

Université de Montréal

Supplémentation en vitamine D chez des enfants ayant l'anémie falciforme : une étude pilote randomisée contrôlée

par Pascale Grégoire-Pelchat

Département de nutrition, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Mémoire présentée en vue de l'obtention du grade de maîtrise en nutrition

Juin 2020

© Pascale Grégoire-Pelchat, 2020

Résumé

Introduction : La majorité des enfants ayant l'anémie falciforme (AF) sont déficients en vitamine D. Cette déficience causerait ou exacerberait possiblement les complications de l'AF telles que les crises de douleur et les complications osseuses. Nous avons récemment publié que près de 70% des enfants suivis à notre clinique d'AF étaient déficients en vitamine D (<50 nmol/L), que ceux-ci avaient de faibles apports alimentaires en vitamine D et prenaient peu de suppléments. Cliniquement, les enfants déficients en vitamine D avaient un moins bon profil hématologique que les enfants suffisants en vitamine D. Ces résultats nous ont amené à proposer une intervention pour résoudre ces problèmes.

Objectifs : *Primaires :* Évaluer la faisabilité, l'acceptabilité et la sécurité d'un bolus oral de 300 000 UI de vitamine D₃, chez les enfants ayant l'AF, combiné à une supplémentation quotidienne de 1 000 UI de vitamine D₃ pour 3 mois. *Secondaires :* Évaluer le changement des taux sériques de 25(OH)D après 3 mois ainsi que les impacts cliniques d'une telle supplémentation.

Méthode : Des enfants avec AF (5 à 17 ans, tous les génotypes) ont été randomisés à un bolus oral de vitamine D₃ (300 000 UI) ou à un placebo. Tous les enfants ont également reçu une prescription pour des comprimés de 1 000 UI vitamine D₃ à prendre quotidiennement. La 25(OH)D sérique a été mesurée au début de l'étude et 3 mois post-bolus (efficacité de l'intervention). Les autres paramètres mesurés lors de l'étude étaient le ratio calcium/créatinine urinaire et le calcium sérique (sécurité), la douleur musculosquelettique, la qualité de vie, l'hématologie et les marqueurs osseux (paramètres cliniques exploratoires).

Résultats : Trente-huit enfants ont participé à l'étude (âge moyen de 10,1 +/- 3,6 ans; 63% HbSS, 29% HbSC et 8% S/β thal⁺) : 18 ont reçu le bolus de vitamine D et 20 le placebo. Au début de l'étude, les niveaux moyens de 25(OH)D étaient de 75 +/- 27 nmol/L et 50% des enfants étaient insuffisants en vitamine D (<75 nmol/L). Chez les enfants ayant pris le bolus, les taux de 25(OH)D se sont élevés à 94 nmol/L après 3 mois et le taux d'insuffisance en vitamine D est descendu à 17%, alors que pour le placebo, les taux de 25(OH)D post 3 mois étaient de 74 +/- 19 nmol/L et le taux d'insuffisance en vitamine D était de 45% (p=0,001). Aucun épisode d'hypercalcémie, d'hypercalciurie ou d'hypervitaminose D (>250 nmol/L) n'a eu lieu durant

l'étude, mais les enfants du groupe bolus ont expérimenté plus de symptômes gastro-intestinaux dans le premier mois suivant l'ingestion du bolus, comparativement au groupe placebo. Le décompte de réticulocytes était plus faible à la fin de l'étude pour les enfants du groupe bolus. Aucun autre effet clinique de l'intervention n'a été observé.

Conclusion : L'utilisation d'un bolus de vitamine D à haute dose combiné à une supplémentation quotidienne en vitamine D chez des enfants ayant l'AF était plus efficace à élever les taux de 25(OH)D à des taux supérieurs à 75 nmol/L que la supplémentation quotidienne seule. Des études multicentriques à plus grande échelle et de plus longue durée sont nécessaires afin d'évaluer les effets cliniques d'une telle supplémentation.

Mots clés : Anémie falciforme, vitamine D, supplémentation, étude randomisée contrôlée, calcium

Abstract

Background: Most children with sickle cell disease (SCD) are vitamin D deficient. This deficiency could possibly cause or exacerbate SCD complications such as pain crisis and bone complications. We previously showed that nearly 70% of children followed in our SCD Clinic were vitamin D deficient (<50 nmol/L) with low vitamin intake and poor use of supplements. Clinically, worse hematological profile was seen in vitamin D-deficient children compared to vitamin D-sufficient children. This study was designed to overcome these issues.

Objectives: Primary objectives were to assess feasibility, acceptability, and safety of a single oral bolus of 300,000 IU of vitamin D₃ combined to daily 1,000 IU vitamin D₃ for 3 months in children with SCD. Secondary objectives were to assess the mean change in serum 25(OH)D from baseline to 3 months post-bolus and its clinical impact.

Procedure: A randomized controlled trial was carried out in children with SCD (5-17 years, all genotypes). Children were randomized to a single bolus of vitamin D₃ (300,000 IU) or placebo and also received prescription for daily 1,000 IU vitamin D₃. Serum 25(OH)D (efficacy outcome) was measured at baseline and 3 months post-bolus. Other outcomes measured were urinary calcium/creatinine ratio and serum calcium (safety), musculoskeletal pain, quality of life as well as hematology and bone markers (exploratory outcomes).

Results: Thirty-eight children were randomized to received the vitamin D bolus (n=18) or the placebo (n=20) (mean age 10.1 +/- 3.6 years; 63% HbSS, 29% HbSC and 8% S/ β thal⁺). At baseline, 50% of the children were vitamin D insufficient (<75 nmol/L) and mean serum 25(OH)D levels were 75 +/- 27 nmol/L. In the vitamin D bolus group, insufficiency dropped to 17% post 3 months and mean 25(OH)D levels raised to 94 nmol/L. In children who took the placebo, rates of vitamin D insufficiency were 45% and mean 25(OH)D levels were 74 +/-19 nmol/L post 3 months (p=0.001). The vitamin D bolus caused no hypercalcemia, hypercalciuria nor hypervitaminosis D (>250 nmol/L). However compared to the placebo group, more children in the bolus group experienced gastro-intestinal symptoms within the first month following the vitamin D bolus. As for the hematology parameters, only a slight difference in reticulocytes

counts was observed with lower reticulocytes count the end of the study in children from the bolus group. No other clinical effects of the intervention were observed.

Conclusions: High-dose vitamin D bolus combined to daily supplementation in children with SCD is more efficient than daily supplementation alone to raise 25(OH)D levels ≥ 75 nmol/L. Large-scale multicenter studies of longer duration are needed to assess whether this intervention can improve clinical outcomes of children with SCD.

Key words: Sickle cell disease, vitamin D, supplementation, randomized controlled trial, calcium

Table des matières

Résumé	i
Abstract	iii
Liste des tableaux	x
Liste des figures	xi
Liste des sigles et abréviations	xii
Remerciements	xiv
1. Recension des écrits	1
1.1 Vitamine D	1
1.1.1 Métabolisme de la vitamine D.....	1
1.1.3 Marqueurs du statut nutritionnel en vitamine D.....	2
1.1.3.1 25(OH)D.....	3
1.1.3.2 1,25(OH) ₂ D.....	3
1.1.2 Absorption intestinale de la vitamine D.....	3
1.1.4 Régulation.....	4
1.1.5 Rôles de la vitamine D.....	5
1.1.5.1 Fonctions squelettiques de la vitamine D.....	5
1.1.5.1.1 Action indirecte de la vitamine D.....	6
1.1.5.1.2 Action directe de la vitamine D.....	7
1.1.5.2 Fonctions extra-squelettiques de la vitamine D.....	8
1.1.6 Besoins en vitamine D.....	9
1.1.7 Méthodes de dosage de la vitamine D.....	10
1.1.8 Statut en vitamine D.....	11
1.1.9 Déficience en vitamine D.....	11
1.1.9.1 Populations à risque de déficience.....	12
1.1.10 Exposition solaire.....	12

1.1.11	Intoxication à la vitamine D.....	13
1.1.12	Sources alimentaires.....	14
1.1.13	Supplémentation en vitamine D.....	15
1.1.13.1	Santé osseuse.....	15
1.1.13.2	Autres bénéfiques.....	16
1.2	Anémie falciforme.....	18
1.2.1	Physiopathologie de la maladie.....	18
1.2.2	Mécanismes impliqués dans les complications de l’anémie falciforme...	19
1.2.3	Gènes impliqués dans l’expression de la maladie.....	20
1.2.4	Facteurs environnementaux.....	21
1.2.5	Diagnostic.....	21
1.2.6	Prévalence et génotypes.....	21
1.2.7	Complications.....	22
1.2.7.1	Douleur.....	23
1.2.7.2	Séquestration splénique.....	23
1.2.7.3	Infections.....	23
1.2.7.4	Accident vasculaire cérébral.....	24
1.2.7.5	Syndrome thoracique aigu.....	24
1.2.7.6	Domages aux organes.....	24
1.2.7.7	Complications osseuses.....	25
1.2.7.8	Autres complications.....	25
1.2.8	Thérapies.....	25
1.2.8.1	Pénicilline.....	26
1.2.8.2	Opioïdes et anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	26
1.2.8.3	Hydroxyurée.....	26
1.2.8.4	Transfusion.....	27
1.2.8.5	Nouvelles thérapies.....	28

1.2.9 Anémie falciforme et nutrition.....	28
1.2.9.1 Macronutriments.....	28
1.2.9.2 Micronutriments.....	29
1.3 Anémie falciforme et vitamine D.....	31
1.3.1 Statut nutritionnel en vitamine D de personnes atteintes d’anémie falciforme.....	31
1.3.1.1 Déficience en vitamine D chez les personnes ayant l’anémie falciforme.....	31
1.3.1.2 Personnes saines vs personnes ayant l’anémie falciforme.....	32
1.3.1.3 Statut en vitamine D selon les saisons.....	32
1.3.1.4 Recommandations pour la vitamine D pour les personnes ayant l’anémie falciforme.....	33
1.3.2 Facteurs expliquant la déficience en vitamine D.....	33
1.3.2.1 Couleur de la peau.....	33
1.3.2.2 Facteurs reliés à la maladie.....	34
1.3.2.3 Apports en vitamine D.....	35
1.3.2.4 Autres facteurs.....	36
1.3.3 Complications reliées à la déficience en vitamine D.....	36
1.3.3.1 Douleur.....	37
1.3.3.2 Sévérité de l’anémie falciforme.....	38
1.3.3.3 Complications osseuses.....	40
1.3.4 Supplémentation en vitamine D pour l’anémie falciforme.....	41
1.3.4.1 Efficacité de la supplémentation.....	41
1.3.4.2 Sécurité.....	44
1.3.4.3 Douleur.....	45
1.3.4.4 Hématologie et inflammation.....	46
1.3.4.5 Santé osseuse.....	46

3.4 Application clinique du projet	96
3.5 Perspectives futures	97
4. Conclusion	99
5. Bibliographie	100
Annexe 1.....	cvii

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales sources de vitamine D alimentaire et leur teneur en vitamine D (en UI).....	15
Tableau 2. Apports alimentaires en calcium (mg) et en vitamine D (UI) au début et à la fin de l'étude.....	89

Liste des figures

Figure 1. Métabolisme de la vitamine D.....	2
Figure 2. Régulation des taux de calcitriol.....	5
Figure 3. Action de la vitamine D dans l'homéostasie du calcium.....	7

Liste des sigles et abréviations

>	Plus grand que
<	Plus petit que
≥	Plus grand ou égal
≤	Plus petit ou égal
AF	Anémie falciforme
ANREF	Apports nutritionnels de référence
AVC	Accident vasculaire cérébral
BME	Besoin moyen estimé
Ca	Calcium
CHU	Centre hospitalier universitaire
DBP	<i>Vitamin D binding protein</i>
HbA	Hémoglobine A
HbF	Hémoglobine fœtale
HbS	Hémoglobine S
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
IL-6	Interleukine 6
IMC	Indice de masse corporelle
kg	Kilogramme
L	Litre
m	Mètre
mg	Milligramme
nmol	Nanomole
ON	Oxyde nitrique
p	Degré de signification
ph	Phosphore
PTH	Hormone parathyroïdienne
QFA	Questionnaire de fréquence alimentaire
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
TNF	Facteur de nécrose tumorale

UI Unité internationale
VDR Récepteur de la vitamine D

Remerciements

La réalisation de ce mémoire de maîtrise n'aurait pas été possible sans l'aide de mes deux directrices de recherche Geneviève Mailhot et Nathalie Alos. Merci à vous deux de m'avoir encadré dans ce projet ambitieux pendant mes 3 années de maîtrise. Mettre l'étude sur pied n'a pas été facile et son déroulement a parfois été un peu plus difficile que prévu : votre aide constante et votre encadrement m'ont été essentiels tout au long de mon parcours afin de réussir.

Je voudrais également remercier tout le personnel travaillant à la clinique d'hématologie à Sainte-Justine pour m'avoir aussi bien accueilli pendant toute la durée de ce projet. Merci particulièrement à Nathalie Fournier et Sophie Parent, les infirmières de la clinique d'anémie falciforme, pour leur aide constante dans le recrutement des participants et la collecte des données. Malgré votre horaire chargé, vous avez toujours réussi à m'épauler pour la réussite de cette étude et j'en suis très reconnaissante.

Un grand merci également à ma famille de m'avoir encouragé tout au long de ma maîtrise et d'avoir été là pour m'écouter quand ça allait moins bien. Un merci spécial pour toi maman, qui, comme toujours, est très présente pour m'écouter, me conseiller et m'encourager. Ton support lors de la réalisation de cette maîtrise m'a été très précieux et je t'en suis infiniment reconnaissante.

Enfin, je ne peux pas oublier de remercier mon conjoint qui en est rendu à connaître presque aussi bien mon sujet de maîtrise que moi-même! Merci d'être toujours là pour m'écouter et me soutenir dans les bons comme les mauvais moments. Tu réussis toujours à m'encourager et me soutenir lorsque ça va bien et me changer les idées lorsque je passe par des moments de découragement. Mille fois merci de ta patience et ta présence! Je me compte très chanceuse de t'avoir à mes côtés.

Chapitre 1 : Recension des écrits

1.1 Vitamine D

1.1.1 Métabolisme de la vitamine D

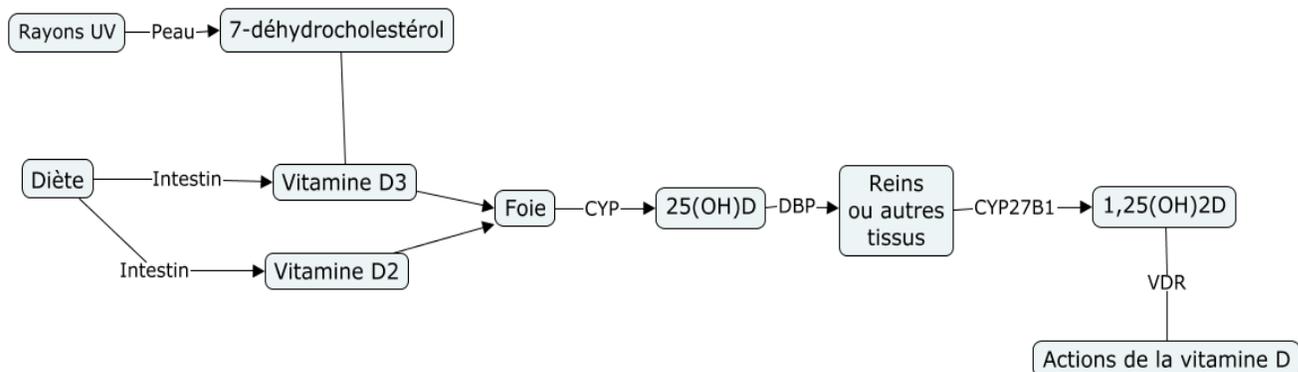
La vitamine D est une vitamine liposoluble reconnue comme jouant un rôle de pro hormone(1) et qui existe sous 2 formes : la vitamine D₃ (cholecalciférol) et la vitamine D₂ (ergocalciférol). Ces 2 formes diffèrent par la structure de leur chaîne latérale, mais cette différence n'affecterait pas leurs fonctions en tant que prohormone(1). En effet, celles-ci sont considérées comme pratiquement équivalentes, bien que certaines études mentionnent une plus grande biodisponibilité de la vitamine D₃, qui serait dû à un métabolisme ou une clairance plus rapide de la vitamine D₂ comparativement aux métabolites de la vitamine D₃ (1-3). Cette clairance plus rapide serait possiblement causée par une affinité plus faible des métabolites de la vitamine D₂ avec la protéine liant la vitamine D, la *vitamin D binding protein* (DBP)(2, 3).

La vitamine D peut être obtenue par l'organisme de deux façons distinctes, soit par l'exposition solaire ou par la diète. Suite à l'exposition aux rayons ultraviolets B (UV-B), la peau synthétise la vitamine D sous la forme D₃ à partir du 7-déhydrocholesterol(4). Lorsque la vitamine D est obtenue par la diète, celle-ci est absorbée avec les autres lipides alimentaires dans le petit intestin(1), puis la grande majorité est sécrétée dans les chylomicrons(5), alors que le reste est transporté avec les acides aminés et les glucides dans le système porte pour rejoindre le foie(1). Qu'elle soit ingérée ou synthétisée par la peau, la vitamine D est d'abord transportée au foie, où elle est hydroxylée sur le carbone situé à la position 25 pour former la 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D) par l'enzyme 25-hydroxylase de la famille des cytochromes P450 (CYP). Bien que plusieurs enzymes CYP puissent hydroxyler la vitamine D, c'est l'enzyme CYP2R1 qui a été identifiée comme la principale enzyme responsable de son hydroxylation(6). Une fois dans la circulation sanguine, la 25(OH)D se lie à un transporteur protéique spécifique, la protéine liant la vitamine D (DBP), qui est également le transporteur de la vitamine D et de ses autres métabolites(1, 6). La 25(OH)D est ensuite transportée vers les reins où elle est une nouvelle fois hydroxylée, cette fois-ci sur le carbone situé à la position 1, par l'enzyme 1- α -hydroxylase (CYP27B1), pour former la 1,25-dihydroxyvitamine D, aussi appelé calcitriol (1,25(OH)₂D)(1,

6). La 1- α -hydroxylase est retrouvée en quantité plus importante dans les reins, mais se retrouve aussi, entre autres, dans le tissu adipeux, les os et le muscle cardiaque. Le calcitriol nouvellement formé peut alors agir en se liant à son récepteur, le *vitamin D receptor* (VDR). Le VDR se retrouve dans plusieurs types de cellules et de tissus tels que les os, la peau, le côlon et les cellules T activées(4). L'expression du VDR est régulée par la 1,25(OH)₂D(7). Dans le noyau, le complexe VDR-1,25(OH)₂D agit comme un stéroïde et se lie au complexe formé du récepteur rétinolique X (RXR) et de l'acide rétinoïque pour former un hétérodimère contrôlant l'expression de plus de 200 gènes(7). La 1,25(OH)₂D peut également interagir avec RUNX2 au niveau de la membrane plasmique des cellules exprimant le VDR. RUNX2 est un facteur transcriptionnel qui stimule le développement des ostéoblastes(7). Dans les études faites chez les rats, cette interaction permettrait de réguler l'expression de protéines non-collagéniques telles que l'ostéocalcine et l'ostéopontine dans les ostéoblastes(7).

Le métabolisme de la vitamine D est détaillé à la figure 1.

Figure 1 : Métabolisme de la vitamine D



1.1.2 Marqueurs du statut nutritionnel en vitamine D

La vitamine D se retrouve sous multiples formes dans l'organisme, mais ces dérivés ne sont pas tous équivalents en tant que marqueur du statut nutritionnel(1). Les deux formes de vitamine D décrites dans cette section sont les deux formes principales de la vitamine D, soit la 25(OH)D et la 1,25(OH)₂D (1).

1.1.2.1 25(OH)D

La 25(OH)D représente la principale forme circulante de vitamine D, mais cette forme n'est pas biologiquement active(1). C'est cette forme qui est utilisée pour évaluer le statut nutritionnel en vitamine D, étant donné, entre autres, sa plus grande concentration sérique et sa plus longue demi-vie, qui est de 2 à 3 semaines(8), que les autres formes de la vitamine D(1). Ainsi, la 25(OH)D représente un excellent reflet des apports en vitamine D d'un individu, et ce, autant pour ce qui sont des apports provenant de l'exposition solaire que ceux provenant de la diète(1).

1.1.2.2 1,25(OH)₂D

La 1,25(OH)₂D, appelée aussi calcitriol, représente la forme active de la vitamine D. C'est cette forme qui est transportée vers les tissus pour accomplir les fonctions de la vitamine D(1, 6). Sa demi-vie circulante est seulement de 4 heures et celle-ci circule à des concentrations 1 000 fois inférieures à la 25(OH)D, ne lui permettant donc pas d'être un bon marqueur du statut nutritionnel en vitamine D(8). De plus, son activation n'est pas directement régulée par les apports en vitamine D, celle-ci étant plutôt dépendante des taux d'hormone parathyroïdienne (PTH), de calcium et de phosphate sériques (voir la figure 2) (8). Les taux de 1,25(OH)₂D peuvent être normaux même en présence de déficience en vitamine D, ce qui rend la 1,25(OH)₂D inutilisable pour évaluer de façon fiable le statut nutritionnel en vitamine D (1). La mesure du calcitriol peut toutefois être utile dans certaines situations précises telles que dans le cas d'insuffisance rénale chronique (8).

1.1.3 Absorption intestinale de la vitamine D

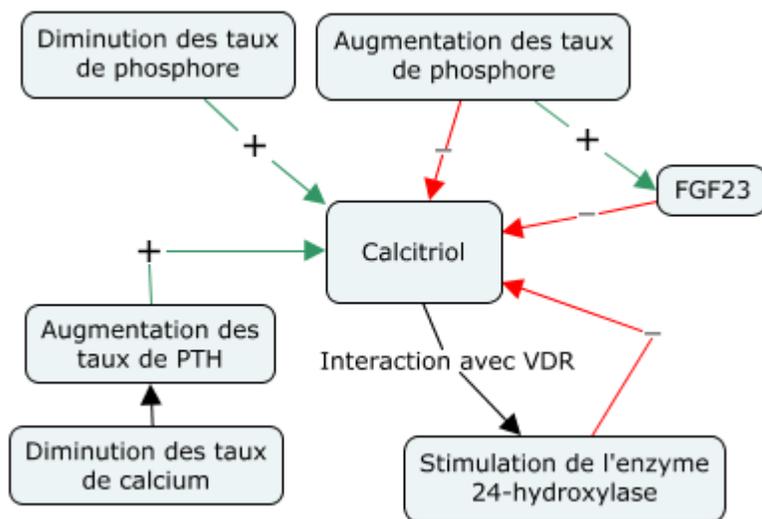
L'absorption de la vitamine D se fait par transport actif protéine-médiée à plus faibles concentrations de vitamine D (vitamine D alimentaire) et par diffusion passive à hautes concentrations (doses pharmacologiques) et l'efficacité de l'absorption se situe entre 55 et 99%(9). Que ce soit des doses quotidiennes de vitamine D ou des doses données de façon plus espacé, il semblerait que l'élévation de la 25(OH)D serait reliée à la quantité totale de vitamine D ingérée plutôt qu'à la fréquence d'ingestion(10).

L'absorption intestinale de la vitamine D varie selon plusieurs facteurs, dont l'état physicochimique de la vitamine D, la complexité de la matrice alimentaire et les facteurs liés à l'hôte tels que l'âge, le poids, la génétique, etc.(9). L'absorption de la vitamine D alimentaire dépend en partie de la matrice alimentaire, puisque la vitamine D doit être libérée de celle-ci pour pouvoir être absorbée dans le système gastro-intestinale(9). Ainsi, le types d'acide gras consommé en même temps que la vitamine D peut faire varier son taux d'absorption intestinale : une diète riche en acides gras mono-insaturés a été démontrée comme plus efficace pour améliorer l'absorption de suppléments de vitamine D que les acides gras poly-insaturés(9). Toutefois, des quantités élevées de gras consommées en même temps que la vitamine D ne sembleraient pas améliorer son absorption(9). L'hydroxylation de la vitamine D a aussi un impact sur son absorption : les formes hydroxylées de la vitamine D étant mieux absorbées que les formes non-hydroxylées(9). Enfin, l'absorption de la vitamine D est dépendante des taux sériques de 25(OH)D : les personnes ayant des taux plus bas verront une plus grande augmentation de leurs taux de 25(OH)D suite à l'ingestion de vitamine D(11).

1.1.4 Régulation

Dans les reins, les niveaux de calcitriol sont étroitement régulés par une boucle de régulation négative impliquant l'inhibition de l'enzyme 1- α -hydroxylase lorsque de hauts niveaux de calcitriol sont présents(1). Le calcitriol, en interagissant avec le VDR, stimule l'enzyme 24-hydroxylase(1). Celle-ci métabolise le calcitriol en acide calcitroïque qui est ensuite excrété dans la bile(1). La synthèse de calcitriol est également négativement régulée par le facteur 23 de croissance du fibroblaste (FGF23), qui est sécrété par les ostéocytes de l'os(1). Celui-ci agit en diminuant l'expression des transporteurs sodium-phosphate et en diminuant les taux sériques de calcitriol(1). Par opposition, la synthèse rénale de calcitriol est régulée positivement par la PTH, sécrétée en réponse à un manque de calcium(1). Enfin, les taux de phosphate permettent aussi de réguler la synthèse de calcitriol : sa synthèse est ainsi stimulée par de faibles taux sériques de phosphate et inhibée par de hauts taux sériques(1). La figure 2 illustre la régulation des niveaux de calcitriol.

Figure 2 Régulation des taux de calcitriol



1.1.5 Rôles de la vitamine D

La vitamine D est surtout reconnue pour son rôle dans la santé osseuse. Or, celle-ci aurait également d'autres rôles dans l'organisme, tel que le laisse penser la présence du VDR dans des tissus qui ne sont pas impliqués dans l'homéostasie du calcium et du phosphore(1).

1.1.5.1 Fonctions squelettiques de la vitamine D

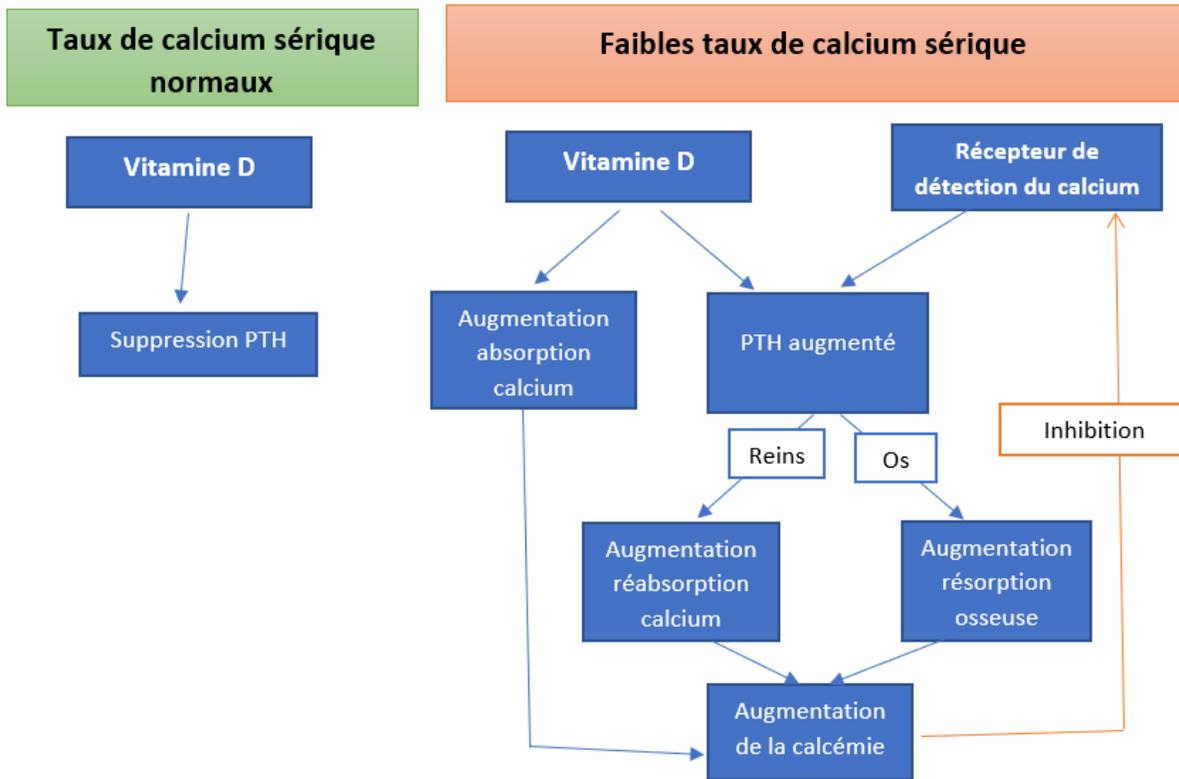
Deux des rôles les mieux documentés de la vitamine D sont la prévention du rachitisme et de l'ostéomalacie. Le rachitisme est une maladie affectant les enfants caractérisée par un cartilage osseux qui ne se minéralise pas et qui ne mature pas normalement(1), alors que l'ostéomalacie affecte plutôt les adultes et est caractérisée par la nouvelle matrice osseuse qui ne se minéralise pas correctement(1). Ces deux conditions affectent principalement les personnes ayant des taux sériques de 25(OH)D en deçà de 20 nmol/L (12).

