



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**PROFIL DE LA 25-HYDROXYVITAMINE D CHEZ
DES PATIENTS DIABETIQUES DANS LA REGION DE
GRAND CASABLANCA**

Présenté par : **HAMOUIDDI Sabrine**

Encadré par : **Pr. BAHAFID Wifak**

Dr. BOUAYAD Abdellatif

Soutenu le : **09 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

- **Pr. Wifak BAHAFID**
- **Pr. Khadija BAKHTI**
- **Dr. Abdellatif BOUAYAD**

Stage effectué à : **Institut Pasteur Casablanca**

Année universitaire 2015-2016

Remerciements

Je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce projet ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

En premier lieu, je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à **Mr. TAZI Abdelali**, coordonateur de la filière Génie Biologie : Analyses Biologiques et Biochimiques, qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la formation.

Je tiens à remercier sincèrement **Dr. Abdellatif BOUAYAD** médecin biologiste et responsable de l'unité de sérologie pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer et sans qui ce projet n'aurait jamais vu le jour.

Je voudrais également exprimer ma vive gratitude à **Mme. Wifak BAHAFID**, mon encadrante pédagogique pour ses conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi.

Je remercie infiniment **Mme. Khadija BAKHTI** pour avoir accepté de juger mon travail.

Je voudrais également remercier tous les personnels du laboratoire de sérologie de l'Institut Pasteur Casablanca, pour leur collaboration et pour les bonnes conditions d'accueil dont j'ai pu bénéficier.

J'adresse également mes remerciements, à tous mes enseignants.

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail. Et pour mes amis qui m'ont accompagné durant tout au long de formation, tous mes remerciements.

Dédicace

Je dédie cet humble travail

À mes parents

Qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

À mon adorable sœur Mouhja pour son soutien et encouragement

À mes proches amis

À toutes les personnes qui connaissent Sabrina de près ou de loin, Seulement pour leur existence.



Liste des abréviations

CYP2R1	Cytochrome P450 2R1
DT2	Diabète de type 2
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
PPARγ	peroxysome proliferator activateur receptor gamma
PTH	Parathormone
TMB	Tetramethylbenzidine
UI	Unité international
VDBP	Vitamine D bending protein
VDR	Récepteur de la vitamine D

Liste des figures et tableaux

Figure 1: Organigramme de l'Institut Pasteur Casablanca	2
Figure 2: Structure de la vitamine D3, D2 et calcitriol	5
Figure 3: Métabolisme de la vitamine D(Landrier, 2014).....	7
Figure 4 : physiopathologie du diabète de type 1	Erreur ! Signet non défini.
Figure 5: L'appareil Bio-rad Phd	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 1: Aliments contenant naturellement de la vitamine D [4].....	6
Tableau 2 : Prévalence du déficit en 25 (OH) D dans la population étudiée.....	18
Tableau 3 : Caractéristiques démographiques de la population étudiée.....	19
Tableau 4 : Répartition du taux sérique de la 25 (OH) d selon le sexe	19
Tableau 5 : Répartition du taux sérique de la 25 (OH) selon l'âge	20

SOMMAIRE

Resumé	2
Introduction	3
Revue bibliographique	4
I. Vitamine D : généralités	5
1. Origine de la vitamine D	5
1.1. Origine endogène.....	6
1.2. Origine exogène.....	6
2. Métabolisme de la vitamine D.....	7
2.1. Devenir de la vitamine D dans l'organisme	7
2.2. Stockage de la vitamine D.....	8
2.3. Mécanisme de régulation.....	8
3. Vitamine D et santé :	8
3.1. Rôle de la vitamine D :	8
3.1.1. Dans le métabolisme osseux :	8
3.1.2. Dans le métabolisme extra-osseux :	9
3.2. Concentrations moyennes en vitamine D	9
3.2.1. Hypervitaminose D.....	9
3.2.2. Hypovitaminose D.....	10
3.3. Facteurs augmentant le risque de déficit	10
II. Vitamine D et diabète	11
1. Données épidémiologiques.....	11
2. Diabète de type 2 : physiopathologie	11
3. Vitamine D et diabète de type 2	12
Matériels et méthodes	13
I. Etude rétrospective	14

II. Etude prospective	14
1. Echantillonnage	14
2. Dosage de la vitamine D : méthode ELISA	14
3. Dosage de la glycémie.....	16
4. Etude statistique	16
Résultats	17
I. Description de la population etudiee	18
ii. Description des patients diabetiques	18
1. Données démographiques.....	Erreur ! Signet non défini.
2. Répartition du taux sérique de la 25(OH) D selon le sexe	19
3. Répartition du taux sérique de la 25 (OH) D selon l'âge	20
Discussions	21
Conclusion	22
Références	

Présentation de la structure d'accueil

L'IPM est un établissement public, doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière, placé sous la tutelle administrative du ministre chargé de la santé publique et dont le siège est à Casablanca.

Il est actuellement dirigé par le Professeur Naima EL MDAGHRI depuis le 23 Mai 2013. Mr. Cherkaoui est secrétaire général. Les champs d'action de l'Institut Pasteur du Maroc se propagent ; finissent comme suit:

- Promouvoir et développer la recherche fondamentale et appliquée.
- Apporter sur des bases contractuelles une contribution d'expertise, d'analyses biologiques et conseil à tout individu, à toute entreprise, administration et autre institution régionale, nationale ou internationale;
- Fabriquer ou faire fabriquer, importer, exporter et distribuer tous les produits biologiques à usage thérapeutique et diagnostic.
- Contribuer à l'enseignement des disciplines biologiques liées à ces activités.

En conséquence, les champs d'activités développés au sein de cette institution concernent la recherche scientifique, les analyses biologiques, les prestations de Service en sécurité alimentaire et environnement, et la production de produits biologiques.

