for the same determinants were replicated

when a stepwise model was conducted and when the multivariate analysis was applied to each group separately.

### *Post hoc analyses*

Using univariate and multivariate analyses, no correlation was found between baseline HOMA-IR mean values and gender and age for the total sample and for each group of intervention.

Univariate analyses showed that FBG at 6 months significantly correlated only with baseline FBG ( $R^2 = 94\%$ ;  $P < 0.0001$ ). Similar results were found by using multivariate analysis when adjusted for age, BMI, HbA1c and vitamin D.

There was a beneficial effect after 6 months of vitamin D supplementation on HOMA-IR in vitamin D deficient subjects. Out of 14 subjects with a baseline prediabetes ( $5.6 > \text{FBG} > 6.9$  nmol/l), four (28.6%) subjects had a normal FBG after 6 months of vitamin D supplementation. None of those with normal baseline FBG developed prediabetes or diabetes at 6 months. Same findings resulted when using the baseline HbA1c as a definition for pre-diabetes.

Table 2 shows the relevant comparative data before and after interventions.

## **Discussion**

In this double-blind controlled trial, a three times weekly oral supplementation with 10,000 IU cholecalciferol for 6 months in healthy older adults resulted in improving FBG, HOMA-IR, PTH, as well as LDL cholesterol.

The evidence for a beneficial effect of vitamin D on insulin resistance and metabolic syndrome was previously reported in many trials, and our present study confirms this association in healthy

elder subjects. One study found that serum [25(OH) D] concentration was inversely correlated with fasting insulin concentration ( $P < 0.05$ ) in 134 non-diabetic elderly men, independently of BMI, skinfold thickness, alcohol consumption, smoking habits, and physical activity level (12). The results were also consistent with recent findings reported by Sepehrmanesh et al. (13) and Hurst et al. (14), where supplementation with vitamin D was found to improve insulin sensitivity and IR and decrease fasting insulin compared to placebo. In our present investigation, we found a significant improvement in HOMA-IR and FBG levels after improving vitamin D status. This comes also in accordance with Chiu et al., who detected a positive correlation between vitamin D status and insulin sensitivity index in adults (25). However, other trials have reported no effect of vitamin D supplementation on glycaemia and IR (15, 16, 24). Discordance with our results could be due to differences in subject characteristics, the study period, the use of lower doses of vitamin D, the low study power, or a low compliance with the study supplements.

The mechanisms by which vitamin D can affect IR are ambiguous. Reduced pancreatic  $\beta$ -cell function has been related to vitamin D deficiency, while vitamin D supplementation reestablishes insulin secretion by enhancing  $\beta$ -cell function (19). Our finding that vitamin D supplementation enhanced HOMA-IR supports the hypothesis that vitamin D lowers the risk of T2DM by reducing IR. The mechanisms behind this effect involve improvements in lean mass metabolism and regulation of insulin action and release. These activities might be mediated by production of [1, 25(OH) D] and suppression of PTH, which may play a negative role in affecting insulin sensitivity (20). In our study, serum PTH concentrations decreased significantly after vitamin D supplementation. PTH levels have been shown to correlate negatively with vitamin D concentrations and to play an essential role in the mechanism of IR and the development of the

metabolic syndrome (26). Taylor et al have also concluded that subjects with hyperparathyroidism may have an increased risk of developing T2DM (27).

The decrease in total cholesterol and LDL concentrations at 6 months in both arms is remarkable and could be explained by the weight decrease in some subjects. It has been acknowledged earlier that vitamin D treatment or a calcium vitamin D combination could have a beneficial effect on lowering cholesterol concentrations in pre- and postmenopausal women (17, 18).

The present trial has several strengths. It is a double-blind study conducted in a country with a high prevalence of diabetes and a low vitamin D status. The dose of vitamin D administered and the sample size were adequate to reveal changes in the main outcome (HOMA-IR) as long other glycemic outcomes (except for HbA1C). Interestingly, these positive observations were supported by other studies as well.

The main limitation of our study is the use of one index of insulin resistance rather than two or more. In addition, our study was relatively of a short duration, and results were drawn after only six months of supplementation. However, we had no drop-outs all over the study, which helped to lower a likely related bias.

In conclusion, vitamin D at a dose of 30 000 IU per week seems to improve fasting glycaemia and IR in healthy elder subjects after 6 months of supplementation. Our study concurs that vitamin D is beneficial in this non-diabetic population. Further research is warranted to look for a significant diabetic preventive effect of such supplementation.

### **Ethics approval and consent to participate**

The study was conducted according to the guidelines specified in the Declaration of Helsinki.

The Institutional Review Board of the Saint Charles Hospital approved the study protocol (#SS012). Informed consent was obtained from all participants.

This trial was registered at ClinicalTrials.gov; Identifier number#:NCT03478475

### **Conflict of interest**

The authors declare that they have no conflict of interest

### **Acknowledgment**

The authors thank Saint Charles hospital and the participants for their contribution to the study.

### **Funding**

This work did not receive any grant support

### **Availability of data and materials**

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### **Authors' contributions**

J. M. Chardigny, Y. Boirie, M. Helou equally contributed to the conception and design of the research; C. El Hajj and S. Walrand contributed to the acquisition; K. Yammine ensured the analysis of the data; C. El Hajj, K. Yammine and M. Helou contributed to the interpretation of the data; and C. El Hajj, S. Walrand and K. Yammine drafted the manuscript. All authors critically revised the manuscript, agree to be fully accountable for ensuring the integrity and accuracy of the work, and read and approved the final manuscript.

## References

1. Grammatiki M, Rapti E, Karras S. Vitamin D and diabetes mellitus: causal or casual association? *Rev Endocr Metab Disord.* 2017; 18: 227–241.
2. Von Hurst PR, Stonehouse W, Matthys C, et al. Metabolic syndrome, vitamin D and bone status in South Asian women living in Auckland, New Zealand: a randomised, placebo-controlled, double-blind vitamin D intervention. *BMC Public Health.* 2008; 8: 1–8.
3. Gulseth HL, Gjelstad IM, Birkeland KI, Drevon CA. Vitamin D and the metabolic syndrome. *Curr Vasc Pharmacol.* 2013;11:968–984
4. Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65:1005–1015
5. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, et al. Systematic review: vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med.* 2010;152:307–314
6. Grimnes G, Figenschau Y, Almås B, Jorde R. Vitamin D, insulin secretion, sensitivity, and lipids: results from a case-control study and a randomized controlled trial using hyperglycemic clamp technique. *Diabetes.* 2011;60:2748–2757
7. Wagner H, Alvarsson M, Mannheimer B, Degerblad M, Östenson CG. No effect of high-dose vitamin D treatment on  $\beta$ -cell function, insulin sensitivity, or glucose homeostasis in subjects with abnormal glucose tolerance: a randomized clinical trial. *Diabetes Care.* 2016;39:345–352



8. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, Pierroz DD, Weber P, Hoffmann K. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr.* 2014; 111:23–45.
9. Arabi A, El-Rassi R, El-Hajj Fuleihan G. Hypovitaminosis D in developing countries- prevalence, risk factors, and impact on outcomes. *Nat Rev Endocrinol.* 2010; 6:550–61.
10. McGill T, Stewart JM, Lithander F, Strik CM, Poppitt SD. Relationship of low serum vitamin D<sub>3</sub> with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J.* 2008; 7; 4.
11. *Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. **Decreased bioavailability of vitamin D in obesity.** Am J Clin Nutr.* 2000; **72**: 690–693.
12. *Baynes KC, Boucher BJ, Feskens EJ, Kromhout D. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men.* *Diabetologia.* 1997; 40: 344–7.
13. Sepehrmanesh Z, Kolahtooz F, Abedi F, Mazroii N, Assarian A, Asemi Z, Esmailzadeh A. Vitamin D supplementation affects the Beck Depression Inventory, insulin resistance, and biomarkers of oxidative stress in patients with major depressive disorder. *Am Soc Nutr.* 2015
14. Von Hurst P, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D status of South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient – a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010; 103(4):549-55
15. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic Medicine.* 2012; 29 (8):142-150

16. Oosterwerff MM, Eekhoff EM, Van Schoor NM, Boeke AJ, Nanayakkara P, Meijnen R, Knol DL, Kramer MH, Lips P. Effect of moderate-dose vitamin D supplementation on insulin sensitivity in vitamin D-deficient non-Western immigrants in the Netherlands: a randomized placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2014;100:152–60
17. Schnatz PF, Jiang X, Vila-Wright S, Aragaki AK, Nudy M, O’Sullivan DM, Jackson R, LeBlanc E, Robinson JG, Shikany JM, et al. Calcium/vitamin D supplementation, serum 25-hydroxyvitamin D concentrations, and cholesterol profiles in the Women’s Health Initiative calcium/vitamin D randomized trial. *Menopause.* 2014; 21:823–33.
18. Asemi Z, Hashemi T, Karamali M, Samimi M, Esmailzadeh A. Effects of vitamin D supplementation on glucose metabolism, lipid concentrations, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes: a double-blind randomized controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2013;98:1425–32
19. Pittas A, Harris S, Satrk P, Dawson-Hughes B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care.* 2007;30: 980–986
20. Teegarden D, Donkin SS. Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutrition Research Reviews.* 2009; 22(1): 82-92.
21. Nasrallah M, Nakhoul N, Nasreddine L, Mouneimne Y, Abiad M, Ismaeel H, Tamim H. Prevalence of diabetes in greater Beirut area: worsening over time. *Endocrine Practice.* 2017; 23 (9): 1091-1100.
22. Mehio Sibai AM, Nasreddine L, Mokdad A, Adra N, Tabet M, Hwalla N. Nutrition transition and cardiovascular disease risk factors in the MENA countries: reviewing the evidence. *Ann Nutr Metab.* 2010; 57:193–203

23. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academics Press, 2011.
24. Nagpal J, Pande JN, Bhartia A. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D<sub>3</sub> supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men. *Diabet Med*. 2009; 26; 19–27.
25. Chiu K.C., Chu A., Go V.L.W., Saad M.F. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and  $\beta$  cell dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr*. 2004; 79:820–825.
26. Lee DM, Rutter MK, O'Neill TW, Boonen S, Vanderschueren D, et al. Vitamin D, parathyroid hormone and the metabolic syndrome in middle-aged and older European men. *Eur J Endocrinol*. 2009; 161:947–954.
27. Taylor WH, Khaleeli AA. Coincident diabetes mellitus and primary hyperparathyroidism. *Diabetes Metab Res Rev*. 2001; 17(3):175–80.

Table 1. Baseline characteristics of the two groups

Basic characteristics	Vitamin D group	Placebo	P value
Sample size	60	55	-
Gender	33M/27F	26M/29F	-
Age	73 ±1.95	73.5 ±2.1	0.2
Type 2 Diabetes Mellitus	0	0	-
Coronary artery disease	0	0	-
Smoking	34 (56.7%)	27 (49%)	-
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.7 ±5.2	30.2 ±5.7	0.52
25 (OH) D (ng/ml)	10.13 ±2.87	10.56 ±3.14	0.44
FBG (mg/dl)	4.96 ±0.7	4.9 ±0.7	0.8
FBI (mU/L)	12.64 ± 4.3	12.91 ± 4.9	0.73
HbA1c (%)	5.6 ±0.4	5.6 ±0.4	0.86
HOMA-IR	2.6 ±0.8	2.7 ±0.9	0.55
PTH (ng/L)	60.7 ±12.2	63.5 ±10.4	0.18
Total cholesterol (mmol/L)	1.26 ±0.5	1.2 ±0.4	0.52
LDL cholesterol (mmol/L)	1.2 ±0.3	1.1 ±0.3	0.9
HDL cholesterol (mmol/L)	0.9 ±0.3	0.9 ±0.3	0.8

Data are means ±SD unless stated otherwise; significance set using the paired samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ).

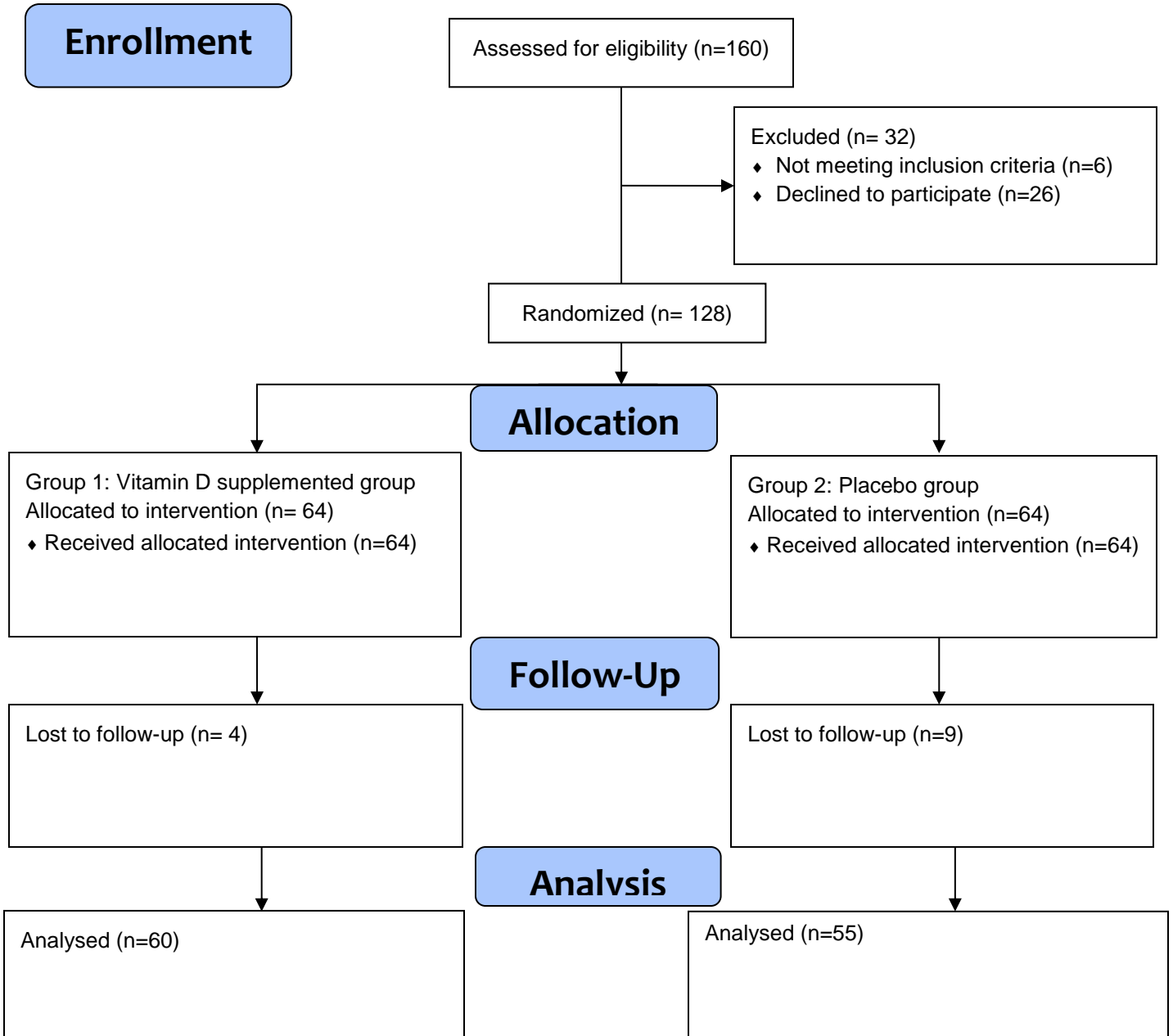
Table 2. Comparative results after intervention

Variable	Vitamin D group			Placebo group		
	Before	After	P value	Before	After	P value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.7 ±5.2	28.1 ±5.1	< 0.0001	30.2 ±5.7	30 ±5.7	0.08
25 (OH) D (ng/ml)	10.13 ±2.87	28 ±3.83	< 0.0001	10.56 ±3.14	15.7 ±5.7	< 0.0001
FBG, (mg/dl)	4.95 ±0.76	4.80 ±0.79	< 0.0001	4.92 ±0.72	4.88 ±0.94	0.01
HbA1c, %	5.6 ±0.4	5.65 ±0.37	0.8	5.65 ±0.39	5.6 ±0.4	0.12
HOMA-IR	2.63 ±0.81	2.4 ±0.77	< 0.0001	2.72 ±0.89	2.69 ±0.89	0.1
PTH (ng/L)	60.7 ±12.2	49.7 ±10	< 0.0001	63.5 ±10.4	61.4 ±10.1	< 0.0001
Total cholesterol (mmol/L)	1.26 ±0.5	1.24 ±0.47	< 0.0001	1.2 ±0.48	1.15 ±0.46	< 0.0001
HDL cholesterol (mmol/L)	0.9 ±0.3	0.91 ±0.31	0.6	0.9 ±0.3	0.9 ±0.34	0.6
LDL cholesterol (mmol/L)	1.2 ±0.3	1.12 ±0.31	< 0.0001	1.17 ±0.32	1.11 ±0.3	< 0.0001

Data are means ±SD; significance set using the independent samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ).

Figure 1: CONSORT flow diagram

### CONSORT Flow Diagram



## Deuxième publication

Effet de la vitamine D sur la masse et la force musculaires chez des sujets âgés normo-pondéraux ou obèses vivant au Liban : étude randomisée, en double aveugle

### Présentation de la deuxième publication

Une association positive entre un déficit ou une carence en vitamine D et le risque de chutes et de fractures existe chez les personnes âgées, principalement en raison d'une accélération de la perte de la masse et des fonctions du muscle squelettique.