L'os est un tissu dynamique, constamment en train de se former et de se résorber. La formation de l'os se fait par l'action des ostéoblastes qui produisent l'ostéoïde et est influencée par plusieurs facteurs endocriniens qui contrôlent l'équilibre entre la formation et la résorption. La vitamine D est un de ces facteurs et agit à la fois de façon directe, par l'intermédiaire du VDR, et indirecte, par son rôle dans l'homéostasie du calcium.

1.1.5.1.1 Action indirecte de la vitamine D

L'action indirecte de la vitamine D passe par l'élévation des taux plasmatiques de calcium et de phosphore, qui sont tous les deux requis pour la minéralisation osseuse. En présence de faibles taux de calcium sériques, la vitamine D agit sur l'intestin pour augmenter l'absorption de calcium. Si cette action est toujours insuffisante pour rétablir des taux suffisants de calcium, la vitamine D agit de concert avec le récepteur de détection du calcium pour augmenter la PTH qui augmente la réabsorption de calcium dans les reins au niveau du tubule distal, et qui augmente la résorption osseuse afin de libérer le calcium des os vers la circulation sanguine(4). La vitamine D induit la formation et l'activation des ostéoclastes, en stimulant la sécrétion du ligand RANK qui est responsable de l'ostéoclastogénèse et de la résorption osseuse, ce qui a comme effet de mobiliser le calcium qui se trouve dans les os(1). Enfin, la vitamine D contribue à l'homéostasie du calcium en inhibant l'expression du gène parathyroïdien et la prolifération des cellules parathyroïdiennes lorsque le calcitriol se lie au VDR(1). Une fois la calcémie normalisée, celle-ci réprime l'action du récepteur de détection du calcium. Le rôle de la vitamine D dans le maintien de l'homéostasie du calcium est illustré à la figure 3. Pour ce qui est du rôle de la vitamine D dans le maintien de l'homéostasie du phosphore, celle-ci stimule la sécrétion du FGF23 par les ostéocytes de l'os ce qui augmente l'excrétion rénale de phosphore(1). Au contraire, la déficience en phosphore stimule l'enzyme 1- α -hydroxylase à produire le calcitriol qui à son tour stimule l'absorption du phosphore au niveau du petit intestin(1).

Figure 3 : Action de la vitamine D dans l'homéostasie du calcium



1.1.5.1.2 Action directe de la vitamine D

L'action directe de la vitamine D se ferait en ciblant les ostéoblastes, qui expriment le VDR, en augmentant leur différenciation et leur minéralisation(7). La vitamine D agirait aussi en stimulant la production d'inhibiteurs de la minéralisation, tels que l'activine A, ce qui préviendrait une minéralisation excessive de l'os(7). Une perte sélective du VDR dans l'os pourrait ainsi augmenter la densité osseuse, celui-ci régulant la production de RANKL et d'ostéoprotégérine par l'ostéoblaste afin de stimuler l'ostéoclastogénèse(13). De plus, la vitamine D augmente la concentration locale de pyrophosphates, un inhibiteur de la minéralisation osseuse. Selon les auteurs de la méta-analyse « *Effects of vitamin D supplements on bone mineral density : a systematic review and meta-analysis* », la vitamine D ne serait pas une composante importante du maintien de la concentration de calcium dans les os, mais plutôt du maintien de la concentration de calcium sérique, essentiel pour les fonctions cardiaques et neuronales(13). Ainsi, la vitamine D aurait un effet biphasique dans lequel de trop faibles

concentrations de vitamine D induisent une résorption osseuse par l'hyperparathyroïdie secondaire qui stimule la production de RANKL et l'ostéoclastogénèse, et où des concentrations trop élevées stimulent directement leur production.

1.1.5.2 Fonctions extra-squelettiques de la vitamine D

La vitamine D jouerait plusieurs rôles qui dépassent son implication dans la santé osseuse, tel que le laisse présumer la présence de son récepteur VDR et de l'enzyme 1- α -hydroxylase dans une multitude de tissus et de cellules qui ne sont pas impliqués dans le maintien de l'homéostasie du calcium et du phosphore, tels que le pancréas, le tissu mammaire et les cellules immunitaires(1, 4, 12). Ces effets sont de plus en plus étudiés, mais sont moins bien compris que le rôle de la vitamine D pour la santé osseuse. On peut penser, entre autres, à l'implication de la vitamine D dans le système immunitaire, la santé cardiovasculaire, le diabète, l'obésité et la fonction pulmonaire, par exemple(1, 4). La présence de l'enzyme 1- α -hydroxylase dans les cellules immunitaires combinée au manque de mécanisme de régulation hormonale de l'enzyme dans ces cellules, contrairement aux cellules rénales, permet une production locale élevée de calcitriol nécessaire pour l'immunomodulation(12). Cette production de calcitriol augmente l'expression de protéines antibactériennes telles que la cathélicidine et la β -défensine 2 et promeut la formation d'autophagosomes(4). La déficience en vitamine D pourrait donc altérer la réponse immunitaire, rendant les individus plus susceptibles aux infections. Ainsi, de faibles concentrations de 25(OH)D ont été associées à certaines maladies infectieuses telles que la tuberculose(4). D'une même façon, le VDR et la 1- α -hydroxylase sont également présents dans les cellules cardiaques, telles que les myocytes et les fibroblastes. Ainsi, une variété de maladies cardiovasculaires, incluant l'insuffisance cardiaque congestive, ont été corrélées à de plus faibles taux circulants de 25(OH)D(4). De plus, par son rôle dans l'homéostasie du calcium, la vitamine D contribue au fonctionnement normal de la jonction neuromusculaire, la vasodilatation, la transmission nerveuse et la sécrétion d'hormones. En effet, ces fonctions nécessitent tous des taux sériques de calcium normaux(1). Enfin, la vitamine D serait également impliquée dans le système hématopoïétique. En effet, la déficience en vitamine D a été associée à l'anémie dans plusieurs études, chez des populations variées(14-17). Les mécanismes exacts de cette association ne sont pas connus, mais une des principales explications serait le rôle de la vitamine D dans la réponse inflammatoire(18). Ainsi, la vitamine D agirait en diminuant les

cytokines inflammatoires et l'hépcidine, une hormone responsable de la régulation systémique des taux de fer(18). La vitamine D aurait un effet direct sur l'hépcidine, qui agit en prévenant l'absorption supplémentaire de fer et le relâchement du fer des cellules lors de suffisance en fer. L'hépcidine est stimulée par les cytokines pro-inflammatoires interleukine-6 (IL-6) et interleukine-1 β (IL-1 β) : ainsi, en état inflammatoire, il peut y avoir une anémie même lorsque les réserves de fer sont suffisantes(18). Dans ce contexte, la vitamine D agit de deux façons distinctes : par la réduction directe des taux d'hépcidine et par la diminution des cytokines pro-inflammatoires, deux actions permettant d'améliorer ou de corriger l'anémie causée par l'inflammation(18). En plus de son rôle dans la réduction des taux d'hépcidine, la vitamine D augmenterait la prolifération de *burst-forming unit-erythroid* (BFU-E), des cellules faisant partie de la lignée des érythrocytes, et aurait un effet synergique avec l'érythropoïétine, ce qui aurait comme résultat de soutenir l'érythropoïèse (18).

1.1.6 Besoins en vitamine D

Aucun consensus n'existe quant aux taux sériques optimaux de 25(OH)D à atteindre pour la population. Toutefois, la plupart des autorités s'entendent pour dire que des taux plus bas que 25 à 30 nmol/L sont associés à un plus grand risque de rachitisme et autres complications osseuses(19). Chez les enfants, il est généralement reconnu que des taux supérieurs à 50 nmol/L sont suffisants en regard à la santé osseuse(20, 21). Toutefois, il n'existerait pas assez d'évidences chez ceux-ci pour ce qui sont des fonctions extra-osseuses de la vitamine D pour faire des recommandations particulières à cet égard(21). Le panel d'experts de l'Institut de Médecine (IOM) en arrive d'ailleurs à la même conclusion pour la population générale, soit que des taux de 50 nmol/L sont suffisants pour assurer une santé osseuse optimale, les autres fonctions de la vitamine D n'étant pas assez documentées pour établir une cible à atteindre pour ces dernières(1). Toujours selon l'IOM, des apports de 600 UI par jour devraient être visés pour atteindre les taux de 25(OH)D sériques recommandés(1). Or, selon plusieurs experts, dont l'*Endocrine Society Clinical Practice Guideline* (ESCPG), les taux de 25(OH)D optimaux se situeraient plutôt à partir de 75 nmol/L(8, 22), car ce serait à ces taux que les taux de PTH sériques atteindraient leur point le plus bas. Ces taux ne seraient pas possibles à atteindre avec des apports de 600 UI/jour, soit les apports recommandés, pour plusieurs personnes ayant par exemple de l'obésité, de la malabsorption ou la peau noire. C'est pourquoi l'ESCPG

recommande des apports variant selon l'âge, mais allant de 600 à 2 000 UI de vitamine D par jour afin d'atteindre la cible de 75 nmol/L pour les taux de 25(OH)D sériques. Ces derniers basent leurs recommandations sur les bénéfices de la vitamine D pour la santé osseuse ainsi que sur la prévention du risque de chutes, mais pas sur les autres effets non calciques de la vitamine D telles que la prévention des maladies cardiovasculaires, car il n'existe pas assez de preuves scientifiques à cet effet. D'autres auteurs recommandent même des taux plus élevés. Ainsi, une revue par Bischoff-Ferrari *et al.* conclut que des taux entre 90 et 100 nmol/L seraient optimaux pour la densité minérale osseuse (DMO), la prévention des fractures, la prévention des chutes, la santé buccale, la prévention du cancer colorectal ainsi que pour l'optimisation des fonctions des membres inférieurs(23).

1.1.7 Méthodes de dosage de la vitamine D

Les recommandations concernant les besoins pour la vitamine D se basent sur la quantité totale de 25(OH)D, soit la somme de la 25(OH)D₂ et 25(OH)D₃(24). La 25(OH)D totale peut être autant mesurée dans le plasma que dans le sérum ou dans le sang total, et est très stable, avec une longue capacité d'entreposage(24). La méthode de référence habituelle pour mesurer la vitamine D est la chromatographie liquide ou chromatographie de masse(25). Celle-ci mesure de façon séparée la vitamine D₂, la vitamine D₃ et les épimères de la vitamine D; la vitamine D totale étant calculée par la somme des formes mesurées(25). Cette méthode a pour désavantages de demander plus d'expertise que les autres méthodes de mesure de la vitamine D, d'être longue à effectuer et de nécessiter des équipements qui sont dispendieux(24, 25). Une autre façon de mesurer la vitamine D est par l'immunoessai. Ce test permet de mesurer la 25(OH)D totale ainsi que les métabolites hydroxylés de la vitamine D(25). Cette méthode est souvent plus facilement disponible, mais offre un résultat moins précis que la chromatographie(25). Les résultats obtenus par l'immunoessai sont généralement considérés comme acceptables pour l'évaluation clinique des taux de vitamine D(25, 26). Toutefois, l'immunoessai est susceptible à la réactivité croisée avec la 24,25-dihydroxyvitamine D, l'un des métabolites de la 25(OH)D, ce qui peut biaiser les résultats obtenus(24). Ainsi, la méthode la plus précise pour le dosage de la vitamine D et de ses différents métabolites est la chromatographie liquide ou chromatographie de masse(26).

1.1.8 Statut en vitamine D

Au Canada, selon le « *Canadian Health Measures Survey* » effectué en 2012-2013, les taux sériques moyens de 25(OH)D des enfants canadiens sont de 60,8 nmol/L, toutes saisons confondues. Trente-deux pourcent des enfants canadiens ont des taux sériques de 25(OH)D inférieurs à 50 nmol/L, se trouvant ainsi en insuffisance ou en déficience en vitamine D(27). Chez les populations provenant d'autres origines ethniques vivant au Canada ou ailleurs dans le monde, les taux sériques moyens de 25(OH)D peuvent être différents. En effet, la mélanine dans l'épiderme compétitionne avec le 7-déhydrocholestérol pour l'absorption des UVB, résultant en une moins grande production de vitamine D par la peau lors de l'exposition solaire chez les personnes ayant la peau foncée(28). De plus, la persistance de la lactase est moins commune dans certaines de ces populations, résultant en l'intolérance au lactose chez 80% des personnes d'origine africaine vivant aux États-Unis par exemple(29). Étant donné que les produits laitiers enrichis en vitamine D constituent la source alimentaire de vitamine D la plus importante chez la plupart des Nord-Américains(27), l'évitement de ces produits est plus à risque de mener à une insuffisance en vitamine D, surtout dans les pays où l'ensoleillement est moindre. Ainsi, chez la population d'origine africaine, les taux moyens de 25(OH)D sériques sont plus faibles que chez les Caucasiens, mais l'importance clinique de cette différence n'est pas certaine. En effet, les personnes d'origine africaine, malgré des taux plus bas de 25(OH)D sériques, auraient des taux plus élevés de 1,25(OH)₂D, une meilleure densité osseuse, une moins grande incidence d'ostéoporose et une moins grande incidence de fractures. Certains facteurs pourraient expliquer ces différences ethniques : une différente sensibilité au VDR et à la PTH ainsi que des taux différents d'enzyme 1- α -hydroxylase(28). Pour ce qui est des actions extra-squelettiques de la vitamine D, celles-ci ne sont pas bien définies ni certaines chez les personnes d'origine africaine. Il n'est donc pas clair si des taux de 25(OH)D sériques plus élevés chez cette population sont nécessaires et bénéfiques(28).

1.1.9 Déficience en vitamine D

La principale cause de déficience en vitamine D est l'exposition insuffisante au soleil(8). En 2012-2013, la déficience en vitamine D (25(OH)D < 30 nmol/L) avait affecté 6,5% des enfants canadiens alors que l'insuffisance en vitamine D (25(OH)D entre 30 et 50 nmol/L) avait touché

25,2% des enfants(27). Au niveau mondial, c'est près d'un milliard de personnes, tous âges confondus, qui souffrent de déficience ou d'insuffisance en vitamine D(30). Les conséquences d'une déficience en vitamine D sont d'abord la diminution de l'efficacité de l'absorption intestinale du calcium et du phosphore, ce qui a pour effet d'augmenter les taux de PTH(8). Cette augmentation cause la mobilisation du calcium des os afin de maintenir des concentrations calciques sériques stables ainsi que l'augmentation de l'excrétion rénale de phosphore. Ce déséquilibre des concentrations minérales de l'os peut résulter en un rachitisme chez les jeunes enfants, alors que chez les adultes, la conséquence sera l'ostéomalacie. Malgré les conséquences que peuvent engendrer une déficience en vitamine D, l'ESPCG recommande que seules les personnes à risque de déficience en vitamine D soient dépistées pour celle-ci, étant donné le manque de preuves quant à la pertinence de dépister les personnes sans facteur de risque(8).

1.1.9.1 Populations à risque de déficience

Dans la population générale, les personnes les plus à risque de déficience en vitamine D sont les enfants en bas âge, les personnes âgées, les personnes qui s'exposent peu au soleil, soit parce qu'elles se couvrent ou parce qu'elles restent à l'intérieur, et celles qui ont une condition qui affecte l'absorption (ex : maladie cœliaque, insuffisance pancréatique, etc.)(1, 8). Les personnes obèses peuvent également avoir des taux plus bas de 25(OH)D sériques par séquestration de la vitamine D dans les compartiments adipeux(5) causée par la nature hydrophobe de la vitamine(1). Ainsi, chez les personnes obèses, la vitamine D qui est séquestrée dans le tissu adipeux n'est pas relâchée dans la circulation lorsque l'organisme en a besoin, résultant en des taux de 25(OH)D circulants plus bas(1).

1.1.10 Exposition solaire

Le statut en vitamine D est dépendant des saisons, étant donné sa production cutanée par exposition au soleil et sa faible présence dans les sources alimentaires. Les niveaux de 25(OH)D atteignent leur maximum à la fin de l'été et leur minimum après l'hiver(1, 12). La production cutanée de vitamine D dépend de plusieurs facteurs, notamment de la quantité de rayons UVB qui atteignent le derme ainsi que de la disponibilité du 7-déhydrocholestérol(1). La synthèse de vitamine D est également affectée par l'utilisation de crème solaire, la quantité de peau exposée

au soleil et la latitude, par exemple(1). Ainsi, les personnes vivant à des latitudes au nord de 33 degrés synthétisent peu ou pas de vitamine D lors des mois d'hiver(8). L'utilisation de la crème solaire ayant un facteur de protection de 30 ou plus, utilisée pour diminuer le risque de cancer de la peau et le risque de brûlures, a également comme conséquence une baisse de la synthèse de la vitamine D par la peau, à des taux allant de 95% ou plus(8).

1.1.11 Intoxication à la vitamine D

L'intoxication à la vitamine D est causée par une augmentation excessive des taux de 25(OH)D ce qui a comme conséquence l'augmentation de la résorption osseuse et de l'absorption intestinale de calcium, résultant en une hypercalcémie(31). Ainsi, l'intoxication en vitamine D peut être définie par une augmentation des taux sériques de 25(OH)D accompagnée d'une hypercalcémie(1, 31). Les indicateurs utilisés pour mesurer une potentielle intoxication à la vitamine D sont les taux de 25(OH)D, de calcium sérique et de calcium urinaire(31). L'intoxication est également souvent accompagnée de symptômes, bien que leur présentation peut être très variable d'une personne à une autre, tels que les nausées, vomissements, polyurie, douleur abdominale, constipation, etc.(31). Ces symptômes se développent généralement après moins de 4 semaines d'ingestion excessive continue et sont considérés comme une réponse relativement aiguë d'intoxication à la vitamine D(1). Des taux toxiques de vitamine D ne sont pas atteignables seulement par une exposition solaire prolongée, étant donné que lors d'exposition solaire excessive, la photo-dégradation agit comme un mécanisme régulateur permettant d'éviter la toxicité(1). Toutefois, un excès de vitamine D provenant de sources alimentaires ou de la consommation de suppléments peut entraîner une hypercalcémie et, éventuellement, la calcification des tissus mous, ce qui peut causer des dommages cardiovasculaires et rénaux(1). Selon l'ESPCG, l'intoxication en vitamine D est plutôt rare et résulte de l'ingestion de doses extrêmement élevées de vitamine D(8). Selon eux, la plupart des études ayant rapporté une intoxication à la vitamine D mentionnaient des taux de 25(OH)D supérieurs à 375 nmol/L. Ainsi, afin d'être plus conservateur et d'éviter les risques d'hypercalcémie, des taux plus bas que 250 nmol/L seraient jugés sécuritaires(8). Or, dans le rapport de l'IOM, on fait mention de certaines études qui auraient observé une plus grande mortalité, toute cause confondue, avec des taux sériques de 25(OH)D plus élevés que 125 nmol/L(1). Ceux-ci recommandent donc des apports maximaux de 4 000 UI de vitamine D par

jour afin de prévenir l'intoxication à la vitamine D. Toutefois, plus récemment, une revue de la littérature portant sur la vitamine D et la fonction immunitaire mentionne plutôt que les intoxications ont surtout été attribuées à des doses journalières prolongées plus grandes que 40 000 UI(12). Bref, les concentrations de 25(OH)D ainsi que les apports pouvant amener à une intoxication restent encore à être mieux définis, puisqu'il n'existe pas de réel consensus à ce sujet.

1.1.12 Sources alimentaires

La vitamine D alimentaire existe sous 2 formes : la vitamine D₂ (ergocalciférol), qui provient de source végétale, et la vitamine D₃ (cholecalciférol), qui est d'origine animale et qui constitue la forme que l'on retrouve le plus dans l'alimentation(5). Les sources alimentaires de vitamine D sont limitées. On en retrouve principalement dans les aliments qui en sont enrichis, et aussi, en plus petites quantités, dans les aliments d'origine animale et dans certains champignons (voir tableau 1 des principales sources de vitamine D et leur teneur en vitamine D). Au Canada, le lait et la margarine sont obligatoirement enrichis en vitamine D, fournissant un apport en vitamine D significatif pour les Canadiens(1). Malgré l'enrichissement de certains produits en vitamine D, les besoins demeurent difficiles à combler seulement par l'alimentation. Ainsi, selon l'ESPCG, il serait difficile, voire impossible, de combler ses besoins en vitamine D seulement par l'alimentation, sans exposition solaire ou supplémentation(8).

Tableau 1 : Principales sources de vitamine D alimentaire et leur teneur en vitamine D (en UI)¹

Aliments	Portions	Teneur en vitamine D (en UI)
Lait ou boisson végétale enrichie en vitamine D	250 ml	103
Yogourt ²	175 ml	0 à 113
Margarine ²	10 ml	59 à 72
Poisson gras	75 g	52 à 392
Huile de foie de morue	5 ml	426
Œuf	1 gros oeuf	29
Champignon (cuits)	125 ml	9 à 21
Céréales à déjeuner enrichies en vitamine D ³	250 ml	20 à 50
Jus d'orange enrichi en vitamine D	125 ml	50

¹Données provenant du fichier canadien sur les éléments nutritifs (FCÉN), 2015, <https://aliments-nutrition.canada.ca/cnf-fce/index-fra.jsp>, page consultée le 10 décembre 2018

²La teneur en vitamine D varie selon les marques et les types disponibles du produit

³Données provenant des étiquettes nutritionnelles des céréales enrichies en vitamine D

1.1.13 Supplémentation en vitamine D

La supplémentation en vitamine D a d'abord été évaluée dans le contexte de la santé osseuse, mais est de plus en plus évaluée pour ses rôles extra-squelettiques. Toutefois, l'impact de la supplémentation en vitamine D est loin d'être élucidée et fait toujours le sujet de nombreuses recherches.

1.1.13.1 Santé osseuse

Une supplémentation en vitamine D permettrait d'améliorer la DMO, diminuer la résorption osseuse et diminuer l'incidence de fractures(7). Toutefois, plusieurs études arrivent à des résultats divergents et les bénéfices d'une supplémentation en vitamine D chez les populations n'ayant pas de déficience ne sont pas certains. Ainsi, une revue systématique et méta-analyse de Reid *et al.* a conclu, d'après 23 études étudiant les effets d'une supplémentation en vitamine D sur la DMO d'adultes en bonne santé, qu'une telle supplémentation n'a qu'un faible effet

positif sur la DMO à la tête fémorale et aucun effet aux autres sites qui ont été étudiés(13). Les auteurs finissent en concluant que l'utilisation de suppléments de vitamine D chez les adultes sans facteur de risque pour la déficience en vitamine D n'est pas appropriée. Toutefois, il est important de mentionner que plusieurs des études incluses dans cette méta-analyse utilisaient de faibles doses de vitamine D (10 études sur les 23 étudiées avaient des doses plus faibles que 800 UI) et que plusieurs étaient également de courtes durées. De plus, les taux sériques de 25(OH)D initiaux avant supplémentation étaient de moins de 50 nmol/L dans seulement 8 des études. Pour ce qui est de l'incidence de fractures, la vitamine D pourrait avoir non seulement un rôle direct sur l'os, mais également un rôle indirect dans la prévention des chutes par son rôle dans les performances musculaires(32). Cependant, le rôle de la vitamine D pour la prévention des chutes est loin d'être certain : plusieurs études n'observant pas d'effet de la supplémentation en vitamine sur les chutes. Ainsi, une méta-analyse étudiant l'impact d'une supplémentation en vitamine D chez des adultes âgés de plus de 65 ans sur la prévention des chutes, n'a pas pu conclure à un effet bénéfique de celle-ci (33). En 2018, une revue systématique de la littérature par le *US Preventive Services Task Force* en est arrivée à une conclusion similaire, statuant que la supplémentation en vitamine D n'était pas associée à une réduction de l'incidence de fractures chez les adultes, même lorsque combinée à une supplémentation en calcium(34). Chez les enfants, la moitié des études randomisées contrôlées ayant étudié l'effet d'une supplémentation en vitamine D sur la concentration minérale osseuse (CMO) ont observé un effet positif significatif de la vitamine D sur cette dernière. Ainsi, selon la Fondation Nationale d'Ostéoporose, il existerait une preuve scientifique modérée quant au rôle de la supplémentation en vitamine D sur la CMO chez les enfants(35).

1.1.13.2 Autres bénéfices

La supplémentation en vitamine D a également été étudiée dans le cadre d'autres conditions, dépassant son rôle pour la santé osseuse, qui est le mieux connu. En effet, la supplémentation en vitamine D a été étudiée, entre autres, pour le traitement de l'asthme, la prévention du cancer et les maladies cardiovasculaires. Ainsi, une revue de la littérature faite sur la supplémentation en vitamine D pour le traitement de l'asthme a vu une diminution significative des crises d'asthme nécessitant l'utilisation de corticostéroïdes ou une visite à l'urgence(36). En effet, la liaison de la 1,25(OH)₂D à son récepteur VDR favorise une activité antimicrobienne et anti-

inflammatoire, notamment en induisant la production de peptides antimicrobiens et en augmentant la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10, ce qui permet de diminuer le risque d'exacerbation de l'asthme caractérisé par l'inflammation pulmonaire(36). Pour le traitement ou la prévention des infections, la supplémentation en vitamine D, majoritairement sous forme de supplémentation quotidienne, a été montrée efficace dans 6 études randomisées contrôlées, et ce, pour une grande variété de conditions : infections respiratoires, gingivite, influenza et tuberculose pulmonaire(37). Toutefois, les doses utilisées dans ces études étaient plus élevées que les recommandations pour la santé squelettique de l'IOM(37). La vitamine D aiderait pour la prévention et le traitement des infections par son effet sur la production de peptides antimicrobiens(38). De plus, certains métabolites de la vitamine D ont également été rapportés comme pouvant contribuer à d'autres mécanismes antimicrobiens incluant l'autophagie et la synthèse d'intermédiaires de nitrogène et d'oxygène(38). La supplémentation en vitamine D a également été étudiée dans le cadre de la prévention des maladies auto-immunes étant donné son rôle dans le système immunitaire. Ainsi, la supplémentation en vitamine D semblerait efficace dans la prévention notamment du diabète de type 1 et la sclérose en plaque, en partie en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires et en augmentant la production de cytokines anti-inflammatoires(39). Bref, l'utilisation de suppléments de vitamine D semble prometteuse pour différentes conditions outre que la santé osseuse. Cependant, les études sur le sujet sont plutôt récentes et pas toujours très nombreuses, ne permettant pas encore d'établir de recommandations spécifiques autre que pour la santé osseuse.