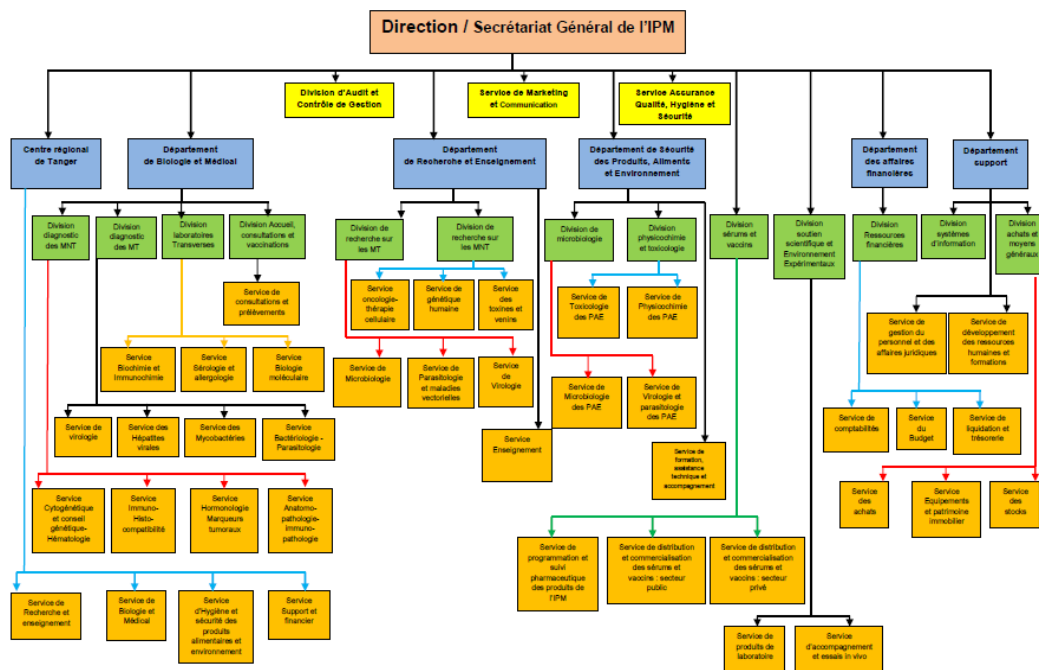


Figure 1: Organigramme de l'Institut Pasteur Casablanca.

RESUME

Le constat de l'insuffisance de données épidémiologiques et le rôle probable de la vitamine D dans la physiopathologie du diabète type 2 ont mené le service d'immuno-sérologie de l'IPM à étudier le statut de la 25 OH vitamine D chez les diabétiques type 2 au Maroc.

Il s'agit d'une étude transversale concernant 177 patients dont 24 sont atteints de diabète de type 2. Le dosage de la vitamine D a été effectué par la technique ELISA compétition. Les taux sériques de la glycémie à jeun ont été analysés chez tous les sujets.

Les résultats obtenus ont montré que 20,8 % des patients diabétiques présentent une carence en 25 (OH) vitamine D par rapport à 9,9% de patients non diabétiques. Parmi les patients diabétiques, 22,7 % des femmes présentent une carence en vitamine D contre 10,3% chez le sexe masculin. Cette carence augmente avec l'âge avec une fréquence de 42,9% chez les patients de +70 ans.

Les résultats de notre étude suggèrent une association entre le statut de la vitamine D et le diabète de type 2. Cette association varie en fonction de l'âge et de sexe.

Mots clés : Profil, vitamine d, diabète de type 2, Casablanca.

INTRODUCTION

La vitamine D est une vitamine liposoluble. Elle provient à 80–90% de la biosynthèse cutanée sous l'effet du rayonnement ultraviolet. L'apport en vitamine D peut être complété via l'absorption d'aliments riches en vitamine D.

De part ces fonctions biologiques, cette vitamine a fait l'objet de plusieurs études. En effet, elle permet de maintenir les niveaux de calcium et de phosphore dans le sang, en facilitant l'absorption de calcium. Les conclusions de recherches récentes laissent entendre que la vitamine D pourrait également offrir une protection contre plusieurs maladies auto-immunes, dont le diabète.

L'hypothèse du rôle d'une carence en vitamine D en tant que facteur de risque de diabète concerne aussi bien le diabète de type 1 que le diabète de type 2. Elle est née de constatations épidémiologiques et de données expérimentales.

C'est dans ce contexte que nous avons mené une étude au sein de service de sérologie de l'Institut Pasteur Casablanca qui a pour objectifs :

- La déficience et la carence en vitamine D à partir du dosage de la 25 OH D sérique.
- Estimer la prévalence de la déficience et de la carence en vitamine D chez la population étudiée.
- Démontrer le lien entre la vitamine D et le diabète de type 2, selon différents paramètres.

Revue bibliographique

I. Vitamine D : généralités

La vitamine D est une vitamine liposoluble, considérée comme une hormone stéroïde du groupe des sécostéroïdes par sa structure et ses fonctions.

Le terme «vitamine D» inclut la vitamine D2 (ergocalciférol) d'origine végétale et la vitamine D3 (cholecalciférol) d'origine animale. Ces deux formes sont converties en leur principal métabolite actif qui est la 1,25-dihydroxyvitamine D ou Calcitriol. La structure chimique de celles-ci est présentée dans la figure 1.

La concentration de la vitamine D est exprimée en Unités internationales (UI) ou en microgramme (μg) dans les médicaments, les compléments alimentaires, et en nanomoles par litre (nmol/L) ou nanogrammes par millilitre (ng/ml) dans le sang. Ainsi, 1UI correspond à 0,025 μg en calciférol [1].

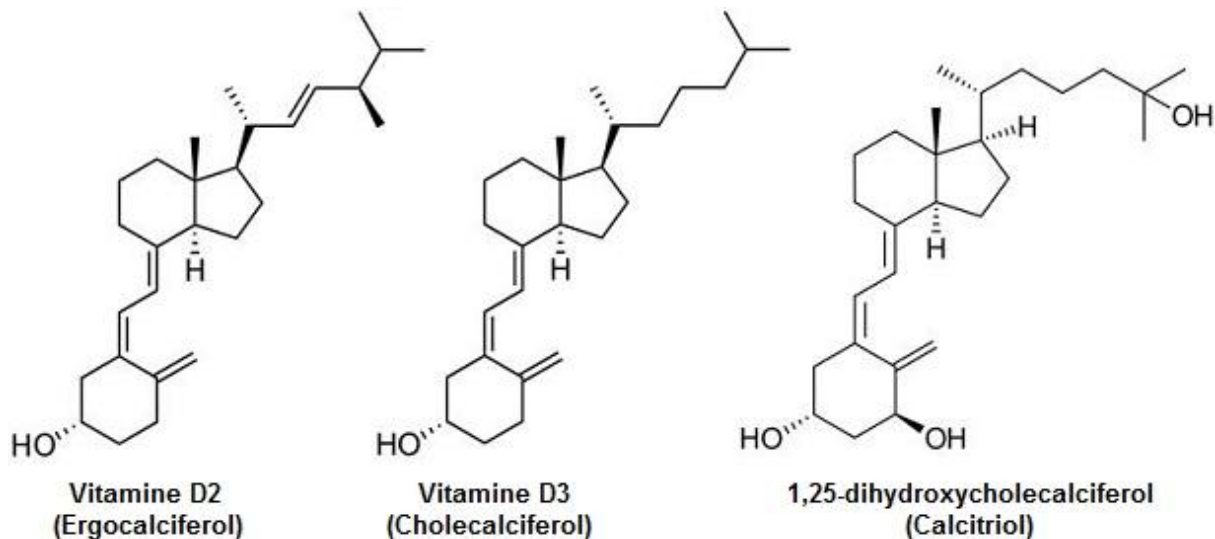


Figure 2: Structure de la vitamine D3, D2 et calcitriol

1. Origine de la vitamine D

Contrairement aux autres vitamines qui sont exclusivement apportées par l'alimentation, la vitamine D présente une double origine : exogène, qui correspond à l'apport alimentaire mais aussi endogène, résultant d'une néosynthèse intervenant au niveau de l'épiderme.