L'objectif principal de cette étude randomisée, en double aveugle versus placebo était de définir si une amélioration du statut en vitamine D pouvait être associée à une augmentation de la masse et de la force musculaires chez la personne âgée de plus de 65 ans normo-pondérale ou obèse. Plus précisément, la force de serrage de la main et la masse musculaire squelettique appendiculaire ont été mesurées chez des sujets âgés normo-pondéraux ou obèses avant et après un apport complémentaire de vitamine D durant 6 mois.

Cette étude a été conduite à l'hôpital Saint Charles, Beyrouth-Liban. Les participants ont été randomisés pour recevoir soit un complément de 10000 IU de cholécalciférol (Euro-Pharm International, Canada) ou un comprimé placebo (contenant par portion : 66,3% de cellulose, 33,2% d'amidon et 0,5% de stéarate de magnésium) à prendre trois fois par semaine pendant une période de six mois.

Une méthode de randomisation simple a été réalisée et les participants ont été répartis au hasard en deux groupes (i) sujets recevant de la vitamine D (n = 60), (ii) sujets recevant le placebo (n = 55). La force et la masse musculaires ont été évaluées et un bilan biochimique a été réalisé au début

et après 6 mois. Nous avons également testés si cet effet différait chez des sujets âgés obèses comparativement à des sujets de poids normal.

Notre étude a montré que le groupe de sujets recevant la vitamine D était caractérisé par une augmentation significatives des concentrations sériques de [(25 (OH) D)], accompagnée d'une réduction des concentrations de PTH. La masse musculaire squelettique appendiculaire était plus importante après 6 mois chez les sujets ayant reçu la vitamine D. De même, l'augmentation observée de la force de serrage de la main au terme des 6 mois était significative dans le groupe recevant la vitamine D. Concernant l'effet de l'obésité (normo-pondéraux vs obèses), il était à noter que l'augmentation de la masse musculaire squelettique appendiculaire avec la vitamine D observée chez les sujets de poids normal était plus importante que celle des sujets obèses.

Notre étude est la première à étudier l'effet d'un apport en vitamine D sur la sarcopénie chez des personnes âgées de poids normal ou obèses vivant au Liban. Globalement, elle montre qu'il est possible d'améliorer la masse musculaire de la personne âgée surtout lorsque celle-ci présente un poids normal. La présence d'une obésité réduit cet effet et montre que le statut en vitamine D doit être particulièrement suivi dans la population de sujets âgés obèses.

**Cette étude a fait l'objet d'un article intitulé "Vitamin D supplementation and muscle strength in sarcopenic elderly Lebanese people: a randomized controlled trial". Cet article a été publié dans la revue « Archives of Osteoporosis » (El Hajj C, Fares S, Chardigny JM, Boirie Y, Walrand S. Vitamin D supplementation and muscle strength in pre-sarcopenic elderly Lebanese people: a randomized controlled trial. Arch Osteoporos. 2018 Dec 19;14(1):4).**



**Vitamin D supplementation and muscle strength in pre-sarcopenic elderly Lebanese people: a randomized controlled trial**

Author Affiliations

Cynthia El Hajj<sup>1,2</sup>, Souha Fares<sup>3</sup>, Jean Michel Chardigny<sup>4</sup>, Yves Boirie<sup>2,5</sup>, Stephane Walrand<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Département de Diététique et de Nutrition, Hôpital Saint-Charles, Beirut, Lebanon

<sup>2</sup> Université Clermont Auvergne, INRA, UNH, Unité de Nutrition Humaine, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> Hariri School of Nursing, American University of Beirut, Beirut, Lebanon

<sup>4</sup> Département Alimentation Humaine, INRA, Centre de Recherche Bourgogne Franche Comté, Bâtiment Le Magnen, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 DIJON Cedex

<sup>5</sup> CHU Clermont-Ferrand, Service Nutrition Clinique, F-63000 Clermont-Ferrand, France

Address correspondance to E.H.C:

Cynthia El Hajj, e-mail: [cynthiaeliashajj102@gmail.com](mailto:cynthiaeliashajj102@gmail.com)

- The word count for the entire manuscript (introduction through discussion) is 3792
- The number of tables: 4

Footnotes:

Abbreviations used: ASMM, appendicular skeletal muscle; BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

This work did not receive any grant support.

Cynthia El Hajj, Souha Fares, Jean Michel Chardigny, Yves Boirie and Stephane

Walrand declare that they have no conflict of interest.

### **Acknowledgment**

The authors thank Saint Charles hospital and the participants for their contribution to the study.

The authors' responsibilities were as follows—E.H.C. and W.S. equally contributed to the conception and design of the research; E.H.C. contributed in the conduct of the study and data collection; F.S. contributed in the statistical analysis of the data; E.H.C., F.S., C.J.M., B.Y., and W.S. contributed to the interpretation of the data; E.H.C., C.J.M., B.Y., and W.S. had primary responsibility for final content; and E.H.C. and W.S. drafted the manuscript. All authors critically revised the manuscript, agree to be fully accountable for ensuring the integrity and accuracy of the work, and read and approved the final manuscript.

### **Mini-abstract**

Previous studies have shown that improving vitamin D status among the elderly may lead to an improvement in muscle mass and muscle strength. In our study vitamin D supplementation showed significant improvements in vitamin D concentrations as well as appendicular muscle mass in pre-sarcopenic older Lebanese people. However, we found no significant effect on muscle strength.

### **Abstract**

**Introduction:** Improving vitamin D status might improve muscle function and muscle mass that lead to sarcopenia in older subjects. The aim of this randomized, controlled, double blind study was to examine the effect of vitamin D supplementation on handgrip strength and appendicular skeletal muscle mass in pre-sarcopenic older Lebanese subjects. We also examined whether this effect differs in normal vs. obese subjects. **Methods:** Participants (n = 128; 62 men and 66 women) deficient in vitamin D (25(OH)D = 12.92ng/ml  $\pm$  4.3) were recruited from Saint Charles Hospital, Beirut, Lebanon. The participants were given a supplement of 10,000 IU of cholecalciferol (vitamin D group; n=64) to be taken 3 times a week, or a placebo tablet (placebo group; n=64) for 6 months. 115 subjects completed the study; 59 had normal weight while 56 were obese. Strength and functional assessment and biochemical analysis were performed at the start and after 6 months. **Results:** Compared to placebo, the vitamin D supplemented group showed significant improvements in appendicular skeletal muscle mass (ASMM) ( $P < 0.001$ ) but not in handgrip strength ( $P = 0.2901$ ). ANCOVA for ASMM adjusting for obesity and including the interaction between obesity and vitamin D showed a significant interaction. The increase in ASMM with vitamin D in normal weight subjects was higher than that of obese subjects (B = 35.09 vs. B = 2.19). **Conclusion:** Treatment with vitamin D showed beneficial effects on appendicular muscle mass in pre-sarcopenic older Lebanese men and women. However, it had no effect on muscle strength relative to placebo. This trial was registered at [isrctn.org](http://isrctn.org) as **ISRCTN16665940**.

**KEYWORDS:** Vitamin D, appendicular skeletal muscle mass, muscle strength, pre-sarcopenia, sarcopenic obesity, nutrition

## INTRODUCTION

The risk of falls and hip fractures increases in older people, primarily owing to a loss of skeletal muscle mass and strength, termed sarcopenia. Recent studies have revealed the effect of vitamin D on muscle health, in particular the consequence of its deficiency on muscle mass and muscle function in older people and patients with chronic diseases. It was suggested that low vitamin D status plays a central role in the risk of falls in older people, partly through its effect on muscle function [1-4]. Nevertheless, there remains an absence in the literature of a clear consensus on the link between vitamin D status and either muscle mass or strength. Previous trials, in particular randomized clinical trial, have generated contradictory conclusions on whether muscle strength is improved with vitamin D treatment [22, 24, 53, 55, 58]. Similarly, observational studies [49, 59] investigating this association have established conflicting findings. These different outcomes may reflect different baseline serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) levels in the populations studied, different period of vitamin D treatment, or different strength assessments used as outcome measures.

A related decrease in physical activity and metabolic disturbances results in sarcopenia being systematically associated with a significant increase in fat mass. For several reasons, obesity and sarcopenia go hand in hand [6]. Physical activity decreases with age, negatively affecting muscle mass and contractile function, and predisposing to weight gain, mainly as fat mass. Increased fat mass promotes insulin resistance and can produce a direct catabolic effect on skeletal muscle [7-8]. Baumgartner *et al.* showed that increased fat mass was associated with Instrumental Activities of Daily Living (IADL) disability, which causes a decline in appendicular skeletal muscle in individuals [9]. Villareal *et al.* also reported that obese older adults had low relative muscle mass and low muscle strength per muscle area, which led to sarcopenia, in contrast to

normal-weight older adults [10]. In addition, it has been reported that vitamin D supplementation optimizes body composition and muscle function outcomes, thereby reducing falls and fracture risk in sarcopenic obese people [11]. Despite these recent data, the effect of a long-term vitamin D supplementation on muscle mass and function in pre-sarcopenic versus pre-sarcopenic obese subjects had not yet been studied.

The main aim of the study is to analyze, in a 6-months randomized, controlled, double blind study, the effect of vitamin D supplementation on handgrip strength and appendicular skeletal muscle mass in pre-sarcopenic older subjects. We also aim to test whether this effect differs in normal-weight pre-sarcopenic versus obese pre-sarcopenic older subjects.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### **Participants**

A total of 160 participants seen at the endocrinology and orthopedics outpatient clinics of Saint Charles Hospital (Fiyadiyah-Lebanon) were asked to join the study between July and September 2015. The participants who were pre-sarcopenic (when skeletal muscle mass/ height<sup>2</sup> = 7.26 kg/m<sup>2</sup> for males and 5.45 kg/m<sup>2</sup> for females), deficient in vitamin D (25(OH)D < 20 ng/ml as per IOM recommendations), and having no medical history of type-2 diabetes were asked to join the study. Criteria for exclusion were non pre-sarcopenic subjects; incidence of balance problems due to neurological disorders; renal failure; congestive heart failure and acute heart insufficiency as well as uncontrolled arterial hypertension or hypotension; use of sedative (that could affect balance); use of vitamin D supplementation; primary hyperparathyroidism.

As shown in Figure 1, out of 160 persons, 32 were not included, leaving 128 participants, who were randomized to receive vitamin D supplements or a placebo; 13 participants were lost to follow up, and the remaining 115 (59 men and 56 women) completed the study. The first visit was in September 2015. They were given written informed consent to the study procedures, which were approved by the Ethics Committee of the institutional review board at Saint Charles Hospital, Lebanon. Study protocols were completed according to the Declaration of Helsinki ethical principles for medical research involving human subjects.

### **Study design and supplementation protocol**

In this randomized, controlled, double blind study, participants were randomized (using the simple randomization method) to receive either a supplement of 10,000 IU of cholecalciferol (Euro-Pharm International, Canada) or a placebo tablet (containing microcrystalline cellulose: 66.3%, starch: 33.2%, magnesium stearate: 0.5%, per serving) to be taken 3 times a week for a period of six months. After screening, the subjects were given a number (1-128) based on their order of inclusion in the study. A simple randomization method was conducted by the pharmacist by tossing a coin, and the participants were randomly assigned to two groups according to the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) criteria: (i) pre-sarcopenic subjects receiving vitamin D ( $n = 64$ ), (ii) pre-sarcopenic subjects receiving the placebo ( $n = 64$ ). Neither the investigator nor the subjects were aware of the group allocation; the pharmacist (in charge of the placebo tablets as well as the packing and coding of the supplements) was the only person to know to which group each participant belonged. The first subject was randomized to the placebo group. Afterward, the participants were allocated to either group until the expected sample number is achieved. At three months, a follow up by phone calls was done with the

subjects, and they were seen after six months of supplementation with vitamin D or placebo.

They were also asked to return the bottles to measure the compliance by bottle counts.

Biochemical analyses and muscle assessments were performed at baseline and at six months. The study patients' medical history and medical treatment were assessed from physicians' records.

## **Primary outcomes**

### **Muscle mass and strength assessment**

#### **Handgrip strength**

Handgrip strength was used to measure muscle strength, and is recognized to be positively associated equally with lower-extremity and upper-body strength in older persons [12-13]. It was measured in the dominant hand with a Martin vigorimeter (Martin; Elmed, Addison, IL, USA), and the force was expressed in kilograms [14]. Before starting, the participant was allowed to perform one test trial. Measurement was then made in the seated position with elbow bent at 110° and upper arm parallel to, but not pressed to the body. The width of the grip was adjusted to the size of the hand so that the middle phalanx relaxed on the inner grip. Each participant then performed three trials, and the best score was taken for analysis. Handgrip strength measurements were assessed by a registered nurse and were included in the analysis.

#### **Appendicular skeletal muscle mass**

Skeletal muscle mass was determined from bioimpedance analysis measurements (Tanita BC-418 Segmental Body Composition Analyzer, Illinois, USA) and expressed as appendicular

skeletal muscle mass (ASMM, kg). Pre-sarcopenia is characterized when skeletal muscle mass is 2 standard deviations below the sex-specific young-normal mean for estimates of skeletal muscle mass [15-16]. Cut-off thresholds for skeletal muscle mass indices are not given in the Lebanese literature: we took 7.26 kg/m<sup>2</sup> and 5.45 kg/m<sup>2</sup> as cut-off points for sarcopenia in males and females, respectively [15].

## **25(OH)D**

25(OH)D concentration was measured by radioimmunoassay (DiaSorin, Stillwater, MN); inter-assay CV was < 8 %. The reference range for normal values of 25(OH)D concentrations should be 30–90 ng/mL, and values < 20 ng/ml were considered as hypovitaminosis.

## **Secondary outcomes**

### **Anthropometric measurements**

Body composition (weight, fat mass and muscle mass) was assessed using the same body composition analyzer (Tanita BC-418 Segmental Body Composition Analyzer, Illinois, and USA). Anthropometric measurements, including weight (kg), height (m) and fat mass (kg) were made on a screening visit to determine eligibility. Body mass index (BMI) was calculated using the standard formula (body weight in kilograms divided by square of body height in meters). Subjects were classified as obese when BMI was  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. Pre-sarcopenic subjects were classified using the definition described previously in the text. Pre-sarcopenic obesity was diagnosed when subjects met the criteria for both pre-sarcopenia and obesity using these definitions. Waist circumference was measured at the iliac crest while the subject is standing.



### **Biochemical analysis**

Blood specimens were collected after a 12 h overnight fast at baseline, and after 6 months of supplementation. The aliquots of the serum samples were centrifuged at room temperature for 20 min ( $1500 \times g$ ), then frozen and stored at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  until analyzed. PTH was measured using a two-site immunoradiometric assay with an  $\text{NH}_2$ -terminal monoclonal antibody as capture (Fitzgerald Industries International Inc., USA); inter-assay CV was  $< 10\%$ . Serum creatinine was measured using the Jaffe kinetic alkaline picrate reaction (Interpretation and Techniques, Lea and Febiger, Philadelphia); inter-assay CV was  $< 10\%$ . Creatinine reflects skeletal muscle mass, since it is a breakdown product of creatine phosphate in muscle [17].

A short questionnaire to assess dietary vitamin D intake was given to each participant at the start of the study [18]. The subjects' dietary vitamin D intake ranged between  $4.5\text{ }\mu\text{g}$  and  $6.5\text{ }\mu\text{g}$  per day.

### **Physical activity assessment**

A Physical Activity Scale for the Elderly (PASE) was used to assess the physical activity of each participant. PASE involves ten items used to recognize leisure (walking, sports, muscular strength/endurance), household (housework, home repair, lawn work, outdoor gardening, caring for others) and occupational related activity, and duration of activity over a one-week period. The total PASE score was calculated by multiplying the duration of each activity (hours/week) or participation (yes/no) by the established item weights to end up with an overall physical activity

score for the week. The higher the score, the greater the physical activity. This tool was used at the beginning of the study, and after 6 months of supplementation.

### **Sample size calculation**

Sample size calculation was carried out to address the main objective of the study. The minimum sample size required to detect an effect size of 0.6 between the vitamin and control group, a power of 80%, and a significance level of 0.025 (taking into account two primary outcomes: grip strength and muscle strength) is 55 subjects per arm. Therefore the total sample size needed is 110 subjects. To account for a 10% loss to follow up, 128 subjects were targeted. Sample size calculation was done using GPower version 3.0.10.

### **Statistical analysis**

Statistical evaluations were completed using SPSS version 21 (SPSS Inc., Chicago, IL). Thirteen subjects did not have follow-up data at 6 months (4 in the vitamin D group and 9 in the placebo group). Subjects' baseline characteristics such as age, gender, height, weight, BMI, and smoking were compared between those who dropped and those who completed the study. The only significant difference was in gender where all the dropouts were males. Complete cases (N =115) were used in the analyses. Two main outcomes were considered: handgrip strength and appendicular skeletal muscle mass. Relative changes in the outcomes from baseline to 6 months were computed where  $\text{relative change} = [(\text{follow-up} - \text{baseline})/\text{baseline}] * 100$ . The paired-samples *t*-test was used to determine the changes in the outcomes within the same group (time point 0 and time point 6 months) and the independent samples *t* test was used for between group

comparisons. To test whether the effect of the intervention differs between the two obesity groups (normal weight/obese), a two-way Analysis of Variance was used on the relative changes in the outcomes; the two factors considered in the two-way ANOVA were obesity (normal/obese) and the intervention (Vitamin D/Placebo). We also considered the interaction between the two. Finally ANCOVA was run, also on the relative changes as outcomes, to further adjust for the effect of other subjects' characteristics (such as vitamin D, obesity, smoking, physical activity); gender was included in all models. Interactions between obesity and vitamin D supplementation were included in the ANCOVA models. Parameter estimates, p-values and 95% confidence intervals (CI) were reported. A *P* value of <0.05 was considered statistically significant.