1.2 Anémie falciforme

1.2.1 Physiopathologie de la maladie

L'anémie falciforme (AF), appelée également maladie falciforme ou hémoglobinopathie, est une maladie génétique héréditaire causée par une mutation dans le gène codant pour la protéine β -globine et entraînant un changement de conformation des érythrocytes à une forme de faucille(40). Le génotype d'AF le plus commun est celui HbSS dans lequel le 17^e nucléotide thymine est changé pour une adénine et le 6^e acide aminé dans la chaîne β -globine, l'acide glutamique est remplacé par une valine(41). Cette mutation entraîne la formation d'hémoglobine S (HbS), responsable de la dysfonction des globules rouges(40). Tous les génotypes de l'AF, que ce soit HbSC ou β -thalassémie par exemple, entraînent une expression suffisante de HbS pour engendrer la déformation des érythrocytes en forme de faucille(40). Le terme AF est parfois utilisé pour désigner seulement les personnes ayant le génotype HbSS alors que les termes maladie falciforme ou hémoglobinopathie sont généralement utilisés pour inclure tous les génotypes de la maladie. Toutefois, par soucis de simplification, le terme AF sera ici utilisé pour désigner tous les génotypes de la maladie. Les personnes porteuses du trait d'AF, mais étant hétérozygotes, n'ont pas assez d'HbS en condition normale pour exprimer la maladie. Cependant, ceux-ci peuvent également souffrir de certaines complications, telles que de maladies thromboemboliques veineuses ou de dommages vasculaires à la médulla rénale pouvant entraîner une hématurie et une incapacité à concentrer l'urine (42, 43). Chez les patients atteints d'AF, le tétramère HbS peut lier l'oxygène de façon normale, mais produit un motif hydrophobique lorsque désoxygéné, ce qui amène les chaînes β_1 et β_2 à se lier dans la molécule d'hémoglobine. Cette liaison des chaînes bêta entraîne une modification de la structure et de la flexibilité du globule rouge, ce qui peut engendrer une déshydratation intracellulaire. L'érythrocyte aura ainsi une forme allongée et rigide, comparativement à sa forme normale qui est flexible et biconcave(40). Le taux de polymérisation de HbS est proportionnel à la durée et l'ampleur de la désoxygénation de l'hémoglobine, la concentration intracellulaire de HbS et la présence d'hémoglobine fœtale (HbF) dans l'érythrocyte. Ainsi, le déterminant majeur de la sévérité de la maladie est le taux et l'ampleur de la polymérisation de HbS(41). La réoxygénation des érythrocytes brise le polymère HbS, ce qui permet aux érythrocytes de reprendre leur forme

normale. Ces derniers peuvent passer par plusieurs cycles de falciformation et défalciformation jusqu'à ce que la membrane érythrocytaire devienne rigide de façon irréversible. Les érythrocytes déformés sont alors hémolysés et retirés par le système réticulo-endothélial, contribuant ainsi à l'anémie(40). La conséquence principale de la déformation érythrocytaire est l'obstruction du flux sanguin dans les petits vaisseaux, ce qui entraîne une ischémie et une inflammation des tissus(40). La falciformation répétée des érythrocytes ainsi que l'anémie hémolytique entraînent des lésions et des dommages chroniques aux organes, résultant en une plus grande morbidité et une mortalité précoce(40).

1.2.2 Mécanismes impliqués dans les complications de l'anémie falciforme

L'AF peut entraîner plusieurs complications telles que les crises de douleur, les infections, les AVC, les complications osseuses, etc. Celles-ci sont causées par deux processus distincts: la vaso-occlusion et l'anémie hémolytique, bien que le rôle de chacun dans la pathophysiologie des complications de l'AF demeure controversé(40). La vaso-occlusion serait causée par une interaction complexe entre les cellules sanguines, l'endothélium vasculaire et les facteurs plasmatiques(40), qui a comme conséquence l'emprisonnement des érythrocytes, rigides et déformés, ainsi que des leucocytes dans la microcirculation(41). Celle-ci serait souvent causée par l'inflammation et par un contenu élevé de polymères HbS dans les érythrocytes(41). La vaso-occlusion entraîne une ischémie qui est suivie d'une restauration du flux sanguin. Ces épisodes répétés d'ischémie et de reperfusion engendrent un stress oxydant et inflammatoire, par l'activation des oxydases vasculaires(41). Ce stress augmente la synthèse de cytokines inflammatoires et de molécules qui adhèrent à l'endothélium et peut aussi entraîner une leucocytose (augmentation anormale de leucocytes dans le sang), qui peut contribuer au processus de vaso-occlusion(41). Le deuxième mécanisme impliqué dans l'AF est l'anémie hémolytique, qui est causée par la polymérisation de l'HbS(41). Les globules rouges sains ont une durée de vie normale entre 90 et 120 jours alors que l'HbS a une durée de vie moyenne de 10 à 20 jours(44). En effet, les globules rouges déformés sont séquestrés par la rate et sont hémolysés(44). L'anémie hémolytique, en plus d'engendrer de la fatigue et de l'anémie, contribuerait à la vasculopathie progressive(41). Le rôle exact de l'hémolyse dans les complications de l'AF est plus controversé, mais serait dû au relâchement de l'hémoglobine dans la circulation lors de l'hémolyse intravasculaire. L'hémoglobine libre se lierait à l'oxyde

nitrique (ON) et l'éliminerait (40, 45). L'ON est normalement produit par l'endothélium (41) et agit, entre autres, en permettant la relaxation des muscles lisses vasculaires et la vasodilatation(46). Des taux sériques d'ON plus faibles peuvent causer des dommages à l'endothélium et engendrer un processus inflammatoire, entraînant l'augmentation de cytokines, et éventuellement l'hyperplasie de l'endothélium et la vaso-occlusion (47). L'hémolyse amènerait aussi les érythrocytes à libérer l'arginase, diminuant par le fait même la concentration d'arginine, le précurseur de l'ON(40, 45). L'implication de ces deux processus distincts dans la maladie, la vaso-occlusion et l'hémolyse, explique la variation dans les complications vécues par les patients : ceux ayant une concentration d'hémoglobine plus faible, mais un taux hémolytique élevé seront plus enclins à développer une vasculopathie alors que ceux avec une concentration élevée d'hémoglobine seront plus susceptibles d'avoir des épisodes de douleur aiguë et de syndrome thoracique aigu(40, 45).

1.2.3 Gènes impliqués dans l'expression de la maladie

En plus du rôle de la vaso-occlusion et de l'anémie hémolytique, deux principaux facteurs génétiques ont été établis pour l'expression de la maladie et de sa sévérité : les déterminants de la concentration d'HbF et la présence d'un trait α -thalassémique(41). Le maintien d'un taux élevé d'HbF permet d'augmenter l'espérance de vie, réduit la fréquence d'épisodes de douleur aiguë et d'ulcères sur les jambes(41). L'HbF a une moins grande probabilité d'adopter une conformation de faucille avec l'HbS étant donné sa structure composé de chaînes gamma(48). Celle-ci permet donc d'inhiber la polymérisation d'HbS intracellulaire, et diminue ainsi la morbidité et la mortalité(40). Sa concentration varie selon un trait génétique : 3 loci majeurs ont été identifiés, représentant jusqu'à 50% de la variation des concentrations d'HbF. Les taux d'HbF peuvent varier entre 1 et 30% chez les individus ayant l'AF ; des taux élevés étant plus protecteurs. Le trait α -thalassémique, quant à lui, est présent chez 30% des personnes africaines ayant l'AF. Sa prévalence augmente jusqu'à 50% en Inde et en Arabie Saoudite(41). Ce trait réduit la concentration d'hémoglobine dans chaque érythrocyte, diminuant, par le fait même, la probabilité que l'HbS se polymérise. Par cette action, le taux d'hémolyse se voit diminuer, ce qui peut être bénéfique pour diminuer la prévalence d'AVC, de pierres biliaires, de priapisme (érection durant plus de 4h en absence de stimulation sexuelle) et d'ulcères aux jambes(41).

Toutefois, le trait α -thalassémique ne permet pas de diminuer la fréquence de la douleur, soit la complication la plus fréquente de l'AF(41).

1.2.4 Facteurs environnementaux

On connaît encore peu l'importance des facteurs environnementaux sur la variation du phénotype, mais ceux-ci pourraient avoir un impact considérant la plus grande sévérité de la maladie rapportée en Afrique comparativement aux autres continents(41). Plusieurs facteurs environnementaux ont été rapportés dans différents pays comme liés à une augmentation de la fréquence d'épisodes de douleur aiguë, telles que la saison des pluies dans les pays tropicaux ainsi que le froid et le vent dans les pays tempérés(41). Ainsi, le froid pourrait augmenter l'incidence des crises de douleur en augmentant la vasoconstriction périphérique causant une plus grande désoxygénation(50). L'altitude pourrait également contribuer aux complications de l'AF dû aux taux d'oxygène qui y sont abaissés. Toutefois, comme les autres facteurs environnementaux, relativement peu d'études ont été réalisées sur le sujet et la relation entre les deux n'est pas encore certaine(50).

1.2.5 Diagnostic

Le diagnostic de l'AF se base sur la présence de l'HbS (avec possiblement la présence d'une autre hémoglobine anormale, tel que l'HbC) et l'absence de l'HbA ou présence de l'HbA, mais en quantité plus petite que celle de l'HbS(40). Il existe plusieurs techniques différentes pour séparer les différents types d'hémoglobine, les plus fréquemment utilisés étant l'électrophorèse et la chromatographie(40). Plusieurs pays, comme les États-Unis et l'Angleterre, ont implanté des programmes de dépistage à la naissance de l'AF, ce qui permet d'améliorer la survie des patients qui en sont atteints(41). Le dépistage est aussi disponible pour les femmes dans certains pays afin d'identifier les couples à risque d'avoir un enfant ayant l'AF(41). Au Canada, le dépistage des nouveau-nés pour l'AF se fait dans plusieurs provinces dont l'Ontario, le Québec et la Colombie-Britannique(51, 52).

1.2.6 Prévalence et génotypes

L'AF est l'une des maladies monogéniques sévères les plus répandues à travers le monde(41). Les personnes porteuses du trait d'AF ont un avantage contre la malaria, la prévalence du trait

est donc plus grande dans les régions ayant de plus hauts taux de malaria ainsi que dans les autres pays où ces gens ont subséquemment émigré (41). L'Afrique sub-saharienne comporte la plus grande population de personnes ayant l'AF avec plus de 230 000 enfants naissant chaque année avec la maladie(41). L'expression de la maladie est plus sévère en Afrique, avec une anémie plus importante et de plus faibles concentrations d'HbF(40). C'est également en Afrique que les maladies infectieuses sont les plus fréquentes, ce qui est également responsable de l'augmentation de la sévérité de la maladie. La forme la plus commune d'AF est celle où l'allèle β^s est homozygote(41). Ainsi, 70% des personnes d'origine africaine ayant l'AF ont le génotype HbSS, alors que la majorité restante a le génotype HbSC(41). Pour ce deuxième génotype, l'allèle β^s est pairé à un allèle β^c . Le troisième type d'AF le plus commun est lorsque qu'une des allèles β^s est pairée avec l'allèle β -thalassémique. Le trait bêta-thalassémique affecte la production des chaînes bêta de l'hémoglobine. Chez les personnes ayant le trait β^+ thalassémique en co-héritance avec le gène HbS, la production de chaîne bêta de l'hémoglobine est affectée à la baisse par la présence du trait β^+ thalassémique et les patients ont normalement entre 15-25% d'HbA (principale forme d'hémoglobine de l'humain), bien que cela peut grandement varier(42). Cependant, chez ceux ayant une co-héritance du trait B^0 thalassémique avec le gène HbS, il n'y a aucune production de chaîne bêta de l'hémoglobine, donc aucune HbA n'est synthétisée(42). Ainsi, les différents génotypes d'AF affectent le degré de sévérité de la maladie : les personnes porteuses de la mutation HbSS ou HbS/ B^0 thalassémique ayant normalement une forme plus sévère d'AF que ceux ayant le génotype HbSC ou HbS/ β^+ thalassémique, ces derniers constituant généralement des formes moins sévères d'AF(41). Toutefois, la sévérité de la maladie varie à l'intérieur d'un même génotype, celui-ci n'étant pas l'unique facteur expliquant le phénotype de l'AF(46). Enfin, une dizaine d'autres génotypes causant l'AF ont été recensés, mais la plupart sont plutôt rares.

1.2.7 Complications

L'AF entraîne des complications multi-systémiques causées principalement par la vaso-occlusion, l'anémie, les infections et les infarctus(40). Dans les pays développés, les complications aiguës de l'AF sont rarement mortelles pour les enfants, mais peuvent être fatales pour les adultes ayant des complications chroniques aux organes(40). Toutefois, dans les pays moins développés, le taux de mortalité infantile est beaucoup plus élevé(40).

1.2.7.1 Douleur

Les complications vécues par les patients atteints d'AF sont nombreuses, mais la plus fréquente est, sans contredit, la survenue d'épisodes de douleur aiguë. La douleur constitue la principale raison d'admission à l'hôpital, et ce, autant pour les adultes que pour les enfants(41). Celle-ci est causée par les vaso-occlusions et par les réserves d'oxygène déplétées ainsi que par les lésions causées par les cycles d'ischémie-reperfusion(40). Chez les personnes ayant l'AF HbSS, des épisodes de douleur fréquents sont reliés à un taux élevé d'hématocrite, une faible concentration d'HbF, une histoire d'asthme dans la fratrie et l'hypoxémie nocturne(41). De plus, une fréquence élevée de douleur est associée à une mortalité précoce chez les patients plus vieux que 20 ans(41). La douleur peut également se manifester de façon chronique; la proportion des personnes ayant l'AF l'expérimentant de façon chronique augmentant avec l'âge(53).

1.2.7.2 Séquestration splénique

Une autre complication fréquente chez les personnes atteintes d'AF, et particulièrement les enfants, est la séquestration splénique(54). Celle-ci est causée par le blocage du sang dans la rate. Une crise de séquestration splénique aiguë peut être mortelle si elle n'est pas traitée rapidement(54).

1.2.7.3 Infections

Sans le dépistage systématique de l'AF à la naissance et sans traitement de prophylaxie avec la pénicilline et immunisation contre le pneumocoque, la plupart des enfants atteints d'AF meurent avant 5 ans(40). L'AF pourrait donc être responsable de 15% des décès chez les enfants en bas de 5 ans en Afrique selon les estimés de l'OMS(40).

1.2.7.4 Accident vasculaire cérébral

Bien que l'AVC ne soit pas une complication aussi fréquente que les infections bactériennes ou la douleur, l'AF constitue l'une des principales causes d'AVC chez les enfants(41). Ainsi, 11%

des patients avec le génotype HbSS auront un AVC avant l'âge de 20 ans(41). Heureusement, les transfusions sanguines régulières permettent de diminuer les risques d'AVC de 90% chez les enfants qui sont à risque en gardant le pourcentage de HbS en deçà de 30%(41). Les causes exactes d'AVC chez ces enfants ne sont pas bien comprises, mais plusieurs facteurs jouent probablement un rôle contributif, tels l'anémie, l'hypoxémie et la déficience fonctionnelle d'ON associée à l'hémolyse(41).

1.2.7.5 Syndrome thoracique aigu

Le syndrome thoracique aigu est une complication respiratoire unique à l'AF, causé par la combinaison d'infections, d'embolie graisseuse (obstruction des artères pulmonaires par des particules de moëlle osseuse) et de vaso-occlusion de la vascularisation pulmonaire(41). Celle-ci est caractérisée par un nouvel infiltrat pulmonaire (présence d'une opacité à la radiologie des poumons), de la fièvre et des problèmes respiratoires et constitue l'une des principales causes de mortalité chez les patients atteints d'AF(55).

1.2.7.6 Dommages aux organes

L'AF peut également entraîner des dommages à plusieurs organes, mais la pathogénèse de ces complications est moins bien connue. Ces dommages résulteraient des vaso-occlusions répétées, des infarctus et de l'anémie hémolytique chronique(40). À l'âge adulte, les complications reliées à la défaillance des organes deviennent ainsi la principale cause de morbidité et de mortalité(40). Les complications aux organes sont multiples, allant de la rétinopathie, à la dysfonction rénale et aux maladies cardiopulmonaires(40). L'occurrence d'une des complications les plus mortelles à l'âge adulte, la dysfonction rénale, peut être en partie diminuée par le maintien d'une plus grande concentration d'HbF et par le trait α -thalassémique. Ces deux conditions permettent de diminuer l'hémolyse, qui contribuerait à la néphropathie(40).

1.2.7.7 Complications osseuses

Les complications osseuses sont fréquentes chez les personnes atteintes d'AF et peuvent être vécues de façon aiguë, comme lors de crises vaso-occlusive osseuses ou de façon chronique

telle que l'ostéonécrose, l'ostéoporose et les infections chroniques(56). Les complications osseuses de l'AF pourraient en partie être expliquées par l'hyperplasie de la moelle osseuse, qui résulterait en la perte de masse osseuse, et l'inflammation résultant de l'anémie chronique ou de l'ischémie de la moelle osseuse, qui serait responsable du développement de l'ostéosclérose(57). Une autre complication osseuse fréquente de l'AF est la déformation des vertèbres en forme de <<H>>, qui serait principalement causée par les infarctus de la moelle osseuse(58). La colonne vertébrale est souvent affectée par une détérioration au niveau centrale, les parties périphériques étant préservées(44). La partie centrale de la colonne vertébrale est innervée par les grandes branches des artères vertébrales, qui sont plus susceptibles aux vaso-occlusions que les petites branches innervant les parties périphériques des vertèbres, résultant ainsi en la forme en <<H>> caractéristique chez les personnes ayant l'AF(44). La nécrose avasculaire est également une complication plutôt commune chez les personnes ayant l'AF, la tête fémorale étant le site le plus souvent affecté(44). La pathogénèse de cette complication n'est pas connue, mais serait possiblement reliée à de multiples complications telles que l'occlusion microvasculaire, l'embolie graisseuse et la coagulation intravasculaire(44).

1.2.7.8 Autres complications

Plusieurs autres complications sont fréquentes chez les personnes atteintes d'AF, telles que l'hypertension pulmonaire, les nécroses avasculaires et le priapisme(41). L'occurrence de ces complications varie selon une multitude de facteurs tels le génotype et le phénotype des personnes atteintes ainsi que les traitements préventifs que ces personnes ont déjà reçus(41).

1.2.8 Thérapies

Malgré la prévalence de l'AF, sa chronicité et les complications qui y sont associées, le seul traitement curatif qui existe pour cette maladie est la greffe de cellules hématopoïétiques(40). Ce traitement est, pour le moment, généralement réservé pour les enfants ayant une fratrie compatible au niveau HLA et est considéré uniquement lorsque des complications sérieuses ont déjà eu lieu, telles qu'un AVC, un infarctus silencieux ou des crises vas-occlusives fréquentes malgré l'utilisation d'hydroxyurée(41, 59). La greffe se fait à partir de la moelle osseuse ou à partir des cellules souches du cordon ombilical(40). La greffe faite à partir des cellules souches du sang périphérique n'est généralement pas réalisée, car elle est associée à une mortalité plus

élevée(40). Chez les enfants recevant la greffe de type HLA identique, la survie moyenne est de 95% et la survie sans évènement est de 81%(59). Une des restrictions majeures de la greffe HLA identique est le fait que peu d'enfants peuvent réellement y avoir accès. On estime que seulement 10 à 20% des patients ont une fratrie compatible non affectée par l'AF(40). Malheureusement, la greffe réalisée à l'aide d'un donneur non apparenté ne s'est pas encore avérée efficace, car est associée à une plus grande mortalité et une plus grande incidence de réaction du greffon contre l'hôte (GVH)(40, 59). Les résultats de la greffe haplo-identique semblent toutefois prometteurs, bien que les résultats soient encore limités par le peu d'enfants y ayant eu recours(59). Ce type de greffe a l'avantage que la majorité des patients avec AF ont au moins un donneur haplo-identique et que celle-ci a un faible taux de mortalité(59). Toutefois, cette greffe serait possiblement reliée à un plus grand taux de rejet(59).

1.2.8.1 Pénicilline

Bien qu'il n'existe pas de thérapies permettant de cibler directement la pathophysiologie de l'AF, l'utilisation de pénicilline en prophylaxie est efficace pour prévenir les infections(40). En Afrique, l'utilisation d'antibiotiques pourrait diminuer la prévalence de bactériémie de 50%, d'où l'importance d'un diagnostic fait le plus tôt possible(41).

1.2.8.2 Opioïdes et anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les opioïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont, quant à eux, utilisés pour traiter les épisodes de douleur sévère, mais aucun traitement spécifique n'existe qui pourrait venir modifier le cours normal d'un épisode de douleur(40).

1.2.8.3 Hydroxyurée

Une autre thérapie utilisée fréquemment dans l'AF est l'hydroxyurée, aussi appelée hydroxycarbamide, qui est utilisée chez environ 10-30% des patients ayant l'AF en Europe et aux États-Unis(41). Ce médicament cytotoxique augmente la concentration d'HbF en induisant une suppression modeste de la moelle osseuse(60). L'hydroxyurée a peu d'effets secondaires à court terme et aucune toxicité à long terme de documentée(40). Toutefois, l'effet de l'hydroxyurée sur la spermatogénèse et la possible tératogénicité de ce médicament demeurent encore peu documentés et pourraient être des effets secondaires de son utilisation(60). Depuis

sa première utilisation en 1984(61), d'autres bénéfiques y ont été associés tels que de diminuer le compte des plaquettes et globules blancs, changer l'expression des molécules d'adhésion et augmenter la production d'ON ce qui permet d'améliorer la circulation sanguine et diminuer l'occurrence de vaso-occlusions(41, 60). Enfin, l'hydroxyurée a été prouvée efficace pour diminuer la mortalité associée à l'AF et diminuer l'incidence de douleur, de syndrome thoracique aiguë, d'AVC, etc(60)..

1.2.8.4 Transfusion

La dernière thérapie la plus fréquemment utilisée est la transfusion, qui peut autant être utilisée de façon chronique que de façon ponctuelle. De façon chronique, les transfusions sont utilisées pour prévenir les AVC, autant en prévention primaire chez les enfants ayant un résultat de doppler transcranial anormal qu'en prévention secondaire chez les enfants qui ont déjà eu un AVC (40). Utilisée de façon ponctuelle, la transfusion permet de corriger une exacerbation de l'anémie, est utilisée lors du traitement d'un syndrome thoracique aiguë, en préparation à une chirurgie ou lors d'un épisode aiguë de séquestration splénique(40). La transfusion utilisée en contexte aiguë est utilisée dans le but d'augmenter la capacité de transport de l'oxygène ainsi que d'améliorer le flux sanguin(40). La transfusion chronique est utilisée, quant à elle, pour corriger l'anémie, diminuer le pourcentage de HbS, diminuer la production de HbS ainsi que pour diminuer l'hémolyse(41). L'exsanguino-transfusion, ou transfusion d'échange, permet le remplacement d'une partie du sang de la personne transfusée et est plutôt réalisée si la concentration initiale d'hémoglobine est élevée ou si le pourcentage de HbS doit être rapidement diminué sans augmenter l'hématocrite et la viscosité du sang(41). Les transfusions ne se font toutefois pas sans risque, malgré leurs nombreux bénéfices : le développement de l'hémosidérose, entre autres, étant un risque toujours présent(40).

1.2.8.5 Nouvelles thérapies

Plusieurs nouvelles thérapies sont en développement pour l'AF, incluant les thérapies géniques, donnant ainsi espoir que l'AF pourrait être guérie chez un plus grand nombre de patients(40).

De plus, plusieurs agents thérapeutiques sont également sous étude afin d'agrandir le choix de traitement s'offrant aux patients souffrant d'AF - l'hydroxyurée étant présentement le seul choix offert(40). Ces nouveaux agents thérapeutiques ont comme cible la diminution de la désoxygénation afin de prévenir la polymérisation intracellulaire de l'HbS(40).

1.2.9 Anémie falciforme et nutrition

1.2.9.1 Macronutriments

Le rôle de la nutrition dans l'AF n'est pas encore bien défini et il n'existe pas de recommandations spécifiques à cette population(62). Toutefois, les enfants atteints d'AF souffrent souvent de retard de croissance et d'atrophie musculaire. Cela est dû en partie à une augmentation de la demande métabolique causée par un plus grand renouvellement des globules rouges entraînant une plus grande utilisation des protéines, glucides et lipides ainsi qu'une augmentation du métabolisme de base(63). Ainsi, la malnutrition est reconnue depuis les années 1980 comme un facteur important de l'AF(62). L'augmentation de la dépense énergétique au repos est principalement causée par une activité cardiaque augmentée afin de compenser pour l'anémie ainsi que par un métabolisme augmenté des protéines(62, 64). Une étude effectuée par Singhal *et al.* a mesuré le métabolisme basal de 41 enfants jamaïcains atteints d'AF âgés entre 3 et 6 ans comparativement à un groupe contrôle composé de 31 enfants du même âge n'ayant pas l'AF(65). Les enfants ayant l'AF avaient un métabolisme basal plus élevé comparativement au groupe contrôle, même lorsque ajusté pour le poids et le sexe : 1306 kcal vs 1240 kcal; $p=0,04$ (65). Les apports en énergie, protéines, glucides et lipides étaient toutefois similaires pour les deux groupes, ne permettant pas de compenser pour l'augmentation du métabolisme basal observé chez les enfants ayant l'AF(65). Les apports ont été mesurés en pesant tous les aliments consommés sur 3 journées consécutives par les mères des enfants, ce qui a permis d'avoir un reflet plus précis des apports que l'utilisation de questionnaires(65). Il est présumé que les apports des enfants ayant l'AF sont probablement affectés par les hospitalisations fréquentes et les complications de la maladie(62). De plus hauts taux de IL-6, une cytokine pro-inflammatoire, viendraient également diminuer l'appétit et favoriser la cachexie(62).

Chez les souris AF, une diète riche en protéines et en L-arginine diminue l'inflammation, le stress oxydatif, les épisodes de douleur, la fonction microvasculaire ainsi que la densité des globules rouges(62). La supplémentation en arginine aiderait à améliorer les fonctions musculaires chez les souris, probablement en augmentant la synthèse d'ON et ainsi, la vasodilatation et le flux sanguin vers les organes(62). Toutefois, la supplémentation en L-arginine chez les enfants HbSS ne s'est pas avérée aussi efficace pour augmenter les taux circulants de ON, possiblement parce que la dose donnée n'était pas optimale(62). Toutefois, la supplémentation a été efficace pour diminuer l'hypertension pulmonaire chez des adultes HbSS(62). Toujours chez les souris, une diète plus riche en protéines (35% des calories provenant des protéines vs. 20%) a été efficace pour augmenter la DMO, le CMO et la masse maigre ainsi que pour améliorer la force de préhension(3). L'effet de la diète riche en protéines sur la composition corporelle reste toutefois à élucider pour mieux en comprendre les mécanismes(3).

1.2.9.2 Micronutriments

Plusieurs micronutriments auraient également un impact sur l'AF, bien que les recherches à ce sujet soient encore peu nombreuses. Un des micronutriments ayant reçu le plus d'attention est le zinc. Les conséquences d'une déficience en zinc sont très similaires aux complications vécues par les patients d'AF et incluent, entre autres, une dysfonction du système immunitaire, une croissance anormale et une maturation sexuelle retardée(62). La déficience en zinc dans cette population pourrait possiblement être due à l'excrétion urinaire augmentée de zinc, un renouvellement des protéines plus élevé causé par l'hémolyse ainsi que des apports alimentaires insuffisants(66). Une étude de Zemel *et al.* a ainsi démontré qu'une supplémentation en zinc de 12 mois chez 42 enfants ayant l'AF de type HbSS et âgés entre 4 et 10 ans était associée à une meilleure croissance linéaire comparativement au groupe contrôle(66). Un autre micronutriment ayant reçu plus d'attention dans le contexte de l'AF est l'acide folique (B₉). Cette vitamine est utilisée de routine dans la gestion de la maladie afin de prévenir une déficience causée par un renouvellement rapide des folates lors de l'anémie hémolytique(62). Toutefois, bien que l'acide folique soit couramment utilisé, son efficacité et sa pertinence dans l'AF n'est pas certaine. Ainsi, une étude récente réalisée aux États-Unis a évalué l'effet de l'arrêt d'une supplémentation prophylactique chez 72 patients ayant l'AF, âgés entre 1 et 24 ans(67). L'arrêt de la

supplémentation n'a pas eu de conséquences sur le statut en folates, ni sur la synthèse de globules rouges, et ce, plus de 80 jours après l'arrêt, mettant en question la pertinence d'une supplémentation de routine en acide folique chez cette population(67). En plus du rôle du zinc et de l'acide folique dans l'AF, plusieurs autres micronutriments sont de plus en plus à l'étude, tels que le magnésium et la vitamine D, mettant en lumière l'importance de la nutrition dans l'AF(62).

1.3 Anémie falciforme et vitamine D

1.3.1 Statut nutritionnel en vitamine D de personnes atteintes d'anémie falciforme

Plusieurs études ont évalué le statut nutritionnel en vitamine D des personnes ayant l'AF et la plupart de celles-ci ont été réalisées chez une population pédiatrique. Cette section détaille les connaissances actuelles sur ce sujet.

1.3.1.1 Déficience en vitamine D chez les personnes ayant l'anémie falciforme

Les études mesurant le statut nutritionnel en vitamine D d'enfants atteints d'AF démontrent, en grande majorité, un statut insuffisant chez cette population avec des taux de déficience en vitamine D (25(OH)D <50 nmol/L) variant entre 56,4 et 96,4% selon une revue de la littérature réalisée en 2015(68). Une autre revue de la littérature sortie la même année et portant uniquement sur les enfants et adolescents atteints de l'AF rapporte également une grande prévalence de déficience en vitamine D, avec 6 des 11 études évaluées ayant observé une déficience en vitamine D chez cette population(69). Les études qui sont sorties depuis la publication de ces deux revues de la littérature n'ont pas trouvé des taux de déficience aussi élevés, ceux-ci variant seulement entre 1,6% et 68% (47, 70-77). Toutefois, il faut noter que dans la revue de la littérature de Nolan *et al.*, la plupart des études ont été réalisées aux États-Unis (8/15) alors que seul le tiers des études subséquentes se sont déroulées aux États-Unis, ce qui pourrait expliquer en partie les différences observées. Une autre raison qui pourrait expliquer la différence dans les taux de prévalence de déficience en vitamine D est l'inclusion d'enfants prenant une supplémentation en vitamine D. Bien que seulement deux études aient inclus des enfants chez qui des suppléments de vitamine D avaient été prescrits(72, 76), plusieurs des études, autant celles comprises dans la revue de la littérature de Nolan *et al.* que celles qui ont suivies, excluaient uniquement les enfants étant sous traitement de vitamine D, mais n'évaluaient pas la prise individuelle de suppléments de vitamine D(68, 73-75). Or, la prise d'une supplémentation en vitamine D pourrait venir confondre les résultats obtenus dans ces études.