1.1. Origine endogène

La principale source de vitamine D est l'exposition aux ultraviolets B qui entraînent au niveau de l'épiderme la conversion du 7-déhydrocholestérol en pré-vitamine D3, rapidement convertie en vitamine D3 native [2].

1.2. Origine exogène

L'alimentation apporte de la vitamine D2 et D3. La vitamine D2 ou ergocalciférol d'origine végétale, provient de l'irradiation de l'ergostérol obtenu à partir de la levure. Tandis que la vitamine D3 ou cholécalciférol d'origine animale, provient de l'irradiation du 7 déhydrocholestérol obtenu à partir de la lanoline. D'une manière générale, peu d'aliments contiennent naturellement des quantités significatives de vitamine D. Parmi ces rares sources alimentaires animales on trouve les poissons gras (saumon, sardine, foie de veau, beurre ...) et les œufs. En moyenne, seulement 10 à 20 % de nos besoins quotidiens en vitamine D proviennent de l'alimentation [3].

Tableau 1: Aliments contenant naturellement de la vitamine D [4]

Aliment	Teneur en UI par 100g
Sardine (D3)	300
Saumon (D3)	650
Saumon en conserve (D3)	450
Sole (D3)	60
Thon (D3)	200
Huître (D3)	300
Beurre (D3)	50
Margarine (D3)	300
Crème fraîche (D3)	40
Foie de veau (D3)	130
Lait entier (D3)	1
Fromage (D3)	De 10 à 20
Oeuf (D2 et D3)	70
Jaune d'oeuf liquide (D2 et D3)	220

2. Métabolisme de la vitamine D

2.1. Devenir de la vitamine D dans l'organisme

Quelle soit synthétisée dans la peau (vitamine D₃) ou absorbée dans l'intestin grêle grâce aux chylomicrons (vitamines D₂ et D₃), la vitamine D est transportée dans le sang par une protéine porteuse, la *Vitamin D Binding Protein* (VDBP), jusqu'au foie. A ce niveau, elle est hydroxylée sur le carbone 25, par la 25- hydroxylase (CYP2R1) localisée dans les microsomes des cellules hépatiques, pour former la 25OHD (25-hydroxycholécalférol ou calcidiol). Cette hydroxylation n'est pas régulée, c'est-à-dire que plus la quantité de vitamine D synthétisée ou ingérée est importante, plus la quantité de 25OHD formée est grande [5, 7,8].

La 25OHD ainsi formée est biologiquement inactive. Elle constitue la forme de réserve et la forme circulante majeure de la vitamine D. Elle a une demi-vie d'environ 2-4 semaines dans le sang, grâce à sa grande affinité pour sa protéine porteuse [6].

Pour qu'elle soit active, la protéine 25-OH D subit une deuxième hydroxylation au niveau du rein par l'intermédiaire d'une enzyme qui est la 1 α -hydroxylase. En effet, la protéine D₂ et D₃ est à nouveau transportée via le système vasculaire jusqu'aux cellules du tubule proximal rénal. Celle-ci est absorbée par ces dernières où elle est à nouveau hydroxylée, pour donner 1-25(OH)₂ D (1,25-dihydroxyvitamine D) ou calcitriol, considérée comme la principale forme active (figure 2).

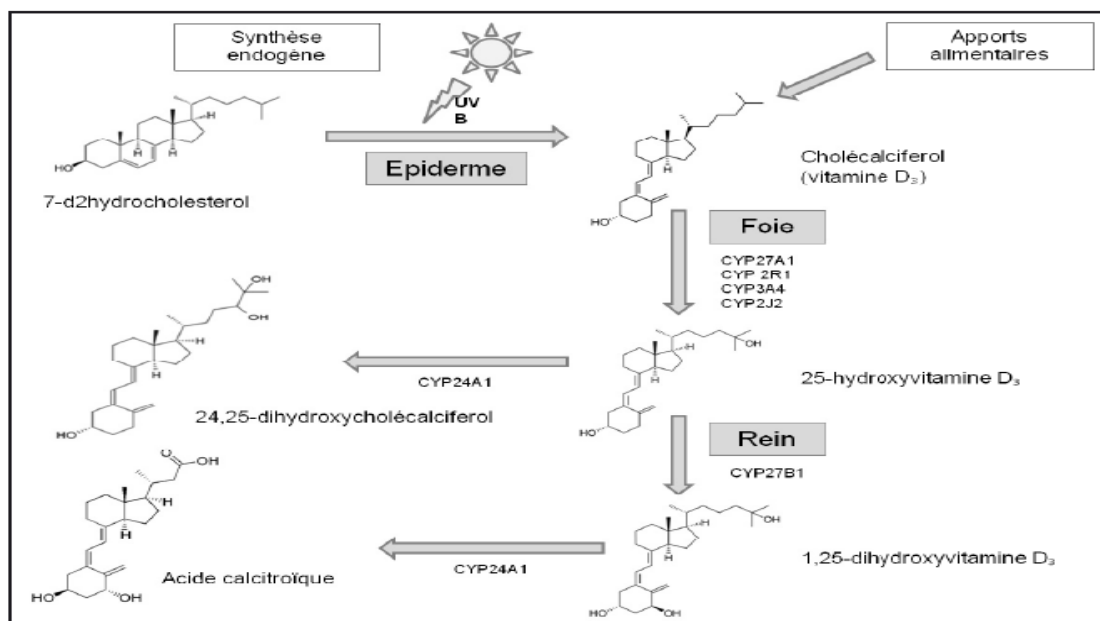


Figure 3: Métabolisme de la vitamine D(Landrier, 2014)

2.2. Stockage de la vitamine D

Contrairement aux autres vitamines liposolubles, la vitamine D n'est pas stockée dans le foie mais majoritairement dans le tissu adipeux et dans les muscles sous forme de 25 OHD. Elle est donc mobilisable en cas de diminution des apports qu'ils soient alimentaires ou issus de la synthèse cutanée en période hivernale.