## **RESULTS**

The baseline characteristics for participants are shown in Table 1. The participants were all vitamin D-deficient (The Institute of Medicine (IOM) considers a serum level of 25(OH)D below 20 ng/ml as a deficiency) (26), and their age ranged from 70 to 79 years. Out of 128 subjects randomized at baseline of the treatment period, 64 subjects received vitamin D pills, and 64 subjects received placebo pills. 13 subjects were lost to follow up after the first visit, and the remaining 115 completed the study. Their average weight was  $83.59 \pm 14.79$  and average BMI  $29.42 \pm 5.49$ . Based on their BMI, 59 subjects were classified as having a normal weight (51.3%) and 56 (48.7%) as obese. Fifty-three percent were smoking persons. All subjects had no history of diabetes nor coronary artery disease. The subjects' physical activity level was conveyed as low (according to the PASE tool), because they reported non-participation in sports (strength and endurance exercises, lawn and yard work, and heavy housework), home repairs, gardening, and caring for another person. The only physical engagement was walking (once per week) and light

housework.

### **Primary outcomes**

Among the 115 subjects with complete follow-up data, the mean serum 25(OH)D concentration increased significantly from baseline (10.13 ng/mL  $\pm$ 2.87) to 6 months (27.98 ng/mL  $\pm$ 3.83) in the vitamin D supplemented group ( $P$  < 0.001). As for the placebo group, the mean serum 25(OH)D concentration showed a slight but significant increase from baseline (10.56  $\pm$ 3.14 ng/mL) to 6 months (15.71  $\pm$ 5.70 ng/mL) ( $P$  < 0.001). The mean percent change from baseline to 6 months in the vitamin D supplemented group (194.59  $\pm$ 76.55) was significantly different from that of the placebo group (48.83  $\pm$ 31.37) ( $P$  < 0.001). Regarding the handgrip strength, the mean values increased significantly from baseline (21.42  $\pm$  5.48 kg) to 6 months (22.27  $\pm$  6.60 kg) in the vitamin D supplemented group ( $P$  = 0.007). Whereas, the change observed in the placebo group from baseline (20.64  $\pm$  5.51 kg) to 6 months (20.72  $\pm$  5.24 kg) was not significant ( $P$  = 0.656). No further differences between groups were observed ( $P$  = 0.290). As for the appendicular skeletal muscle mass in kg (ASMM), the mean values increased significantly from baseline (21.58  $\pm$ 6.53 kg) to 6 months (22.23  $\pm$ 5.85 kg) in the vitamin D supplemented group ( $P$  = 0.001). The change in the placebo group showed no significance from baseline (16.83  $\pm$ 3.11 kg) to 6 months (16.92  $\pm$  3.25 kg) ( $P$  = 0.203). The mean percent change between the vitamin D supplemented group (3.01  $\pm$ 2.38) and the placebo group (0.46  $\pm$  3.30) was significantly different, with a  $P$  < 0.001. (Table 2)

Two-way ANOVA

Two-way ANOVA was carried out to assess whether the effect of the intervention on ASMM, handgrip strength and 25(OH)D differs between normal and obese subjects. Results of the two-way ANOVA showed a significant interaction between vitamin D and obesity on ASMM,  $F(1, 111) = 30.27, p < 0.001$ . Simple main effects analysis showed that although a statistically significant increase was observed with vitamin D compared to placebo in both normal weight and obese subjects, the effect size was much higher in the normal weight group ( $ES = 1.57$  vs.  $1.32$ ). The interaction between obesity and vitamin D was not significant on the change in grip strength. The main effect analysis showed that both main effects were also not significant. A significant interaction was also observed for 25(OH) D,  $F(1, 111) = 73.46, P < 0.001$ . The effect size in the obese group was larger than the effect size of the normal weight group ( $ES = 0.96$  vs  $3.66$ )

#### Analysis of Covariance (ANCOVA)

To adjust for other subjects' characteristics such as age, gender, and smoking status, ANCOVA was conducted. Gender and variables that were significant at the univariate level were entered in the ANCOVA model. The ANCOVA model for ASMM included: Vitamin D supplementation, obesity, their interaction and gender. Since the interaction between obesity and vitamin D was significant ( $p < 0.001$ ), two ANCOVA models were run for normal weight and obese subjects separately. In the model including subjects with normal weight, the significant predictors of ASMM were: vitamin D supplementation ( $B = 35.09, p < 0.001, 95\%CI: 26.48-43.71$ ), and gender with a higher percent change observed in males compared to females ( $B = 32.98, p < 0.001, 95\%CI: 24.38-41.50$ ). For obese subjects, only vitamin supplementation was significant ( $B = 2.19, p < 0.001, 95\%CI: 1.27-3.10$ ). The effect of vitamin D supplementation was much

higher in subjects with normal weight. Estimated means of ASMM percent change for every group from the ANCOVA models are shown in table 4.

As for the handgrip strength no variables (including gender) showed significant associations at the univariate level and therefore no ANCOVA model was run.

Regarding 25(OH) D, the ANCOVA model included vitamin D, obesity and their interaction, and gender. In the ANCOVA model gender was not significant while the interaction between vitamin D and weight was significant ( $B = 90.34$ ,  $p > 0.001$ ), thus two models were run separately for subjects with normal weight and obese subjects. Vitamin D was significant in both groups with a greater effect in normal weight as compared to obese subjects ( $B = 188.18$ ,  $p < 0.001$ , 95%CI: 168.15-208.2 vs.  $B = 104.83$ ,  $p < 0.001$ , 95%CI: 73.11-136.56). Estimated means of 25(OH)D percent change for every group from the ANCOVA models are shown in table 4.

### **Secondary outcomes**

The mean weight of the subjects decreased from baseline ( $85.45 \pm 16.67$ ) to 6 months ( $85.09 \pm 16.6$ ) in the vitamin D supplemented group, but this change was not significant ( $P=0.06$ ). As for the placebo group, the change observed from baseline to 6 months was significant ( $P<0.001$ ). The mean percent change from baseline to 6 months in the vitamin D supplemented group ( $-0.42 \pm 0.39$ ) was significantly different from that of the placebo group ( $-1.89 \pm 1.27$ ) ( $P= 0.001$ ). The same pattern was observed for BMI. As for waist circumference, the change was significant in both groups ( $P=0.001$ ). The fat mass decreased significantly from baseline ( $31.26 \pm 7.83$ ) to 6 months ( $30.18 \pm 7.82$ ) in the vitamin D supplemented group ( $P=0.001$ ), and from  $29.65 \pm 6.30$  to  $27.72 \pm 5.96$  in placebo group ( $P = 0.001$ ). Also, the mean percent change from baseline to 6

months in the vitamin D supplemented group ( $-3.55 \pm 5.67$ ) was significantly different from that of the placebo group ( $-6.25 \pm 6.62$ ) ( $P = 0.021$ ). Also, the lean body mass increased significantly from baseline ( $54.19 \pm 9.05$ ) to 6 months ( $54.91 \pm 9.35$ ) in the vitamin D supplemented group ( $P=0.005$ ). The change in placebo group was also significant ( $P = 0.002$ ). As for the mean percent change from baseline to 6 months, the vitamin D supplemented group ( $1.33 \pm 3.31$ ) was not significantly different from that of the placebo group ( $0.72 \pm 6.49$ ) ( $P = 0.196$ ). The mean serum PTH concentration decreased significantly from baseline ( $60.71 \pm 12.22$ ) to 6 months ( $49.68 \pm 9.99$ ) in the vitamin D supplemented group ( $P < 0.001$ ) and from  $63.56 \pm 10.56$  to  $61.38 \pm 10.11$  in the placebo group ( $P = 0.001$ ). The mean percent change from baseline to 6 months in the vitamin D supplemented group) was significantly different from that of the placebo group ( $P < 0.001$ ). Mean change from baseline to 6 months in serum creatinine concentration was not significant in both the vitamin D and the placebo group and between the two (Table 3).

## **DISCUSSION**

This study assessed the effects of a 6-months vitamin D supplementation on handgrip strength and appendicular skeletal muscle mass in pre-sarcopenic older subjects. After the 6-months supplementation, only appendicular skeletal muscle mass increased significantly in the vitamin D supplemented group, whereas no significant effect on muscle strength was shown in the vitamin D group relative to placebo.

There have been many intervention studies in the area of vitamin D and muscle physiology as well as physical performance. However, less than one third of these studies meet the criteria for a

randomized clinical trial. Some of these previous studies suggested a relationship between low vitamin D concentration and poor muscle function [19-20]. The present study is the first, based on a Lebanese population, to investigate the effect of vitamin D supplementation on pre-sarcopenia in older normal-weight and obese people using a randomized controlled trial design.

We clearly show that vitamin D supplementation improved muscle mass in older men and women, but did not have a significant effect on muscle strength. The gain in appendicular skeletal muscle mass that we observed after 6 months of supplementation is in line with El-Hajj et al. (2006). They found increase in lean and muscle mass in younger age (adolescent girls) after vitamin D supplementation, but no significant change was seen in grip strength [51]. Similarly, a recent study on sarcopenic older adults revealed a significant increase in muscle mass after vitamin D supplementation (combined with leucine-enriched whey protein) [52]. Conversely, some cross-sectional studies found no consistent association between vitamin D status and skeletal muscle mass [49, 59, 60]. One explanation could be that higher proportion of these studies were performed in elderly institutions, and vitamin D supplementation was perceived to increase muscle mass among studies reporting lower baseline serum 25(OH)D levels when compared with higher ones.

Our study showed no beneficial effect on muscle strength after the intervention of vitamin D, although a significant increase in handgrip strength was perceived in the treatment group, but this change was not significantly different compared to the placebo group. Although our findings come in accordance with many previous studies [24, 25, 49, 59-60], they are not consistent with several cross-sectional studies on vitamin D status and muscle function [21, 22, 54], that showed beneficial effect of vitamin D treatment on muscle strength or physical performance. However,



there are many distinguishing aspects that may account for these differences. First, comparing results from different studies is slightly obstructed by differences in subject demographics, as well as the study design, and the chemical form of vitamin D used during supplementation. Moreover, vitamin D deficiency is only one of the conditions that can alter muscle function in older adults [56,57], which is explained by previous research that even in healthy elderly people, the decline in muscle strength with age was not prevented by vitamin D treatment [24, 58]. Besides, severe comorbidity combined with a low physical activity level may cause muscle weakness and thus functional impairment, which cannot be enhanced by treating a coexisting vitamin D deficiency [55].

Our data showed a reduction in fat mass as well as body weight and waist circumference after 6 months of vitamin D supplementation. These findings are consistent with those of Shahar et al (2014), who demonstrated in their recent study that women experienced more loss in body weight and body fat and had a greater reduction in waist circumference after vitamin D supplementation [45]. Khozravi et al (2018) revealed lately that 6 weeks vitamin D supplementation with doses 50,000 IU/week reduced significantly the mean of BMI, weight, and waist circumference among overweight and obese women [46]. However, conflicting results have been seen [47, 48]. Some studies have not shown significant association between vitamin D, BMI, body fat and waist circumference. Probably, its main reason could be that the participants included in these studies were not all vitamin D deficient.

Aging is associated with major modifications in body composition that reveal marked muscle loss and elevated fat mass [27]. Obesity is also known to be linked with low blood vitamin D concentration, and previous studies in community-dwelling older adults have established a strong

relationship between vitamin D status and physical performance [27-28]. Evidence for effects of vitamin D supplementation on pre-sarcopenic obesity is still lacking. Earlier studies suggested that obese individuals had lower 25(OH)D concentrations and elevated serum parathyroid hormone concentrations than normal-weight persons [27-28]. The reason could be that vitamin D is a fat-soluble vitamin and is immediately stored in adipose tissue, and so could be hidden in the fatty tissues of obese persons [27-29]. In our study, serum vitamin D concentrations were significantly different between obese and normal-weight individuals at baseline (results not shown) and the effect of vitamin D supplementation was smaller in obese subjects.

Earlier studies demonstrated a positive relationship between high BMI and increased risk of impaired functional status among community-dwelling elderly people [30-31]. Several mechanisms might explain the link between vitamin D status and muscle strength. First, 1, 25(OH)D connects to vitamin D receptor (VDR) in the nucleus, and creates a complex with the retinoid receptor. This whole complex triggers gene transcription, which leads to a sequence of genomic outcomes associated with muscle function. Furthermore, 1,25(OH)D is able to bind a membrane receptor that stimulates the activation of a protein kinase (mitogen-activated protein kinase) and phospholipase C, which triggers non-genomic effects [32]. 1,25(OH)D regulates calcium homeostasis in muscle fibers by inducing calcium flux. This regulates calcium signaling, which may control contractile force in differentiated muscle fibers [33]. In addition, a low vitamin D status is associated with a lipid-related degeneration of muscle cells, i.e. lipotoxicity, which affects muscular strength in older persons with vitamin D deficiency [34-36]. In our study, vitamin D concentration showed a significant interaction between vitamin D and obesity on ASMM,  $F(1, 111) = 30.27, P < 0.001$ , in addition to a significant decrease in fat mass after vitamin D supplementation ( $P = 0.001$ ). Finally, vitamin D regulates insulin secretion and

action in insulin-dependent tissues. Vitamin D deficiency may therefore lead to insulin resistance and muscle metabolic abnormalities [35-37].

Many studies have suggested that an elevated blood PTH concentration is a risk factor for sarcopenia in older men and women [3,22]. Visser *et al* [3] concluded in their study that subjects with higher PTH concentrations were more likely to lose grip strength, and tended to lose more ASMM. In a prospective study, Verrault *et al.* [25] observed a relationship between higher PTH levels and loss of hip flexor and knee extensor strength. In addition, vitamin D insufficiency associated with secondary hyperparathyroidism increased risk of sarcopenia [38]. However, Kim *et al.* [2] concluded that there was no longer any association between PTH and sarcopenia after further adjustment for the subjects' BMI. This indicates that the association between PTH and sarcopenia may be partially mediated by obesity [39]. In our study, lower 25(OH)D values were observed in obese subjects (results not shown) which is the most probable reason for their elevated PTH levels, as has been demonstrated in earlier studies that considered 25(OH)D and PTH levels in obese individuals [40-42]. Hamoui *et al.* [43] have shown that morbidly obese patients have low 25(OH) D concentrations, together with an incidence of hyperparathyroidism. We note that a chronic vitamin D deficiency leads to an enlargement of the parathyroid gland and a rise in PTH secretion. The gland may stay engorged even after improvement of vitamin D status [44].

The main strength of this work is that it is the first randomized, double-blind, placebo-controlled trial to study the effect of vitamin D supplementation on muscle strength and muscle mass in obese and normal-weight pre-sarcopenic Lebanese subjects. Moreover, we had minimal loss-to-follow-up of participants; around 90 % of the randomized subjects completed the study.

However, our study has some limitations. First, the period of supplementation was relatively short, though sufficient to identify positive ameliorations in muscle mass. Second, sun exposure and dietary vitamin D intake were a potential confounder in our study. Vitamin D status is related to sunlight exposure. Records for sun exposure were not available, but blood collection was during fall/winter, when older people are not usually exposed to much sunlight, compared with spring/summer.

In conclusion, our study showed no association between serum 25(OH)D concentration and muscle strength, but rather between serum 25(OH)D concentration, appendicular muscle mass and fat mass. Fat mass and muscle are interrelated in the development of disease in older adults, obesity and sarcopenia worsening each other's outcomes on disability and morbidity. Nutritional supplementation may thus help subjects with pre-sarcopenia, regardless of their BMI. However, other longitudinal studies with longer durations of supplementation are needed to confirm these findings.