1.3.1.2 Personnes saines vs. personnes ayant l'anémie falciforme

La majorité des études ayant utilisé un groupe témoin composé d'enfants sains de la même ethnicité ont démontré de plus grands taux de déficience et d'insuffisance en vitamine D chez

les enfants ayant l'AF comparativement aux enfants sains(47, 69, 78-81). Ainsi, dans l'étude de Dougherty *et al.*, 95% des enfants afro-américains avec l'AF avaient des taux suboptimaux (<80 nmol/L) comparativement à 87% des contrôles sains(79). Au Nigéria, où les taux moyens de vitamine D étaient adéquats autant pour les enfants ayant l'AF que les enfants du groupe contrôle, une différence était tout de même observée pour ce qui est de la proportion d'enfants ayant des taux inférieurs à 75 nmol/L: celle-ci était de 12,6% chez les enfants ayant l'AF vs. 2,7% pour les enfants du groupe contrôle (p=0,017)(47). Enfin, une étude réalisée en 2008 aux États-Unis comparant 61 enfants ayant l'AF âgés entre 5 et 18 ans vs. 89 enfants sains a montré que les enfants ayant l'AF ont un risque 5,3 fois plus grand que les enfants sains d'avoir une déficience en vitamine D, définie par des taux de 25(OH)D sériques en-deçà de 27 nmol/L, et ce, après ajustement pour les saisons et l'âge(78). La situation ne semblerait toutefois pas être la même pour les adultes ayant l'AF qui auraient des taux de 25(OH)D similaires, même si en majorité insuffisants, à la population afro-américaine saine(82).

1.3.1.3 Statut en vitamine D selon les saisons

Le statut en vitamine D des personnes atteintes d'AF semblerait varier avec les saisons(72, 78, 83-85), bien que ce ne sont pas toutes les études qui ont observé une différence significative(73, 77, 86, 87). L'étude la plus récente faite à ce sujet a été réalisée en 2018 en Colombie-Britannique, au Canada, chez 42 patients âgés entre 2 et 19 ans(72). Celle-ci a conclu que la prévalence d'insuffisance en vitamine D (<75 nmol/L) varie grandement selon les saisons, l'écart le plus important étant entre les mois de juillet et de septembre entre lesquels 38% des enfants étaient en situation d'insuffisance en vitamine D comparativement aux mois compris entre janvier et mars entre lesquels 74% des enfants avaient un statut insuffisant. Parmi les études n'ayant pas observé de différence significative dans les taux sériques de 25(OH)D selon les saisons, la plupart ont quand même vu une tendance vers des taux différents(73, 87). Ainsi, selon les études publiées sur le sujet, il semblerait effectivement avoir un effet saisonnier dans les taux sériques de 25(OH)D chez les enfants ayant l'AF, qui serait similaire à ce qui a déjà été observé chez la population saine, avec des taux de 25(OH)D plus faibles à l'hiver et au printemps et des taux plus élevés à l'automne et à l'été(1).

1.3.1.4 Recommandations pour la vitamine D pour les personnes ayant l'anémie falciforme

Les recommandations canadiennes pour la vitamine D chez les personnes ayant l'AF sont de mesurer la 25(OH)D dès l'enfance de façon régulière, soit tous les 1 à 2 ans(54). Des suppléments de vitamine D entre 1 000 et 2 000 UI par jour sont recommandés si les taux de 25(OH)D sont bas. De plus, les apports en vitamine D devraient être évalués à l'aide d'un relevé alimentaire de 24h et la dose de supplément prescrite devrait être modulée selon les apports alimentaires et les taux de 25(OH)D(54).

1.3.2 Facteurs expliquant la déficience en vitamine D

Les raisons exactes de la grande prévalence de déficience et d'insuffisance en vitamine D observée chez les personnes atteintes d'AF ne sont pas connues, mais plusieurs facteurs contributifs sont avancés dans la littérature, permettant d'expliquer, au moins en partie, ce phénomène.

1.3.2.1 Couleur de la peau

L'AF étant originaire d'Afrique et des régions où ces gens ont émigré, la majorité des personnes qui en sont atteintes ont la peau foncée(41). Or, la mélanine entre en compétition avec la vitamine D pour l'absorption des rayons UVB engendrant ainsi une moins grande production de vitamine D par l'exposition solaire(28). Ainsi, les personnes ayant une peau de couleur foncée doivent s'exposer au soleil pour une durée trois à cinq fois plus longue qu'une personne à la peau claire pour synthétiser la même quantité de vitamine D(8). Il est reconnu dans la littérature que les personnes d'origine africaine ont des taux moyens de 25(OH)D plus bas que les Caucasiens, n'affectant toutefois pas leur santé osseuse(28). Les personnes atteintes d'AF étant en grande partie d'origine africaine, il faut certainement s'attendre à des taux moyens de 25(OH)D un peu plus bas.

1.3.2.2 Facteurs reliés à la maladie

La couleur de la peau ne peut pas être le seul facteur expliquant la grande prévalence de déficience et d'insuffisance en vitamine D chez les enfants atteints d'AF. En effet, comment expliquer que, lorsque comparé à des sujets sains de même origine ethnique, on retrouve encore des taux inférieurs chez cette population? Plusieurs hypothèses ont été émises à ce sujet, dont la possibilité d'une inflammation de la muqueuse intestinale causée par l'AF, nuisant à l'absorption de plusieurs nutriments, dont la vitamine D(62). De plus, la maladie peut entraîner plusieurs hospitalisations par année pour les enfants qui en sont atteints, réduisant ainsi l'exposition solaire de ces enfants ainsi que leur consommation de vitamine D par une diminution de l'appétit(63). Un autre facteur relié à l'AF qui pourrait potentiellement affecter le statut nutritionnel en vitamine D est la dysfonction du tubule proximal rénal(88). L'AF peut entraîner la dysfonction du tubule proximal qui a plusieurs rôles dont la réabsorption du DBP en plus d'être le principal site d'activation de la vitamine D et d'exprimer des enzymes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D (CYP24A1 et CYP27B1). Dans l'étude de Gliozzi *et al.*, réalisée chez des souris et des cultures de cellules, les souris qui avaient l'AF tendaient à avoir des taux plus bas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, bien que les taux de $25(\text{OH})\text{D}$ n'étaient pas affectés(88). De hauts taux d'hémolyse, causés par l'AF, pourraient également abaisser les taux de $25(\text{OH})\text{D}$ sériques. En effet, Winters *et al.*, dans une étude rétrospective transversale chez 194 patients avec AF, ont observé un plus grand taux de réticulocytes chez les patients avec des taux de $25(\text{OH})\text{D}$ plus bas(89). Les auteurs postulent qu'il est possible que l'augmentation de l'activité de la moelle osseuse causée par l'hémolyse entraîne une diminution de l'absorption de la vitamine D(89). Toutefois, l'étude ne permet pas de faire de lien de causalité, étant donné sa nature rétrospective. Enfin, l'utilisation d'hydroxyurée pourrait potentiellement améliorer le statut nutritionnel en vitamine D, mais le mécanisme impliqué n'est pas connu. Il pourrait ainsi s'agir d'une meilleure conversion au niveau de la peau de la 7-dehydrocholesterol en cholécalciférol ou d'une augmentation du taux d'hydroxylation de la vitamine D au niveau du foie(90). Ainsi, une étude de Adegoke *et al.* en 2018, a vu une différence significative dans les taux sériques de $25(\text{OH})\text{D}$ de 98 enfants âgés entre 4 et 11 ans qui étaient sous traitement d'hydroxyurée depuis au moins 12 mois (n=68) vs. ceux qui n'avaient jamais été traités à l'hydroxyurée (n=30) : les taux sériques moyens étant de 60 nmol/L chez les premiers, mais de 48 mmol/L chez les seconds (p=0,007)(90).

1.3.2.3 Apports en vitamine D

La quasi-totalité des études ayant évalué les apports alimentaires en vitamine D chez les enfants ayant l'AF ont rapporté des apports qui étaient insuffisants pour répondre aux besoins recommandés, ce qui contribue à la déficience en vitamine D observée chez cette population(55, 78, 79, 83, 87, 91). Dans l'étude de Dougherty *et al.*, la moitié des participants consommaient 31% ou moins des besoins recommandés pour la vitamine D, ce qui était probablement une des causes du grand pourcentage de déficience observée dans cette étude(79). Toutefois, bien que les apports en vitamine D étaient légèrement inférieurs chez les enfants ayant l'AF comparativement au groupe contrôle, il ne s'agissait pas d'une différence statistiquement significative et celle-ci ne permettait pas d'expliquer l'écart observé entre les taux moyens de 25(OH)D sérique des deux groupes. Dans une étude réalisée au CHU Sainte-Justine, les apports en vitamine D de 41 enfants suivis pour AF ont été mesurés à l'aide d'un questionnaire de fréquence alimentaire (QFA)(87). Les apports étaient majoritairement déficients chez cette population : seuls 27% des enfants comblaient les besoins moyens estimés (BME) pour la vitamine D, qui sont de 400 UI, et aucun n'atteignaient les apports nutritionnels recommandés (ANR) de 600 UI par jour. De plus, les apports en vitamine D étaient corrélés au statut sanguin, laissant croire que les apports sont probablement en cause dans cette déficience. Similairement, Buisson *et al.* ont observé que les apports alimentaires de 65 enfants ayant l'AF, de génotype HbSS, étaient insuffisants (<200 UI/jour) chez 65% de ceux-ci et les enfants ayant des taux sériques de 25(OH)D en deçà de 27,5 nmol/L avaient des apports alimentaires plus faibles en vitamine D que ceux ayant des taux de 25(OH)D plus élevés que 27,5 nmol/L ($p < 0,05$)(83). Cependant, il est important de mentionner que les apports en vitamine D dans cette étude ont été mesurés à l'aide d'un seul relevé alimentaire de 24h, ce qui ne constitue pas le meilleur moyen d'évaluer les apports en nutriments précis, qui peuvent varier grandement d'une journée à l'autre. Enfin, une des seules études ayant rapporté un apport adéquat en vitamine D chez les personnes ayant l'AF est une étude qui date de 1993 et réalisée en Arabie Saoudite chez 99 participants âgés entre 5 et 25 ans(92). Dans celle-ci, les apports en vitamine D estimés, évalués à l'aide d'un QFA et de relevés alimentaires, étaient en moyenne de 400 UI par jour et aucun des participants ne prenait de supplémentation en vitamine D. L'étude ne mentionne pas comment les questionnaires ont été administrés, malgré que la façon de l'administrer pourrait

engendrer un biais dans les résultats rapportés. Bien que les apports alimentaires rapportés soient suffisants, les taux moyens de 25(OH)D étaient tout de même insuffisants (entre 34 et 37 nmol/L selon les groupes d'âge). Les auteurs suggèrent la possibilité que cela soit dû à une absorption intestinale altérée du calcium et de la vitamine D. Toutefois, considérant que le reste des études chez cette population ne sont pas arrivées à des apports en vitamine D aussi élevés(55, 78, 79, 83, 87, 91) et considérant également que les apports chez la population saine est, elle aussi, déficiente(93), il est possible que les taux abaissés de 25(OH)D observés soit en partie dû à des apports en vitamine D réels inférieurs à ce qui a été mesuré dans cette étude.

1.3.2.4 Autres facteurs

L'expression de certains gènes pour les personnes ayant l'AF serait possiblement reliée au statut nutritionnel en vitamine D. Une étude faite en 2018 chez 335 adultes ayant l'AF a démontré une relation forte entre l'expression de SLC6A5 et de faibles taux de 25(OH)D ainsi qu'avec l'augmentation de la fréquence des douleurs(82). Le SLC6A5 code pour le transporteur 2 de la glycine (GlyT2), un transporteur impliqué dans les voies neurales de la douleur(82). Toujours dans la même étude, l'expression de CYP3A4, une enzyme qui catalyse l'hydroxylation de la vitamine D, était également associée à des taux plus faibles de 25(OH)D(82). Toutefois, les auteurs mentionnent avoir été incapables de reproduire leurs résultats dans un test indépendant de données(82). Il faudra donc plus d'études pour approfondir le rôle des gènes dans le statut nutritionnel en vitamine D chez les gens ayant l'AF.

1.3.3 Complications reliées à la déficience en vitamine D

Quelques études se sont penchées sur le lien entre la déficience en vitamine D et certaines des complications de l'AF, la plupart des études ayant étudié l'incidence de douleur. D'autres complications telles que les complications osseuses et respiratoires ont également été évaluées en relation avec leur statut nutritionnel en vitamine D.

1.3.3.1 Douleur

Un statut nutritionnel en vitamine D insuffisant chez les enfants atteints d'AF pourrait possiblement être associé aux épisodes de douleur, qui sont fréquents dans cette maladie. En effet, la déficience en vitamine D pourrait contribuer aux douleurs provoquées par l'AF notamment en étant la cause de rachitisme ou d'ostéomalacie, en prédisposant aux fractures ostéoporotiques ou en entraînant une myopathie(53). Bien que quelques études se soient penchées sur la question, celles-ci sont loin de faire consensus, la plupart ayant une faible taille d'échantillon ou ayant étudié la prévalence de la douleur seulement comme un objectif secondaire. Une des premières études réalisées ayant observé un lien entre le statut en vitamine D et la douleur est celle de Osunkwo *et al.* en 2011(94). Lors de cette étude, les taux sériques de 25(OH)D ont été mesurés chez 53 patients âgés entre 1 et 19 ans. Les enfants souffrant de douleur chronique avaient des taux de 25(OH)D significativement inférieurs à ceux qui ne souffraient pas de douleur chronique (21,2 +/- 8,2 nmol/L vs. 36 +/- 17,5 nmol/L; p = 0,0021). Toutefois, aucune corrélation n'a été observée avec le nombre de crises vaso-occlusives (p=0,728). Plus tard en 2015, Lee *et al.* ont également observé plus de douleur chez les patients ayant de plus faibles taux de vitamine D, mesuré par le nombre d'admissions à l'hôpital pour épisodes de douleur: chaque augmentation des taux sériques de 25(OH)D de 10 UI était ainsi associée à une diminution de 46% des risques d'avoir un épisode de douleur(73). En 2017, une étude transversale des taux de 25(OH)D en relation avec la fréquence d'épisodes de douleur aiguë chez 123 enfants ayant l'AF (HbSS) a observé une relation entre les deux : les enfants ayant eu au moins un épisode de douleur dans les 12 derniers mois avaient des taux de 25(OH)D un peu plus bas (103,1 nmol/L) comparativement à ceux n'ayant eu aucun épisode de douleur (113,1 nmol/L) (p=0,04)(74). Cependant, peu d'enfants dans cette étude avaient des taux de 25(OH)D en deçà de 75 nmol/L (n=14; 11,4%), ce qui constitue une limite importante de cette étude et limite la généralisation des résultats(74). De plus, puisqu'il s'agit d'une étude transversale, il est donc impossible de conclure à une relation de causalité entre les deux variables. Enfin, en 2018, une autre étude réalisée chez des enfants âgés entre 1 et 14 ans atteints d'AF au Nigeria a observé des taux de 25(OH)D significativement plus bas chez les enfants ayant eu des crises vaso-occlusives dans les 4 dernières années comparativement à ceux qui n'en n'ont pas eues (72 +/- 20 nmol/L vs 92,6 +/- 31 nmol/L, p=0,004)(80). Toutefois, le lien entre le statut en vitamine D et la douleur chez les enfants atteints d'AF est loin de faire consensus, plusieurs études n'ayant pas réussi à établir de relation significative entre les deux (71, 76, 84,

85, 87, 89). Le manque de concordance entre les études s'explique entre autres par le fait que la douleur est mesurée de façon très différente selon les études : certaines ne rapportent que les consultations à l'urgence ou le nombre d'admissions à l'hôpital pour douleur par exemple alors que d'autres utilisent des questionnaires spécifiques pour évaluer cet aspect. Le manque de définition précise pour évaluer la douleur chez les personnes avec AF entraîne un grand biais lorsqu'on compare les études entre elles. En outre, la plupart des études sur le sujet sont de nature rétrospective ou transversale, la période de temps évaluée est donc également un aspect pouvant amener des résultats divergents. En effet, certaines études évaluent la douleur à un temps précis alors que d'autres rapportent la fréquence de douleur sur une plus grande période, souvent allant de 12 à 24 mois précédant la mesure de la vitamine D. Or, cette mesure de 25(OH)D n'est pas nécessairement un bon reflet du statut nutritionnel en vitamine D pour l'entièreté de la période évaluée, ce qui a peut contribuer à la divergence des résultats. Enfin, les populations évaluées sont aussi différentes selon les études, que ce soit pour leur âge (enfants vs. adultes), les génotypes en regard de l'AF ou les critères d'exclusion qui varient d'une étude à l'autre. Tous ces facteurs contribuent au manque d'homogénéité entre les études et entraînent des résultats discordants ne permettant pas d'arriver à un consensus clair quant à l'association entre le statut nutritionnel en vitamine D et la douleur vécue par les individus avec AF.

1.3.3.2 Sévérité de l'anémie falciforme

Certaines études semblent démontrer que le statut nutritionnel en vitamine D pourrait être relié à la sévérité de l'AF. La sévérité de la maladie n'est pas toujours mesurée de la même façon dans toutes les études, mais peut inclure le nombre de visites à l'urgence, le nombre d'admissions à l'hôpital ou la durée moyenne des séjours à l'hôpital. Dans l'étude de Mandese *et al.*, réalisée chez 52 enfants âgés entre 3 et 18 ans, les taux de 25(OH)D étaient corrélés à la sévérité de la maladie, tel que mesuré par le nombre d'admissions à l'hôpital ($R=-0,29$ $p = 0,040$), le nombre moyen de jours par admission à l'hôpital ($R= -0,29$ $p = 0,034$) et le nombre moyen d'admissions à l'hôpital dans les 5 dernières années ($R= -0,36$, $p=0,009$)(95). Une autre étude faite chez 80 enfants avec AF a vu une augmentation de la fréquence de transfusions sanguines, d'hospitalisations et de crises vaso-occlusives dans la dernière année chez les enfants déficients en vitamine D ($25(OH)D < 50$ nmol/L)(81). Plus récemment, une étude rétrospective chez 90 enfants âgés entre 1 et 21 ans ayant l'AF a observé un plus grand nombre de visites à

l'urgence et d'hospitalisations chez les enfants déficients en vitamine D (25(OH)D <50 nmol/L)(77). Cette relation n'était toutefois pas significative après ajustement pour l'âge. La durée moyenne d'hospitalisation chez les enfants avec déficience en vitamine D était cependant plus grande (2,44 +/- 4,13 jours vs. 1,10 +/- 2,24 jours), et ce, même après ajustement pour l'âge. Chez les adultes, une étude en 2018 a observé des taux de 25(OH)D 20% plus bas chez les adultes ayant les génotypes les plus sévères de l'AF, soit les génotypes HbSS et HbS/B⁰ thalassémie(82). Toujours chez les adultes, une autre étude réalisée en 2019 chez 102 patients ayant l'AF a vu une relation entre les taux de 25(OH)D et le nombre d'hospitalisations et de visites à l'urgence (R= 0,175 p=0,04)(96). De plus, les patients qui s'étaient faits prescrire des suppléments de vitamine D ont eu moins d'hospitalisations que ceux n'ayant pas de prescription, à l'intérieur d'un même quartile pour les taux de 25(OH)D. En effet, pour les patients ayant une concentration de 25(OH)D se situant entre 0 et 36 nmol/L, ceux n'ayant pas de prescription en vitamine D avaient deux fois plus d'admissions à l'hôpital sur une période d'un an alors que pour les patients ayant une concentration de 25(OH)D se situant entre 36 et 61 nmol/L, c'était trois fois plus d'admissions(96). Bien que plusieurs études aient observé un lien entre différents marqueurs cliniques de sévérité de l'AF et les taux de 25(OH)D, plusieurs études n'ont pas vu de lien entre ceux-ci ou avec les différents génotypes de l'AF(87, 89, 97). Ainsi, une étude réalisée à Sainte-Justine chez 119 enfants suivis pour AF n'a pas observé de relation entre les taux de 25(OH)D et le nombre d'admissions à l'hôpital ou les durées d'hospitalisation(87). De plus, les taux de 25(OH)D n'étaient pas corrélés non plus aux génotypes de l'AF. Similairement, l'étude de Winters *et al.* n'a pas observé de corrélation entre les taux sériques de 25(OH)D et la fréquence de consultations pour douleur ou pour crises vaso-occlusives chez les adultes et les enfants ainsi qu'avec la durée moyenne de séjour à l'hôpital pour les adultes(89). Les études portant sur la relation entre la sévérité de l'AF et le statut en vitamine D souffrent des mêmes défauts méthodologiques que celles portant sur la douleur, soit des définitions divergentes de ce qui est mesuré, des études faites chez des populations différentes (enfants vs. adultes, génotypes, etc.) et des périodes temporelles étudiées très variées. Tous ces différences entre les études entraînent des résultats discordants ne permettant pas de conclure à un effet de la vitamine D sur la sévérité de l'AF.

1.3.3.3 Complications osseuses

Comme la vitamine D est reconnue pour ses actions sur la santé osseuse, il est anticipé que le statut nutritionnel en cette vitamine a un impact sur la santé osseuse des personnes atteintes d'AF. Chez les adultes ayant l'AF, une étude a vu une relation entre de faibles taux sériques de 25(OH)D (<50 nmol/L) et une DMO anormale, soit un score $T \leq 2,5$ de déviation standard (rapport de cotes de 1,14) (56). En effet, 50% des patients qui présentaient de l'ostéoporose dans cette étude avaient des taux moyens de 25(OH)D en-deçà de 25 nmol/L et seulement 10% des patients avaient des taux supérieurs à 62 nmol/L(56). Toujours chez les adultes, une autre étude a vu une association entre de très faibles taux de 25(OH)D (25(OH)D <15 nmol/L) et l'historique de fractures, de plus hauts taux de PTH, de telopeptides C-terminal de collagène de type 1 et de phosphatase alcaline osseuse(84). Dans cette étude, qui a été réalisée auprès de 56 adultes français ayant l'AF de génotype HbSS ou HbSC, il n'y avait toutefois pas de différence entre les patients ayant des taux de 25(OH)D supérieurs à 15 nmol/L vs. ceux en-deçà de 15 nmol/L pour ce qui est de la DMO, l'historique d'ostéonécrose avasculaire, les vertèbres en <<H>> et les marqueurs de sévérité de la maladie(84). Chez les enfants, peu d'études ont regardé le lien entre le statut en vitamine D et les complications osseuses. Parmi celles-ci, aucune corrélation n'a pu être établie entre les taux sériques de 25(OH)D et la DMO(86, 94, 98). Toutefois, une étude par Osunkwo *et al.* en 2011 réalisée chez 53 patients avec AF âgés entre 1 et 19 ans a vu une association entre de plus faibles taux de 25(OH)D et la fragilité osseuse, qui était définie par la présence de nécrose avasculaire ou de fractures résultant de compression vertébrale observées par radiographie(94). Enfin, dans l'étude réalisée à Sainte-Justine, les taux de 25(OH)D n'étaient pas différents chez les enfants qui avaient un historique de fractures dans les deux dernières années comparativement à ceux qui n'en n'avaient pas(87). Cependant, lorsque les taux de fractures étaient évalués sans égard au temps, les enfants qui avaient une déficience ou une insuffisance en vitamine D avaient eu plus de fractures que ceux en état de suffisance en vitamine D (11% et 21% vs. 3%, $p=0,043$)(87). Somme toute, les études portant sur les complications osseuses en regard du statut en vitamine D chez les personnes qui ont l'AF sont encore très peu nombreuses et se sont penchées sur des marqueurs très différents pour évaluer la santé osseuse, que ce soit en mesurant la DMO, des marqueurs osseux sériques ou en se basant sur l'historique de fractures et complications osseuses. De plus, les tailles d'échantillon de ces études sont relativement petites ne permettant pas toujours d'observer une relation statistiquement significative. Il faudra donc plus d'études sur le sujet afin de conclure à

une relation réelle entre le statut en vitamine D et les complications osseuses pour les personnes atteintes d'AF.

1.3.4 Supplémentation en vitamine D pour l'anémie falciforme

Peu d'études de supplémentation en vitamine D ont été réalisées pour le moment chez la population avec AF, ce sujet d'étude étant encore plutôt récent. En tout, 10 études de supplémentation ont été publiées et celles-ci sont, pour la plupart, des études de qualité variable réalisées sur de petites cohortes(47, 53, 55, 79, 97-102). Malgré le faible nombre d'études et les devis qui ne sont pas toujours robustes, les résultats semblent tout de même prometteurs.

1.3.4.1 Efficacité de la supplémentation

Seules 10 études de supplémentation en vitamine D ont été réalisées chez les personnes ayant l'AF. Parmi celles-ci, la plupart ont été réalisées chez des enfants (9 études sur 10)(47, 53, 55, 79, 97-101) et ont évalué la supplémentation en cholécalciférol donnée par voie orale (8 études sur 10)(47, 53, 55, 79, 98-101). Dans ces études, les posologies utilisées et la fréquence d'administration varient grandement : allant de 400 à 7 000 UI par jour à des bolus donnés de façon hebdomadaire, bi-mensuel ou mensuel allant de 12 000 à 600 000 UI. Toutes les études ont vu une amélioration des taux sériques de 25(OH)D à des degrés variables selon les posologies utilisées et les populations étudiées, ce qui suggère que les individus atteints d'AF ne présentent pas d'atteinte de l'absorption intestinale de vitamine D. Une étude utilisant une des posologies les plus faibles a été réalisée chez 58 garçons ayant l'AF âgés entre 2 et 6 ans avant une opération de circoncision. Dans cette étude à double aveugle, le groupe prenant 400 UI par jour avait des taux sériques de 25(OH)D de 81 nmol/L après 6 mois comparativement au groupe n'ayant rien reçu qui avait plutôt des taux moyens se situant à 39 nmol/L ($p < 0,001$)(99). Dans l'étude de Dougherty *et al.*, des supplémentations quotidiennes beaucoup plus importantes, soit de l'ordre de 4 000 UI à 7 000 UI de vitamine D₃, ont été administrées pendant 12 semaines chez 21 enfants ayant l'AF et 23 contrôles sains lors d'une étude randomisée contrôlée(79). Dans celle-ci, la déficience en vitamine D, soit des taux sériques de 25(OH)D de moins de 50 nmol/L, a été éliminée seulement pour les participants ayant reçus 7 000 UI par jour. Toutefois, aucun groupe n'a atteint la cible qui était des taux sériques de 25(OH)D de 80 nmol/L ou plus chez plus de 80% des participants. Pour ce qui sont des études utilisant des bolus

de vitamine D, l'étude randomisée contrôlée à double aveugle de Osunkwo *et al.* est une des mieux construites. Celle-ci est d'ailleurs la seule sélectionnée pour la revue de la littérature <<*Vitamin D supplementation for sickle cell disease*>>(103). Dans cette étude, 39 patients âgés entre 7 et 21 ans ont reçu, soit des doses de vitamine D variant entre 240 000 et 600 000 UI, ajustées selon le poids du participant, et données sur une période de 6 semaines(100) ou un placebo. Les deux groupes recevaient également des doses quotidiennes de 200 UI de vitamine D et 500 mg de calcium. Le groupe recevant le bolus de vitamine D a vu une augmentation statistiquement significative de ses taux de 25(OH)D : après 8 semaines, les taux s'étaient élevés de 29,79 nmol/L alors qu'après 16 semaines, les taux étaient plus élevés de 12,67 nmol/L comparativement aux dosages initiaux. Le groupe n'ayant reçu que 200 UI par jour n'a vu aucune augmentation dans ses taux sériques de 25(OH)D. Toutefois, le taux d'abandon était très élevé dans le groupe placebo avec 13 enfants sur 19 abandonnant avant la fin de l'étude, ce qui a pu biaiser les résultats. Une des études de supplémentation ayant le plus de participants a comparé des bolus mensuels de 100 000 UI vs. 12 000 UI de vitamine D₃ donnés sur une période de 2 ans chez 62 enfants(55). Après 20 mois, le groupe recevant 100 000 UI par mois avait des taux de 25(OH)D à 92 nmol/L alors que le groupe recevant des bolus de 12 000 UI était à 48 nmol/L. Initialement, les taux de 25(OH)D moyens étaient de 36 nmol/L, donc les deux groupes ont vu une amélioration de leur statut nutritionnel en vitamine D, bien que cette amélioration ait été moins grande chez le groupe recevant 12 000 UI. Plus récemment, une étude longitudinale a évalué l'efficacité d'une supplémentation prophylactique en vitamine D chez 80 enfants avec AF(98). Les doses évaluées étaient de 800 UI/jour ou entre 25 000 et 50 000 UI/mois. Les doses mensuelles n'ont pas pu être évaluées pour ce qui est de leur efficacité, puisque ces doses ont été ajustées selon les taux initiaux de 25(OH)D dans le but de corriger plus efficacement la déficience ou insuffisance en vitamine D des enfants. Dans cette étude, l'âge auquel les patients ont débuté la supplémentation prophylactique en vitamine D était négativement relié à leurs taux de 25(OH)D. Selon les analyses multivariées, la supplémentation de 800 UI/jour de vitamine D était considérée comme un facteur de protection pour atteindre des taux de 25(OH)D suffisants (25(OH)D \geq 75 nmol/L). Cependant, seuls 15 des 80 enfants à l'étude recevaient une supplémentation quotidienne et les enfants non adhérents à leur supplémentation ont été exclus de l'étude, ce qui limite la portée des résultats obtenus. Les autres études faites chez les enfants avec une supplémentation en vitamine D₃ ont été réalisées spécifiquement chez des enfants

ayant une déficience ou une insuffisance en vitamine D dans le but de rétablir leurs taux de 25(OH)D à des taux suffisants ou optimaux et ont, elles aussi, été efficaces à augmenter les taux de 25(OH)D(47, 53, 97, 101). Enfin, seules deux études ont évalué la supplémentation en vitamine D₂ : une réalisée chez des enfants déficients en vitamine D sous programme transfusionnel (audit de pratique clinique) et une autre réalisée chez des adultes. Dans la première, les taux moyens de 25(OH)D des enfants sont passés de 15 nmol/L à 70 nmol/L pour les enfants qui ont reçu une dose intra-musculaire de 300 000 UI d'ergocalciférol(97). En comparaison, les enfants ayant été traités pendant 4 jours avec une haute dose de cholécalciférol (20 000 UI si l'enfant pesait moins de 30 kg et 40 000 UI lorsque le poids était plus élevé que 30 kg) ont vu leurs taux moyens s'élever de 28 à 112 nmol/L. Les auteurs mentionnent ainsi avoir vu une plus grande augmentation de la 25(OH)D chez les enfants ayant reçu les doses de cholécalciférol bien qu'il n'y avait pas de différence significative dans le nombre de jours de suffisance en vitamine D après le traitement. Dans la deuxième étude, la seule réalisée uniquement chez des adultes, 14 personnes ont reçu une supplémentation en vitamine D₂ pendant 12 mois (doses de 50 000 UI par semaine pendant 8 semaines, puis une semaine sur deux pendant 44 semaines) en combinaison avec 1 000 mg de calcium carbonate. Tout comme les enfants, ceux-ci ont vu une normalisation de leurs taux de 25(OH)D avec une moyenne de 86 nmol/L post-traitement comparativement à une moyenne de 29 nmol/L pré-traitement.