Toutefois, la distribution de la vitamine D dans l'organisme varie selon la molécule. Le cholécalciférol (D3) qui représente 65% de l'ensemble de la vitamine D de l'organisme est principalement stocké dans le tissu graisseux (à 75%). Tandis que la 25 OHD qui représente 35% de la vitamine D de l'organisme, a une distribution ubiquitaire (20% dans les muscles, 30% dans le sérum, 35% dans le tissu graisseux, et 15% dans les autres tissus) [9].

2.3. Mécanisme de régulation

L'hydroxylation hépatique est très peu régulée. Tandis que L'hydroxylation rénale est contrôlée par plusieurs facteurs. Parmi ces facteurs, certains la stimulent [10], comme :

- L'augmentation de la concentration sanguine d'hormone parathyroïdienne qui stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase et donc la conversion de la 25 OHD en 1,25 (OH)₂ D.
- **La calcitonine** stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase et celle de la PTH.
- **L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie** : faibles apports alimentaires en calcium et phosphore stimulent l'expression de la 1 α -hydroxylase.

D'autres facteurs comme l'hypercalcémie et l'hyperphosphatémie ralentissent la transformation rénale ou entraînent la production de 24-25 (OH)₂ D (forme inactive) [11].

3. Vitamine D et santé

3.1. Rôle de la vitamine D

3.1.1. Dans le métabolisme osseux

Au niveau intestinal : la 1,25-OH vitamine D3 augmente l'absorption de calcium de 20% et l'absorption du phosphore de 60%. En l'absence de vitamine D, seuls 10 à 15% du calcium ingéré et environ 60% du phosphore sont absorbés [12].

Au niveau rénal : la vitamine D entraîne une réabsorption tubulaire distale de calcium et tubulaire proximale du phosphore [12].

Au niveau de l'os : la 1,25-OH vitamine D n'a pas d'effet direct sur la minéralisation, mais elle agit par le maintien de la phosphatémie, et de la calcémie avec d'autre facteur qui sont : la parathormone (hypercalcémiant) et la calcitonine (hypocalcémiant) [12].

3.1.2. Dans le métabolisme extra-osseux

De nombreux tissus expriment à la fois des récepteurs à vitamine D (VDR) et la 1- α -Hydroxylase : la 25(OH) D peut ainsi être localement convertie en 1,25(OH)₂ D (calcitriol) qui contrôle l'expression de plusieurs centaines de gènes. Cette action serait à la base des actions non phosphocalciques attribuées à la vitamine D tel que différenciation, la prolifération cellulaire, l'apoptose et l'angiogénèse... Ainsi, la vitamine D est supposée avoir un effet bénéfique dans la prévention des cancers (côlon, prostate, sein et autres), sur les maladies comme la sclérose en plaques, l'insulino-résistance, l'ostéoarthritis, l'hypertension artérielle, les maladies parodontales et les allergies. Son action sur le système immunitaire se traduit entre autres par sa fonction bactéricide contre *Mycobacterium tuberculosis*. Cependant, le rôle exact du calcitriol sur les différents tissus et ses conséquences physiologiques restent encore à préciser [12].

3.2. Concentrations moyennes en vitamine D

L'évaluation du statut en vitamine D se fait au moyen du dosage de la 25-hydroxy vitamine D [25(OH) D] qui est considérée comme un bon témoin des réserves en vitamine D. La concentration moyenne est actuellement fixée à 30 ng/ml au minimum, jusqu'à 70 ng/ml au maximum. [13].

Les besoins fixés habituellement à 400 UI par jour sont insuffisants si l'on en juge par les concentrations plasmatiques observées. Ces dernières sont vraisemblablement plus proches de 800 ou 1 000 UI/j. Des doses plus importantes sont ainsi nécessaires pour corriger un déficit [2].

3.2.1. Hypervitaminose D

L'hypervitaminose D est un excès de la vitamine D dans l'organisme (>100 ng/ml). Cet excès résulte toujours de l'administration de doses excessives médicamenteuses. Il n'existe par contre pas de surdosage dû à une alimentation trop riche en vitamine D (les teneurs des aliments n'étant jamais élevées) ou à une exposition solaire excessive (la synthèse endogène est régulée en fonction des besoins).

Les signes généraux d'hypervitaminose sont : Hypercalcémie et hypercalciurie, hypophosphatémie et hyperphosphaturie. Cette hypercalcémie pouvant inhiber la croissance pendant plusieurs mois, comme elle peut engendrer un arrêt cardiaque, convulsions, fatigue intense, nausées ou même une polyurie [14].

3.2.2. Hypovitaminose D

L'hypovitaminose D est généralement le résultat d'une insuffisante ou d'un déficit en vitamine D dans l'organisme. Les situations de carence ou d'insuffisance sont souvent en rapport avec une exposition insuffisante au soleil [15].

Une insuffisance en (25(OH) D se situant entre 10 et 30 ng/ml expose à un risque de dégénérescence osseuse par suite d'un remodelage osseux accru. En effet, un apport en vitamine D inférieur à la concentration optimale prédispose à l'ostéoporose (fragilité osseuse). Celle-ci est due à la diminution de l'absorption intestinale du calcium et donc la fixation du calcium dans les os. En 2006, une étude épidémiologique a montré qu'environ 72% des patients consultant pour un avis sur l'ostéoporose présentaient un déficit en 25(OH) D [15].

Une carence aiguë en vitamine D (25(OH) D (<10 ng/ml) chez le nourrisson et l'enfant en bas âge peut également être à l'origine du rachitisme. Le rachitisme se manifeste sous forme de malformations du squelette. A l'âge adulte, une carence aiguë en vitamine D se traduit par une ostéomalacie (ramollissement des os) provoquant, comme chez le nourrisson et l'enfant en bas âge, une déficience d'assimilation du calcium et du phosphate dans les os et, simultanément, une baisse accrue de calcium.

Les adultes souffrant d'un manque de vitamine D peuvent présenter les symptômes suivants : douleurs osseuses ou musculaires diffuses, faiblesse musculaire et fatigue générale.

3.3. Facteurs augmentant le risque de déficit

Plusieurs facteurs peuvent jouer sur le taux de 25(OH) D dans l'organisme. La prévalence des déficits en vitamine D est influencée en premier lieu par la durée moyenne d'ensoleillement. En effet, des études ont montré que la synthèse de la vitamine D varie selon les saisons. Ainsi, le risque d'insuffisance étant plus important en hiver et au début du printemps du fait que les radiations sont moins intenses et de plus courte durée pendant cette période. En 2008, une étude française a montré que plus de 50 à presque 100% des patients avaient une concentration inférieure à 30 ng/ml selon les périodes de l'année [5].