## **REFERENCES**

- 1) Domingues-Faria C, Boirie Y, Walrand S. Vitamin D and muscle trophicity. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2017 March 2.
- 2) Kim MK, Baek KH, Song KH, Kang M, Park CY, Lee WY, and Oh KW. Vitamin D Deficiency Is Associated with Sarcopenia in Older Koreans, Regardless of Obesity: The Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Surveys (KNHANES IV) 2009. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011, 96:10

- 3) Visser M, Deeg D, and Lips P. Low Vitamin D and High Parathyroid Hormone Levels as Determinants of Loss of Muscle Strength and Muscle Mass (Sarcopenia): The Longitudinal Aging Study Amsterdam. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003, 88:12
- 4) Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Oray EJ, Hu FB, Zhang Y, Karlson AW, Dawson-Hughes B. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged  $\geq 60$  y. *Am J Clin Nutr* 2004, 80 (3): 752-758
- 5) Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture Prevention With Vitamin D Supplementation A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *JAMA* 2005, 293 (18): 2257-2264
- 6) Roubenoff R. Sarcopenic obesity: does muscle loss cause fat gain? *Ann N Y Acad Sci.* 2000, 904:553–55
- 7) Reaven G. M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988, 37: 1595–1597.
- 8) Roubenoff R. Catabolism of aging: is it an inflammatory process? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6:295–9.
- 9) Baumgartner RN, Wayne SJ, Water DL, Jansse I, Gallagher D and Morley JE. Sarcopenic Obesity Predicts Instrumental Activities of Daily Living Disability in the Elderly. *Obesity Research* 2004, 12: 1995–2004

- 10) Villareal D., Banks M., Sienerc C., Sinacore D., Klein S. Physical frailty and body composition in obese elderly men and women. *Obes Res.* 2004, 12: 912–919.
- 11) Scott D, Daly RM, Sanders KM, Ebeling PR. Fall and Fracture Risk in Sarcopenia and Dynapenia With and Without Obesity: the Role of Lifestyle Interventions. *Curr Osteoporos Rep.* 2015, 13:4
- 12) Viitasalo JT, Era P, Leskinen AL, Heikkinen E. Muscular strength profiles and anthropometry in random samples of men aged 31–35, 51–55 and 71–75 years. *Ergonomics* 1985; 28:1563–1574
- 13) Avlund K, Schroll M, Davidsen M, Løvborg B, Rantanen T. Maximal isometric muscle strength and functional ability in daily activities among 75-year-old men and women. *Scand J Med Sci Sports* 1994; 4:32–40
- 14) Desrosiers J, Hébert R, Bravo G, Dutil É. Comparison of the Jamar dynamometer and the Martin vigorimeter for grip strength measurements in a healthy elderly population. *Scand J Rehabil Med Suppl* 1995, 27:137–143.
- 15) Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 1998; 147:755-763.
- 16) Batsis JA, Mackenzie TA, Barre LK, Lopez-Jimenez F, Bartels SJ. Sarcopenia, sarcopenic obesity and mortality in older adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Eur J Clin Nutr* 2014; 68(9)
- 17) SB Heymsfield, C Arteaga, C McManus, J Smith, S Moffitt. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr.* 1983; 37:478–94.

- 18) Linnea Hedlund, Hilde K. Brekke, Petra Brembeck and Hanna Augustin. A Short Questionnaire for Assessment of Dietary Vitamin D Intake. *European Journal of Nutrition & Food Safety* 2014; 4 (2): 150-156
- 19) Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Schlotthauer T, Pospeschill M, Scholz M, Lazarescu AD, Pollahne W. Vitamin D status, trunk muscle strength, body sway, falls, and fractures among 237 postmenopausal women with osteoporosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109:87–92
- 20) Dhesi JK, Bearne LM, Moniz C, Hurley MV, Jackson SH, Swift CG, Allain TJ. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. *J Bone Miner Res* 2002; 17:891–897
- 21) Gloth FM, Smith CE, Hollis BW, Tobin JD. Functional improvement with vitamin D replenishment in a cohort of frail, vitamin D-deficient older people. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43:1269–1271
- 22) Verhaar HJ, Samson MM, Jansen PA, de Vreede PL, Manten JW, Duursma SA. Muscle strength, functional mobility and vitamin D in older women. *Aging* 2000; 12:455–460
- 23) Bunout D, Barrera G, Leiva L, Gattas V, Pía de la Maza M, Avendaño M, Hirsch S. Effects of vitamin D supplementation and exercise training on physical performance in Chilean vitamin D deficient elderly subjects. *Experimental Gerontology* 2006; 41: 746-752
- 24) Grady D, Halloran B, Cummings S, Leveille S, Wells L, Black D, Byl N. 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and muscle strength in the elderly: a randomised controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73:1111–1117
- 25) Verrault R, Semba RD, Volpato S, Ferrucci L, Fried LP, Guralnik JM. Low serum

vitamin D does not predict new disability or loss of muscle strength in older women. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50:912–917

- 26) Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academics Press, 2011.
- 27) Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest* 1985; 76:370–3.
- 28) Liel Y, Ulmer E, Shary J, Hollis BW, Bell NH. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcif Tissue Int* 1988; 43:199–201.
- 29) Compston JE, Vedi S, Ledger JE, Webb A, Gazet JC, Pilkington TRE. Vitamin D status and bone histomorphometry in gross obesity. *Am J Clin Nutr* 1981; 34:2359–63.
- 30) Friedmann JM, Elasy T, Jensen GT. The relationship between body mass index and self-reported functional limitation among older adults: A gender difference. *Journal of the American Geriatrics Society* 2001; 49: 398–403
- 31) Jensen GL, Friedmann JM. Obesity is associated with functional decline in community-dwelling rural older persons. *Journal of the American Geriatrics Society* 2002; 50, pp. 918–923
- 32) Halfon M, Phan O, Teta D. Vitamin D: A Review on Its Effects on Muscle Strength, the Risk of Fall, and Frailty. *BioMed Research International* 2015; Article ID 953241, 11 pages
- 33) Dirks-Naylor AJ, Lennon-Edwards S. The effects of vitamin D on skeletal muscle function and cellular signaling. *J Steroid BiochemMolBiol* 2011; 125:159–168
- 34) Tagliafico AS, Ameri P, Bovio M, Puntoni M, Capaccio E, Murialdo G, Martinoli C. Relationship between fatty degeneration of thigh muscles and vitamin D status in the



- elderly: a preliminary MRI study. *AJR Am J Roentgenol* 2010; 194(3):728-34
- 35) Park SH, Lee KS, Park HY. Dietary carbohydrate intake is associated with cardiovascular disease risk in Korean: analysis of the third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III). *Int J Cardiol* 2010; 139:234–240
- 36) Oh JH, Kim SH, Kim JH, Shin YH, Yoon JP, Oh CH. The level of vitamin D in the serum correlates with fatty degeneration of the muscles of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 2009; 91:1587–1593 1602
- 37) Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2017–2029
- 38) De Souza Genaro P, de Medeiros Pinheiro M, Szejnfeld VL, Martini LA. Secondary hyperparathyroidism and its relationship with sarcopenia in elderly women. *Arch Gerontol Geriatr*. 2015; 60(2):349-53
- 39) Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM, Seidell JC, Lips P. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:4119 – 4123
- 40) Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 690-693
- 41) Cipriani C, Pepe J, Piemonte S, Colangelo L, Cilli M, Minisola S. Vitamin D and its relationship with obesity and muscle. *Int J Endocrinol*. 2014; 2014:841248.

- 42) Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Degens H, El Hajj Fuleihan G, Josse R, Lips P, Morales Torres J, Rizzoli R, et al. Impact of nutrition on muscle mass, strength, and performance in older adults. *Osteoporosis Int.* 2013; 24(5):1555-66
- 43) Hamoui N, Anthonie G, Crookes PF. Calcium metabolism in the morbidly obese. *Obes Surg* 2004; 14: 9-12.
- 44) K. Olgaard, E. Lewin. Can hyperparathyroid bone disease be arrested or reversed? *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 1, 367–373.
- 45) Shahar DR, Schwarzfuchs D, Fraser D, Vardi H, Thiery J, Fiedler GM, Blüher M, Stumvoll M, Stampfer MJ, Shai I; DIRECT Group. "Dairy calcium intake, serum vitamin D, and successful weight loss." *Am J Clin Nutr.* 2010 Nov; 92(5):1017-22.
- 46) Khosravi ZS, Kafeshani M, Tavasoli P, Zadeh AH, Entezari MH. Effect of Vitamin D Supplementation on Weight Loss, Glycemic Indices, and Lipid Profile in Obese and Overweight Women: A Clinical Trial Study. *Int J Prev Med.* 2018; 9: 63.
- 47) Kim M, Na W, Sohn C. Correlation between Vitamin D and cardiovascular disease predictors in overweight and obese koreans. *J Clin Biochem Nutr.* 2013;52:167–71
- 48) Sneve M, Figenschau Y, Jorde R. Supplementation with cholecalciferol does not result in weight reduction in overweight and obese subjects. *Eur J Endocrinol* 2008; 159:675–84
- 49) Ceglia L, Chiu GR, Harris SS, Araujo AB. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and physical function in adult men. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011 74: 370-376.
- 50) Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchkesky SB, Nevitt M, Schwartz AV, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the Health, Aging and Body Composition Study, for the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006; 61: 1059-1064

- 51) El-Hajj G, Nabulsi M, Tamim H, Maalouf J, Salamoun M, Khalife H, Choucair M, Arabi A, Vieth R. Effect of vitamin D replacement on musculoskeletal parameters in school children: a randomized controlled trial. *J Clin End Met.* 2006; 91:405–412.
- 52) Bauer JM, Verlaan S, Bautmans I, Brandt K, Donini LM, Maggio M, et al. Effects of a vitamin D and leucine-enriched whey protein nutritional supplement on measures of sarcopenia in older adults, the PROVIDE study: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 2015; 16: 740-747
- 53) Zhu K, Austin N, Devine A, Bruce D, Prince R. A Randomized Controlled Trial of the Effects of Vitamin D on Muscle Strength and Mobility in Older Women with Vitamin D Insufficiency. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2010; 58 (11): 2063-2068.
- 54) Sørensen OH, Lund BI, Saltin B, et al. Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1-hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci* 1979;56:157–61
- 55) Janssen HCJP, Samson MM, and Verhaar HJ. Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:611–5
- 56) Grimby G. Muscle performance and structure in the elderly as studied cross-sectionally and longitudinally. *J Gerontol* 1995; 50A: 17–22. 74.
- 57) Brooks SV, Faulkner JA. Skeletal muscle weakness in old age: underlying mechanisms. *Med Sci Sports Exerc* 1994; 26:432–9.
- 58) Johnson KR, Jobber J, Stonawski BJ. Prophylactic vitamin D in the elderly. *Age Ageing* 1980; 9:121–7.
- 59) Annweiler C, Beauchet O, Berrut G, Fantino B, Bonnefoy M, Herrmann FR, Schott AM. Is there an association between serum 25-hydroxyvitamin D concentration and muscle

strength among older women? Results from baseline assessment of the EPIDOS study. J Nutr Health Aging. 2009; 13(2):90–5.

- 60) Marantes I, Sara J. Achenbach, Elizabeth J. Atkinson, Sundeep Khosla, Amin S. Is Vitamin D a Determinant of Muscle Mass and Strength? J Bone Miner Res. 2011; 26(12): 2860–2871.

Table 1. Baseline characteristics of the participants overall and by vitamin D allocation

	<b>Total sample (n=128)</b>	<b>Sample who completed the study (n=115)</b>	<b>Vitamin D supplemented group (n=60)</b>	<b>Placebo Group (n=55)</b>	<b>P value</b>
Gender (Male/Female)	62/66	59/56	33/27	26/29	0.408
Age	73.31(2.05)	73.31(2.05)	73.05 (1.95)	73.56 (2.14)	0.211
Weight (kg)	84.29 (13.69)	83.59 (14.79)	85.45 (16.67)	81.70 (12.71)	0.197
Height (cm)	1.68 (0.05)	1.68 (0.05)	1.69 (0.05)	1.68 (0.05)	0.276
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.37 (5.41)	29.42 (5.49)	30.18 (5.72)	28.63 (5.22)	0.153
Diabetes Mellitus (Yes) N (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	-
Coronary artery disease (Yes) N (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	-
Smoking (Yes) N (%)	66 (51.6)	61 (53.0)	34 (56.7)	27 (49.1)	0.416
Physical activity level (Low) N (%)	128 (100)	115 (100)	60 (100)	55 (100)	-

Data are means (SD) unless stated otherwise; significance set using independent-samples *t*-test when  $P \leq 0.05$

Table 2: Differences in measurements of primary outcomes after 6 months supplementation of vitamin D or placebo

	Vitamin D (n=60)				Placebo (n = 55)				<i>P</i> <sup>†</sup> (Vit D/placebo)
	Baseline	6 months	% change	<i>P</i> <sup>*</sup> (within)	Baseline	6 months	% change	<i>P</i> <sup>*</sup> (within)	
25 (OH) D, ng/mL (SD)	10.13 (2.87)	27.98 (3.83)	194.59 (76.55)	<0.001	10.56 (3.14)	15.71 (5.70)	48.83 (31.37)	<0.001	<0.001
<i>Muscle Strength</i>									
Handgrip Strength, kg (SD)	21.42 (5.48)	22.27 (6.60)	3.24 (12.66)	0.007	20.64 (5.51)	20.72 (5.24)	1.12 (7.89)	0.656	0.2901
<i>Muscle Mass</i>									
ASMM, kg (SD)	21.58 (6.53)	22.23 (5.85)	3.01 (2.38)	0.001	16.83 (3.11)	16.92 (3.25)	0.53 (3.30)	0.203	<0.001
% ASMM (SD)	25.82 (4.39)	26.11 (5.75)	3.05 (2.51)	0.001	20.14 (4.11)	20.33 (4.24)	0.95 (4.67)	0.177	0.001

Data are means (SD) unless stated otherwise; significance set using \*paired-samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ) to determine the changes in the outcomes within the same group (time point 0 and time point 6 months) and the †independent samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ) was used for between group comparisons.

Table 3: Differences in measurements of secondary outcomes after 6 months supplementation of vitamin D or placebo

	Vitamin D (n=60)				Placebo (n = 55)				<i>P</i> <sup>†</sup> (Vit D/ placebo)
	Baseline	6 months	% change	<i>P</i> <sup>*</sup> (with in)	Baseline	6 months	% change	<i>P</i> <sup>*</sup> (within)	
Weight, kg (SD)	85.45 (16.67)	85.09 (16.6)	0.42 (-0.39)	0.06	81.88 (12.73)	80.33 (12.58)	-1.89 (1.27)	<0.001	0.001
BMI ,kg/m <sup>2</sup> (SD)	30.18 (5.72)	30.06 (5.74)	-0.41 (1.83)	0.06	28.72 (5.21)	28.18 (5.17)	-1.87 (2.53)	0.001	0.006
Waist circumference, cm (SD)	100.75 (10.47)	98.8 (10.47)	-1.87 (3.23)	0.001	99.53 (8.60)	95.92 (8.92)	-3.62 (3.69)	0.001	0.002
Fat mass, kg (SD)	31.26 (7.83)	30.18 (7.82)	-3.55 (5.67)	0.001	29.65 (6.30)	27.72 (5.96)	-6.25 (6.62)	0.001	0.021
% fat, (SD)	36.20 (2.66)	35.08 (3.45)	-3.15 (5.46)	0.003	35.91 (2.51)	34.24 (2.63)	-4.55 (4.56)	0.002	0.02
Lean body mass, kg (SD)	54.19 (9.05)	54.91 (9.35)	1.33 (3.31)	0.005	52.23 (6.62)	52.61 (7.05)	0.72 (6.49)	0.002	0.196
PTH, ng/L (SD)	60.71 (12.22)	49.68 (9.99)	-18.09 (3.92)	<0.001	63.56 (10.56)	61.38 (10.11)	-3.32 (3.90)	0.001	<0.001
Serum creatinine, mg/dl (SD)	0.95 (0.10)	0.96 (0.10)	0.42 (2.40)	0.09	0.95 (0.10)	0.96 (0.10)	0.12 (2.22)	0.43	0.49

Data are means (SD) unless stated otherwise; significance set using \*paired-samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ) to determine the changes in the outcomes within the same group (time point 0 and time point 6 months) and the †independent samples *t*-test (when  $P \leq 0.05$ ) was used for between group comparisons

Table 4 – Effect of vitamin D supplementation on % change in ASMM and 25(OH)D in normal vs. obese subjects after adjusting for potential confounders (ANCOVA)

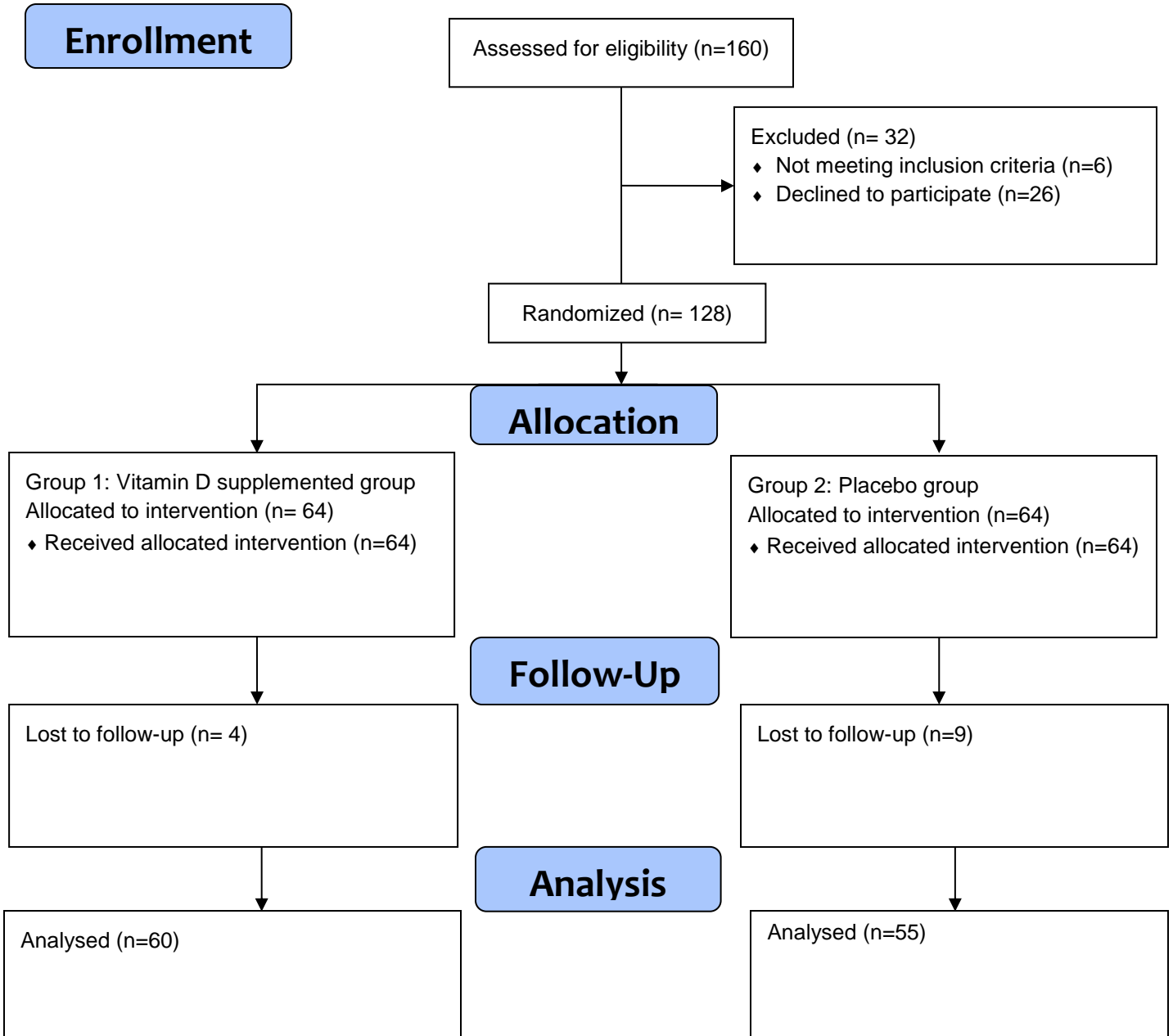
% Change		Vitamin D	Placebo	<i>P</i> -value
		Mean (SE)	Mean (SE)	
ASMM	Normal	36.20 (2.95)	1.10 (3.12)	< 0.001
	Obese	3.23 (0.32)	1.04 (0.33)	< 0.001
25(OH)D	Normal	219.22 (6.95)	31.04 (7.15)	< 0.001
	Obese	169.56 (10.89)	64.73 (11.48)	< 0.001