En somme, la supplémentation en vitamine D₃ semble efficace pour rétablir les taux de 25(OH)D à des niveaux suffisants chez les enfants avec AF. Toutefois, les posologies et fréquence de traitement optimaux restent à déterminer chez cette population, les posologies correspondant aux recommandations standards n'étant pas toujours efficaces pour normaliser le statut en vitamine D de ces enfants. De plus, il y a encore très peu de données sur la supplémentation en vitamine D₂ chez cette population, bien que les résultats actuels semblent démontrer que celle-ci serait efficace également pour normaliser les taux de 25(OH)D.

1.3.4.2 Sécurité

Parmi les études réalisées chez des personnes ayant l'AF, seules deux, réalisées par le même chercheur, ont relevé un effet secondaire relié à la supplémentation, soit le picotement des mains et des pieds ou le picotement des lèvres et des mains(53, 100). La première est une étude de cas chez une adolescente déficiente en vitamine D qui a reçu des doses de 50 000 UI de cholécalciférol deux fois par semaine pendant quatre semaines et qui a expérimenté un picotement des mains et des pieds(53). Le problème est disparu suite à la supplémentation concomitante de 1 000 mg de calcium carbonate par jour. Dans la deuxième étude, les enfants participants ont reçu des doses de vitamine D ajustées pour leur poids, allant de 240 000 à 600 000 UI données sur une période de 6 semaines(100). Un des participants a rapporté avoir ressenti un picotement des lèvres et des mains suite à la supplémentation, sans autre effet secondaire. Toutes les études de supplémentation ayant eu lieu jusqu'à ce jour sur la supplémentation en vitamine D pour l'AF n'ont pas reporté d'intoxication à la vitamine D ni d'hypercalcémie ou d'excrétion augmentée de calcium dans les urines, bien que ce ne soit pas toutes les études qui en font explicitement mention. Pour ce qui sont des taux de 25(OH)D considérés comme toxiques ou trop élevés, ceux-ci varient selon les auteurs, mais la plupart des études considèrent des taux supérieurs à 250 nmol/L comme pouvant possiblement être reliés à une intoxication. Dans l'étude de Dougherty *et al.*, ayant évalué la sécurité et l'efficacité de deux doses journalières de vitamine D (4 000 UI ou 7 000 UI) pour les enfants avec AF, ceux-ci ont vu des taux maximums de 25(OH)D allant jusqu'à 270 nmol/L pour le groupe d'enfants recevant 7 000 UI/ jour(79). Or, les auteurs considèrent que les taux de 25(OH)D problématiques se situent plutôt au-delà de 400 nmol/L et ne soulèvent donc pas ce résultat comme étant problématique alors que celui-ci aurait été considéré comme un taux excessif de 25(OH)D selon les critères de la plupart des autres études de supplémentation en vitamine D pour l'AF. Dans les autres études, les taux maximums de 25(OH)D ne dépassent pas 250 nmol/L chez aucun participant. Ainsi, la supplémentation en vitamine D semble bien tolérée selon les quelques études faites sur le sujet démontré par la quasi absence d'effets secondaires rapportés ainsi que par l'absence d'épisodes d'hypercalcémie ou d'excrétion urinaire excessive de calcium. Toutefois, des doses journalières de 7 000 UI ont causé au moins un participant à atteindre des taux de 25(OH)D supérieurs à 250 nmol/L, ce qui, selon plusieurs auteurs, pourraient être associés à des risques augmentés d'intoxication en vitamine D.

1.3.4.3 Douleur

Certains des effets positifs rapportés d'une supplémentation en vitamine D chez les enfants ayant l'AF sont la diminution de la douleur ainsi que l'amélioration de la qualité de vie. Ainsi, dans l'étude randomisée contrôlée à double aveugle de Osunkwo *et al.*, de meilleurs scores pour la qualité de vie et pour l'activité physique ont été rapportés chez le groupe supplémenté(100). De plus, il y avait moins de jours de douleur lors du pic de vitamine D. Par contre, la douleur chronique et les scores pour la qualité de vie n'étaient pas corrélés au statut initial en vitamine D, laissant penser que la supplémentation aurait des bénéfices même lors de taux adéquats de vitamine D. Une autre étude de supplémentation en vitamine D chez 58 garçons en attente d'une chirurgie de circoncision a observé quatre fois moins de crises de douleur suite à l'opération et un moins grand besoin d'analgésie par jour pour les enfants qui avaient reçu la supplémentation en vitamine D avant l'opération comparativement aux enfants qui n'avaient pas été supplémentés avant l'opération(99). Cependant, une limite importante de cette étude, outre la taille de l'échantillon et le fait que seuls des garçons étaient inclus dans l'étude et que les enfants étaient suivis seulement pour les 24h après l'opération(99). Une histoire de cas d'une jeune femme de 16 ans ayant l'AF et souffrant de douleur chronique et de mal de tête a vu une résolution complète de ses symptômes dès la 14^e semaine d'une supplémentation hebdomadaire de cholécalciférol(53). La jeune femme était déjà sous traitement optimal d'hydroxyurée tel que démontré par les marqueurs hématologiques, sans soulagement de ses douleurs(53). Les auteurs de l'article pensent donc que sa déficience en vitamine D - celle-ci avait des taux de 25(OH)D de 20 nmol/L - était un élément contributif à ses douleurs(53). Enfin, en 2020, une étude rétrospective incluant 110 enfants âgés entre 8 et 16 ans et ayant l'AF a observé une diminution du nombre de visites à l'urgence pour douleur chez les enfants supplémentés en vitamine D lorsque ceux-ci atteignaient la suffisance en vitamine D(76). Toutefois, dans cette étude, les enfants supplémentés en vitamine D n'avaient pas moins de visite à l'urgence pour douleur que les enfants non supplémentés. De plus, il n'y avait pas de différence dans le nombre de visites à l'urgence pour douleur selon le statut en vitamine D des enfants (déficient vs. insuffisant vs. suffisant).

1.3.4.4 Hématologie et inflammation

La supplémentation quotidienne en vitamine D (4 000 ou 7 000 UI/jour) a permis une amélioration modeste de l'hématologie, soit une augmentation de l'HbF et une diminution du nombre de patients ayant un décompte plaquettaire élevé, ainsi qu'une amélioration du statut inflammatoire, par la diminution de la CRP à haute sensibilité dans l'étude de Dougherty *et al*(79). À cet effet, une autre étude de supplémentation dans laquelle 12 enfants ayant un statut sous-optimal en vitamine D ont été supplémentés avec 2 000 UI/jour pour 3 mois a vu une diminution de plusieurs cytokines pro inflammatoires et une augmentation de la cytokine anti-inflammatoire IL-11(47). Bien que les résultats semblent prometteurs, seules deux études de supplémentation en vitamine D chez les personnes ayant l'AF ont évalué l'impact sur l'hématologie et l'inflammation : d'autres études sont donc nécessaires pour confirmer ces résultats.

1.3.4.5 Santé osseuse

Très peu d'études ont évalué l'effet de la supplémentation en vitamine D sur la santé osseuse à long terme. Dans une étude de Williams *et al.*, quatre enfants avec AF ayant une déficience sévère en vitamine D ($25(\text{OH})\text{D} < 12,5 \text{ nmol/L}$) ont été supplémentés en vitamine D sur une période de deux ans(101). Les enfants, qui étaient âgés entre 11 et 16 ans, ont reçu une supplémentation de 100 000 UI de vitamine D₃ une semaine sur deux pendant huit semaines, puis une fois par mois pour vingt-deux mois. Cette supplémentation a permis de normaliser les taux de 25(OH)D de ces enfants sans entraîner de complications et, après trois mois, les taux de 25(OH)D des participants étaient tous entre 70 et 122 nmol/L. Après douze mois de supplémentation, la DMO à l'avant-bras ou à la colonne vertébrale s'est améliorée de façon statistiquement significative pour trois des enfants (amélioration de 10,1% à 16,2%) (101). Une autre étude chez 14 adultes a mesuré l'impact d'une supplémentation de 50 000 UI de vitamine D₂ hebdomadaire pendant huit semaines, puis une semaine sur deux pendant quarante-quatre semaines, combinée à une supplémentation de carbonate de calcium (1 000 mg de carbonate de calcium chaque jour pendant cinquante-deux semaines) sur les taux sériques de 25(OH)D, la DMO au col du fémur, au rachis lombaire et au tiers distal du radius et de l'ulna ainsi que les marqueurs de résorption (CTx) et de formation osseuse (ostéocalcine) après douze mois(102). En plus de normaliser les taux de 25(OH)D, la supplémentation a également permis d'améliorer la DMO de façon statistiquement significative à presque tous les sites à l'exception du tiers

distal du radius et de l'ulna(102). Enfin, dans l'étude de cas réalisée chez une adolescente avec douleur chronique qui a été traitée par une supplémentation en vitamine D, les auteurs ont vu une amélioration de la DMO à la colonne vertébrale lombo-sacrée et au corps entier de 11% après deux ans(53). Bien que les résultats soient encourageants, les études ayant évalué l'impact de la supplémentation en vitamine D sur la santé osseuse ont toutefois été faites sur un nombre restreint de participants et n'avaient pas de groupe placebo, ce qui limite la portée des résultats.

1.3.4.6 Autres complications

Outre les complications déjà abordées, seule une étude a évalué l'impact d'une supplémentation en vitamine D sur un autre type de complication chez la population avec AF, soit les complications respiratoires. Dans l'étude randomisée contrôlée de supplémentation en vitamine D de Lee *et al.*, réalisée chez 62 patients avec AF, des doses de 100 000 UI ou 12 000 UI par mois ont été administrées aux participants pendant deux ans(55). Au bout de deux ans, une diminution de plus de 50% du nombre de maladies respiratoires a été observée, et ce, autant pour les patients recevant les doses de 100 000 UI que ceux recevant les doses de 12 000 UI. Par contre, les taux de 25(OH)D étaient très différents pour les deux groupes : ceux ayant reçus le bolus de 100 000 UI avaient des taux de 25(OH)D de 90 nmol/L alors que ceux ayant reçu la dose standard avaient des taux à 48 nmol/L à la fin de l'étude. Les auteurs supposent que les taux sériques de 25OHD nécessaires pour avoir des répercussions sur la santé pulmonaire sont probablement moins élevés que pour la santé osseuse, expliquant l'amélioration du nombre de maladies respiratoires malgré la différence dans les taux sanguins.

Chapitre 2 : Article scientifique

Les objectifs de l'étude pilote étaient d'évaluer la faisabilité, l'acceptabilité et la sécurité d'un bolus oral de 300 000 UI de vitamine D₃ combiné à une supplémentation quotidienne de 1 000 UI de vitamine D₃ donné à des enfants suivis à la clinique d'AF du CHU Sainte-Justine. Cette étude avait aussi comme objectifs d'évaluer l'efficacité d'une telle supplémentation pour élever les taux de 25(OH)D après 3 mois ainsi que ses impacts cliniques, notamment sur la douleur musculosquelettique, la qualité de vie, la santé osseuse et l'hématologie.

L'article ci-dessous sera soumis à *British Journal of Haematology* sous peu. Il présente la problématique, l'hypothèse, les objectifs et la méthodologie de l'étude, les résultats principaux et les conclusions qui en sont ressorties. Des informations complémentaires sur la méthodologie et les résultats, non mentionnées dans l'article, ainsi qu'une discussion plus étoffée, sont présentées à la suite de l'article.

Comparison of two vitamin D supplementation strategies in children with sickle cell disease: A Pilot Randomized Controlled Trial

Pascale Grégoire-Pelchat, RD^{1,2}, Nathalie Alos MD^{2,3}, Sylvie Lemay, PhD, RN⁴, Ali Khamessan, PhD⁵, Niina Kleiber, MD², Carine Nyalendo, PhD^{2,6}, Nancy Gagné, MD^{3,7}, Yves Pastore MD^{2,8}, Nancy Robitaille MD^{2,8}, Geneviève Mailhot, PhD, RD^{1,2}

Affiliations: ¹Department of Nutrition, Université de Montréal, ²Research Center, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine, ³Endocrinology Division, ⁴Faculty of nursing, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine, ⁵Euro- Pharm International Canada Inc, Montreal, Québec, Canada, ⁶Department of Biochemistry, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine, ⁷Sherbrooke University Hospital Research Center, ⁸Hemato-oncology Division, Department of Pediatrics, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine.

Address correspondence to:

Genevieve Mailhot, Ph.D., RD

Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Unit

CHU Ste-Justine Research Center

3175 Cote Sainte-Catherine Rd,

Montreal, QC,

Canada, H3T 1C5

Phone: 514-345-4931 (ext. 6200), Fax: 514-345-4999

E-mail: genevieve.mailhot@umontreal.ca

Funding: This study received funding from the Sickle Cell Disease Association of Canada

Abbreviations:

AE: Adverse events

RDA: Recommended dietary allowance

SAE: Serious adverse events

SCD: Sickle cell disease

25OHD: 25-hydroxyvitamin D

AUTHORS' CONTRIBUTION STATEMENT

Ms Grégoire-Pelchat: Performed data collection, performed the analysis and interpretation of data, drafted the manuscript, critically reviewed the manuscript and approved the final manuscript as submitted.

Dr Alos: Conceptualized and designed the study, was responsible for overseeing the patient safety assessment of the study, participated in the analysis and interpretation of data, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr LeMay: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Khamessan: Developed and provided the placebo and high- dose vitamin D supplement, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Kleiber: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Nyalendo: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Gagné: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Pastore: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Robitaille: Participated to study design and data interpretation, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

Dr Mailhot: Conceptualized and designed the study, participated in the analysis and interpretation of data, and the drafting of manuscript, critically reviewed the manuscript, and approved the final manuscript as submitted.

All authors approved the final manuscript as submitted and agree to be accountable for all aspects of the work.

ABSTRACT

Background: Vitamin D deficiency is highly prevalent in children with sickle cell disease (SCD) and may participate in disease exacerbation and complications such as pain crises and bone complications. Previously, we showed that nearly 70% of children followed in our SCD Clinic were vitamin D deficient (<50 nmol/L) and had low vitamin intake with poor use of supplements. Clinically, vitamin D-deficient children had a worse hematological profile than vitamin D-sufficient children. These findings led us to pilot an intervention to overcome these issues.

Objectives: Primary: Assess feasibility, acceptability, and safety of a single oral bolus of 300,000 IU of vitamin D₃ combined to daily 1,000 IU vitamin D₃ for 3 months in children with SCD. Secondary: assess the mean change in serum 25(OH)D from baseline to 3 months post-bolus and its clinical impact.

Procedure: Children with SCD (5-17 years, all genotypes) were randomized to a single bolus of vitamin D₃ (300,000 IU) or placebo. All children received prescription for daily 1,000 IU vitamin D₃. Blood was collected at baseline and 3 months post-bolus to measure serum 25OHD and calculate the change from baseline at 3 months (efficacy outcomes). Other outcomes included urinary calcium/creatinine ratio and serum calcium (safety), musculoskeletal pain, quality of life, hematology and bone markers (exploratory outcomes).

Results: Thirty-eight children were included (mean age 10.1 +/- 3.6 years; 63% HbSS, 29% HbSC and 8% S/β thal⁺): 18 received the vitamin D bolus and 20 the placebo. At baseline, serum 25(OH)D levels were 75 +/- 27 nmol/L and 50% of children were vitamin D insufficient (<75 nmol/L). In children who took the bolus, 25(OH)D levels raised to 94 nmol/L post 3 months and rates of vitamin D insufficiency dropped to 17%, while for placebo, 25(OH)D levels were 74 +/-19 nmol/L post 3 months and rates of vitamin D insufficiency were 45% (p=0.001). No hypercalcemia, hypercalciuria nor hypervitaminosis D (>250 nmol/L) occurred during the study period, but more children in the bolus group experienced gastro-intestinal symptoms in the first month following the bolus compared to the placebo group. Reticulocytes counts were lower at the end of the study in children from the bolus group. No other clinical effects of the intervention were observed.

Conclusions: The use of a high-dose vitamin D bolus combined to daily supplementation in children with SCD were more efficient in raising 25(OH)D levels ≥75 nmol/L than daily supplementation alone. Large-scale multicenter studies of longer duration are needed to ascertain whether such intervention has any impact on improving outcomes of children with SCD.

INTRODUCTION

Sickle cell disease (SCD) is one of the most prevalent and severe monogenic diseases around the world, with more than 300,000 children born with the genotype HbSS in 2010(1). SCD is caused by a mutation in the gene encoding the β -globin protein, leading to sickling of red blood cells and subsequent vaso-occlusion of blood vessels. Children with SCD suffer from multiple complications including recurrent painful episodes called vaso-occlusive crisis, bacterial infections, strokes and bone complications, such as avascular necrosis and osteomyelitis, which lead to recurrent emergency department visits and hospitalizations(1).

One of the most common micronutrient deficiencies reported in children with SCD is vitamin D deficiency, with prevalence ranging from 56% to 96%(2). Compared to healthy children of the same ethnicity, children with SCD have more profound vitamin D depletion(3-8). The exact reason for this vitamin D depletion is unknown. Among possible reasons are sickle cell nephropathy, leading to hyperfiltration during childhood and kidney proximal tubule dysfunction leading to reduced vitamin D binding protein (DBP) reabsorption and decreased expression of enzymes involved in the metabolism of vitamin D(9).

Beyond its role in bone health, vitamin D may also have immunomodulatory and anti-inflammatory actions that could benefit children with SCD(10). Consequently, sufficient vitamin D status ($25(\text{OH})\text{D} \geq 75 \text{ nmol/L}$) could decrease the occurrence and severity of complications, notably by reducing inflammation which contributes to vaso-occlusion in SCD(3). As such, higher $25(\text{OH})\text{D}$ blood levels in children with SCD supplemented with vitamin D were associated with fewer pain-related emergency department visits(11) whereas a correlation was found between $25(\text{OH})\text{D}$ levels and the number and length of hospitalizations(12).

We recently reported a high frequency of vitamin D deficiency ($25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$) in children with SCD followed at Sainte-Justine University Hospital (HSJ), a large tertiary center in Montreal, Canada(13). Vitamin D intake was low and few children were using vitamin D supplementation(13). This study highlighted the need for an intervention that would address the issues of low intake of vitamin D and poor use of supplements while correcting the high prevalence of vitamin D deficiency in this population. As such, we undertook a double blind randomized controlled trial comparing the effect of a single oral bolus of 300,000 IU vitamin D₃ to a placebo bolus. All children were also prescribed daily 1,000 IU vitamin D₃ to comply with Canadian guidelines for SCD children(14). Our primary objectives were to assess the acceptability, feasibility and safety of the intervention. Secondly, we aimed to assess the efficacy of the supplementation to raise 25(OH)D at sufficient levels ($25(\text{OH})\text{D} \geq 75 \text{ nmol/L}$) and collect exploratory data about the clinical impact of the vitamin D bolus.

METHODS

Participants

The study population consisted of children aged 5 to 17 years old who attended the SCD clinic of HSJ in Montreal between November 15th 2018 and September 30th 2019. HSJ is the largest pediatric tertiary center in the province of Quebec (Canada). Its dedicated SCD program follows one of the largest pediatric Canadian cohorts of more than 369 patients (as of September 2019). Participants were included independently of their vitamin D status at baseline. Exclusion criteria were a history of urolithiasis, administration of drugs interfering with calcium and vitamin D absorption or metabolism, hypercalcemia, rickets or any bone disease requiring vitamin D supplements. Poor compliance to follow-up, ongoing participation to another study,

hospitalization for vaso-occlusive crisis in the last two weeks and unresolved pain were other reasons for exclusion.

Trial design

This study was a double-blind controlled pilot trial (Clinicaltrials.gov ID: NCT03417947) comparing a single oral bolus of 300,000 IU vitamin D₃ (6 mL volume of a 50,000 IU/mL vitamin D₃ preparation) to a placebo bolus, identical in taste and appearance (Euro-Pharm International Canada, Montreal, Canada). Allocation to the bolus or placebo was done in the HSJ central pharmacy by a 1:1 ratio using computer generated randomly permuted blocks of size 8. With the exception of the pharmacy team, research team and participants were blinded to the group allocation. Participants took the bolus at the clinic and were prescribed daily 1,000 IU vitamin D₃ to comply with current Canadian guidelines(14).

Vitamin D and calcium intake of the children were assessed at baseline and at the end of study as described previously(13). Children who did not meet the age-specific estimated average requirement for calcium at baseline were prescribed calcium supplements by a pediatric endocrinologist (NA) to prevent the risk of a hypocalcaemic event following the vitamin D bolus. Urinary calcium/creatinine ratios were performed at baseline and at 7 to 10 days and 3 months after the bolus to assess the safety of the intervention, since hypercalciuria could favor kidney stones(15). Families also received weekly phone calls to enquire about any possible adverse events (AE). A safety monitoring board was established to review any untoward occurrence of AE during the study period. AE included reduction of appetite, diarrhea, constipation, nausea, vomiting, pain, headache, frequent urination, thirst, muscle weakness, tingling of the lips and hands and fatigue. Confusion, lost of hearing, coma or any other serious

medical conditions were considered serious adverse events (SAE). All participants were seen for study closure at 3 months +/- 2 weeks corresponding to the next clinic visit, or to an extra scheduled visit, to perform the final blood drawing and fill the study questionnaires.

Outcome measures

The primary outcomes included feasibility, acceptability and safety of the intervention. Feasibility was assessed by: 1) screen failure and 2) recruitment and attrition rates. Acceptability was assessed by: 1) reasons for participation refusal and 2) adherence to the bolus and daily supplementation as well as response rates to questionnaires. Safety was assessed by: 1) urinary calcium/creatinine ratio at 7 to 10 days and 3 months post bolus, 2) ionized calcium 3 months post bolus, 3) presence of hypervitaminosis D ($25(\text{OH})\text{D} > 250 \text{ nmol/L}$) after 3 months and 4) reported AE during the course of the study. Secondary outcomes included the intervention efficacy in raising $25(\text{OH})\text{D}$ levels at sufficient levels ($25(\text{OH})\text{D} \geq 75 \text{ nmol/L}$) after 3 months compared to placebo and improvements in clinical outcomes relevant to the SCD population (hematology, bone markers, complications related to SCD, quality of life, musculoskeletal pain and severity of SCD).

Serum 25(OH)D levels

Blood drawing at baseline and 3 months post-bolus was performed by the nurses of the SCD clinic as part of the clinical routine following the Canadian recommendations(14). Seasons for blood drawing were defined as winter (December 21st to March 20th), spring (March 21st to June 20th), summer (June 21st to September 20th) and fall (September 21st to December 20th). Baseline and post-3 months serum $25(\text{OH})\text{D}$ were measured in batches by tandem mass spectrometry at the Clinical Biochemistry Service of Sainte-Justine UHC. Vitamin D insufficiency was defined

as 25(OH)D levels below 75 nmol/L (30 ng/mL) while vitamin D deficiency was defined as levels below 50 nmol/L (20 ng/mL) and hypervitaminosis D as levels higher than 250 nmol/L (100 ng/mL)(16).

Vitamin D supplementation and dietary intake

Compliance to vitamin D supplementation was self-reported by the family and the participants at the end of the study and was assessed based on the number of days of supplement use per week. Participants who reported average supplement intake of 4 or more days per week were considered compliant. Dietary intake of calcium and vitamin D were estimated using the Canadian Nutrient file and assessed by comparing intakes to the recommended dietary allowance (RDA) as previously described(13).

Exploratory measures

Quality of life was measured by the quality of life inventory (PedsQL, version 4.0)(18) and musculoskeletal pain by the Brief Pain Inventory (BPI)(19) at baseline and end of study. The degree of sun exposure was also evaluated at both time points as previously described(13). The following information was extracted from medical records: growth (e.g. height, weight and BMI), hematology and biochemistry parameters (complete blood counts, lactate dehydrogenase, fetal hemoglobin, bilirubin and creatinine), SCD complications and severity of the disease, measured by the number of visits to the emergency department and hospital admissions during the course of the study, as well as patient demographics (e.g. age, sex) and genotype (e.g. HbSS, HbSC, S/ β^+ -thalassemia, others). Z-scores for height, weight and BMI were computed using the World Health Organization (WHO) growth charts for Canada(20).

Bone markers

Parathyroid hormone (PTH), ionized calcium, phosphorus and alkaline phosphatase were measured at baseline as well as post 3 months for PTH and ionized calcium at the Clinical Biochemistry Service of HSJ. PTH was assessed by immunochimiluminescence assay (Immulite 2000, Siemens), ionized calcium with a selective ion electrode (Radiometer ABL 835) and phosphorus by photometry (phosphomolybdate). Markers of bone resorption (C-telopeptides (CTX)) and formation (PINP) were measured at baseline and at the end of study for all participants. Blood was centrifuged and serum kept at -80°C. Markers were then measured in batches using ELISA kits at study completion.

Sample size

We based our sample size calculations on the anticipated proportion of children with vitamin D sufficiency (25(OH)D levels ≥ 75 nmol/L) at 3 months in both treatment arms. Based on previous published data, 98% of children with SCD who received a monthly bolus of 100,000 IU vitamin D₃ were vitamin D sufficient for the final 20 months of the 24-month study(21). In this study, 25% children in the standard-dose group (bolus doses of 12 000 IU/month, corresponding to 400 IU/day) were in the sufficient range. Since children in our placebo group were instructed to take 1,000 IU vitamin D₃/day, we speculated that a higher proportion of children will be vitamin D sufficient at the end of study than that reported previously(21). We thus estimated that a proportion of 50% of children from the placebo group will be vitamin D sufficient at 3 months. To detect a difference of 48% in group proportions with a power of 95% and an alpha of 0.05, we aimed to recruit 19 children per arm (G*Power, version 3.1.9.4).