Des études ont également montré une relation entre l'âge et le déficit en vitamine D [17]. Ils ont révélé que les taux de vitamine D sont particulièrement bas chez les personnes âgées. Ceci a été expliqué par le manque d'exposition au soleil et la diminution dans les capacités fonctionnelles de la peau à synthétiser la vitamine D. En effet, il a été montré que la peau des personnes âgées contenait moins de 7- déhydrocholestérol, ce qui est la base de la synthèse endogène de vitamine D [18]. En 2007, Holick estimait que 1 milliard de personnes dans le monde ont une insuffisance en 25(OH)D et que 40 à 100% des personnes âgées non en Europe étaient déficitaires en 25(OH)D [2].

De même, il s'est avéré que la pigmentation de la peau et les habitudes culturelles des populations influencent le taux sanguin de la vitamine D. De nombreuses études mettent en évidence un déficit en vitamine D significativement plus élevé dans les populations à couleur de peau foncée [19].

D'autres facteurs comme le sexe, le niveau d'activité physique, la sédentarité, le lieu de naissance et même l'insuffisance rénale chronique sont également reconnus comme exposants à un risque d'hypovitaminose D.

II. Vitamine D et diabète

1. Données épidémiologiques

En 2011, une étude a montré que la vitamine D pourrait contribuer à rétablir l'équilibre glycémique. 90 sujets diabétiques ont été suivis pendant 12 semaines et répartis en 3 groupes.

Dans deux groupes supplémentés en vitamine D, les valeurs glycémiques à jeun ont baissé en moyenne de 13% au bout de 3 mois, l'hémoglobine glyquée de 0,4%, le tour de taille d'environ 4%, tandis que le taux de 25(OH) D augmentait de 32 %. Les auteurs ont ainsi pu observer que la prise quotidienne de 25µg (=1000 UI) de vitamine D avec ou sans calcium, améliorait l'équilibre glycémique des patients diabétiques de type 2 [20].

2. Diabète de type 2 : physiopathologie

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique dont les éléments physiopathologiques comprennent une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles) à l'action de l'insuline, une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des incrétines, hormones intestinales stimulant la sécrétion postprandiale de l'insuline [21].

3. Vitamine D et diabète de type 2

Les cellules β -pancréatiques possèdent une activité 1α -hydroxylase, qui permet l'hydroxylation de la 25(OH) D en $1,25(\text{OH})_2$ vitamine D₃ ou calcitriol. Cette forme active de la vitamine D pourra agir sur les cellules pancréatiques puisque son récepteur y est également présent. Elle interviendrait dans la croissance des cellules β , dans la synthèse d'insuline par activation de la transcription de son gène, la preuve étant que des Eléments de Réponse à la Vitamine D ont été identifiés dans le promoteur du gène humain de l'insuline [22].

De façon indirecte, la vitamine D a une action sur la sécrétion d'insuline via la voie de régulation du taux de calcium extracellulaire et des flux calciques transmembranaires au niveau des cellules β . En effet, les cellules β possèdent des canaux calciques voltage-dépendant permettant l'entrée de calcium dans les cellules. Ce calcium sera utile aux endopeptidases calcium-dépendantes qui assurent la conversion de la pro-insuline en insuline. Ainsi, la moindre modification du flux transmembranaire de calcium aura des répercussions sur l'insulinosécrétion [22].

La vitamine D exerce également une action sur les cellules périphériques cibles de l'insuline. En effet, elle favorise l'expression du récepteur à l'insuline. Elle complète l'action de l'insuline en stimulant le transport intracellulaire du glucose par une externalisation plus importante des transporteurs du glucose insulino-dépendants [23].

Par ailleurs, la vitamine D active le Peroxysome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ). Ce facteur de transcription est impliqué dans la régulation du métabolisme des acides gras contenus dans les graisses des muscles et du tissu adipeux, améliorant ainsi la sensibilité de ces tissus à l'insuline. Comme au niveau des cellules β , la vitamine D intervient dans l'homéostasie calcique avec une influence sur les processus intracellulaires de réponse à l'insuline dans le muscle squelettique et le tissu adipeux. Elle pourrait donc être à l'origine de potentielles altérations de l'action de l'insuline en cas de modifications des concentrations intracellulaires de calcium [24].

Matériel et méthodes

I. Etude rétrospective

L'étude rétrospective a intéressé 153 patients Marocains ayant consulté dans l'institut Pasteur Casablanca pendant la période du 01 Janvier 2014 jusqu'au 31 Mars 2016. Nous avons évalué le statut de la Vitamine D chez ces patients, le taux de la glycémie, ainsi que la relation entre le taux sérique de la 25-hydroxy-vitamine D [25(OH) D], l'âge et le sexe. Les résultats de ces analyses ont été récupérés à partir du système XALISE.

II. Etude prospective

Cette étude a concerné 24 patients ayant consulté l'institut Pasteur Casablanca pendant la période du 04 Avril jusqu'au 31 Mai 2016, pour le dosage du taux sérique de la vitamine D en plus du test de la glycémie.

1. Echantillonnage

Les échantillons sont reçus de la salle d'accueil, ils ont été prélevés par ponction veineuse au pli du coude dans un tube sec (bouchon rouge) codé (attribution d'un code barre et un numéro d'entrée, nom et prénom). Chaque prélèvement doit être accompagné d'un bon d'examen identifié (nom, prénom, code barre, numéro d'entrée, test demandé).

L'échantillon est par la suite enregistré à l'unité de sérologie dans le registre de paillasse puis centrifugé à 10000 tour/ 10 min afin de récupérer le sérum.

2. Dosage de la vitamine D : méthode ELISA

Le dosage de la 25-OH vitamine D est désignée pour la détermination de la concentration sérique de la vitamine D dans l'organisme humain.

La méthode utilisée au laboratoire de sérologie de l'institut Pasteur Casablanca est la méthode d'ELISA. Le test ELISA est désigné pour la détermination in vitro de la 25-Hydroxy-Vitamine D dans le sérum du patient. C'est une méthode immunologique compétitive qui consiste en un système de dosage dans lequel la 25(OH) D et un traceur marqué entrent en compétition pour la reconnaissance d'un anticorps anti 25(OH) vitamine D. Ce test fait appel à un kit commercialisé sous le nom «EUROIMMUN 25-OH vitamine D ELISA».

Les réactifs du kit sont préparés selon les recommandations du fabricant et doivent être à température ambiante (faire sortir le kit du réfrigérateur au moins 30 minutes avant le test).