*P*-values are for differences in mean % change between Vitamin D and Placebo groups. SE: standard error



Figure 1: CONSORT flow diagram

### CONSORT Flow Diagram



# **Discussion générale**

Le présent travail s'est intéressé aux effets d'un apport complémentaire de vitamine D sur les marqueurs métaboliques ainsi que la masse et force musculaires chez des sujets âgés sains, normopondéraux ou obèses vivant au Liban. Il avait pour objectif de contribuer à la définition de stratégies de prévention des altérations liées au vieillissement (exemples : la sarcopénie ou présarcopénie et le diabète de type 2), par la compréhension des mécanismes menant à cette atteinte chez le sujet âgé sain, en particulier les statuts en certains nutriments comme la vitamine D.

Le maintien du statut en vitamine D constitue un problème universel de santé publique puisque l'on évalue qu'au moins un milliard de personnes sont déficitaires au niveau mondial (1). D'après des statistiques récentes, plus de 50 % des sujets jeunes adultes en bonne santé sont déficitaires en vitamine D (36) et plus de 90 % des patients consultant en médecine primaire pour des douleurs musculo-squelettiques non spécifiques présentent une insuffisance avérée en vitamine D (258). Reste à signaler que la prévalence de la déficience en vitamine D chez le sujet âgé de plus de 65 ans se situe entre 40 à 100 % (1). La fréquence de la déficience chez la personne âgée est due à une diminution des apports alimentaires associée à une réduction simultanée de l'exposition au soleil et de la capacité de la peau à synthétiser ce nutriment (259, 260). A noter aussi que certaines maladies chroniques, comme l'insuffisance rénale et le diabète, semblent jouer un rôle contributif à la déficience en vitamine D avec l'avancée en âge.

### **Effet de la vitamine D sur les marqueurs métaboliques**

Nous avons montré dans une étude randomisée (publication 1) qu'un apport complémentaire de vitamine D peut améliorer la glycémie à jeun et certains marqueurs métaboliques comme l'index HOMA de résistance à l'insuline chez des sujets âgés non diabétiques. Notre étude confirme donc que la surveillance des statuts en vitamine D pourrait aider au contrôle de certaines altérations

métaboliques associées au vieillissement comme l'insulino-résistance et, par conséquent, réduire l'apparition du diabète de type 2.

A ce sujet, l'International Diabetes Federation (IDF) estime que, d'ici 2040, plus que 640 millions de personnes seront atteintes de diabète de type 2 dont 50% de cas non diagnostiqués. Ces chiffres sont préoccupants étant donné le vieillissement actuel de la population mondiale, l'augmentation du pourcentage de sujets obèses, auxquels se surajoutent les changements de style de vie avec une forte tendance à la sédentarité. Cet accroissement du nombre de sujets diabétiques est très apparent dans les pays à faibles et moyens revenus, notamment les pays d'Afrique, de la Méditerranée orientale, du Moyen-Orient ainsi que du sud-est asiatique (140, 261). De ce fait, comme le montre notre étude réalisée chez des sujets libanais, certains facteurs alimentaires, comme la vitamine D, jouant un rôle protecteur pourrait être un facteur simple de prévention de l'insulino-résistance dans ces populations. Deux études prospectives cas-témoins menées en 2008 au sein de la population finlandaise ont confirmé qu'un taux élevé de [25(OH) D] au niveau sanguin réduisait le risque de développer un diabète de type 2. A noter que ce résultat a été obtenu à partir d'une cohorte de 7503 patients, âgés de 40 à 74 ans et suivis pendant 22 ans (50). Dans une autre étude observationnelle regroupant 83779 femmes suivies pendant 20 ans, le risque de diabète de type 2 était réduit de 33% après une supplémentation journalière de 800 UI de vitamine D et 1200 mg de Ca (262).

Au niveau mécanistique, les études récentes montrent que certaines activités du tissu pancréatique pourraient être en partie sous contrôle de la vitamine D. Cette observation repose sur la mise en évidence du récepteur à la vitamine D, de la protéine de transport de la vitamine D et d'une activité  $1\alpha$ -hydroxylase au niveau des cellules sécrétrices de l'insuline, c'est-à-dire des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (40). Une nouvelle étude publiée par Mathieu et coll. (263) chez des personnes

âgées en bonne santé vivant en Europe a permis d'observer une meilleure sensibilité à l'insuline et une meilleure activité des cellules  $\beta$  chez les sujets présentant une concentration sanguine élevée de [25 (OH) D] ( $\geq 34,9$  ng / mL). Dans ce travail, les sujets ayant des statuts plus bas ( $\leq 17,6$ – $26,0$  ng / mL) étaient caractérisés par une dégradation des marqueurs du métabolisme du glucose. Précisément, la prévalence de la résistance à l'insuline (HOMA IR  $\geq 1,8$ ) était 3,8 fois plus élevée chez les participants ayant les taux de [25 (OH) D] les plus bas. D'autres études également récentes, réalisées chez des sujets âgés sont en accord avec les résultats présentés dans notre travail. Globalement, ces études ont relevé une association inverse entre la concentration sanguine de [25 (OH) D] et l'HOMA-IR chez les personnes âgées. D'après Esteghamati et coll (264), les individus ayant un taux sérique de [25 (OH) D] inférieur à 20 ng / ml étaient caractérisés par une augmentation significative de l'index HOMA-IR, mais également des concentrations sanguines de glucose à jeun et d'HbA1c plus élevées. De plus, ces auteurs (264) ont déduit qu'une hypovitaminose D était associée à une résistance à l'insuline chez les personnes saines non diabétiques, indépendamment de leur IMC. D'une façon similaire, Chiu et coll. (47) ont observé que les concentrations sériques de [25 (OH) D] étaient associées positivement aux index de sensibilité à l'insuline. De plus, une prévalence plus élevée du syndrome métabolique et du diabète de type 2 était notée chez les sujets ayant une hypovitaminose D ([25 (OH) D]  $<20$  ng / ml) par rapport aux sujets avec des taux normaux de vitamine D (30% versus 11%). Les auteurs d'une étude s'intéressant à une cohorte de femmes vivant dans le nord de l'Inde ont relevé des glycémies à jeun plus élevées chez les sujets présentant les plus bas statuts en vitamine D (265). Ces observations viennent confirmer nos résultats obtenus à partir d'une population âgée saine, montrant qu'un faible taux sanguin de [25 (OH) D] était corrélé à un index HOMA-IR plus fort et une glycémie à jeun plus élevée, indépendamment de l'IMC.

A noter de façon intéressante qu'une concentration élevée de PTH affecte aussi la sensibilité à l'insuline. Des études préliminaires ont en effet montré qu'une augmentation des concentrations sanguines de PTH était corrélée à une réduction de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline (266, 267).

D'autres travaux ont révélé néanmoins des résultats différents des nôtres. Les études LIPGENE (268) et Initiative pour la Santé des Femmes (269) n'ont pas été en mesure de confirmer le lien possible entre les statuts en vitamine D et l'homéostasie glucidique. Mitri et ses collègues (270) ont analysé les conclusions des essais randomisés dans ce domaine et ont conclu qu'ils ne fournissaient pas encore de preuves définitives du rôle bénéfique de la supplémentation en vitamine D sur les marqueurs glycémiques. De même, Jorde et coll. (271) n'ont pas observé d'amélioration des marqueurs métaboliques dans leur étude portant sur des sujets en surpoids et obèses, ayant reçu une supplémentation en vitamine D<sub>3</sub> pendant 1 an.

Plusieurs raisons possibles peuvent expliquer l'absence d'association entre la vitamine D et les marqueurs de la glycémie. En premier lieu, les populations sélectionnées étaient différentes, c'est-à-dire présentaient des statuts en vitamine D moins altérés. De plus, certaines de ces investigations ont utilisé une mesure unique de la concentration sanguine de [25 (OH) D] pour déterminer le statut en vitamine D, analysé la plupart du temps au début de l'étude. Ce choix peut induire des biais dans le suivi du statut en vitamine D sur de longues durées. Enfin, ces études observationnelles se basaient sur des méthodes d'auto-déclaration (analyse de la glycémie) ou de relevés rétrospectifs de données demeurant dans les dossiers médicaux des individus, ce qui peut aussi nuire à la précision des résultats obtenus.

Les relations entre les statuts en vitamine D et la régulation de l'homéostasie glucidique pourraient être perturbées par l'obésité, puisque cette situation modifie à la fois le métabolisme de la vitamine et la sensibilité à l'insuline. L'étude publiée par Hyppönen et Boucher en 2018 (272) s'intéresse à l'interrelation complexe entre l'adiposité, la vitamine D et les anomalies métaboliques associées à l'obésité. Comme noté dans notre étude, l'obésité augmente le risque de déficience et de carence en vitamine D (120), Cette observation a été systématiquement rapportée quels que soient l'âge et le sous-groupe de population (120, 122-124). Une adiposité plus importante contribue donc à la réduction des concentrations circulantes de [25 (OH) D] et des statuts corporels en vitamine D (120). Inversement, même si les essais cliniques utilisant une supplémentation en vitamine D dans le cadre d'une réduction pondérale sont limitées, des concentrations sanguines plus élevées de [25 (OH) D] ne semblent pas affecter le risque d'obésité. Certains essais, cependant, ont suggéré qu'un apport concomitant de vitamine D et de calcium permettait de réduire les dépôts adipeux, en particulier chez les personnes ayant un faible apport alimentaire en calcium (88, 92, 105). En outre, l'adiposité est associée à une diminution de l'efficacité de la supplémentation en vitamine D. En effet, l'augmentation des concentrations sanguines de [25 (OH) D] est généralement plus faible chez les sujets obèses que chez les individus de poids normal, comme le montre la première publication de ce travail de thèse. On ne sait pas encore si l'évolution des altérations du profil métabolique associé à l'obésité (dyslipidémie, insulino-résistance,...) peut être modifiée par une supplémentation en vitamine D.

### **Effet de la vitamine D sur la force et masse musculaire**

Nous avons montré dans une étude randomisée (publication 2) qu'un complément alimentaire de vitamine D peut permettre d'augmenter la masse musculaire chez des sujets âgés atteints de

sarcopénie (ou présarcopénie) ou d'obésité sarcopénique. Nos résultats contribuent à apporter une nouvelle preuve du rôle bénéfique de la vitamine D sur la masse musculaire au cours du vieillissement et de l'obésité.

La sarcopénie est une pathologie caractérisée par une faiblesse musculaire proximale accompagnée de difficultés à se mouvoir en particulier à monter les escaliers, à se lever d'une position assise ou accroupie et à soulever des objets lourds. Dans notre étude, une altération du statut en vitamine D a été observée chez les personnes âgées sarcopéniques quel que soit le niveau d'activité physique de l'individu. Cette observation a déjà été partiellement relevée par d'autres auteurs (218, 259). A titre d'exemple, une étude chinoise comprenant des sujets âgés de plus de 60 ans (316 hommes et 596 femmes) vivant dans une zone urbaine du nord de la Chine a mis en évidence, comme dans notre étude, une association entre le taux sérique de [25 (OH) D] et avec la masse musculaire squelettique (273). De même, un taux sérique de [25(OH) D] inférieur à 40 nmol / L a été positivement corrélé à une diminution de la force de serrage de la main et de la distance de marche chez des sujets âgés (83 ans) vivant en collectivité (115, 274). La vitamine D serait donc un nutriment clé pour la prévention ou le ralentissement de la sarcopénie ou de la présarcopénie, son déficit étant associé à une réduction de la force musculaire et des performances physiques de l'individu.

Notre étude n'a néanmoins pas permis de démontrer un effet bénéfique d'un apport de vitamine D sur la force musculaire chez la personne âgée. A noter qu'une augmentation significative de la force de serrage de la main (mesurée par dynamométrie) avec le temps a été notée dans le groupe recevant le traitement, mais cette évolution n'était pas significativement différente de celle du groupe placebo. Bien que nos résultats concordent avec de nombreuses études antérieures (227-229), ils sont différents de plusieurs études transversales s'intéressant aux relations entre le statut



en vitamine D et la fonction musculaire (108, 116, 275). Dans l'ensemble ces travaux précédents ont rapporté un effet bénéfique de la vitamine D sur la force musculaire ou la performance physique (108, 116, 275). De nombreux aspects différents entre ces études et la nôtre peuvent expliquer ces résultats contradictoires. Tout d'abord, la comparaison des résultats d'études différentes est légèrement gênée par les différences démographiques entre les sujets, par le plan de l'étude et par la forme chimique de la vitamine D utilisée lors de la supplémentation (vitamine D<sub>2</sub> ou D<sub>3</sub>). En outre, les moyens d'administration (supplémentation par voie orale ou intraveineuse), le mode d'administration (quotidien, hebdomadaire ou mensuel), ainsi que les doses et les durées de supplémentation différentes peuvent influencer les résultats des études.

A titre d'exemple, une étude cas-témoin réalisée chez 55 femmes voilées présentant une carence sévère en vitamine D (moyenne [25(OH) D] 7nmol/l) a relevé une réduction de tous les paramètres testés de la fonction musculaire par rapport à un groupe témoin de 22 femmes ayant des statuts en vitamine D plus élevés (47 nmol / l) (276). Après une supplémentation en vitamine D<sub>2</sub>, des améliorations significatives de la force et fonction musculaires à 3 et 6 mois ont été rapportées chez les femmes carencées. Dans ce dernier travail, la dose de vitamine D était plus élevée (100,000 IU par semaine) que dans notre étude, expliquant possiblement la différence d'effet sur la force musculaire. De même, une méta-analyse récente rassemblant 225 articles avec un total de 30 essais contrôlés randomisés a montré une corrélation significativement positive entre la supplémentation en vitamine D et la force musculaire, surtout chez les sujets caractérisés par une concentration sanguine de [25(OH) D] inférieure à 30 nmol/L au début des études. La supplémentation en vitamine D paraissait plus efficace chez les sujets âgés de 65 ans ou plus, comparativement aux sujets plus jeunes (229).

La force musculaire et la mobilité ont aussi été mesurées dans une étude d'intervention, chez des femmes âgées qui présentaient un taux sanguin de [25(OH) D] inférieur à 20 nmol/L. Cette étude a révélé que la force d'extension du genou et la distance de marche étaient significativement améliorées chez les sujets recevant de la vitamine D (20 UI ou 0.5 µg de calcidiol par jour) pour une durée de 6 mois, alors qu'aucun progrès n'était relevé dans le groupe placebo (116). Une autre intervention comprenant aussi des femmes déficientes en vitamine D a permis de dévoiler qu'une forte supplémentation en vitamine D (100 000 UI ou 2500 µg par semaine) pendant 1 mois induisait une amélioration significative de la force déployée par les membres inférieurs et supérieurs (87). Ces résultats ont été corroborés par une étude récente dans laquelle une supplémentation quotidienne en vitamine D (1 000 UI/j ou 25 µg) durant un an chez des personnes âgées de 70 à 90 ans permettait non seulement de rétablir leurs statuts en vitamine D mais également d'améliorer la force des muscles des membres inférieurs (277). À noter que les mêmes résultats ont été observés chez des sujets plus jeunes, c'est-à-dire âgés de 60 ans en moyenne (278). Globalement, selon ces études, la déficience en vitamine D semble affecter essentiellement la musculature des membres inférieurs, qui est considérée fondamentale pour l'équilibre postural et la marche.