Statistical analysis

Analyses were performed with the intention-to-treat principle. Intergroup differences between baseline and end of study were assessed with the parametric Student's *t*-test or the non-parametric U Mann Whitney test for continuous variables while categorical variables were analyzed using the X^2 test or the Fisher's exact test. Models were adjusted for age, sex, genotype, compliance to daily vitamin D supplementation and hydroxyurea treatment when necessary. Intragroup differences were assessed using the paired Student's *t*-test. Variables with p values <0.05 were considered significant. Exploratory subanalyses were performed on variables that may have influenced the response to the intervention such as genotype, seasons and baseline 25(OH)D levels. Data unblinding occurred at the end of study, after completion of preliminary analyses on the main results. All analyses were performed with SPSS Version 25 (IBM Corp, Armonk, NY).

RESULTS

Characteristics of the study population

Among a cohort of 369 children, 145 (39%) were deemed eligible to participate of which 97 (67%) were approached by the research team. Of those who were approached, 54 refused to participate (56%) and 3 (3%) were deemed not eligible to participate after further investigation (one started a new medication interfering with the metabolism of calcium or vitamin D, one developed a bone complication requiring follow-up and one did not speak French). Main reasons for refusal were: lack of interest (30%, n=16) or time to participate (19%, n=10) and needed more time to think about it (17%, n=9). The flowchart of the study is illustrated in Figure 1,

while reasons for screen failures and non-approach are presented in Supplemental Tables 1 and 2.

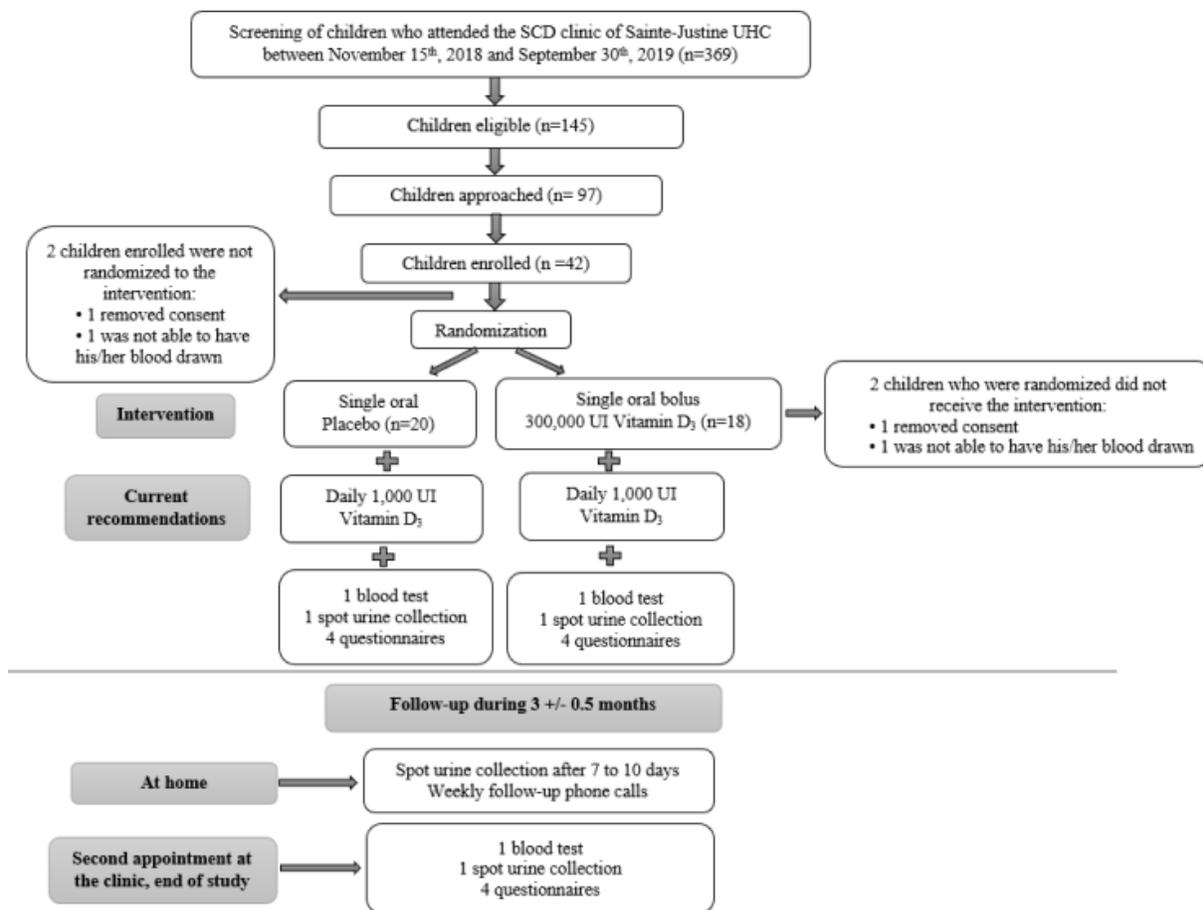


Figure 1: Trial schema

Of the 42 children initially consented, 2 eventually removed consent before randomization and 2 were excluded from study participation due to the impossibility of drawing blood at baseline. Thus, 38 children were included and randomized: 18 received the vitamin D bolus while 20 received the placebo. There were no differences between the two groups (Table 1) and between study participants and the overall HSJ SCD cohort.

Eighty-nine percent of the participants were already under daily vitamin D supplementation before study initiation (94% of those children were prescribed vitamin D supplements at the SCD clinic). Among supplement users, 70% reported taking daily doses of 1,000 IU. The average frequency of supplement use was 5.7 days/week and 82% of the participants reported being adherent to their supplementation. At baseline, 74% of the children were allegedly meeting the RDA for their total intake of vitamin D and only 32% were meeting the RDA for calcium.

Compliance to the oral bolus of vitamin D or placebo given at the clinic was 100% and all participants completed the study. Overall reported compliance to daily supplementation of vitamin D during the study was 6.2 +/- 1.7 days/week and did not differ between the bolus and placebo group (6.4 +/- 1.3 days/week vs. 6.0 +/- 2.0 days/week, p=0.385). Response rates to questionnaires were 100% for the parents and almost 100% for the children whereas compliance was 100% for the spot urine collection.

Table 1: Baseline characteristics of study participants

	<i>Vitamin D bolus (n=18)</i>	<i>Placebo (n=20)</i>	<i>P value</i>
<i>Age, y</i>	9.4 +/- 3.4	10.8 +/- 3.8	0.250
<i>Girls</i>	8 (44)	7 (35)	0.552
<i>Sickle cell genotype</i>			0.522
<i>HbSS</i>	13 (72)	11 (55)	
<i>HbSC</i>	4 (22)	7 (35)	
<i>S/β thal⁺</i>	1 (6)	2 (10)	
<i>Hydroxyurea</i>	13 (72)	12 (60)	0.428
<i>Z scores for height</i>	0.50 +/- 1.02	0.07 +/- 1.10	0.233
<i>Z scores for weight</i>	0.44 +/- 0.87	-0.01 +/- 1.19	0.204
<i>Z scores for BMI</i>	0.20 +/- 0.85	-0.08 +/- 1.23	0.436
<i>25(OH)D, nmol/L</i>	78 +/- 29	73 +/- 25	0.550
<i>Total vitamin D intake, IU/d</i>	929 +/- 313	999 +/- 671	0.688
<i>Dietary vitamin D, IU/d</i>	173 +/- 111	193 +/- 122	0.615
<i>Use of vitamin D supplement</i>	17 (94)	17 (85)	0.606
<i>Adherence to vitamin supplementation (≥4days/week)</i>	86 +/- 23	77 +/- 38	0.412
<i>Total calcium intake, mg/d</i>	1015 +/- 426	896 +/- 483	0.427
<i>Dietary calcium, mg/d</i>	951 +/- 382	847 +/- 453	0.450
<i>Amount of time spent outdoors, min/d</i>	92 +/- 53	102 +/- 61	0.583
<i>Seasons of recruitment</i>			0.883
<i>Winter</i>	3 (17)	5 (25)	
<i>Spring</i>	8 (44)	6 (30)	
<i>Summer</i>	4 (22)	6 (30)	
<i>Fall</i>	3 (17)	3 (15)	

Continuous variables are expressed as means +/- standard deviation (SD) whereas categorical variables are expressed as n (%). Continuous variables were tested using the Student's t-test while categorical variables were tested with X² test or the Fisher's exact test.

Safety of the intervention

No episodes of hypercalciuria and hypercalcemia and no hypervitaminosis D were recorded during the course of the study. Serum calcium showed neither between-group differences nor within-group differences at the end of the study compared to baseline. Urinary ratios of calcium/creatinine measured at 3 time points over the study were similar between the placebo and bolus groups (Figure 2).

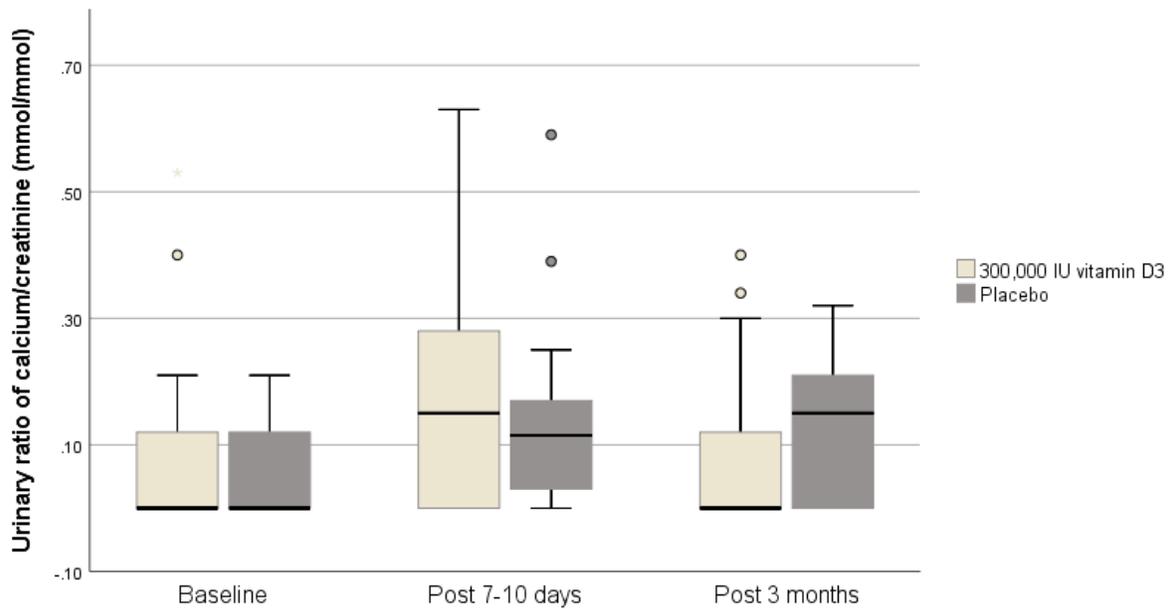


Figure 2: Urinary ratio of calcium/creatinine (mmol/mmol) at baseline, 7 to 10 days and 3 months post bolus in the two groups. Urinary ratios were not different between the two groups (Baseline: 0.077 +/- 0.155 mmol/mmol for the bolus group vs. 0.062 +/- 0.076 mmol/mmol for the placebo group, p=0.698; Post 7 days: 0.175 +/- 0.192 mmol/mmol for the bolus group vs. 0.146 +/- 0.151 mmol/mmol for the placebo group, p=0.622; Post 3 months: 0.078 +/- 0.133 mmol/mmol for the bolus group vs. 0.121 +/- 0.112 mmol/mmol for the placebo group, p=0.291)

Sixty-four AE were reported in 28 participants and none were suspected to be related to the intervention (Supplemental Table 3). There tended to be more children reporting AE within the first month of the bolus intake in the bolus group vs. placebo group (63% vs. 37%, p=0.051). Similarly, more AE were reported in the first study month in the bolus group (1.11 +/- 1.13 vs. 0.45 +/- 0.69; p=0.034). This difference remained at the limit of significance after adjustment for hydroxyurea treatment, age, genotype and sex (bolus: 1.06 +/- 0.23 vs. placebo: 0.49 +/- 0.22; p=0.088). No differences in 25(OH)D levels were observed at the end of the study for children who reported AE in the first study month vs. those who reported none (87 +/- 24 nmol/L vs. 84 +/- 24 nmol/L, p=0.685). While there were fewer reported pain crises and chronic pain for children in the bolus group in the first study month, the difference was not statistically

significant (bolus: 5.6% vs. placebo: 20%; $p=0.344$). Gastrointestinal-related AE (i.e. vomiting, diarrhea, constipation and abdominal pain) were reported more often in the bolus group (33% vs. 5%, $p=0.038$). Beyond 1 month, rate of AE (47% vs. 53%, $p=1.000$) and number of AE per participant (1.06 ± 1.35 vs. 0.95 ± 1.32 , $p=0.809$) were the same for the two groups. No SAE occurred in children in either group during the study period.

Efficacy of the intervention

i) Vitamin D status

Total vitamin D intake of children who received the bolus was $4,466 \pm 242$ IU/day (149 ± 48 IU/kg/day) compared to $1,079 \pm 292$ IU/day (34 ± 16 IU/kg/day) in the placebo group ($p=0.000$). At the end of study, serum 25(OH)D was 98 ± 23 nmol/L and 74 ± 19 nmol/L in the bolus and placebo group respectively ($p=0.001$) (Figure 2). The difference remained statistically significant after adjustment for sex, age, hydroxyurea treatment, genotype, dietary vitamin D intake, amount of vitamin D supplementation intake per week, sun exposure and seasons. A significant interaction was found between treatment group and the amount of vitamin D supplement intake per week from the daily vitamin D supplementation. Children who received the bolus and who had higher vitamin D supplemental intake per week demonstrated a greater increase of their 25(OH)D levels at the end of the study. No other variables showed an interaction effect with group, except for age, younger children trending to have higher 25(OH)D levels at the end of the study ($p=0.055$).

Vitamin D bolus administration also led to greater rise in 25(OH)D levels from baseline compared to placebo (20 ± 16 nmol/L vs. 2 ± 19 nmol/L; $p=0.003$). All children in the bolus

group demonstrated an increase in their 25(OH)D levels ranging from 1 to 55 nmol/L at the end of the study. In contrast, 50% of children receiving placebo showed an increase in serum 25(OH)D at the end of study. Furthermore, the magnitude of 25(OH)D levels increase was inversely correlated to the baseline level (Figure 3). In children who took the bolus, vitamin D deficiency was completely eliminated (vs. 11% at baseline) and vitamin D insufficiency dropped to 17% (vs. 34% at baseline), while in children who took the placebo, deficiency rates at the end of the study were 10% (vs. 20% at baseline) and insufficiency rates were 45% (vs. 35% at baseline) ($p=0.034$). Daily weight-adjusted doses correlated to end-of-study 25(OH)D levels (bolus ($r=0.570$, $p=0.014$), placebo ($r=0.565$, $p=0.009$)) but not with changes in serum 25OHD from baseline (bolus ($r=0.237$, $p=0.343$), placebo ($r=0.141$, $p=0.553$)).

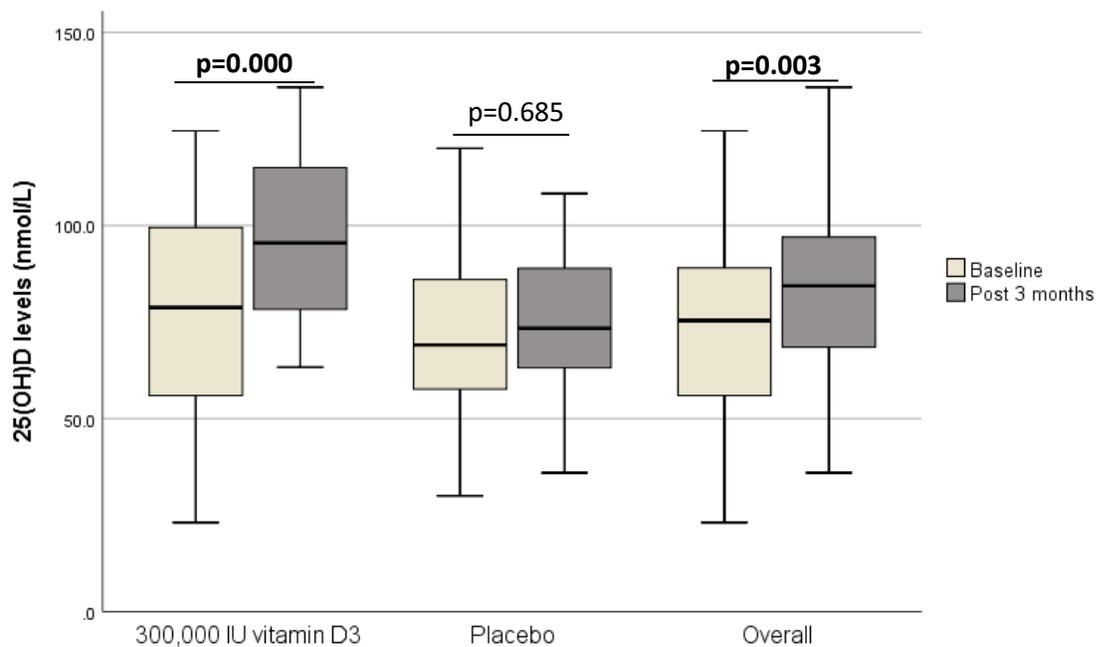


Figure 2: Serum 25(OH)D (nmol/L) at baseline and post 3 months. 25(OH)D levels were significantly different between baseline and post 3 months in the bolus group and overall, but not in the placebo group (Overall: 75 +/- 27 nmol/L at baseline vs. 85 +/- 24 nmol/L post 3 months, $p=0.003$; Bolus: 78 +/- 29 nmol/L at baseline vs. 98 +/- 23 nmol/L post 3 months, $p=0.000$; Placebo: 73 +/- 25 nmol/L at baseline vs. 74 +/- 19 nmol/L post 3 months, $p=0.685$).

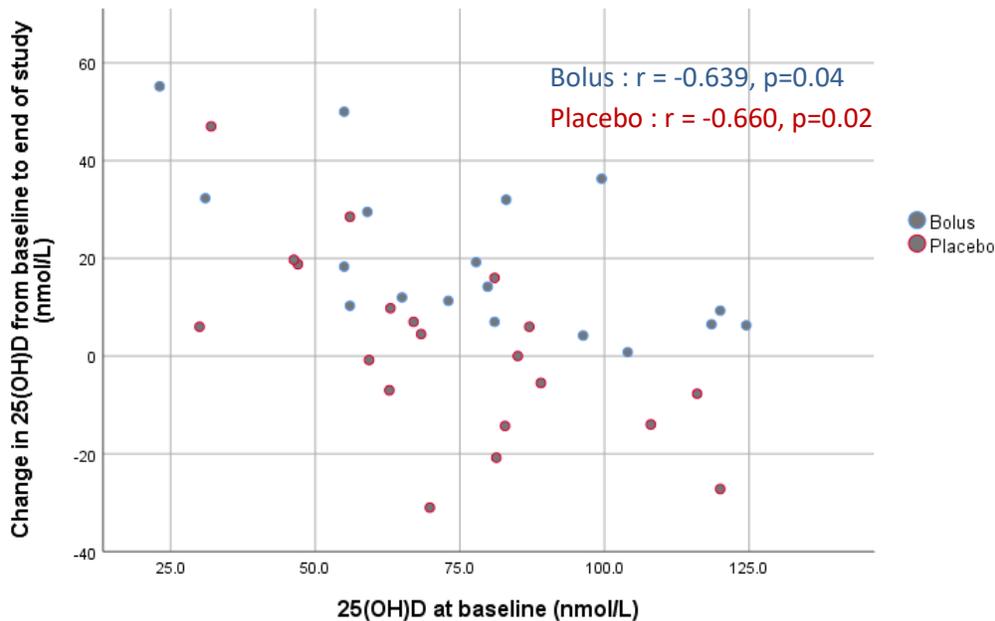


Figure 3: Changes in serum 25(OH)D (nmol/L) during the study according to 25(OH)D levels at baseline. Children with 25(OH)D < 75 nmol/L at baseline on the bolus group had an increase of 27 +/- 18 nmol/L of their 25(OH)D levels by the end of the study vs. 9 +/- 20 nmol/L for the placebo group. Children who had higher baseline 25(OH)D (≥ 75 nmol/L) experienced serum 25(OH)D change of +14 +/- 12 nmol/L ($p=0.067$) and -8 +/- 13 nmol/L ($p=0.046$) following the bolus and placebo intervention respectively.

ii) *Clinical outcomes*

Hematology

Among all hematological parameters, we only found a significant difference in the reticulocyte counts in the bolus group compared to the placebo (Table 2). No significant differences in hematology markers were found between participants who had vitamin D insufficiency vs. vitamin D sufficiency both at baseline and at the end of study.

Severity of the disease

Number and days of hospitalizations, as well as number of emergency visits during the study were not different between the children from both groups (Table 2). No differences were

observed between participants with vitamin D insufficiency vs. participants with vitamin D sufficiency in regard to those parameters.

Table 2: Clinical outcomes by treatment allocation

<i>Clinical outcomes</i>	<i>Vitamin D bolus (n=18)</i>	<i>Placebo (n=20)</i>	<i>p</i>
<i>Z scores for height</i>			
Baseline (n= 37)	0.40 (-1.18 – 2.64)	0.23 (-1.98 – 2.11)	0.233
Post 3 to 6 months (n=29)	0.44 (-1.47 – 2.55)	0.35 (-1.49 – 2.23)	0.902
<i>Z scores for BMI</i>			
Baseline (n= 37)	0.20 (-1.81 – 1.65)	-0.28 (-3.00 – 2.03)	0.436
Post 3 to 6 months (n=29)	0.28 (-1.68 – 1.80)	-0.26 (-1.85 – 2.29)	0.655
<i>Hematology parameters</i>			
<i>Bilirubin (umol/L)</i>			
Baseline (n=23)	26 (15-34)	65 (11-106)	0.011
Post 3 months (n=12) ¹	27 (6-44)	48 (16-88)	0.064
<i>Leukocytes (x10⁹/L)</i>			
Baseline (n=38)	7.0 (3.1-12.1)	7.8 (3.0-14.0)	0.622
Post 3 months (n=20)	8.1 (5.1-14.9)	9.2 (3.9-14.1)	0.977
<i>Hemoglobin (g/L)</i>			
Baseline (n=38)	100 (73-132)	103 (70-130)	0.981
Post 3 months (n=20)	89 (75-105)	99 (65-106)	0.376
<i>Mean corpuscular volume (fL)</i>			
Baseline (n=38)	89 (64-109)	88 (64-110)	0.698
Post 3 months (n=20)	94 (85-107)	90 (84-114)	0.832
<i>Platelets (x10⁹/L)</i>			
Baseline (n=38)	342 (120-541)	280 (127-559)	0.879
Post 3 months (n=20)	403 (158-528)	339 (134-601)	0.702
<i>Neutrophils (x10⁹/L)</i>			
Baseline (n=38)	3.0 (1.6-6.3)	3.6 (1.1-6.6)	0.332
Post 3 months (n=20)	3.6 (1.1-7.6)	3.5 (1.5-6.4)	0.892
<i>Reticulocytes (x10⁹/L)</i>			
Baseline (n=38)	138 (65-363)	179 (68-517)	0.158
Post 3 months (n=20)	142 (73-186)	226 (106-354)	0.010
<i>Fetal Hemoglobin (%)</i>			
Baseline (n=22)	0.281 (0.098-0.367)	0.186 (0.027-0.339)	0.025
Post 3 months (n=10)	0.232 (0.114-0.311)	0.174 (0.127-0.313)	0.544
<i>Severity of the disease</i>			
<i>Number of hospitalizations (n=38)</i>	0.00 (0.00 – 1.00)	0.00 (0.00 – 1.00)	0.914
<i>Days of hospitalization (n=38)</i>	0.00 (0.00 – 2.00)	0.00 (0.00 – 3.00)	0.592
<i>Number of emergency visits (n=38)</i>	0.00 (0.00 – 2.00)	0.00 (0.00 – 1.00)	0.226

Data are expressed as medians. Ranges (minimum-maximum) are expressed in parenthesis. Variables were tested with the Student's t-test.

¹Not all children had a routine blood work done at the clinic 3 months post bolus, which explains the missing data. Furthermore, some parameters were not measured in all children at each clinic visit.

Musculoskeletal pain and quality of life

We found no differences in the musculoskeletal pain and quality of life, either reported by the participants or their parents (Table 3).

Table 3: Pediatric Quality of Life Inventory and Brief Pain Index scores by treatment allocation

	CHILDREN'S SCORES (%)				ADULT'S SCORES (%)			
			Placebo (n=19)	Bolus (n=17)	p	Placebo (n=20)	Bolus (n=18)	p
PEDSQL SCORES¹	Physical functioning	<i>Baseline</i>	89 +/- 14	87 +/- 12	0.631	85 +/- 12	88 +/- 15	0.534
		<i>End of study</i>	85 +/- 13	84 +/- 16	0.808	84 +/- 16	83 +/- 16	0.957
	Emotional Functioning	<i>Baseline</i>	84 +/- 11	81 +/- 19	0.584	78 +/- 21	82 +/- 18	0.514
		<i>End of study</i>	78 +/- 12	79 +/- 20	0.923	79 +/- 17	76 +/- 17	0.596
	Social Functioning	<i>Baseline</i>	87 +/- 19	85 +/- 16	0.718	89 +/- 12	89 +/- 16	0.980
		<i>End of study</i>	83 +/- 23	78 +/- 23	0.505	80 +/- 20	85 +/- 15	0.409
	School Functioning	<i>Baseline</i>	69 +/- 13	73 +/- 16	0.479	68 +/- 16	77 +/- 17	0.102
		<i>End of study</i>	71 +/- 14	74 +/- 23	0.655	72 +/- 16	73 +/- 17	0.787
	Total	<i>Baseline</i>	82 +/- 8	81 +/- 11	0.784	80 +/- 12	84 +/- 14	0.342
		<i>End of study</i>	79 +/- 11	79 +/- 17	0.887	79 +/- 15	80 +/- 14	0.832
BPI SCORES²	Worst pain in the last 24h	<i>Baseline</i>	0.55 +/- 2.04	0.12 +/- 0.49	0.400	NA	NA	NA
		<i>End of study</i>	0.55 +/- 1.70	0.50 +/- 1.47	0.924	NA	NA	NA

Data are expressed as means +/- standard deviations (SD). Intra- and intergroup differences were tested with paired or unpaired Student's t-test, when appropriate.

¹ 100% is the best score, indicating having never experienced any of the problems mentioned in the questionnaire, and 0% is the worst score, indicating always experiencing the problems mentioned in the questionnaire.

² BPI scores are on a scale of 0 to 10, 0 being no pain and 10 being pain as bad as you can imagine.

Bone markers

No significant intra- and intergroup differences were observed in markers of bone formation and resorption and PTH levels (Supplemental Figures 1 to 6).

DISCUSSION

This pilot RCT was designed to address the issues of low intake of vitamin D, poor use of daily vitamin D supplementation and high prevalence of vitamin D deficiency previously reported in

children with SCD(13). Thus far, only a few studies have examined the impact of vitamin D supplementation in children with SCD. Data suggest that vitamin D supplementation of children with SCD reduced pain and improved bone health(22-26). Furthermore, there is a remarkable consistency across studies regarding the efficacy of vitamin D supplements in raising serum 25(OH)D levels and improve vitamin D status of children with SCD(6, 21-27). Our findings support the efficacy of a single oral bolus of 300,000 IU vitamin D₃ combined to daily 1,000 IU vitamin D₃ given to children with SCD older than 5 years in raising 25OHD levels above 75 nmol/L in 83% of the children compared to 45% in placebo after 3 months. The treatment groups did not differ significantly with respect to exploratory outcomes, namely hematology and bone turnover markers, musculoskeletal pain and quality of life, except for a slight effect on reticulocyte counts, with children in the bolus group having lower reticulocyte counts than children in the placebo group.

Our study is among the first to collect data on feasibility and acceptability of vitamin D supplementation in children with SCD. Only one study has addressed the acceptability of various regimens of vitamin D supplementation within the context of SCD. In that study, 81 children with SCD had their serum 25OHD levels monitored over a period of 7 years(27). Worse adherence was anecdotally reported with the low-dose supplements (i.e. 400 IU/day) compared to short courses of a higher-dose of vitamin D (i.e. 20,000 or 40,000 IU/day depending on the child's bodyweight for 4 days, repeated when necessary). In our study, compliance to both the vitamin D bolus (100%) and daily supplementation (88%) was high. This is similar to what has been reported by Dougherty *et al.* where adherence to daily supplementation in children with SCD aged 5 to 20 years was 73% and 84% when estimated by biweekly phone calls and

questionnaires respectively(6). However, as in our study, compliance was self-reported and, therefore, may have been overrated.