Le test est réalisé selon les étapes suivantes :

En premier lieu, 200 µL de chaque étalon, contrôle ou échantillon sont dilués par la 25-OH Vitamine D marquée par la biotine. Ceux-ci sont par la suite ajoutés dans les puits appropriés de la plaque sensibilisée par les anticorps anti-Vitamine D monoclonal spécifiques. Une première incubation entre 18 et 25°C pendant 3 heures est réalisée.

Durant cette première incubation, une quantité inconnue de 25- OH vitamine D présente dans le sérum du patient et une quantité connue de 25-OH vitamine D marquée par la biotine rentrent en compétition pour former des complexes immuns avec les anticorps fixés sur la plaque de microtitration.

Après, la plaque est lavée trois fois avec une solution de lavage déjà préparée. Cette étape s'effectue à l'aide d'un laveur programmé pour qu'il distribue un minimum de 300 µl de solution de lavage par puit. Ainsi, trois cycles de remplissage et aspiration sont réalisés. Ce premier lavage a pour but d'éliminer les 25-OH vitamine D non fixés.

Par la suite, 200 µl d'un conjugué enzymatique (streptavidine peroxydase) est ajouté dans chaque puits suivie par une 2^{ème} incubation entre 18 et 25 °C pendant 30 minutes, puis un lavage. Le but de cette étape est de détecter les 25-OH vitamine D marqués par la biotine et qui se sont fixés.

Une troisième incubation (entre 18 et 25 °C pendant 30 minutes) est réalisée après avoir ajouté 200 µl de substrat (TMB). Celui-ci a pour but de révéler une coloration.

En dernière étape, la réaction est arrêtée par l'ajout de 100 µl de l'acide sulfurique (0,5M) dans chaque puits. La densité de la coloration obtenue est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, à 450 nm (référence de 650 nm), dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction. Cette densité est inversement proportionnelle à la concentration de la 25-OH vitamine D.

Une courbe de calibration est tracée et les concentrations en 25-OH vitamine D Total (D2 et D3) des échantillons sont déterminées par interpolation de la concentration sur la courbe de calibration.

Le dosage de la vitamine D par la méthode ELISA est réalisé par un distributeur BIO-RAD Phd.

Valeurs recommandées:

- Taux normal en vitamine D : > 30 ng/ml soit de 75 nmol/l
- Insuffisance en vitamine D : de 10 à 30 ng/ml soit de 25 à 75 nmol/l
- Carence en vitamine D : < 10 ng/ml soit < 25 nmol/l

3. Dosage de la glycémie à jeun

Le dosage de la glycémie à jeun est utilisé pour diagnostiquer le diabète sucré et les troubles du métabolisme vis-à-vis de l'hydrate de carbone. En effet, l'oxydation du glucose dans un échantillon est catalysée par l'enzyme glucose oxydase pour former le peroxyde d'hydrogène et le gluconate. Cette réaction est suivie d'un couplage oxydatif catalysé par la peroxydase. Ceci est réalisé en présence de précurseurs de colorant pour former un colorant. L'intensité du colorant est mesurée par la lumière réfléchi.

Le dosage de la glycémie est réalisé au niveau du laboratoire de biochimie dans la même institution par un appareil VITROS 250.

4. Traitement des résultats

L'étude de la prévalence du déficit en 25 (OH) vitamine D a englobé deux paramètres : l'âge et le sexe. Les résultats obtenus ont été traité par Microsoft Office Excel.

Résultats

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION ETUDIEE

L'étude transversale comprend l'étude rétrospective qui a concerné 153 patients ainsi que l'étude prospective qui a concerné 24 patients.

Cette étude a été réalisée sur les sérums de 177 patients ayant consulté l'institut Pasteur du 01 Janvier 2014 jusqu'au 25 Mai 2016 : 153 (86,4%) sont non diabétiques et 24 (13,6%) sont atteints du diabète.

Les résultats de la répartition du taux sérique de la 25 (OH) vitamine D est représenté dans le tableau 2.

Tableau 2 : Répartition du taux sérique de la 25 (OH) D dans la population étudiée

Patients	Non diabétiques (%)	Diabétiques (%)
Taux en 25 (OH) D		
>30 ng/ml (Normal)	28,8	41,7
<30 ng/ml ; 10 ng/ml< (Insuffisance)	61,3	37,5
<10 ng/ml (Carence)	9,9	20,8

Dans le cas des patients diabétiques, le taux sérique moyen de 25 (OH) D dans les 24 sérums était de 27 ng/ml : 10 patients (41,7 %) avaient un taux normal supérieur à 30 ng/ml, 9 patients (37,5 %) ont présenté un taux qui varie entre 10 et 30 ng/ml et qui se traduit par une insuffisance en vitamine D. Tandis que 5 patients (20,8%) avaient une carence avec un taux en 25 (OH) D égal ou inférieur à 10 ng/ml.

II. DESCRIPTION DES PATIENTS DIABETIQUES

Cette étude a été réalisé sur les sérums de 24 patients diabétiques, 18 des patients (75%) sont de sexe féminin et 6 des patients (25%) sont des hommes.

Le taux sérique moyen de 25 (OH) D dans les 24 sérums était de 27 ng/ml : 10 (41,6%) avaient un taux supérieur à 30 ng/ml, 9 (37,6%) présentaient un taux (entre 10 et 30 ng/ml), et 5 (20,8%) présentaient un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

1. Profil des patients

Les données démographiques de la population étudiée sont reprises dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques démographiques de la population étudiée

	Femmes	Hommes
Effectif	18	6
Pourcentage (%)	75	25
Moyenne d'âge	59	74

2. Répartition du taux sérique de la 25(OH) D selon le sexe

Les résultats de la répartition du taux sériques de la 25 (OH) D selon le sexe sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Répartition du taux sérique de la 25 (OH) d selon le sexe

Sexe	Femmes (%)	Hommes (%)
Taux en 25 (OH) D		
>30 ng/ml (Normal)	38,9	50
<30 ng/ml ; 10 ng/ml< (Insuffisance)	38,9	33,3
<10 ng/ml (Carence)	22,3	10,7

Le taux sérique moyen de la 25 (OH) D chez les femmes est de 30 ng/ml : 7 (38,9%) avaient un taux supérieur à 30ng/ml, 7 (38,9%) présentaient un taux entre 10 et 30 ng/ml, et 4 (22,3%) présentaient un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

Le taux sérique moyen de la 25 (OH) D chez les hommes est de 24 ng/ml : 3 (50 %) avaient un taux supérieur à 30ng/ml, 2 (33,3 %) présentaient un taux entre 10 et 30 ng/ml, et 1 (10,7 %) présentaient un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