Cet effet important de la déficience en vitamine D chez le sujet âgé sur la masse et les fonctions musculaires peut être expliqué non seulement par l'hypovitaminose D mais aussi par la réduction progressive avec l'âge de l'expression du récepteur de cette vitamine au niveau du tissu musculaire (153). Il semblerait donc qu'une perte de la sensibilité musculaire à la vitamine D avec l'âge puisse être proposée bien qu'aucune étude ne se soit encore intéressée à cette question. Par conséquent, au niveau du muscle squelettique, des altérations fonctionnelles provenant d'une hypovitaminose

D pourraient se manifester chez les personnes âgées à des concentrations sanguines supérieures à celles des personnes plus jeunes. Selon ces constatations, il semble possible de déduire que les besoins en vitamine D pour maintenir la masse, la force et les performances musculaires sont supérieurs chez les sujets âgés par rapport aux sujets plus jeunes.

# **Conclusion et perspectives**

Le seuil optimal de vitamine D, défini par une concentration sérique de [25(OH) D] supérieure à 30 ng/ml, est rarement atteint sous nos latitudes. En conséquence, les déficits et les carences en vitamine D, dont les conséquences sont multiples, sont courants dans la population, en particulier dans certaines sous-populations comme celle des sujets âgés. Il est désormais établi que la vitamine D joue un rôle dans le métabolisme musculaire du fait de la présence de son récepteur (VDR) dans ce tissu. Aussi, comme le confirment nos travaux, la sarcopénie qui se caractérise par une perte progressive de la masse et de la force musculaires liée au vieillissement, pourrait être aggravée par de faibles statuts en cette vitamine. A part la sarcopénie, une carence en vitamine D favorise la résistance à l'insuline et l'apparition du diabète de type 2. Ainsi, l'augmentation du risque de développer cette pathologie chronique avec l'âge pourrait être freinée par la surveillance régulière et le maintien des statuts en vitamine D.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail aux liens entre le statut vitaminique D, la force et la masse musculaires et certains marqueurs métaboliques associés à l'homéostasie glucidique. Notre étude a permis de mettre en évidence qu'un apport supplémentaire de vitamine D permet d'améliorer les paramètres en lien avec la sensibilité à l'insuline, et d'augmenter la masse musculaire chez la personne âgée sarcopénique. Bien que de nombreux arguments physiopathologiques soient en faveur d'une augmentation de la force musculaire après correction du statut de la vitamine D, nos résultats n'ont pas permis de confirmer ce phénomène de façon très claire.

En outre, ce travail montre un intérêt pluriel de maintenir le statut en vitamine D chez la personne âgée, afin de limiter les affections liées à l'âge. Un apport de vitamine D pourrait permettre de ralentir l'effet du vieillissement sur le métabolisme et la santé musculaire et ainsi contribuerait à la compression de la morbidité associée au vieillissement. En dehors de ses avantages sanitaires,

cette stratégie nutritionnelle simple pourrait, si ses bénéfices sont confirmés, aider à limiter les coûts en termes de prise en charge de la dépendance et des maladies chroniques se développant avec l'avancée en âge. Des études de cohorte voire épidémiologiques semblent encore nécessaires pour démontrer ces aspects et permettre une définition précise des besoins, et donc des recommandations en vitamine D, dans tous les sous-groupes populationnels en fonction des contraintes physiologiques et environnementales associées.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*, 2008; 87:1080S-1086S
- 2- Roubenoff R. Sarcopenia: a Major modifiable cause of frailty in the Elderly. *J Nutr Health Aging* 1999; 4:140–2.
- 3- Hirani V, Primatesta P. Vitamine D concentrations among people aged 65 years and over living in private households and institutions in England: population survey. *Age Ageing* 2005; 34:485-91. 24.
- 4- Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, Cavalier E and Cormier C. « Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status ». *Ann Endocrinol (Paris)* 2008 ; 69 (6) : 501-10
- 5- "Fichier canadien sur les éléments nutritifs – version 2016" <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/fiche-nutri-data/index-fra.php>
- 6- Tissandié E, Guéguen Y, Lobaccaro J-M, Aigueperce J, Saouidi P. « Vitamine D: métabolisme, régulation et maladies associées ». 2006. *Medecine/Science* 22 (décembre).
- 7- Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, Cavalier E and Cormier C. « Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status ». *Ann Endocrinol (Paris)* 2008 ; 69 (6) : 501-10
- 8- Jean-Claude Souberbielle, Carlberg C, Seuter S. A genomic perspective on vitamin D signaling. *Anticancer Res.* 2009; 29: 3485–3493.
- 9- Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol ». *Am J Clin Nutr*, 2003; 77:204-10

- 10- Ross CA, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Dietary references intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: Institute of Medicine; 2010. 22.
- 11- Lips P., Hosking D., Lippuner K., Norquist J.M., Wehren L., Maalouf G., et al. « The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis : an international epidemiological investigation ». J Intern Med 2006; 260: 245-54.
- 12- Volatier JL. Enquête INCA (enquête individuelle et nationale sur les consommations alimentaires, Collection AFSSA) Paris 2000.
- 13- <http://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/161028>
- 14- Robinson JK. Sun Exposure, Sun Protection, and Vitamin D. JAMA 2005; 294:1541-3.
- 15- <https://www.anses.fr/en/system/files/NUT2014SA0234EN.pdf>
- 16- L'institute of Medicine est l'organisme chargé, entre autres, de fixer les apports recommandés en vitamines et minéraux aux Etats-Unis et au Canada.
- 17- The Endocrine Society est un regroupement international d'experts en endocrinologie qui publie la revue The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.
- 18- Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud D, Galand P, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. Osteoporos Int. 1997 ; 7 (5) : 1133-40. 30.
- 19- Claude-Laurent Benhamou, Jean-Claude Souberbielle, Bernard Cortet, Patrice Fardellone, Jean-Bernard Gauvain, Thierry Thomas, pour le Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO). La vitamine D chez l'adulte: recommandations du GRIO. Rhumatologie. 2011; 40: 673-682
- 20- Chakhtoura M, Rahme M, Chamoun N, El-Hajj Fuleihan G. Vitamin D in the Middle East and North Africa. Bone Rep. 2018 Jun; 8: 135-146



- 21- De Cock C, Bruyere O, Collette J and Reginster JY. "Vitamin D inadequacy in French osteoporotic and osteopenic women". *Joint Bone Spine* 2008; 75(5):567-72.
- 22- 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.
- 23- von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010 Feb; 103(4):549-55
- 24- Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. "estimates of optimal vitamin D status". *Osteoporos Int* 2005; 16:713-16.
- 25- Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. Interpretation of Plasma PTH Concentrations According to 25OHD Status, Gender, Age, Weight Status, and Calcium Intake: Importance of the Reference Values. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2014 ; 99(44): 1196–1203
- 26- Gerdhem, P., Ringsberg, K.A.M., Obrant, K.J. et al. "Association between 25-hydroxy vitamin D levels, physical activity, muscle strength and fractures in the prospective population-based OPRA Study of Elderly Women". *Osteoporos Int* 2005; 16: 1425.
- 27- Lips P Renate T. de Jongh R. Vitamin D deficiency in immigrants. *Bone Rep.* 2018 Dec; 9: 37–41.
- 28- MacLaughlin J and Holick MF. "Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D<sub>3</sub>". *J Clin Invest* 1985;76(4):1536-38.
- 29- Rosenberg IH. Sarcopenia: Origins and clinical relevance. *J Nutr* 1997; 127:990S

- 30- Rafiq R, Walschot F, Lips P, et al. Associations of different body fat deposits with serum 25-hydroxyvitamin D concentrations. 20th European Congress of Endocrinology. 2018
- 31- Carpentier A, Pataky Z, Bobbioni-Harsch E, Golay A. Déficiences micronutritionnelles chez les patients obèses. Rev Med Suisse. 2013 (9), 664-669
- 32- Cormier C. Vitamine D : quand doser et comment corriger ? Rev Prat Med Ge ; 2012 : 26:331-336
- 33- Steingrimsdottir L., Gunnarsson O., Indridason O.S., Franzson L., Sigursson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake JAMA. 2005; 9: 2336-2341
- 34- Heaney R.P., Dowell M.S., Hale C.A., Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D Journal of American College of Nutrition. 2003; 22: 142-146
- 35- Khosla S. Mini review: the OPG/RANKL/RANK system. Endocrinology. 2001; 142: 5050-5055
- 36- Holick M.F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health Mayo Clin Proc. 2006; 81: 353-373
- 37- Kayaniyil S, Vieth R, Retnakaran R, et al. Association of vitamin D with insulin resistance and beta-cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. Diabetes care. 2010, 33: 1379-1381.
- 38- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA: the journal of the American Medical Association. 2001, 286: 327-334.

- 39- Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, et al. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002, 51: 1131-1137. 90
- 40- Bland R, Markovic D, Hills C-E, et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 $\alpha$ hydroxylase in pancreatic islets. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2004, 89-90: 121-125.
- 41- Palomer X, González-Clemente JM, Blanco-Vaca F, et al. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity & Metabolism*. 2008, 10: 185-197.
- 42- Nagpal J, Pande JN, Bhartia A. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D3 supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 2009, 26: 19-27.
- 43- Dunlop TW, Väisänen S, Frank C, et al. The human peroxisome proliferator-activated receptor delta gene is a primary target of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor. *Journal of molecular biology*. 2005, 349: 248-260.
- 44- Baynes KC, Boucher BJ, Feskens EJ, et al. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia*. 1997, 40: 344-347.
- 45- Forouhi NG, Luan J, Cooper A, et al. Baseline serum 25-hydroxy vitamin d is predictive of future glycaemic status and insulin resistance: the Medical Research Council Ely Prospective Study 1990-2000. *Diabetes*. 2008, 57: 2619-2625.

- 46- Gannagé-Yared M-H, Chedid R, Khalife S, et al. Vitamin D in relation to metabolic risk factors, insulin sensitivity and adiponectin in a young Middle-Eastern population. *European journal of endocrinology*. 2009, 160: 965-971.
- 47- Chiu KC, Chu A, Go VLW, et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *The American journal of clinical nutrition*. 2004, 79: 820-825.
- 48- Kositsawat J, Freeman V, Gerber B, Geraci S. Association of A1C Levels With Vitamin D Status in U.S. Adults Data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*. 2010 Jun; 33(6): 1236–1238.
- 49- Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-Hydroxyvitamin D, Diabetes, and Ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*. 2004, 27: 2813-2818.
- 50- Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, et al. Serum Vitamin D and Subsequent Occurrence of Type 2 Diabetes. *Epidemiology*. 2008, 19: 666-671.
- 51- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes care*. 2006, 29: 650-656.
- 52- Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003, 52: 1799-1805.
- 53- Barzilay JI, Abraham L, Heckbert SR, et al. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes*. 2001, 50: 2384-2389.

- 54- Kyla Shea M, Booth S, Massaro J, et al. Vitamin K and Vitamin D Status: Associations with Inflammatory Markers in the Framingham Offspring Study. *American Journal of Epidemiology*. 2007; 167 (3): 313-320
- 55- Van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2005, 97: 93-101.
- 56- Gysemans CA, Cardozo AK, Callewaert H, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates expression of chemokines and cytokines in pancreatic islets: implications for prevention of diabetes in nonobese diabetic mice. *Endocrinology*. 2005, 146: 1956-1964.
- 57- Riachy R, Vandewalle B, Kerr Conte J, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 protects RINm5F and human islet cells against cytokine-induced apoptosis: implication of the antiapoptotic protein A20. *Endocrinology*. 2002, 143: 4809-4819.
- 58- Halse R, Pearson SL, McCormack JG, et al. Effects of tumor necrosis factor-alpha on insulin action in cultured human muscle cells. *Diabetes*. 2001, 50: 1102-1109.
- 59- Christakos S, Barletta F, Huening M, et al. Vitamin D target proteins: function and regulation. *Journal of cellular biochemistry*. 2003, 88: 238-244.
- 60- Esma Karkeni, Lauriane Bonnet, Julie Marcotorchino, Franck Tourniaire, Julien Astier, Jianping Ye, Jean-François Landrier. Vitamin D limits inflammation-linked microRNA expression in adipocytes *in vitro* and *in vivo*: A new mechanism for the regulation of inflammation by vitamin D. *Epigenetics*. 2018; 13 (2)
- 61- Ding C, Wilding JP, Bing C. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 protects against macrophage-induced activation of NFκB and MAPK signaling and chemokine release in human adipocytes. *PLoS One*. 2013, 8

- 62- Karkeni E, Marcotorchino J, Tourniaire F, Astier J, Peiretti F, Darmon P, Landrier JF. Vitamin D Limits Chemokine Expression in Adipocytes and Macrophage Migration in Vitro and in Male Mice. *Endocrinology*. 2015; 156 (1), 1782-1793
- 63- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Stöcklin E, et al. Oral supplementation with 25(OH) D3 versus vitamin D3: effects on 25(OH)D levels, lower extremity function, blood pressure, and markers of innate immunity. *J Bone Miner Res*. 2012 Jan; 27(1):160-9
- 64- Inanir A, Ozoran K, Tutkak H, Mermerci B. The effects of calcitriol therapy on serum interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha concentrations in post-menopausal patients with osteoporosis. *J Int Med Res*. 2004 Nov-Dec; 32(6):570-82.
- 65- Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care*. 2007 Apr; 30(4):980-6.
- 66- Fraser A, Williams D, Lawlor DA. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone and calcium with cardiovascular risk factors: analysis of 3 NHANES cycles (2001–2006). *PLoS ONE*. 2010
- 67- Kunutsor SK, Burgess S, Munroe PB, Khan H. Vitamin D and high blood pressure: causal association or epiphenomenon? *Eur J Epidemiol*. 2014; 29:1–14.
- 68- Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens*. 2007; 20:713–9

- 69- Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2009; 205:255–60.
- 70- Yin K, Agrawal DK. Vitamin D and inflammatory diseases. *J Inflamm Res.* 2014; 7:69–87. 10.
- 71- HADDAD, F. (2012). Dosage de la vitamine D en EHPAD. Faculté Cochin – Port Royal, Université René Descartes – Paris V. Diplôme Inter Universitaire « Formation à la fonction de Médecin Coordonnateur d'Établissement d'Hébergement pour Personnes Âgées Dépendantes »: 20
- 72- Mozos I, Marginean O. Links between vitamin D deficiency and Cardiovascular diseases. *Biomed Res Int.* 2015
- 73- Davies MR Hruska KA. Pathophysiological mechanisms of vascular calcification in end-stage renal disease. *Kidney Int.* (2001) 60:472–9
- 74- Wang JH, Keisala T, Solakivi T, Minasyan A, Kalueff AV, Tuohimaa P. Serum cholesterol and expression of ApoAI, LXRbeta and SREBP2 in vitamin D receptor knock-out mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009; 113:222–6.
- 75- Christensen R, Lorenzen JK, Svith CR, Bartels EM, Melanson EL, Saris WH, et al. Effect of calcium from dairy and dietary supplements on faecal fat excretion: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev.* 2009; 10:475–86
- 76- Xiongjing Jiang, Meng Peng, Shuohua Chen, Shouling Wu & Weiguo Zhang. Vitamin D deficiency is associated with dyslipidemia: a cross-sectional study in 3788 subjects. *Current Medical Research and Opinion.* 2019.

- 77- Huina Ge, Hualei Sun, Teng Wang, Xinxin Liu, Xing Li, Fei Yu, Han Han, Jun Wang, and Wenjie Li. The association between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentration and serum lipids in the rural population of China. *Lipids Health Dis.* 2017; 16: 215.
- 78- Karhapaa P, Pihlajamaki J, Porsti I, Kastarinen M, Mustonen J, Niemela O, Kuusisto J. Diverse associations of 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxy-vitamin d with dyslipidaemias. *J Intern Med.* 2010; 268:604–610.
- 79- Liu E, Meigs JB, Pittas AG, McKeown NM, Economos CD, Booth SL, Jacques PF. Plasma 25-hydroxyvitamin d is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *J Nutr.* 2009; 139:329–334.
- 80- Salehpour A, Shidfar F, Hosseinpanah F, Vafa M, Razaghi M, Amiri F. Does vitamin D3 supplementation improve glucose homeostasis in overweight or obese women? A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Diabet Med* 2013; 30:1477–81.
- 81- Salehpour A, Hosseinpanah F, Shidfar F, Vafa M, Razaghi M, Dehghani S et al. A 12-week double-blind randomized clinical trial of vitamin D<sub>3</sub> supplementation on body fat mass in healthy overweight and obese women. *J Nutr* 2012; 11:78.
- 82- Zittermann A, Frisch S, Berthold HK, Gotting C, Kuhn J, Kleesiek K et al. Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1321–7
- 83- Manousopoulou A, Al-Daghri NM, Spiros D, Garbis SD, Chrousos GP. Vitamin D and cardiovascular risk among adults with obesity: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest.* 2015; 45:1113–26.