While no episodes of hypercalciuria, hypercalcemia and hypervitaminosis D were measured during the course of the study, more AE were reported, mostly gastrointestinal-related, in the first month following the bolus for the children in the bolus group compared to children in the placebo group. We cannot exclude that these AE were related to the vitamin D bolus and, in the long term, could affect compliance to the bolus. However, no differences in 25(OH)D levels at the end of the study or in urinary calcium/creatinine ratios post 7 to 10 days and post 3 months were observed in children who reported these AE and, when corrected for the use of hydroxyurea, age, sex and SCD genotypes, the occurrence of AE in the first month following the bolus was no longer statistically significant. In other studies using high vitamin D bolus supplementation in children with SCD, the only reported AE was tingling of lips or hands, associated with hypocalcemia(28). However, no other studies on vitamin D supplementation for SCD children have reported measuring gastrointestinal AE, which could explain why these AE have not allegedly occurred in other studies.

Our intervention was efficient in raising 25(OH)D levels above 75 nmol/L in 83% of the participants who received the vitamin D bolus compared to 45% in the placebo group. Our findings are supported by Lee et al. who studied two monthly vitamin D boluses (12,000 IU vs. 100,000 IU) administered over two years for the prevention of respiratory complications in children with SCD. While higher vitamin D administration did not lead to reduced rate of respiratory tract episodes, the levels of 25(OH)D were significantly improved in the high vitamin D group, most of them being vitamin D sufficient(21). In our study, the combined bolus

and daily supplementation regimen was more efficient in raising 25(OH)D levels than daily vitamin D alone, even among children compliant to their supplementation. In the placebo group, we found that 36% of children who reported to be compliant to their supplementation remained vitamin D insufficient. These findings suggest that self-reported compliance may be overestimated. Alternatively, daily 1,000 IU vitamin D₃ may not be optimal to maintain sufficient vitamin D nutrition for all children with SCD following the recent Canadian consensus statement for the care of individuals with SCD advising daily 1,000 to 2,000 IU of vitamin D₃, when baseline 25(OH)D levels are low(14). Futures studies testing higher daily doses of vitamin D₃ in combination or not with repeated boluses of vitamin D₃ will help find the best supplementation regimen to restore and maintain vitamin D sufficiency in children with SCD.

In contrast to other studies, we did not see any effect of vitamin D on biomarkers of hemolysis and red blood cell turnover, except for reticulocyte counts, which were significantly lower after 3 months in children who received the bolus compared to the placebo group. However, no association was observed between 25(OH)D levels and all biomarkers. This contrasts with results from our previous study where we found lower reticulocyte counts in children with 25(OH)D \geq 50 nmol/L(13). Similarly, in a cross-sectional study of children with SCD aged 4 to 11 years, a significant increase in reticulocyte counts and lactate dehydrogenase was found in children with lower serum 25(OH)D(29). Since we only tested 25(OH)D 3 months after the bolus, it is possible that levels had already started to decrease at that moment and could explain why we had not seen a correlation with reticulocyte counts. Additionally, the majority of children had baseline levels of 25(OH)D \geq 50 nmol/L which could have prevented us from seeing a relation between 25OHD blood levels and reticulocyte counts. No other changes in hemolysis markers were observed and only 10 participants had their bilirubin measured post 3 months:

therefore, the effect of the reduced reticulocyte counts on hemolysis for these children remains uncertain. High reticulocyte counts have been associated with hemolysis-endothelial dysfunction in SCD, which can lead to multiple complications such as pulmonary hypertension and priapism(30). Thus, ensuring sufficient 25(OH)D levels may help reduce complications associated with hemolysis in children with SCD.

Our study was not powered to assess changes in clinical outcomes. Furthermore, baseline 25(OH)D levels were higher than initially expected with only 16% of the children having vitamin D deficiency as opposed to 31% in our previous study(13). The reported high use of vitamin D supplement (i.e. 89%) at baseline and the selection of the participants (exclusion of children for whom a difficult follow-up was expected) likely explains this observation. Results from our previous study have led to a change in practice within our institution, resulting in more vitamin D supplements being prescribed to comply with current guidelines(14). The majority of nutritional responses follows a sigmoidal (S-shaped) curve where the magnitude of effects is expected to be greater in those with a lower status(31) but reaches a plateau when individuals are vitamin D repleted. We indeed observed that children with lower baseline 25OHD levels showed a larger increase in serum 25OHD at the end of study. The fact that we included children regardless of their baseline vitamin D status may have diluted the clinical benefits of the intervention. Alternatively, even though serum 25OHD levels increased beyond the level considered sufficient in many children, it is possible that such circulating levels may not have been high enough to ensure the full achievement of all benefits associated with the vitamin in children with SCD.

Feasibility and acceptability of this study were not optimal, as a large proportion of children were deemed ineligible to participate, which was mainly attributed to the deliberate exclusion of younger children. Children younger than 5 years were excluded owing to the difficulty of performing venipuncture on them, which was required for the assessment of serum PTH and bone markers. We acknowledge that this limits the generalization of our findings to the entire pediatric SCD population. Among the eligible children approached by the research team, 56% declined participation. In a study assessing the number of consent refusals of 36 clinical studies including mostly children with chronic diseases and conducted in six pediatric Clinical Investigation Centers in France, consent refusal rate was 12.5%, which is much lower than what was observed in our study(32). However, it should be pointed out that recruitment in those studies were performed by physicians and most studies were multicenter (82%), which may have influenced the consent process. Other factors that may alter study participation is the perceived risks and benefits of the intervention(33). In a hypothetical study where there were no direct benefits for the child but a small chance of risk, consent refusal rate was 57% and 76% in children and parents respectively(33). In our study, 33% of the families refused to participate because they either perceived benefits of the intervention as low or risks as high. The fact that most participants were already taking daily supplements prior to study initiation may explain such perceptions. Targeted vitamin D supplementation could alleviate some of the acceptability problems since families may be more likely to perceive benefits of the intervention if vitamin D deficiency is assessed for their children prior to initiating supplementation. Giving vitamin D bolus only to children whose 25(OH)D levels are too low despite daily supplementation may also be an interesting alternative for future vitamin D supplementation regimen.

Strengths of our study include the administration of the bolus during routine clinic visits, which resulted in a 100% compliance, the high compliance to the self-administered daily vitamin D supplementation and the 100% retention rate. In light of the high refusal rate of study participation, the 100% retention rate however suggests a selection bias towards highly motivated participants. Our study also had some limitations. This was a single-center pilot study with a limited sample size, which prevented us from performing stratification analyses to determine for instance whether vitamin D response differs by SCD genotypes. Adherence to daily supplementation relied on participant recall and, even though compliance was high, it was not assessed objectively by counting pills, weighting bottles or checking refill prescriptions. Another limitation was the fixed dose of the vitamin D bolus, which was not adjusted according to the children's weight or baseline vitamin D status. In our study, weight-based total doses for children in the bolus group varied considerably from 52 UI/kg/day to 249 UI/kg/day and, expectedly children who received higher doses per weight had higher 25(OH)D levels at the end of the study. The clinical meaning of these findings remains however uncertain, as we did not observe any improvements in clinical outcomes among children who received higher doses of vitamin D per weight (data not shown).

CONCLUSION

A vitamin D bolus of 300,000 IU combined with daily 1,000 IU vitamin D₃ was found to be effective in raising serum 25(OH)D levels ≥ 75 nmol/L in most children with SCD aged more than 5 years old. In contrast, daily supplementation of 1,000 IU vitamin D₃ is not enough to raise 25(OH)D levels ≥ 75 nmol/L in all children. When compliance to vitamin D supplementation is an issue, a vitamin D bolus given every 3 months could be an intervention

to gain or maintain vitamin D sufficiency. However, larger-scale studies on high-dose vitamin D bolus, ideally multicenter, with repeat dosing, weight-based dosages and of longer duration, are needed to ascertain whether this intervention has any impact on improving outcomes of children with SCD. Further research is also needed to assess if intermittent vitamin D supplementation would be a good option to replace daily supplementation in children with SCD.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interests.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the nurses of the SCD Clinic of Sainte-Justine UHC (Nathalie Fournier and Sophie Parent) for their help with data collection as well as to the children and parents of the clinic for their participation in this study. GM is a scholar at FRQ-S (Fonds de Recherche du Québec en Santé). PGP received a master's training award from FRQ-S.

REFERENCES

1. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sick cell disease. *The Lancet*. 2017;390(10091):311-23.
2. Nolan VG, Nottage KA, Cole EW, Hankins JS, Gurney JG. Prevalence of Vitamin D Deficiency in Sick Cell Disease: A Systematic Review. *PLoS One*. 2015;10(3).
3. Adegoke SA, Smith OS, Adekile AD, Figueiredo MS. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and inflammatory cytokines in paediatric sickle cell disease. *Cytokine*. 2017;96:87-93.
4. Adegoke SA, Smith OS, Adeniyi AT, Adekile AD. Thrombospondin-1 and Vitamin D in Children With Sick Cell Anemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018.
5. de Oliveira JF, Vicente NG, Santos JP, Weffort VR. [Vitamin D in children and adolescents with sickle cell disease: an integrative review]. *Revista paulista de pediatria : orgao oficial da Sociedade de Pediatria de Sao Paulo*. 2015;33(3):350-5.
6. Dougherty KA, Bertolaso C, Schall JI, Smith-Whitley K, Stallings VA. Safety and Efficacy of High-dose Daily Vitamin D3 Supplementation in Children and Young Adults With Sick Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2015;37(5):e308-15.
7. Hamdy M, Salama N, Maher G, Elrefae A. Vitamin D and Nonskeletal Complications among Egyptian Sick Cell Disease Patients. *Adv Hematol*. 2018;2018:3867283.
8. Rovner AJ, Stallings VA, Kawchak DA, Schall JI, Ohene-Frempong K, Zemel BS. High risk of vitamin D deficiency in children with sickle cell disease. *Journal of the American Dietetic Association*. 2008;108(9):1512-6.
9. Gliozzi ML, Rbaibi Y, Long KR, Vitturi DA, Weisz OA. Hemoglobin Alters Vitamin Carrier Uptake and Vitamin D Metabolism in Proximal Tubule Cells: Implications for Sick Cell Disease. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019.
10. Institute of Medicine Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D, Calcium. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington (DC): National Academies Press (US) National Academy of Sciences.; 2011.
11. Hood AM, Quinn CT, King CD, Shook LM, Peugh JL, Crosby LE. Vitamin D supplementation and pain-related emergency department visits in children with sickle cell disease. *Complement Ther Med*. 2020;49:102342.
12. Mandese V, Bigi E, Bruzzi P, Palazzi G, Predieri B, Lucaccioni L, et al. Endocrine and metabolic complications in children and adolescents with Sick Cell Disease: an Italian cohort study. *BMC Pediatr*. 2019;19(1):56.
13. Gregoire-Pelchat P, Alos N, Ribault V, Pastore Y, Robitaille N, Mailhot G. Vitamin D Intake and Status of Children With Sick Cell Disease in Montreal, Canada. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018;40(8):e531-e6.
14. Canadian Haemoglobinopathy Association. Consensus Statement on the Care of Patients with Sick Cell Disease in Canada. Version 2.0 Ottawa2015
15. Letavernier E, Daudon M. Vitamin D, Hypercalciuria and Kidney Stones. *Nutrients*. 2018;10(3).
16. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(7):1911-30.
17. Santé Canada. La vitamine D et le calcium: Révision des Apports nutritionnels de référence. 2012.
18. Varni JW, Seid M, Kurtin PS. PedsQL 4.0: reliability and validity of the Pediatric Quality of Life Inventory version 4.0 generic core scales in healthy and patient populations. *Med Care*. 2001;39(8):800-12.

19. Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: Global use of the Brief Pain Inventory. *Annals, Academy of Medicine, Singapore*. 1994;23(2):129-38.
20. Dietitians of Canada and Canadian Paediatric Society. *A Health Professional's Guide for using the WHO Growth Charts for Canada*. 2014.
21. Lee MT, Kattan M, Fennoy I, Arpadi SM, Miller RL, Cremers S, et al. Randomized phase 2 trial of monthly vitamin D to prevent respiratory complications in children with sickle cell disease. *Blood advances*. 2018;2(9):969-78
22. Osunkwo I. Complete resolution of sickle cell chronic pain with high dose vitamin D therapy: a case report and review of the literature. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2011;33(7):549-51.
23. Shams T, Al Wadani H, El-Masry R, Zakaria O. Effect of prophylactic vitamin D on anesthetic outcome in children with sickle cell disease. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. 2014;30(1):20-4.
24. Osunkwo I, Ziegler TR, Alvarez J, McCracken C, Cherry K, Osunkwo CE, et al. High dose vitamin D therapy for chronic pain in children and adolescents with sickle cell disease: results of a randomized double blind pilot study. *British journal of haematology*. 2012;159(2):211-5.
25. Williams KM, Lee MT, Licursi M, Brittenham GM, Fennoy I. Response to Long-term Vitamin D Therapy for Bone Disease in Children With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018.
26. Adewoye AH, Chen TC, Ma Q, McMahon L, Mathieu J, Malabanan A, et al. Sickle cell bone disease: response to vitamin D and calcium. *American journal of hematology*. 2008;83(4):271-4.
27. Wykes C, Arasaretnam A, O'Driscoll S, Farnham L, Moniz C, Rees DC. Vitamin D deficiency and its correction in children with sickle cell anaemia. *Annals of hematology*. 2014;93(12):2051-6.
28. Soe HH, Abas AB, Than NN, Ni H, Singh J, Said AR, et al. Vitamin D supplementation for sickle cell disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;1:Cd010858.
29. Adegoke SA, Braga JAP, Adekile AD, Figueiredo MS. The Association of Serum 25-Hydroxyvitamin D With Biomarkers of Hemolysis in Pediatric Patients With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018;40(2):159-62.
30. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev*. 2007;21(1):37-47.
31. Heaney RP. Health is better at serum 25(OH)D above 30ng/mL. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013;136:224-8.
32. Kaguelidou F, Amiel P, Blachier A, Iliescu C, Roze JC, Tsimaratos M, et al. Recruitment in pediatric clinical research was influenced by study characteristics and pediatricians' perceptions: a multicenter survey. *J Clin Epidemiol*. 2013;66(10):1151-7.
33. Wendler D, Jenkins T. Children's and their parents' views on facing research risks for the benefit of others. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2008;162(1):9-14.

Supplemental Table 1: Reasons for Screen Failures

Reasons	Total N	Total %
Aged less than 5 years old	104	46
Aged more than 17 years old or adult transfer planned in less than 3 months	12	5
History of urolithiasis	20	9
Difficult follow-up expected	66	29
Bone disease requiring supplementation	6	3
Drugs interfering with calcium or vitamin D metabolism	8	4
Others ¹	8	4
Total Screened	369	
Total Screen Failures	224	61

¹Other reasons included: participation in another study (n=1), difficult follow-up anticipated (n=1), children with history of difficult blood drawing episodes (n=4) and children who did not speak French or English (n=2).

Supplemental Table 2: Reasons for non-approach

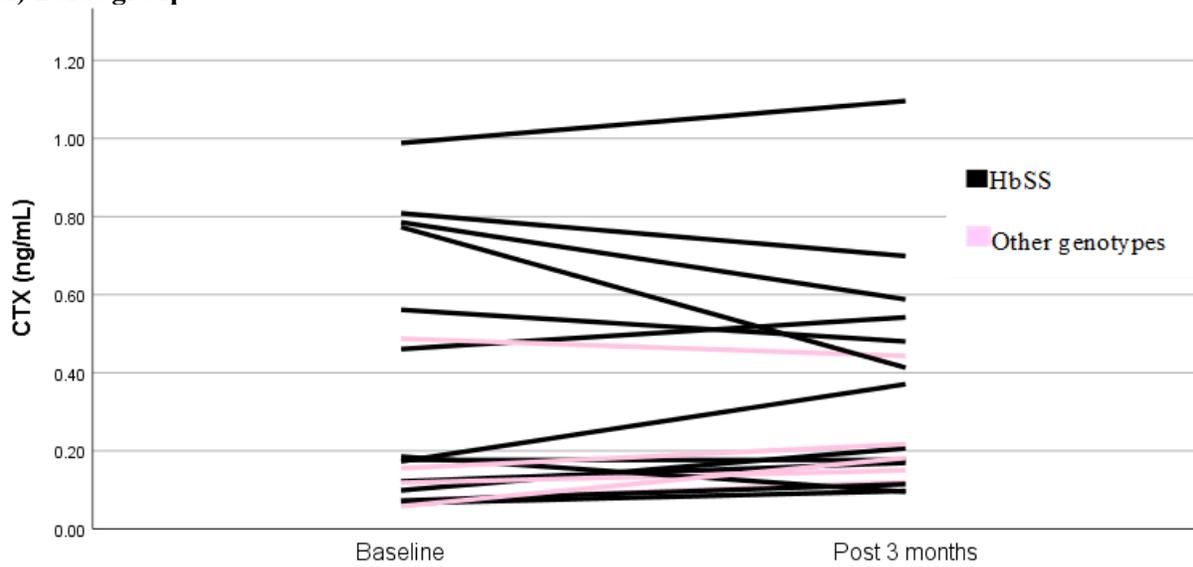
Reasons	Total N	Total %
Non-availability of the study team or SCD nurses	21	44
Participants didn't have enough time	6	13
Participants were not present to his/her appointment	9	19
No parents were present with the child at the medical appointment	6	13
Participants wrongly considered non-eligible at the time of his/her appointment	4	8
Did not understand French	2	4
Total Eligible	145	
Total Not-Approached	48	33

Supplemental Table 3: Adverse events by treatment allocation

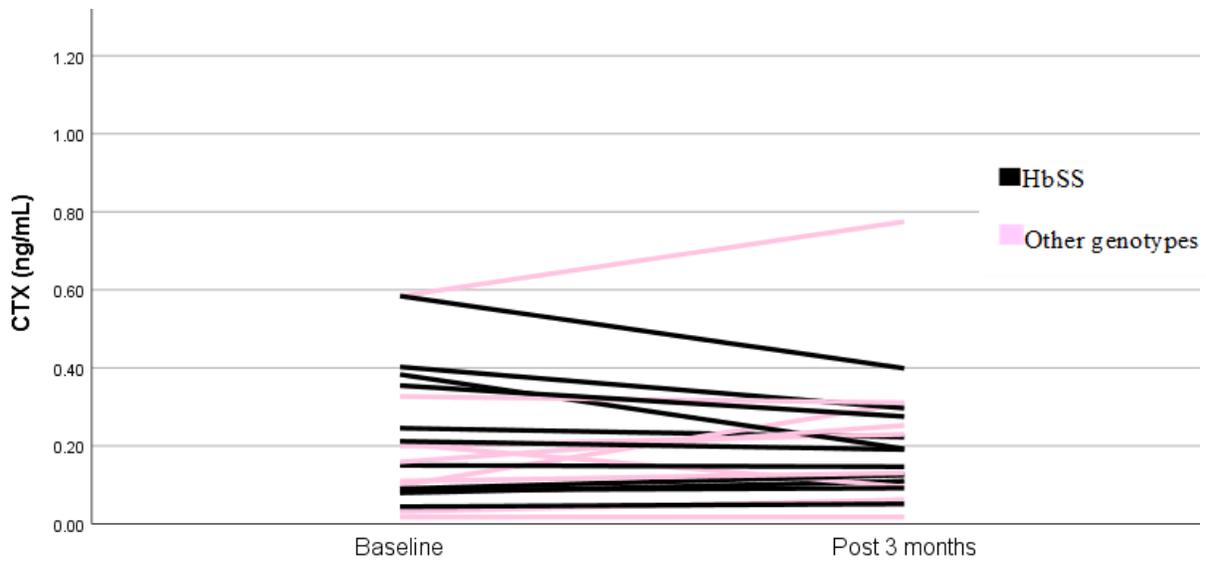
	<i>Vitamin D bolus (n=18)</i>	<i>Placebo (n=20)</i>	<i>P value</i>
<i>Vaso-occlusive crisis</i>	2 (11)	7 (35)	0.084
<i>Fever</i>	5 (28)	3 (15)	0.438
<i>Cold</i>	3 (17)	3 (15)	0.888
<i>Chronic pain</i>	3 (17)	1 (5)	0.242
<i>Headache</i>	2 (11)	2 (10)	0.911
<i>Small red bumps</i>	3 (17)	2 (10)	0.544
<i>Nausea</i>	2 (11)	1 (5)	0.485
<i>Vomiting</i>	2 (11)	2 (10)	0.911
<i>Emergency visits</i>	4 (22)	3 (15)	0.566
<i>Hospitalizations</i>	2 (11)	2 (10)	0.911
<i>Total number of adverse events</i>	46	32	0.126

Data are expressed as n (%) except for total number of adverse events which is expressed as n only. Proportions were compared between groups using the X^2 or the Fisher's exact test. Only adverse events occurring in at least 3 participants during the course of the study are shown in this table.

A) Bolus group

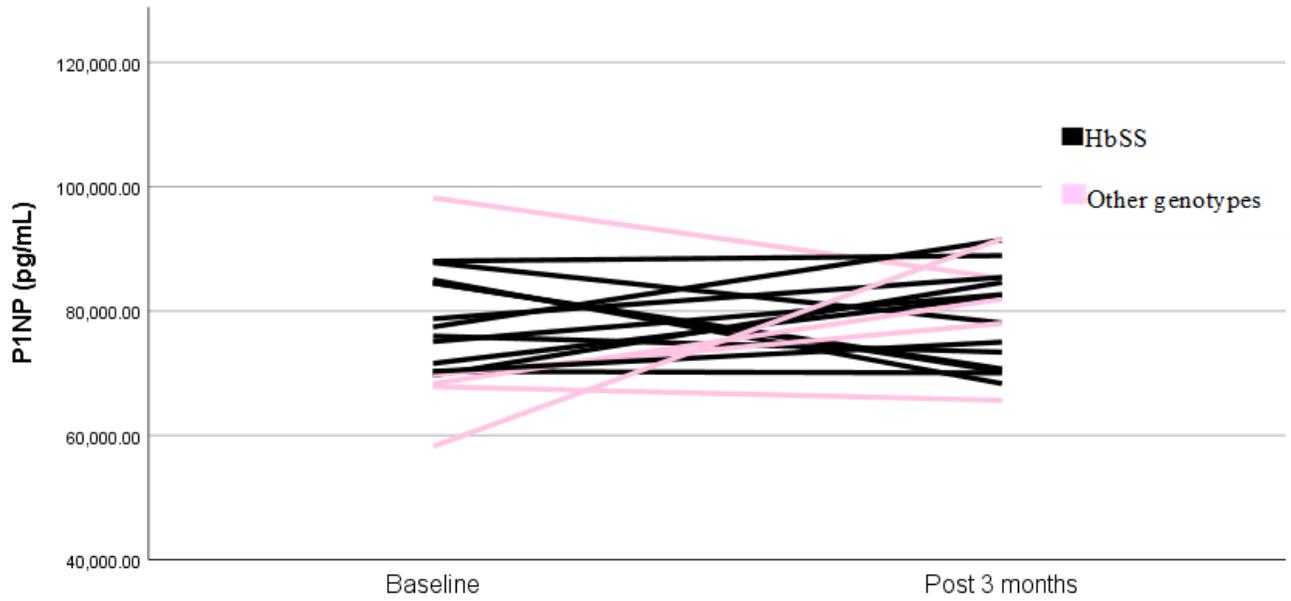


B) Placebo group

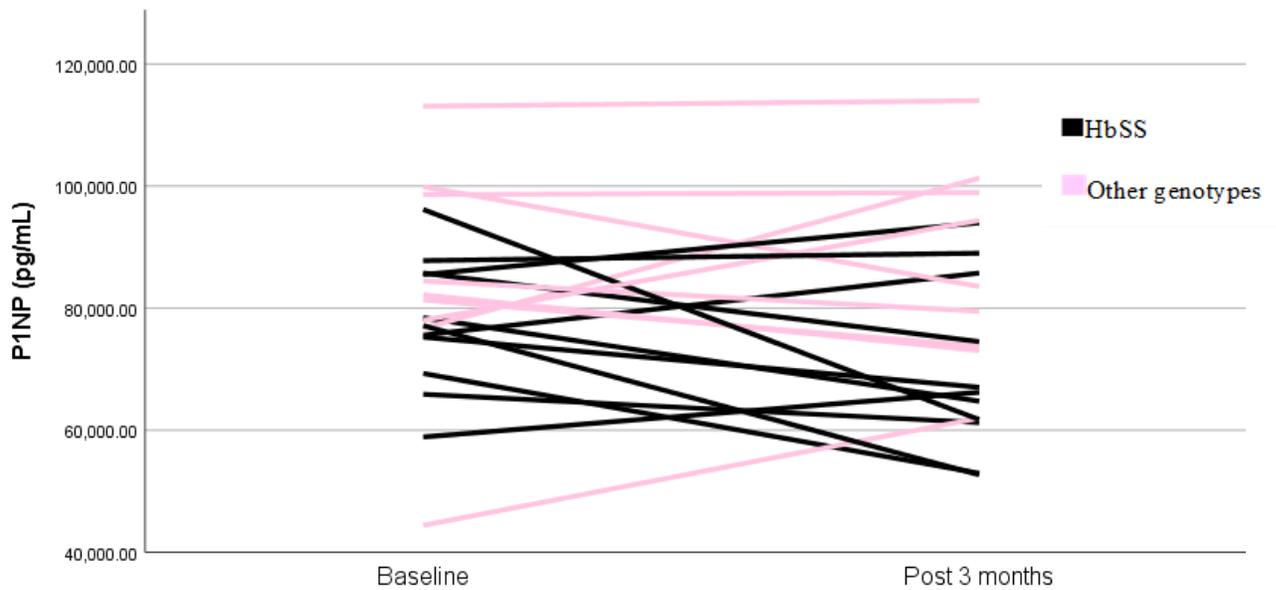


Supplemental Figure 1: CTX (ng/mL) at baseline vs 3 months post bolus. Mean CTX at baseline was 0.35 ± 0.31 ng/mL vs. 0.34 ± 0.27 ng/mL post 3 months ($p=0.742$) for the bolus group (Figure A) and 0.22 ± 0.17 ng/mL vs. 0.21 ± 0.17 ng/mL ($p=0.860$) for the placebo group (Figure B).