3. Répartition du taux sérique de la 25 (OH) D selon l'âge

Les résultats de la répartition du taux sérique de la 25 (OH) D selon les tranches d'âge sont représentées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Répartition du taux sérique de la 25 (OH) selon l'âge

Tranche d'âge Taux en 25 (OH) D	40-55 ans (%)	56-70 ans (%)	+70 ans (%)
>30 ng/ml (normal)	28,6	40	42,9
<30 ng/ml ; 10 ng/ml< (Insuffisance)	57,1	40	14,2
<10 ng/ml (Carence)	14,3	20	42,9

Le taux sérique moyen de la 25 (OH) D chez les patients âgés de 40-55 ans est de 33 ng/ml : 2 (28,6%) avaient un taux supérieur à 30ng/ml, 4 (57,1%) présentaient un taux entre 10 et 30 ng/ml, et 1 (14,3%) présentait un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

Le taux sérique moyen de la 25 (OH) D chez les patients âgés de 56-70 ans est de 47,1 ng/ml : 4 (40 %) avaient un taux supérieur à 30ng/ml, 4 (40%) présentaient un taux entre 10 et 30 ng/ml, et 2 (20 %) présentaient un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

Le taux sérique moyen de la 25 (OH) D chez les patients âgés de +70 ans est de 19,9 ng/ml : 4 (42,9%) avaient un taux supérieur à 30ng/ml, 1 (14,2%) présentaient un taux entre 10 et 30 ng/ml, et 2 (42,9%) présentaient un taux égal ou inférieur à 10 ng/ml.

Discussions

La relation entre le diabète de type 2 et le statut de la vitamine D soulève plusieurs controverses, nous avons donc mené une étude transversale afin d'évaluer cette relation.

D'après les résultats obtenus, nous avons trouvé que la prévalence de la carence en 25 (OH) vitamine D chez les sujets diabétiques (20,8%) est supérieure par rapport aux sujets non diabétiques (9,9%). Ces résultats concordent à ceux trouvés par Gagnon et al. [25] qui ont constaté que la concentration sérique moyenne de vitamine D chez les patients diabétiques était inférieure à celle des sujets non diabétiques. Des résultats similaires ont également été rapportés par Taheri [26]. Celui-ci avait trouvé que la concentration moyenne de vitamine D chez les patients diabétiques de sérum était de $20,6 \pm 11,4$. Alors que chez les personnes non diabétiques cette concentration était de $22,22 \pm 16,03$ [26]. Il semble que la carence en vitamine D peut être considérée comme un facteur de risque de développement du diabète de type 2. Deux études prospectives cas-témoins effectuées en 2008 et portées sur la population finlandaise ont confirmé ces résultats. Ils ont montré qu'une concentration sérique élevée en vitamine D a assuré une protection contre le diabète de type 2. Toutefois, ce résultat obtenu, n'a véritablement été significatif que chez les hommes [27]. D'après une autre étude cohorte observationnelle sur 83 779 femmes suivies pendant 20 ans, le risque de diabète de type 2 a diminué de 33% en augmentant les apports en vitamine D [28].

En effet, La synthèse de la vitamine D varie selon les saisons. Pendant les mois d'hiver, les radiations sont moins intenses et de plus courte durée. La synthèse de vitamine D est donc plus difficile pendant les mois d'hiver dans beaucoup de pays de l'hémisphère nord. Ceci peut expliquer les résultats trouvés dans cette étude réalisée en période d'hiver.

Le déficit en 25 (OH) vitamine D peut être également expliqué non seulement par les facteurs environnementaux mais aussi par l'existence des facteurs génétiques. Uitterlinden et al. [29] ont pu montrer que l'existence d'un polymorphisme génétique du VDR constitue également un facteur important de susceptibilité individuelle aux effets biologiques de la vitamine D.

Au cours de cette étude, nous avons aussi trouvé que la carence en vitamine D est plus fréquente chez les femmes (22,3%) que chez les hommes (10,7%). Des résultats contradictoires ont été trouvés dans l'Etude Nationale Nutrition Santé réalisée en 2006-2007. Celle-ci a trouvé que le sexe entre peu en compte dans le déficit en vitamine D. Ce déficit concerne un grand nombre de sujets quasi-égales entre hommes et femmes (78,7% des hommes et 81,4% des femmes) [30]. Cette différence est probablement due au fait que les hommes sont sous représentés dans notre série (75% des femmes Vs 25% des hommes).

L'impact défavorable de l'âge sur le statut vitaminique D a été également trouvé et l'avancement dans l'âge et le sexe féminin étaient les déterminants majeurs de la déficience en vitamine D chez les patients diabétiques dans cette étude. Selon Allali et al. [31], un âge supérieur à 55 ans était un facteur déterminant de d'hypovitaminose D (population âgée entre 24 et 77 ans).

Des résultats similaires ont été également reportés par la cohorte NHANES III [32] (étude qui a porté sur 13 331 hommes et femmes américains). Ils ont montré que plus le sujet avance dans l'âge plus la carence en vitamine D augmente. Ainsi, l'âge corrélait significativement avec la 25OHD3.

Toutefois, ces résultats peuvent varier en fonction de plusieurs autres facteurs tels que : les effectifs des échantillons, les groupes ethniques des échantillons étudiés, les pays et les saisons où a eu lieu l'étude, les réactifs et les techniques de dosage utilisés. Aussi que la nature et la qualité des échantillons (sérum ou plasma, température, la durée de conservation des échantillons).

CONCLUSION

La plupart des études consacrées au statut vitaminique D et sa relation avec le diabète de type 2 ont rapporté une prévalence accrue de l'insuffisance et de la carence en vitamine D chez les patients diabétiques.

L'objectif de cette étude, a consisté d'évaluer le statut vitaminique D chez 177 patients (diabétiques et non diabétiques) ayant consulté l'Institut Pasteur de Casablanca. La 25-hydroxyvitamine D a été dosée par la technique ELISA compétitif au niveau du service d'immuno-sérologie d'IPM.

Les patients diabétiques ont présenté 14.1% de la population étudiée dont 20.8% ont une carence en 25 (OH) D.

L'analyse globale des résultats selon le sexe et selon l'âge a été également étudiée. Les résultats ont montré que la carence en vitamine D est plus fréquente chez les femmes (22,3%) que chez les hommes (10,7%). Cette carence augmente avec l'âge avec une fréquence de 42,9% chez les patients de plus de 70 ans.

Dans notre travail, bien que le Maroc soit un pays subtropical et bien ensoleillé, un niveau faible en vitamine D serait être fréquent chez les patients diabétiques marocains. Des études sont nécessaires pour confirmer nos résultats et mieux comprendre le rôle de la vitamine D dans la pathogénie du diabète de type 2.