- 84- Ford JAM, MacLennan GS, Avenell A, Bolland M, Grey A, Witham M, for the RECORD Trial Group. Cardiovascular disease and vitamin D supplementation: trial analysis, systematic review, and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100:746–55.
- 85- Rodriguez AJ, Srikanth V, Ebeling P. Effect of vitamin D supplementation on measures of arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Endocrinol.* 2016; 84:645–57.
- 86- El-Hajj F, Nabulsi GM, et al. "Effect of vitamin D replacement on musculoskeletal parameters in school children: a randomized controlled trial". *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(2): 405-412.
- 87- Glerup, H., K. Mikkelsen, et al. "Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement." *Calcif Tissue Int.* 2000; 66(6): 419-424.
- 88- Gupta, R., U. Sharma, et al. "Effect of cholecalciferol and calcium supplementation on muscle strength and energy metabolism in vitamin D-deficient Asian Indians: a randomized, controlled trial." *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010; 73(4): 445-451.
- 89- Diamond, T., Y. K. Wong, et al. "Effect of oral cholecalciferol 2,000 versus 5,000 IU on serum vitamin D, PTH, bone and muscle strength in patients with vitamin D deficiency." *Osteoporos Int* 24. 2013; (3): 1101-1105.
- 90- Yoshizawa, T., Y. Handa, et al. "Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning." *Nat Genet.* 1997; 16(4): 391-396
- 91- Endo, I., D. Inoue, et al. "Deletion of vitamin D receptor gene in mice results in abnormal skeletal muscle development with deregulated expression of myoregulatory transcription factors." *Endocrinology.* 2003; 144(12): 5138-5144.

- 92- Bhat, M., R. Kalam, et al. "Vitamin D deficiency-induced muscle wasting occurs through the ubiquitin proteasome pathway and is partially corrected by calcium in male rats." *Endocrinology*. 2013; 154(11): 4018-4029.
- 93- Garcia LA, King KK, et al. "1,25(OH)<sub>2</sub>vitamin D<sub>3</sub> stimulates myogenic differentiation by inhibiting cell proliferation and modulating the expression of promyogenic growth factors and myostatin in C2C12 skeletal muscle cells." *Endocrinology*. 2011; 152(8): 2976-2986.
- 94- Girgis, C. M., N. Mokbel, et al. "The Vitamin D Receptor (VDR) is Expressed in Skeletal Muscle of Male Mice and Modulates 25-Hydroxyvitamin D (25OHD) Uptake in Myofibers." *Endocrinology*. 2014
- 95- Srikuea, R., X. Zhang, et al. "VDR and CYP27B1 are expressed in C2C12 cells and regenerating skeletal muscle: potential role in suppression of myoblast proliferation." *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012; 303(4): C396-405.
- 96- Boland R, Norman A, Ritz E, Hasselbach W. Presence of a 1,25- dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> receptor in chick skeletal muscle myoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 128: 305-11.
- 97- Bischoff HA, Borchers M, Gudat F, Duermueller U, Theiler R, Stahelin HB, et al. In situ detection of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor in human skeletal muscle tissue. *Histochem J* 2001; 33: 19-24.
- 98- Costa EM, Blau HM, Feldman D. 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors and hormonal responses in cloned human skeletal muscle cells. *Endocrinology* 1986; 119: 2214-20.

- 99- Boland R, de Boland AR, Marinissen MJ, et al. muscle cells as targets for the secosteroid hormone 1, 25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub>. *Mol Cell Endocrinol* 1995; 114: 1-8.
- 100- Boland RL. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 347: 11-6.
- 101- Buitrago CG, Arango NS, Boland RL. 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-dependent modulation of Akt in proliferating and differentiating C2C12 skeletal muscle cells. *J Cell Biochem* 2012; 113: 1170-81.
- 102- Ebashi S, Endo M. Calcium ion and muscle contraction. *Prog Biophys Mol Biol* 1968; 18: 123-83.
- 103- Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-Ferrari HA, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension*. 2007; 49 (5): 1063-9.
- 104- Salles J, Chanet A, Giraudet C, Patrac V, Pierre P, Jourdan M, et al. 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> enhances the stimulating effect of leucine and insulin on protein synthesis rate through Akt/PKB and mTOR mediated pathways in murine C2C12 skeletal myotubes. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57: 2137-46.
- 105- Sorensen OH, Lund B, Saltin B, Andersen RB, Hjorth L, Melsen F, et al. Myopathy in bone loss of ageing : improvement by treatment with 1 alpha-hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci (Lond)* 1979; 56: 157-61.
- 106- Nemere I, Dormanen MC, Hammond MW, Okamura WH, Norman AW. Identification of a specific binding protein for 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in basal-

lateral membranes of chick intestinal epithelium and relationship to transcaltachia. *J Biol Chem* 1994; 269: 23750-6.

- 107- Nemere I, Schwartz Z, Pedrozo H, Sylvia VL, Dean DD, Boyan BD.  
Identification of a membrane receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> which mediates rapid activation of protein kinase C. *J Bone Miner Res* 1998 ; 13 : 1353-9.
- 108- Gloth 3rd FM, Smith CE, Hollis BW, Tobin JD. Functional improvement with vitamin D replenishment in a cohort of frail, vitamin D-deficient older people. *J Am Ger Soc* 1995; 43: 1269-71.
- 109- Domingues-Faria C, Chanet A, Salles J, Berry A, Giraudet C, Patrac V, et al.  
Vitamin D deficiency down-regulates Notch pathway contributing to skeletal muscle atrophy in old wistar rats. *Nutr Metab* 2014; 11: 4
- 110- Pojednic R, Ceglia L. The emerging biomolecular role of vitamin D in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 2014; 42: 76-81
- 111- Guillet C., Delcourt I., Rance M., Giraudet C., Walrand S., Bedu M., et al.  
Changes in basal and insulin and amino acid response of whole body and skeletal muscle proteins in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94 : 3044-3050
- 112- Ceglia L. Vitamin D and its role in skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12: 628-33.
- 113- Bischoff H, Stahelin H, Urscheler N, Ehram R, Vonthein R, Perrig-Chiello P, et al. Muscle strength in the elderly : its relation to vitamin D metabolites. *Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80: 54-8.

- 114- Mowe M, Haug E, Bohmer T. Low serum calcidiol concentration in older adults with reduced muscular function. *J Am Geriatr Soc* 1999; 47: 220-6.
- 115- Mets T. Calcium, vitamin D, and hip fractures. Incidence of falls may have decreased. *BMJ* 1994; 309: 193.
- 116- Verhaar H, Samson M, Jansen P, de Vreede P, Manten J, Duursma S. Muscle strength, functional mobility and vitamin D in older women. *Ageing* 2000; 12: 455-60
- 117- Bischoff H, Stahelin H, et al. Muscle strength in the elderly: its relation to vitamin D metabolites. *Arch Phys Med Rehabil.* 1999; 80(1): 54-58.
- 118- Bischoff-Ferrari H, Dietrich T, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged > or =60 y. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(3): 752-758.
- 119- Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2002; 9:87–98.
- 120- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:690–3
- 121- Ou HY, Karnchanasorn R, Lee LZ, Chiu KC. Interaction of BMI with vitamin D and insulin sensitivity. *European Journal of Clinical Investigation.* 2011.
- 122- Rodriguez-Rodriguez E, Navia B, Lopez-Sobaler AM, Ortega RM. Vitamin D in overweight/obese women and its relationship with dietetic and anthropometric variables. *Journal of internal medicine.* 2010; 268(6):604–610.
- 123- Taheri E, Saedisomeolia A, Djalali M, Qorbani M, Madani Civi M. The relationship between serum 25-hydroxy vitamin D concentration and obesity in type 2

- diabetic patients and healthy subjects. *Journal of diabetes and metabolic disorders*. 2012; 11(1):16.
- 124- Kabadi SM, Lee BK, Liu L. Joint effects of obesity and vitamin D insufficiency on insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabet Care* 2012; 35: 2048-2054.
- 125- Naharcı Mİ, Bozoğlu E, Karadurmuş N, Türker T, Serdar MA, Hüseyin Doruk. Prediyabetli yaşlılarda vitamin D düzeylerine göre insülin duyarlılığının incelenmesi. *Gülhane Tıp Derg* 2011; 53: 271-276.
- 126- Kamei Y, Kawada T, Kazuki R, Ono T, Kato S, Sugimoto E. Vitamin D Receptor Gene Expression Is Up-Regulated by 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 in 3T3-L1 Preadipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993; 193: 948–955.
- 127- Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, Fisker S, Rask P, Rejnmark L, et al. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue—the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes*. 2013; 37: 651–657.
- 128- Bredella MA, Lin E, Gerweck AV, et al. Determinants of bone microarchitecture and mechanical properties in obese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2012; 97:4115–4122.
- 129- Compston JE, Watts NB, Chapurlat R, et al. Obesity is not protective against fracture in postmenopausal women: GLOW. *Am. J. Med*. 2011; 124:1043–1050.
- 130- Rejeski WJ, Marsh AP, Chmelo E, Rejeski JJ. Obesity, intentional weight loss and physical disability in older adults. *Obes. Rev*. 2010; 11:671–685.
- 131- Villareal DT, Banks M, Siener C, Sinacore DR, Klein S. Physical frailty and body composition in obese elderly men and women. *Obes. Res*. 2004; 12:913–920.

- 132- Himes C.L., Reynolds S.L. Effect of obesity on falls, injury, and disability. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2012; 60:124–129
- 133- Ahern T, Khattak A, O'Malley E, et al. Association between vitamin D status and physical function in the severely obese. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; 99
- 134- Dang M, Shore-Lorenti C, McMillan LB, Mesinovic J, Hayes A, Ebeling PR, Scott D. Associations of Serum 25-Hydroxyvitamin D with Physical Performance and Bone Health in Overweight and Obese Older Adults. *Int J Environ Res Public Health.* 2019 Feb 12; 16 (3)
- 135- Ilich JZ, Inglis JE, Kelly OJ, McGee DL. Osteosarcopenic obesity is associated with reduced handgrip strength, walking abilities, and balance in postmenopausal women. *Osteoporosis International.* 2015. 26 (11) ; 2587–2595
- 136- Orwoll E., Nielson CM, Marshall LM, Lambert L, et al. Vitamin D deficiency in older men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2009; 94 (4): 1214-22.
- 137- Holick MF. Vitamin D deficiency. *The New England journal of medicine.* 2007; 357 (3): 266-81.
- 138- De Jongh RT, van Schoor NM, Lips P. Changes in vitamin D endocrinology during aging in adults. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 453:144–150
- 139- Dalgard C, Petersen M, Weihe P, Grandjean P. Vitamin D Status in Relation to Glucose Metabolism and Type 2 Diabetes in Septuagenarians. *Diabetes Care* 2011 Jun; 34(6): 1284-1288
- 140- *Diabetes Care.* Mai 2004, 27 (5) : 1047-1053. 35. Diabète [Internet]. 2013. [http://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/fr/](http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/fr/). 28 février 2013.

- 141- Park S, Ham JO, Lee BK. A positive association between stroke risk and sarcopenia in men aged  $\geq 50$  years, but not women: results from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2008-2010. *J Nutr Health Aging*. 2014; 18(9): 806-12
- 142- Sue K, Park SK, Garland CF, Gorham ED, BuDoff L, Barrett-Connor E. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of type 2 diabetes and pre-diabetes: 12-year cohort study. *PLoS ONE*. 2018
- 143- Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF. Et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008; 117 (4): 503-11.
- 144- Barnard K., Colon -Emeric. Extraskeletal effects of vitamin D in older adults: cardiovascular disease, mortality, mood, and cognition. *The American journal of geriatric pharmacotherapy*. 2010; 8 (1): 4-33.
- 145- Giovanucci E, Liu Y, Hollis B, Rimm E. 25- hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1174-80.
- 146- Pilz S, März W, Wellnitz B, Seelhorst U, Fahrleitner-Pammer A, Dimai HP et al. Association of Vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3927-35
- 147- Houston D, Tooze J, et al. 25-hydroxyvitamin D status and change in physical performance and strength in older adults: the Health, Aging, and Body Composition Study. *Am J Epidemiol*. 2012; 176(11): 1025-1034.



- 148- Faulkner K, Cauley J, et al. Higher 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> concentrations associated with lower fall rates in older community-dwelling women. *Osteoporos Int.* 2006; 17(9): 1318-1328.
- 149- Snijder M, van Schoor N, et al. Vitamin D status in relation to one-year risk of recurrent falling in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(8): 2980-2985.
- 150- Bischoff-Ferrari H, Dawson-Hughes B, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* (2009); 339: b3692.
- 151- Murad M, Elamin K, et al. Clinical review: The effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(10): 2997-3006.
- 152- Muir S and Montero-Odasso M. Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: a systematic review and meta-analysis." *J Am Geriatr Soc.* 2011; 59(12): 2291-2300.
- 153- Bischoff-Ferrari H, Borchers M, et al. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res.* 2011; 19(2): 265-269.
- 154- Ceglia L, Niramitmahapanya S, et al. A randomized study on the effect of vitamin D(3) supplementation on skeletal muscle morphology and vitamin D receptor concentration in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(12): E1927-1935.
- 155- Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis.* 2005; 20(3):187-92.

- 156- Facchinetti M and de Boland A. Effect of ageing on the expression of protein kinase C and its activation by 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> in rat skeletal muscle. *Cell Signal*. 1999; 11(1): 39-44.
- 157- Rosenberg IH. Summary comments. *Am J Clin Nutr*. 1989 Nov 1; 50(5):1231–3.
- 158- Hughes VA et al. Longitudinal changes in body composition in older men and women: role of body weight change and physical activity. *Am J Clin Nutr*. 2002 Aug; 76(2):473–81.
- 159- Lauretani F et al. Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2003 Nov; 95(5):1851–60.
- 160- Dufour AB et al. Sarcopenia definitions considering body size and fat mass are associated with mobility limitations: the Framingham Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013; 68(2):168-74
- 161- Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R. The Healthcare Costs of Sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc*. 2004 Jan 1; 52(1):80–5.
- 162- Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: report of the European working group on sarcopenia in older people. *Age Ageing* 2010; 39: 412–23
- 163- Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer JM et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019 Jan; 48(1): 16–31.
- 164- Argiles JM, Campos N, Lopez-Pedrosa JM et al. Skeletal muscle regulates metabolism via interorgan crosstalk: roles in health and disease. *J Am Med Dir Assoc* 2016; 17: 789–96.

- 165- Frontera WR, Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int* 2015; 96: 183–95.
- 166- <http://www.icd10data.com/ICD10CM/Codes/M00-M99/M60-M63/M62-/M62.84> CD-10-CM Diagnosis Code M62.84. 2018. [cited 2018 March 12].
- 167- Vellas B, Fielding RA, Bens C et al. Implications of ICD-10 for sarcopenia clinical practice and clinical trials: report by the International Conference on Frailty and Sarcopenia Research Task Force. *J Frailty Aging* 2018; 7: 2–9.
- 168- Baumgartner RN et al. Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol*. 1998 Apr 15; 147(8):755–63.
- 169- Melton LJ, Khosla S, Crowson CS, O'Connor MK, O'Fallon WM, Riggs BL. Epidemiology of sarcopenia. *J Am Geriatr Soc*. 2000 Jun; 48(6):625–30
- 170- Newman AB et al. Sarcopenia: Alternative Definitions and Associations with Lower Extremity Function. *J Am Geriatr Soc*. 2003 Nov 1; 51(11):1602–9.
- 171- Delmonico MJ et al. Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women. *J Am Geriatr Soc*. 2007 May; 55(5):769–74.
- 172- Janssen I, Heymsfield SB, Wang Z, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *J Appl Physiol*. 2000 Jul 1;89(1):81–8.
- 173- Janssen I et al. Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. *Am J Epidemiol*. 2004 Feb 15; 159(4):413–21.
- 174- Tichet J, Vol S, Goxe D, Salle A, Berrut G, Ritz P. Prevalence of sarcopenia in the French senior population. *J Nutr Health Aging*. 2008 Mar; 12(3):202–6.

- 175- Masanes F, Culla A, Navarro-Gonzalez M, et al. Prevalence of sarcopenia in healthy community-dwelling elderly in an urban area of Barcelona (Spain) *J Nutr Health Aging*. 2012; 16: 184–7
- 176- Kweon S, Kim Y, Jang MJ, et al. Data resource profile: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES). *Int J Epidemiol*. 2014 Feb;43(1):69-77
- 177- Chen LK, Liu LK, Woo J, et al. Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2014; 15:95–101.
- 178- Shafiee G, Ostovar A, Heshmat R, Appendicular Skeletal Muscle Mass Reference Values and the Peak Muscle Mass to Identify Sarcopenia among Iranian Healthy Population
- 179- Walrand S, Guillet C, Salles J, Cano N, Boirie Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia. *Clin Geriatr Med*. 2011 Aug; 27(3):365-85.
- 180- Boirie Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia. *J Nutr Health Aging*. 2009;13:717–723
- 181- Wang X, Hu Z, Hu J, Du J, Mitch WE. Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. *Endocrinology*. 2006 Sep; 147(9):4160-8.
- 182- Abbatecola M, Paolisso G, et al. Discovering pathways of sarcopenia in older adults: a role for insulin resistance on mitochondria dysfunction. *J Nutr Health Aging*. 2011 Dec; 15 (10): 890-5
- 183- Szulc P et al. Hormonal and lifestyle determinants of appendicular skeletal muscle mass in men: the MINOS study. *Am J Clin Nutr*. 2004 Aug 1; 80(2):496–503.

- 184- Schaap LA et al. Higher Inflammatory Marker Levels in Older Persons: Associations With 5-Year Change in Muscle Mass and Muscle Strength. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009 Nov; 64A (11):1183–9.
- 185- Dardevet D, Rémond D, Peyron M, et al. Muscle wasting and Resistance of Muscle Anabolism: The “Anabolic Threshold Concept” for Adapted Nutritional Strategies during Sarcopenia. Special Issue “Skeletal Muscle Physiology” – *The Scientific World Journal* Volume. 2012, Article ID 269531
- 186- Boirie Y, Gachon P, Corny S, et al. Acute postprandial changes in leucine metabolism as assessed with an intrinsically labeled milk protein. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 1996; 271, E1083-E1091.
- 187- Arnal M, Mosoni L, Boirie Y, et al. Protein feeding pattern does not affect protein retention in young women. *Journal of Nutrition*. 2000; 130, 1700-1704
- 188- Zadik Z, Chalew SA, McCarter RJ, Jr, et al. The influence of age on the 24-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;60:513–516
- 189- Rudman D, Feller AG, Nagraj HS, et al. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *N Engl J Med*. 1990; 323:1–6
- 190- Cappola AR, Bandeen-Roche K, Wand GS, Volpato S, Fried LP. Association of IGF-I levels with muscle strength and mobility in older women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Sep; 86(9):4139-46.
- 191- Brotto M, Abreu EL. Sarcopenia: pharmacology of today and tomorrow. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012;343:540–546

- 192- Guillet C, Zangarelli A, Gachon P, Morio B, Giraudet C, Rousset P, Boirie Y. Whole body protein breakdown is less inhibited by insulin, but still responsive to amino acid, in nondiabetic elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Dec; 89(12):6017-24.
- 193- Martone, AM, Marzetti, E, Calvani, R, Picca, A, Tosato, M, Santoro, L, et al. Exercise and protein intake: a synergistic approach against sarcopenia. *Biomed Res Int* 2017
- 194- Montero-Fernández, N, Serra-Rexach, JA. Role of exercise on sarcopenia in the elderly. *Eur J Phys Rehabil Med* 2013; 49: 131– 143.
- 195- Klitgaard H, Manton M, et al. Function, morphology and protein expression of ageing skeletal muscle: a cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. *Acta Physiol Scand.* 1990; 140 (1): 41-54
- 196- Szulc P et al. Hormonal and lifestyle determinants of appendicular skeletal muscle mass in men: the MINOS study. *Am J Clin Nutr.* 2004 Aug 1; 80(2):496–503.
- 197- Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Nair. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004 janv, Vol. 286(1), E92-101.
- 198- Barberi L, Scicchitano BM, Musaro A. Molecular and cellular mechanisms of muscle aging and sarcopenia and effects of electrical stimulation in seniors. *Eur J Trans Myo - Basic Appl Myol.* 2015 (25)
- 199- Poortmans JR, Carpentier YA. Sarcopénie, vieillissement et exercice. *Sci Sports.* 2009 Apr; 24(2):74–8.

- 200- Dardevet D, Mosoni L., Peyron M, et al. Sarcopénie et protéines alimentaires: Lesquelles ? Comment ? Seules ? Innovations Agronomiques. 2013; 33, 25-36
- 201- Rizzoli R. Nutrition and Sarcopenia. J Clin Densitom. 2015
- 202- Paddon-Jones D, Rasmussen BB. Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2009; 12(1):86–90.
- 203- Pennings B, Groen B, de Lange A, Gijsen AP, Zorenc AH, Senden JM, van Loon LJ. Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2012; 302: E992-9
- 204- Dangin M, Guillet C, Garcia-Rodenas C, et al. The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. J Physiol. 2003; 549: 635-44
- 205- Walrand S, Gryson C, Salles J, Giraudet C, Migné C, Bonhomme C, Le Ruyet P, Boirie Y. Fast-digestive protein supplement for ten days overcomes muscle anabolic resistance in healthy elderly men. Clinical Nutrition. 2016; 35(3): 660-668
- 206- Rieu I, Balage M, Sornet C, Debras E, Ripes S, Rochon-Bonhomme C, Pouyet C, Grizard J, Dardevet D. Increased availability of leucine with leucine-rich whey proteins improves postprandial muscle protein synthesis in aging rats. 2007. Nutrition; 23, 323-331.
- 207- Rieu I., Balage M., Sornet C., Giraudet C., Pujos E., Grizard J., Mosoni L., Dardevet D. Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia. Journal of Physiology-London.2006; 575, 305-315

- 208- Katsanos C, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A, Wolfe R. Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 82, 1065-1073
- 209- Houston DK, Toozé JA, Davis CC, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and physical function in older adults: the Cardiovascular Health Study All Stars. *J Am Geriatr Soc*. 2011 Oct; 59 (10): 1793-801.
- 210- Houston DK, Cesari M, Ferrucci L, et al. Association between vitamin D status and physical performance: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007 Apr; 62(4):440-6.
- 211- Toffanello ED, Perissinotto E, Sergi G, Zambon S, Musacchio E, Maggi S, Coin A, Sartori L, Corti MC, Baggio G, Crepaldi G, Manzato E. Vitamin D and physical performance in elderly subjects: the Pro.V.A study. *PLoS One*. 2012; 7(4)
- 212- Zamboni M, Zoico E, Tosoni P, Zivelonghi A, Bortolani A, Maggi S, Di Francesco V, Bosello O. Relation between vitamin D, physical performance, and disability in elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 Jan; 57(1):M7-11.
- 213- Annweiler C, Henni S, Walrand S, Montero-Odasso M, Duque G, Duval GT. Vitamin D and walking speed in older adults: Systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2017 Dec; 106:8-25.
- 214- Vaes AMM, Brouwer-Brolsma EM, Toussaint N, de Regt M, Tieland M, van Loon LJC, de Groot LCPGM. The association between 25-hydroxyvitamin D concentration, physical performance and frailty status in older adults. *Eur J Nutr*. 2018 Apr 25.



- 215- Zhou J, Huang P, Liu P, Hao Q, Chen S, Dong B, Wang J. Association of vitamin D deficiency and frailty: A systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2016 Dec; 94():70-76.
- 216- Dam TT, von Mühlen D, Barrett-Connor EL. Sex-specific association of serum vitamin D levels with physical function in older adults. *Osteoporos Int*. 2009 May; 20(5):751-60.
- 217- Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJ, Visser M, Deeg DJ, Smit J, Knol DL, Lips P. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jun; 92(6):2058-65.
- 218- Visser M, Deeg DJ, Lips P. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(12):5766-72.
- 219- Verreault R, Semba RD, Volpato S, Ferrucci L, Fried LP, Guralnik JM. Low serum vitamin d does not predict new disability or loss of muscle strength in older women. *J Am Geriatr Soc*. 2002; 50(5):912-7.
- 220- Granic A, Hill TR, Davies K, Jagger C, Adamson A, Siervo M, Kirkwood TB, Mathers JC, Sayer AA. Vitamin D Status, Muscle Strength and Physical Performance Decline in Very Old Adults: A Prospective Study. *Nutrients*. 2017 Apr 13; 9(4)
- 221- Cangussu LM, J. Nahas-Neto J, et al. Effect of vitamin D supplementation alone on muscle function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Osteoporos. Int.*, 26 (10) (2015), pp. 2413-2421

- 222- Tellioglu A, Basaran S, Guzel R, Seydaoglu G. Efficacy and safety of high dose intramuscular or oral cholecalciferol in vitamin D deficient/insufficient elderly. *Maturitas*, 72 (4) (2012), pp. 332-338
- 223- Ranathunga R, Hill T, Mathers J, et al. No effect of monthly supplementation with 12000 IU, 24000 IU or 48000 IU vitamin D3 for one year on muscle function: The vitamin D in older people study. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2018
- 224- Wu F, Laslett L, Wills B, Oldenburg M, et al. Cut-points for associations between vitamin D status and multiple musculoskeletal outcomes in middle-aged women. *Osteoporos. Int.*, 28 (2) (2017), pp. 505-515
- 225- Scientific Advisory Committee on Nutrition SACN. *Vitamin D and Health* Crown copyright, London (2016), p. 289 <https://www.gov.uk/government/publications/sacn-vitamin-d-and-health-report>
- 226- Kotlarczyk M Perera S, Ferchak M, et al. Vitamin D deficiency is associated with functional decline and falls in frail elderly women despite supplementation *Osteoporos. Int.*, 28 (4) (2017), pp. pp. 1347-1353
- 227- Annweiler C, Schott AM, Berrut G, Fantino B, Beauchet O. Vitamin D-related changes in physical performance: A systematic review. *J. Nutr. Health Aging*. 2009;13:893–898
- 228- Rosendahl-Riise H, Spielau U, Ranhoff A.H, et al. Vitamin D supplementation and its influence on muscle strength and mobility in community-dwelling older persons: A systematic review and meta-analysis. *J. Hum. Nutr. Diet*. 2017;30:3–15

- 229- Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; 99:4336–4345.
- 230- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Orav E, et al. Monthly high-dose vitamin D treatment for the prevention of functional decline: A randomized clinical trial. *JAMA Intern. Med.* 2016; 176:175–183.
- 231- Thomas DR. Sarcopenia. *Clin Geriatr Med.* 2010; 26:331–346.
- 232- Haren M et al. Higher C-Reactive Protein and Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor Levels Are Associated With Poor Physical Function and Disability: A Cross-Sectional Analysis of a Cohort of Late Middle-Aged African Americans. *The Journals of Gerontology: Series A.* 2010; 65 (3), 274–281
- 233- Tiainen K et al. Inflammatory Markers and Physical Performance Among Nonagenarians. *The Journals of Gerontology: Series A.* 2010; 65 (6): 658–663
- 234- Payette H et al. Insulin-like growth factor-1 and interleukin 6 predict sarcopenia in very old community-living men and women: the Framingham Heart Study. *J Am Geriatr Soc.* 2003 Sep; 51(9):1237-43.
- 235- Schragger MA, Metter EJ, Simonsick E, et al. Sarcopenic obesity and inflammation in the InCHIANTI study. *J Appl Physiol.* 2007; 102:919–925.
- 236- Stenholm S, Rantanen T, Heliövaara M, et al. The mediating role of C-reactive protein and handgrip strength between obesity and walking limitation. *J Am Geriatr Soc.* 2008; 56:462–469.
- 237- Aniansson A, Grimby G, Hedberg M. Compensatory muscle fiber hypertrophy in elderly men. *J Appl Physiol.* 1992 Sep 1;73(3):812–6

- 238- Ducimetiere P, Richard J & Cambien F. The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris Prospective Study. *Int J Obes*. 1986; 10: 229-240.
- 239- Ohlson LO, Larsson B, et al. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes*. 1985; 34: 1055-1058.
- 240- Vanhala MJ, Pitkajarvi TK, Kumpusalo EA, Takala JK. Obesity type and clustering of insulin resistance-associated cardiovascular risk factors in middle-aged men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998; 22: 369-374.
- 241- Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Oct; 61(10):1059-64.
- 242- Baumgartner RN. Body composition in healthy aging. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 904: 437-448.
- 243- Witham MD, Avenell A. Interventions to achieve long-term weight loss in obese older people: a systematic review and meta-analysis. *Age Ageing* 2010; 39:176-184
- 244- Bales CW, Buhr G. Is obesity bad for older persons? A systematic review of the pros and cons of weight reduction in later life. *J Am Med Dir Assoc*. 2008; 9:302-312
- 245- Davison KK, Ford ES, Cogswell ME, Dietz WH. Percentage of body fat and body mass index are associated with mobility limitations in people aged 70 and older from NHANES III. *J Am Geriatr Soc*. 2002; 50(11):1802-9.

- 246- Waters DL, Hale L, Grant AM, Herbison P, Goulding A. Osteoporosis and gait and balance disturbances in older sarcopenic obese New Zealanders. *Osteoporos Int*. 2010; 21(2):351–7.
- 247- Rolland Y et al. Difficulties with physical function associated with obesity, sarcopenia, and sarcopenic-obesity in community-dwelling elderly women: the EPIDOS (EPIDemiologie de l'OSteoporose) Study. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(6):1895–900
- 248- Zoico E, Di Francesco V, Guralnik JM, et al. Physical disability and muscular strength in relation to obesity and different body composition indexes in a sample of healthy elderly women. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. 2004; 28(2):234–41.
- 249- Bouchard DR, Janssen I. Dynapenic-obesity and physical function in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010; 65(1):71–7.
- 250- Stenholm S, Rantanen T, Heliövaara M, Koskinen S. The mediating role of C-reactive protein and handgrip strength between obesity and walking limitation. *J Am Geriatr Soc*. 2008; 56(3):462–9.
- 251- Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, Morley JE. Sarcopenic Obesity Predicts Instrumental Activities of Daily Living Disability in the Elderly. *Obes Res*. 2004; 12(12):1995–2004.
- 252- Stenholm S, Alley D, Bandinelli S, Griswold ME, Koskinen S, Rantanen T, et al. The effect of obesity combined with low muscle strength on decline in mobility in older persons: results from the InCHIANTI Study. *Int J Obes*. 2009; 33(6):635–44.

- 253- Srikanthan P, Hevener AL, Karlamangla AS. Sarcopenia Exacerbates Obesity-Associated Insulin Resistance and Dysglycemia: Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III. PLoS ONE. 2010; 5(5)
- 254- Stephen WC, Janssen I. Sarcopenic-obesity and cardiovascular disease risk in the elderly. JNHA - J Nutr Health Aging. 2009; 13(5):460–6.
- 255- Aubertin-Leheudre M et al. Effect of Sarcopenia on Cardiovascular Disease Risk Factors in Obese Postmenopausal Women. Obesity. 2006; 14(12):2277–83.
- 256- Villareal D, Chode S, Parimi N, Sinacore DR, et al. Weight Loss, Exercise, or Both and Physical Function in Obese Older Adults. N Engl J Med. 2011; 364:1218-1229
- 257- Zamboni M, Mazzali G, Fantin F, et al. Sarcopenic obesity: A new category of obesity in the elderly. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2008; 18 (5): 388-395
- 258- Plotnikoff G. Vitamin D deficiency: time for inaction? Glob Adv Health Med 2013; 2: 5-6.
- 259- Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. Endocr Rev. 2001 Aug; 22(4):477-501.
- 260- Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. Nutrients 2013; 5: 111-48.
- 261- Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030.

- 262- Zhao G, Ford ES, Li C. Associations of serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone with surrogate markers of insulin resistance among U.S. adults without physician-diagnosed diabetes. *Diabetes care*. 2010, 33: 344-347.
- 263- Mathieu SV, Fischer K, Dawson-Hughes B, Freystaetter G, Beuschlein F, Schietzel S, Egli A, Bischoff-Ferrari HA. Association between 25-Hydroxyvitamin D Status and Components of Body Composition and Glucose Metabolism in Older Men and Women. *Nutrients*. 2018 Nov 25;10(12)
- 264- Esteghamati A, Aryan Z, Esteghamati A, Nakhjavani M. Vitamin D deficiency is associated with insulin resistance in nondiabetics and reduced insulin production in type 2 diabetics.
- 265- Bhatt S, Misra A, Gulati S, et al. Lower vitamin D levels are associated with higher blood glucose levels in Asian Indian women with pre-diabetes: a population-based cross-sectional study in North India. *BMJ Open Diab Res Care* 2018; 6
- 266- Reis JP, von Mühlen D, Kritiz-Silverstein D, Wingard DL, Barrett-Connor E. Vitamin D, parathyroid hormone levels, and the prevalence of metabolic syndrome in community-dwelling older adults. *Diabetes Care*. 2007 Jun; 30(6):1549-55.
- 267- Naveh-Many T, Silver J. *Vitamin D and the parathyroid*. 2nd ed. London: Elsevier; 2004.
- 268- Gulseth HL, Gjelstad IM, Tierney AC, Lovegrove JA, Defoort C, Blaak EE, Lopez-Miranda J, Kiec-Wilk B, Risérus U, Roche HM, Drevon CA, Birkeland KI. Serum vitamin D concentration does not predict insulin action or secretion in European subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2010 Apr; 33(4):923-5.

- 269- Chacko SA, Song Y, Manson JE, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94:209–217.
- 270- Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 2011 Sep; 65(9): 1005–1015.
- 271- Jorde R, Sneve M, Torjesen P, Figenschau Y. No improvement in cardiovascular risk factors in overweight and obese subjects after supplementation with vitamin D3 for 1 year. *J Intern Med.* 2010 May; 267(5):462-72.
- 272- Hyppönen E, Boucher BJ. Adiposity, vitamin D requirements, and clinical implications for obesity-related metabolic abnormalities. *Nutr Rev.* 2018 Sep 1; 76(9):678-692.
- 273- Meng L, Man Q, Yuan L, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and elderly skeletal muscle mass and function in urban north China. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2017; 26 (5):849-855.
- 274- Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Turner N, Lau SL, Gunton JE. Effects of vitamin D in skeletal muscle: falls, strength, athletic performance and insulin sensitivity. *Clin Endocrinol* 2014; 80: 169-81.
- 275- Sørensen OH, Lund BI, Saltin B, et al. Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1-hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci* 1979;56:157–61
- 276- Glerup H. Vitamin D deficiency among immigrants. *Ugeskr Laeger.* 2000 Nov 13; 162 (46):6196-9.



- 277- Zhu K, Austin N, Devine A, Bruce D, Prince RL. A randomized controlled trial of the effects of vitamin D on muscle strength and mobility in older women with vitamin D insufficiency. *J Am Geriatr Soc.* 2010 Nov; 58(11):2063-8
- 278- Moreira-Pfrimer LD, Pedrosa MA, Teixeira L, Lazaretti-Castro M. Treatment of vitamin D deficiency increases lower limb muscle strength in institutionalized older people independently of regular physical activity : a randomized double-blind controlled trial. *Ann Nutr Metab.* 2009; 54: 291-300.