1. **Thierry Souccar**, La Vitamine D, Décembre **2011**, URL : <http://anamacap.fr/telechargement/alimentation/vitamed2.pdf>
2. **Holick MF**. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* **2007**;357:266–81.
3. **Bouvard B, Annweiler C, Sallé A et al**. Extra skeletal effects of vitamin D: Facts, uncertainties, and controversies. *Joint Bone Spine* **2011**; 78: 10-16.
4. **V.I. Mistretta, P. Delanaye , J.-P. Chapelle , J.-C. Souberbielle, É. Cavalier**, Vitamine D2 ou vitamine D3? *La revue de médecine interne* 2008; 29: 815-820.
5. **Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, Cavalier E, Cormier C.**, Actualité sur les effets de la vitamine D et l'évaluation du statut vitaminique D. *Revue Francophone des laboratoires* **2008** ; 414 : 31-39.
6. **Esterle L**. La vitamine D: nouvelles données. *Cholé-doc* **2010** ; 117 : disponible sur le net : www.cerin.org
7. **Adams JS, Hewison M**. Update in Vitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2010** ; 95: 471-478.
8. **Mallet E**. La vitamine D dont on pensait avoir tout dit: sa carence existe encore et elle n'a pas que des effets osseux. *Archives de Pédiatrie* **2010**;17:810-811.
9. **Heaney RP, Horst RL, Cullen DM, Armas LA**. Vitamin D3 distribution and status in the body. *J Am Coll Nutr* **2009** ; 28 :252-6.
10. **Hoenderop J, Nilius B, Bindels R**. Calcium absorption across epithelia *Physiol Rev* **2005** ; 85 : 373-422.
11. **Karine Briot, Maurice Audran, Bernard Cortet , Patrice Fardellone , Christian Marcelli , Philippe Orcel , Bruno Vellas , Thierry Thomas , Christian Roux**. Vitamine D : effets osseux et extra- osseux ; recommandations de bon usage. *Presse Med* **2009**; 38 : 43-54.
12. **Haut autorité de santé**. RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE, Utilité Clinique du dosage de la vitamine D. October **2013**.
13. **Bess Dawson-Hughes, Robert P. Heaney, Michael F. Holick, Paul Lips , Pierre J. Meunier and Reinhold Vieth**. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* **2005**;16:713-6.

14. <http://www.guide-vitamines.org/vitamines/vitamine-d/exces-vitamine-d.html>
15. **Lips P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Wehren L, Maalouf G, Ragi-Eis S, Chandler J.** The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis : an international epidemiological investigation. *J Intern Med* **2006** ; 260 : 245-54.
16. **Kristen L. Jablonski, Michel Chonchol, Gary L. Pierce, Ashley E. Walker et Douglas R. Seals.** 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in a middle –aged and older adults. *Hypertension*. **2011** ; 57 :63-69
17. **MacLaughlin J and Holick MF.** “Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3”. *J Clin Invest* **1985**;76(4):1536-38.
18. **Rahmaniyan M, Bell NH.** Effects of Race, Geography, Body Habitus, Diet, and Exercise on Vitamin D Metabolism. In *Vitamin D* **2005**; 2ND EDITION: 789-801.
19. **Nikooyeh B¹, Neyestani TR, Farvid M, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Kalayi A, Shariatzadeh N, Gharavi A, Heravifard S, Tayebinejad N, Salekzamani S, Zahedirad M.** Daily consumption of vitamin D-or vitamin D+ calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes : a randomized clinical trial. *Am j Clin Nutr* **2011**; (Février).
20. **American Association of Clinical Endocrinologists Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force.** American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. *Endocr Pract.* **2007**;13 (suppl 1):1-68
21. **Palomer X, González-Clemente JM, Blanco-Vaca F, Mauricio D.** Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity & Metabolism*. **2008**, 10 : 185-197.
22. **Maestro B, Campión J, Dávila N, Calle C.** Stimulation by 1,25 dihydroxyvitamin D3 of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. *Endocrine journal*. **2000**, 47 : 383-391

- 23. Dunlop TW¹, Väisänen S, Frank C, Molnár F, Sinkkonen L, Carlberg C.** The human peroxisome proliferator-activated receptor delta gene is a primary target of 1alpha,25 dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor. *Journal of molecular biology.* **2005**, 349 : 248-260.
- 24. 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. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* **2007**, 92 : 2017-2029.
- 25. Daly RM, Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Sikaris KA, Zimmet PZ, Ebeling PR, Shaw JE.** Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium intake, and risk of type 2 diabetes after 5 years: results from a national, population-based prospective study (the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle study) *Diabetes Care.* **2011**;34:1133–8.
- 26. Taheri E, Saedisomeolia A, Jalali 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. *Diabetes metab Disord.* **2012**;11:16.
- 27. Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, Härkänen T, Marniemi J, Heliövaara M, Rissanen H, Montonen J, Reunanen A.** Serum Vitamin D and Subsequent Occurrence of Type 2 Diabetes. *Epidemiology.* **2008**, 19 : 666- 671.
- 28. Anastassios G. Pittas, Qi Sun, Joann E. Manson, Bess Dawson-Hughes, Frank B. Hu.** Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes care.* **2006**, 29 : 650- 656.
- 29. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, Grinberg D, Langdahl BL, Lips P, Lorenc R, Obermayer-Pietsch B, Reeve J, Reid DM, Amedei A, Bassiti A, Bustamante M, Husted LB, Diez-Perez A, Dobnig H, Dunning AM, Enjuanes A, Fahrleitner-Pammer A, Fang Y, Karczmarewicz E, Kruk M, van Leeuwen, Mavilia C, van Meurs C JB, Mangion J, McGuigan FE, Pols HA, Renner W, Rivadeneira F, van Schoor NM, Scollen S, Sherlock RE, Loannidis JP.** L'association entre le récepteur de la vitamine D et l'ostéoporose : meta-analyse. **2006**, 15 ; 145(4) :255-64.
- 30.** Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Etude nationale nutrition santé (ENNS, 2006-2007) URL : [http://www.invs.sante.fr/pmb/invs/\(id\)/PMB_10632](http://www.invs.sante.fr/pmb/invs/(id)/PMB_10632)
- 31. Allali F, El Aichaoui S, Khazani H, Benyahia B, Saoud B, El Kabbaj S, Bahiri R, Abouqal R, Hajjaj-Hassouni N.** High prevalence of hypovitaminosis D in Morocco:

relationship to lifestyle, physical performance, bone markers, and bone mineral density. *Semin Arthritis Rheum.* **2009**; 38: 444-51.

- 32. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B.** 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med.* **2008**; 168 :1629-37