A) Bolus group

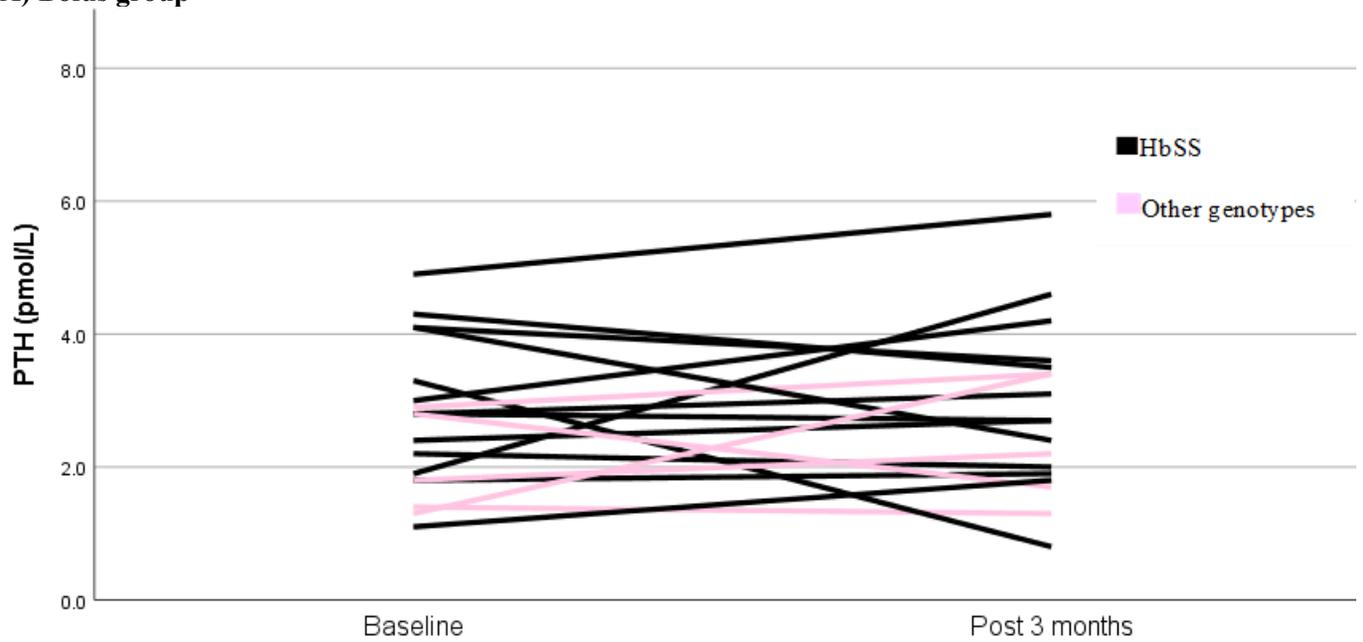


B) Placebo group

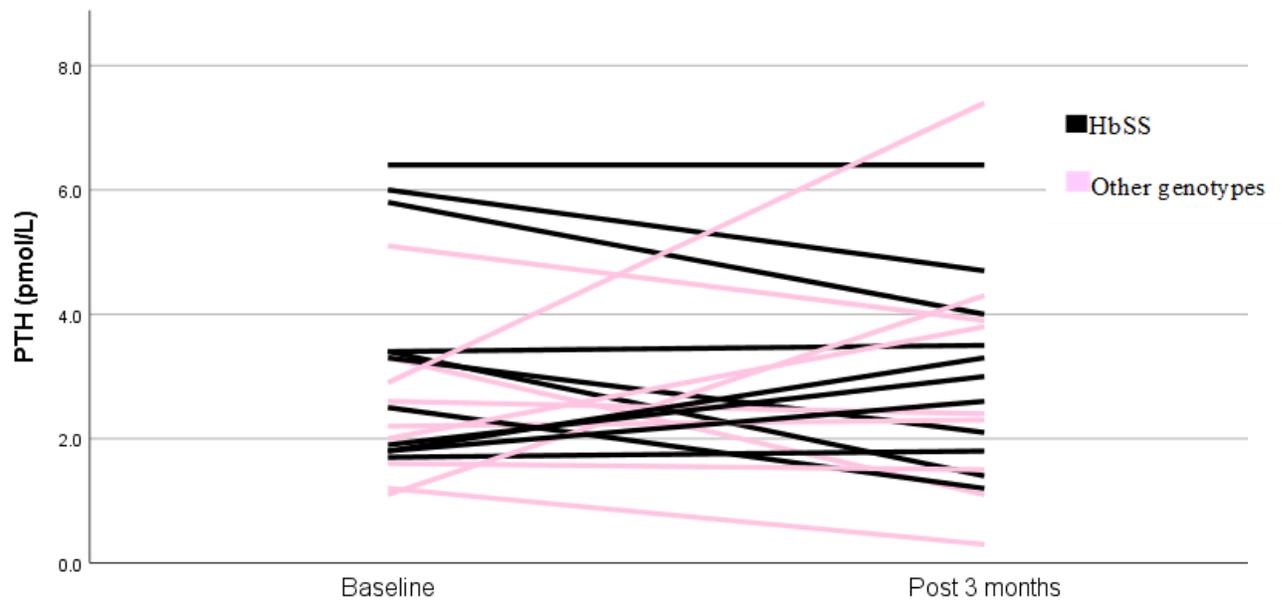


Supplemental Figure 2: P1NP (pg/mL) at baseline vs 3 months post bolus. Mean P1NP at baseline was 76,731 +/- 9,730 pg/mL vs. 79,091 +/- 8,133 pg/mL post 3 months ($p=0.452$) for the bolus group (Figure A) and 80,712 +/- 15,101 pg/mL vs. 77,510 +/- 17,117 pg/mL ($p=0.341$) for the placebo group (Figure B).

A) Bolus group



B) Placebo group



Supplemental Figure 3: PTH (pmol/L) at baseline vs 3 months post bolus. Mean PTH at baseline was 2.72 +/- 1.10 pmol/L vs 2.84 +/- 1.25 pmol/L post 3 months (p=0.681) for the bolus group (Figure A) and 3.00 +/- 1.62 pmol/L vs 3.05 +/- 1.78 pmol/L (p=0.899) for the placebo group (Figure B).

2.1 Informations complémentaires

2.1.1. Méthodologie

2.1.1.1 Considérations éthiques

Cette étude étant une étude pilote de nature interventionnelle, plusieurs autorisations éthiques ont dû être demandées préalablement à l'initiation de l'étude. Le projet a été approuvé par le comité de recherche du CHU Sainte-Justine (# 2018-1811) et une lettre de non-objection a été obtenue auprès de Santé Canada. Cette lettre était nécessaire, car le bolus de vitamine D donné dépassait l'apport maximal tolérable (AMT) pour la vitamine D qui est de 3 000 UI par jour pour les enfants entre 4 et 8 ans et de 4 000 UI par jour pour les enfants âgés de 9 ans et plus(104). Ainsi, l'apport en supplémentation de vitamine D pour les enfants recevant le bolus de vitamine D équivalait à 4 333 UI/jour lorsque combiné avec la supplémentation quotidienne de 1 000 UI. Avec les apports alimentaires, l'apport par jour anticipé était donc de 4 625 UI par jour, dépassant ainsi l'AMT pour la vitamine D.

De plus, un comité de sécurité composé d'une pédiatre, d'une biochimiste clinique et d'une endocrinologue pédiatrique a été chargé d'assurer le suivi de l'étude. Celui-ci avait comme mandat de superviser le déroulement de l'étude pour décider si des modifications étaient de mises ou si l'étude devait être arrêtée précocement. Des rapports de sécurité ont été émis tout au long de l'étude à des moments prédéterminés afin de tenir les membres du comité au courant des développements de l'étude et des données cliniques des participants. Le rapport final rédigé pour le comité de sécurité se trouve à l'annexe 1.

2.1.1.2 Justification du format de la dose (par bolus vs doses quotidiennes)

Pour l'étude, la supplémentation en vitamine D a été donnée par bolus dans le but de répondre au potentiel problème d'adhérence à la supplémentation quotidienne en vitamine D. Ainsi, les professionnels de la clinique d'AF rapportaient des problèmes d'adhérence à la médication chez plusieurs des enfants ayant l'AF, ce qui pourrait, dans le cas de la vitamine D, nuire à leur statut nutritionnel en vitamine D. L'étude randomisée contrôlée permettait de comparer l'effet d'un bolus de vitamine D combiné à la supplémentation quotidienne comparativement à la supplémentation quotidienne seule dans le but de pouvoir opter pour la meilleure stratégie de

supplémentation en vitamine D chez cette clientèle. Lors de l'ingestion d'un bolus de vitamine D, le pic de 25(OH)D sérique se fait après environ 7 jours, puis les taux descendent graduellement par la suite de façon linéaire(105). La 25(OH)D se maintiendrait toutefois à des taux supérieurs à 80 nmol/L pendant environ 70 jours suite à l'ingestion d'un bolus de 100 000 UI de vitamine D₃ et reviendrait à son niveau de base après environ 84 jours(105). Dans notre étude, les enfants revenaient à la clinique pour la fin de l'étude après 3 mois +/- 2 semaines, ce qui correspond entre 76 et 104 jours post bolus, moment où leurs taux de 25(OH)D avaient normalement redescendus. Toutefois, la dose donnée étant supérieure à 100 000 UI, il est possible que les taux de 25(OH)D n'étaient pas encore redescendus à leurs niveaux de base à la fin de l'étude. Enfin, la même dose a été donnée à tous les participants de l'étude afin de faciliter son implantation clinique, bien que ce choix constitue une limite de l'étude étant donné que la réponse à la supplémentation en vitamine D varie selon la masse corporelle(106).

2.1.1.3 Risque de toxicité

Le bolus de vitamine D donné dans le cadre de l'étude, combiné à la supplémentation journalière de vitamine D, dépasse l'AMT établi par Santé Canada. La vitamine D étant une vitamine liposoluble, un apport excédentaire peut mettre à risque d'intoxication par accumulation dans l'organisme(1). Toutefois, les risques reliés à une intoxication de vitamine D lors de cette étude étaient faibles étant donné que ce risque est davantage associé à un apport excessif chronique(1). Or, une seule dose a été donnée dans le cadre de cette étude, réduisant ainsi les risques d'accumulation. Lors de notre étude précédente chez une population similaire, seuls 6% des participants (7 enfants/118) avaient des taux sanguins jugés comme suffisants (≥ 75 nmol/L) et le taux maximal observé était seulement de 99 nmol/L, et ce, même si la plupart des taux sériques de 25(OH)D avaient été mesurés au printemps et à l'été; 2 saisons où l'exposition solaire accrue résulte normalement en de plus hauts taux de 25(OH)D sériques(87). Considérant qu'habituellement des taux sériques de 25(OH)D supérieurs à 250 nmol/L sont considérés comme associés à un risque plus élevé de toxicité(107) et qu'un seul bolus a été donné lors de l'étude, le risque de surdose chez ces patients était faible. Ainsi, dans la littérature, l'administration de bolus n'a pas engendré de toxicité autant chez les enfants n'ayant pas l'AF (bolus de moins de 400 000 UI)(108) que chez les enfants avec AF (bolus de cholécalciférol de 240 000 UI et bolus d'ergocalciférol de 300 000 UI) (97, 100). Le risque d'intoxication aiguë à la vitamine D était donc

faible étant donné que, dans la littérature, des doses de 300 000 UI n'ont pas été associées avec de la toxicité chez les enfants n'ayant pas l'AF. La mesure du ratio de calcium/créatine urinaire après 7 jours permettait d'évaluer rapidement le risque d'une intoxication à la vitamine D au moment où les taux de 25(OH)D étaient les plus élevés, étant donné que l'hypercalcémie et l'hypercalciurie sont les deux premières manifestations mesurables d'une intoxication à la vitamine D(109).

2.1.1.4 Utilisation d'un placebo

L'utilisation d'un placebo dans le cadre de cette étude se justifie par le fait que tous les enfants participants recevaient, en plus du bolus ou du placebo, le traitement standard, soit une prescription pour une supplémentation en vitamine D₃ de 1 000 UI par jour(54). Ainsi, les enfants faisant partie du groupe témoin ne se sont pas exposés à des risques supplémentaires, soit une déficience en vitamine D. Malgré la prise quotidienne de 1 000 UI de vitamine D₃ par les enfants du groupe placebo, la différence de doses entre les groupes intervention (4 333 UI) vs. placebo (1 000 UI) était suffisante pour permettre de discriminer l'effet de l'intervention de celui du placebo.

2.1.1.5 Absence de sélection des enfants basée sur leur niveau de base en vitamine D ou selon la saison

Les enfants n'ont pas été sélectionnés pour leur participation à l'étude selon leurs taux sériques de 25(OH)D ou les saisons pour plusieurs raisons. La première raison est que très peu des enfants avaient des taux de 25(OH)D sériques suffisants ($25(OH)D \geq 75$ nmol/L), lors de notre étude précédente, même pendant l'été, et aucun n'atteignait ou ne dépassait des taux de 100 nmol/L(87). La deuxième raison est que les taux sériques idéaux de 25(OH)D sont inconnus pour cette population. En restreignant l'intervention aux enfants ayant une déficience ou une insuffisance en vitamine D, des enfants qui auraient pu bénéficier de l'intervention auraient pu être exclus.

2.2.1 Résultats

2.2.1.1 Faisabilité et acceptabilité de l'étude

2.2.1.1.1 Adhérence au protocole de recherche

Quatre-vingts deux pourcents des enfants (31/38) participant à l'étude ont été adhérents au protocole de recherche. Parmi les enfants non adhérents au protocole, un enfant n'a pas pris sa

supplémentation en calcium qui lui avait été prescrite pour l'étude, trois enfants ont eu besoin d'un appel téléphonique de rappel pour faire leur test urinaire post 7 à 10 jours, deux enfants (dont un qui a reçu des rappels téléphoniques) ont fait leur test urinaire plus tard que prescrit, un enfant n'avait pas de disponibilité pour revenir au CHU Sainte-Justine pour la fin de l'étude (le prélèvement de fin d'étude a dû être fait à domicile) et un autre n'est pas venu à son rendez-vous de fin d'étude tel que prévu (le rendez-vous a dû être remis à une autre journée). En plus, pour des raisons de disponibilité ou de commodité, 8 enfants (21%) ont fini l'étude hors de la période prévu de 3 mois +/- 2 semaines, soit entre 5 jours plus tôt à 9 jours plus tard que la fin d'étude prévue dans le protocole.

2.2.1.2 Apports alimentaires en calcium et en vitamine D

2.2.1.2.1 Apports alimentaires au début de l'étude

Quatre-vingts quatre pourcents des enfants (32/38) comblaient le BME pour la vitamine D (en incluant la prise de supplémentation rapportée) alors que 71% (27/38) atteignaient l'ANR pour la vitamine D. Lorsque seuls les apports alimentaires étaient considérés (en excluant la supplémentation et la prise de produits de santé naturels), seuls 5% des enfants (2/38) comblaient le BME et aucun n'atteignaient l'ANR. L'apport moyen en supplémentation en vitamine D rapportée, en tenant compte de l'adhérence à la supplémentation, était de 733 +/- 434 UI/jour (0 à 1 600 UI/jour). Pour ce qui sont des apports en calcium, 47% des enfants (18/38) comblaient le BME et 32% des enfants (12/38) atteignaient l'ANR en incluant l'utilisation de suppléments. Lorsque seuls les apports alimentaires étaient considérés, ce sont 42% des enfants (16/38) qui comblaient le BME et 21% (8/38) qui atteignaient l'ANR.

2.2.1.2.2 Prise de suppléments et adhérence

Treize participants ont reçu une prescription pour une supplémentation en calcium (entre 300 et 1000 mg de calcium élémentaire par jour) pendant l'étude de la part de l'endocrinologue en raison de leurs apports jugés trop faibles. L'adhérence moyenne à la supplémentation en calcium pendant l'étude était de 62 +/- 41% (0 à 100%). Soixante-neuf pourcent des enfants (n=9) étaient adhérents à leur supplémentation en calcium pendant l'étude (prise de supplémentation au moins 4 jours par semaine).

2.2.12.3 Apports alimentaires à la fin de l'étude

À la fin de l'étude, ce sont 97% des enfants (37/38) qui atteignaient le BME pour la vitamine D et 95% (36/38) qui atteignaient l'ANR, en incluant l'utilisation rapportée de la supplémentation. Seul un participant avait des apports alimentaires en vitamine D suffisants pour combler le BME et l'ANR à la fin de l'étude en excluant la prise de supplémentation. À la fin de l'étude, 58% des enfants (22/38) comblaient le BME pour leurs apports totaux en calcium et 29% (11/38) comblaient l'ANR. Lorsque seuls les apports alimentaires en calcium étaient considérés, seuls 42% (16/38) comblaient le BME et 18% (7/38) atteignaient l'ANR.

Les apports totaux en vitamine D ainsi que les apports alimentaires en vitamine D au début vs. à la fin de l'étude ne sont pas significativement différents : 966 +/- 526 UI vs. 1 105 +/- 268 UI ($p=0,142$) pour les apports totaux et 184 +/- 116 UI vs. 194 +/- 110 UI ($p=0,424$) pour les apports alimentaires. Les apports rapportés provenant de la supplémentation de la vitamine D sont toutefois significativement plus élevés à la fin de l'étude comparativement au début (903 +/- 263 UI vs. 733 +/- 434 UI, $p=0,033$).

Similairement, les apports en calcium total et venant de la diète ne sont pas significativement différents au début vs. à la fin de l'étude : 952 +/- 455 mg vs. 1011 +/- 278 mg ($p=0,366$) pour les apports totaux et 896 +/- 419 mg vs. 867 +/- 315 mg pour les apports alimentaires ($p=0,550$). Les apports provenant des suppléments de calcium sont toutefois significativement différents entre le début et la fin de l'étude (11 +/- 47 mg vs. 100 +/- 188 mg, $p=0,010$). Les enfants qui comblaient l'ANR pour les apports en calcium à la fin de l'étude avaient de plus hauts taux de 25(OH)D : 98,7 +/- 29 vs. 79,9 +/- 18,9 nmol/L, $p=0,023$.

Le détail des apports en calcium et en vitamine D au début et à la fin de l'étude se trouve dans le tableau 2.

2.2.1.3 Statut nutritionnel en vitamine D

Au début de l'étude, le statut en vitamine D était directement relié aux apports en vitamine D total initial : chez les enfants étant insuffisants en vitamine D, les apports totaux en vitamine D étaient de 744 +/- 500 UI/jour vs. 1 188 +/- 464 UI/jour pour les enfants en suffisance de vitamine D ($p=0,007$). Ainsi, les participants comblant l'ANR pour la vitamine D au début de l'étude étaient

plus nombreux à être en suffisance de vitamine D que ceux ne comblant pas l'ANR (64% vs 10%, $p=0,008$).

Tableau 2: Apports alimentaires en calcium (mg) et en vitamine D (UI) au début et à la fin de l'étude

	Apports totaux (n=38)			Apports alimentaires (n=38)			Apports venant des suppléments (n=38)			% comblant BME ¹			% comblant ANR ²		
	Début	Fin	p	Début	Fin	p	Début	Fin	p	Début	Fin	p	Début	Fin	p
Vitamine D (UI/jour)	966 +/- 527	1105 +/- 268	0,142	184 +/- 116	193 +/- 110	0,468	733 +/- 434	903 +/- 263	0,033	84	97	1,000	74	95	1,000
Calcium (mg/jour)	952 +/- 455	1011 +/- 278	0,366	896 +/- 419	867 +/- 315	0,550	11 +/- 48	100 +/- 188	0,010	47	58	0,003	32	29	0,011

Les données sont exprimées sous forme de moyenne +/- déviation standard. Les valeurs de p ont été calculées à l'aide du test-t ou avec le test exact de Fisher.

¹*Le BME pour la vitamine D est de 400 UI/jour alors qu'il est de 800 mg/jour pour le calcium chez les enfants âgés entre 4 et 8 ans et de 1 100 mg/jour pour les enfants entre 9 et 18 ans(104).*

²*L'ANR pour la vitamine D est de 600 UI/jour alors que pour le calcium, l'ANR se trouve à 1000 mg/jour pour les enfants âgés entre 4 et 8 ans et 1 300 mg/jour pour les enfants entre 9 et 18 ans(104).*

Chapitre 3 : Discussion

Cette étude de supplémentation en vitamine D chez les enfants ayant l'AF avait comme objectifs principaux d'évaluer la faisabilité, l'acceptabilité et la sécurité d'un bolus de 300 000 UI de vitamine D₃ combiné à une supplémentation quotidienne de 1 000 UI de vitamine D₃ chez les enfants ayant l'AF. Les objectifs secondaires de cette étude étaient d'évaluer l'efficacité de l'intervention, soit le changement des taux de 25(OH)D sériques après 3 mois, ainsi que son impact clinique sur l'hématologie, la douleur, la qualité de vie, la sévérité de l'AF et les marqueurs osseux. L'étude a permis d'établir qu'une telle supplémentation était efficace pour augmenter les taux sériques de 25(OH)D à au moins 75 nmol/L chez 80% des enfants après 3 mois. Néanmoins, la faisabilité et acceptabilité de l'intervention était relativement faible avec la majorité des familles approchées ayant refusé de participer à l'étude. De plus, bien qu'aucun épisode d'hypercalcémie, d'hypercalciurie et d'hypervitaminose D n'ait eu lieu, les enfants du groupe bolus ont toutefois expérimenté plus d'évènements indésirables, particulièrement des symptômes gastro-intestinaux, dans le mois suivant la prise du bolus. Enfin, le bolus de vitamine D combiné à la supplémentation quotidienne de vitamine D n'a eu aucun effet clinique distinct comparativement à la supplémentation quotidienne de vitamine D utilisée seule à l'exception d'un taux de réticulocytes diminué à la fin de l'étude chez le groupe ayant reçu le bolus.

3.1 Retour sur les résultats

3.1.1 Faisabilité et acceptabilité

La majorité des enfants suivis à la clinique d'AF (61%) n'étaient pas éligibles pour participer à l'étude. La plupart n'étaient pas éligibles en raison de leur âge : 46% avaient moins de 5 ans et 5% étaient âgés de plus de 17 ans ou devaient transférer dans une clinique pour adulte dans les 3 prochains mois. Parmi les enfants éligibles, 30% n'ont pas pu être approchés afin de leur présenter l'étude, majoritairement par manque de disponibilité de l'équipe de recherche et/ou des infirmières de la clinique d'AF (44%) ou parce que les familles n'avaient pas le temps, ne sont pas venus à leur rendez-vous médical ou parce qu'aucun parent n'était présent au rendez-vous (44%). Enfin, parmi les familles qui ont pu être approchées, le taux de refus à l'étude était élevé, la majorité des familles ayant refusé de participer (56%). Les raisons de refus les plus fréquentes étaient le manque d'intérêt pour l'étude (22%) et le manque de temps pour participer (19%). Le manque d'intérêt

pour participer à l'étude peut s'expliquer, au moins en partie, par le fait que la majorité des enfants de la clinique d'AF prenaient déjà une supplémentation en vitamine D et ne voyaient donc pas l'intérêt de prendre un bolus de vitamine D supplémentaire. Une autre explication du taux de refus est le temps demandé aux familles pour la participation : l'étude demandait près de 2h à la clinique d'AF pour les participants, un test urinaire à faire à aller porter à une clinique après 7 à 10 jours post bolus ainsi qu'un deuxième rendez-vous pour la fin de l'étude d'une durée d'environ 1h. La lourdeur des questionnaires, le temps d'attente pour les résultats de la prise de sang avant de pouvoir prendre le bolus et le deuxième rendez-vous post 3 mois ne coïncidant pas toujours avec un rendez-vous médical à la clinique ont tous été des facteurs importants limitant la participation à l'étude. Dans les autres études de supplémentation en vitamine D pour les enfants ayant l'AF, la faisabilité et l'acceptabilité de l'intervention ne sont que très rarement rapportées. La seule étude ayant évalué l'acceptabilité de différentes formes de supplémentation en vitamine D a rapporté, chez 81 enfants ayant l'AF et suivis sur une période de 7 ans, que la supplémentation quotidienne de 400 UI de vitamine D a dû être abandonnée, étant donné la faible adhérence au traitement comparativement aux bolus de plus hautes doses(97). Toutefois, ceci était rapporté de façon anecdotique et n'était pas appuyé par des données. Pour ce qui sont des études s'étant penchées sur les taux de refus de participation aux études pédiatriques, celles-ci sont arrivées à des taux de refus variables, pouvant être très faibles dans le cas d'études multicentriques (taux moyens de refus de 12,5%)(110) à des taux pouvant aller jusqu'à 76% pour une étude hypothétique dans laquelle aucun bénéfice direct n'était envisagé, mais qui comportait un faible risque pour l'enfant(111). Considérant que, dans notre étude, 22% des familles approchées ont refusé de participer, car ils ne voyaient pas de bénéfices pour leur enfant et 11%, car ils jugeaient que l'étude comportait trop de risques, cela peut également expliquer le haut taux de refus observé lors de notre étude.

3.1.2 Sécurité

Le bolus de 300 000 UI de vitamine D donné une fois à des enfants ayant l'AF et combiné à la supplémentation de vitamine D quotidienne de 1 000 UI n'a engendré aucun épisode d'hypercalcémie, d'hypercalciurie ou d'hypervitaminose D. Toutefois, plus d'enfants ont rapporté des effets indésirables le premier mois suivant la prise du bolus de vitamine D (63% vs. 37%, $p=0,051$). Cela était particulièrement vrai pour les symptômes gastro-intestinaux (i.e. nausée, vomissement, douleur abdominale, constipation et diarrhée) avec 33% des enfants du groupe bolus

ayant rapporté ce type de symptômes lors du premier mois suivant la prise du bolus comparativement à 5% pour le groupe placebo ($p=0,038$). Comme le bolus et le placebo étaient identiques en termes d'apparence, de goût et de composition, l'effet semble attribuable à l'ingrédient actif, soit la vitamine D. Aucune autre étude de supplémentation en vitamine D chez les enfants ayant l'AF n'a rapporté ce type de symptôme suivant un bolus de vitamine D. En fait, le seul effet indésirable rapporté dans deux études provenant du même auteur est une sensation de picotement des mains et des lèvres suite à la prise de bolus de vitamine D de hautes doses (50 000 UI deux fois par semaine dans un histoire de cas, et doses ajustées selon le poids entre 240 000 et 600 000 UI donnés sur une période de 6 semaines dans une étude interventionnelle chez 39 enfants)(53, 103), ce que nous n'avons observé chez aucun de nos participants à l'étude. Les fourmillements au niveau des mains et des lèvres sont des signes physiques rapportés lorsque la calcémie s'abaisse. Il est possible que dans ces études, les sujets aient expérimenté une baisse importante de leur calcémie suite à la prise du bolus, un effet qui peut survenir chez les enfants ayant de faibles apports en calcium. C'est d'ailleurs pour éviter cette baisse de la calcémie que, dans notre étude, nous supplémentions en calcium les enfants qui avaient de faibles apports en ce nutriment. Chez les personnes n'ayant pas l'AF, des doses de moins de 10 000 UI/jour ne sont normalement pas associées à des épisodes de toxicité(1), ce qui correspond à ce qui a été donné lors de l'étude (doses équivalent à un maximum de 4 988 UI/jour).

3.1.3 Efficacité

Notre étude s'ajoute aux études existantes, mais peu nombreuses, portant sur la supplémentation en vitamine D chez les enfants ayant l'AF. Comme toutes les autres études réalisées sur ce sujet, nous avons vu une augmentation des taux de vitamine D chez les enfants ayant reçu le bolus. À la fin de l'étude, plus de 80% des enfants ayant reçu le bolus avaient des taux suffisants de vitamine D (≥ 75 nmol/L). Chez les enfants recevant le placebo, la supplémentation en vitamine D quotidienne était efficace pour maintenir les taux de 25(OH)D, sans nécessairement les augmenter : seuls 45% des enfants de ce groupe avaient des taux de 25(OH)D supérieurs à 75 nmol/L à la fin de l'étude comparativement à 35% au début de l'étude. L'adhérence à la supplémentation quotidienne a été soulignée comme un facteur important pour l'atteinte de taux de 25(OH)D suffisants : les enfants adhérents à la supplémentation avaient des taux de 84 ± 23 nmol/L au début de l'étude comparativement aux enfants non adhérents qui avaient des taux de 56

+/- 25 nmol/L ($p=0,011$). Ainsi, les bolus de hautes doses de vitamine D pourraient être une alternative efficace pour augmenter les taux de 25(OH)D des enfants ayant l'AF qui ont des problèmes d'adhérence à leur supplémentation en vitamine D. Les études de bolus de hautes doses de vitamine D chez les enfants ayant l'AF ont également vu une plus grande augmentation des taux de 25(OH)D que des doses plus faibles. Dans l'étude de Lee *et al* comparant des bolus mensuels de 100 000 UI de vitamine D (équivalent de 3 333 UI/jour) à des bolus mensuels de 12 000 UI (équivalent de 400 UI/jour) pendant une période 2 ans chez 62 enfants(55), seuls les enfants recevant la plus haute dose ont vu une amélioration de leur 25(OH)D à des taux suffisants (≥ 75 nmol/L). Néanmoins, d'autres études chez les enfants ayant l'AF ont tout de même observé des augmentations des taux de 25(OH)D plus importantes chez des enfants recevant de plus faibles doses de vitamine D. Ainsi, dans l'étude de Shams *et al*, des doses quotidiennes de 400 UI de vitamine D données sur une période de 6 mois chez 58 garçons ayant l'AF ont permis d'augmenter leurs taux de 25(OH)D à 81 nmol/L comparativement aux garçons du groupe placebo qui avaient des taux moyens de 39 nmol/L à la fin de l'étude(99). Toutefois, aucune mention n'est faite dans cette étude du pourcentage d'enfants se trouvant toujours en insuffisance de vitamine D après l'intervention et il est donc possible qu'une grande partie des enfants soient toujours à des taux insuffisants, comme ce que nous avons observé chez le groupe placebo lors de notre étude.

3.1.4 Effets cliniques

Nous n'avons pas observé d'effet clinique du placebo, à l'exception du taux de réticulocytes abaissés chez les enfants du groupe bolus comparativement au groupe placebo. Toutefois, il n'y avait aucune relation entre les taux de 25(OH)D et le décompte des réticulocytes. Il est donc possible que la diminution des réticulocytes ait été causée par l'effet du bolus lui-même et non pas par l'augmentation des taux de 25(OH)D. Une autre hypothèse pouvant expliquer l'absence de relation est qu'il est possible que lors du rendez-vous post 3 mois, les taux de 25(OH)D aient déjà eu le temps de diminuer nous empêchant de voir le lien entre le décompte de réticulocytes et les niveaux de 25(OH)D. Similairement, aucune étude de supplémentation de vitamine D chez les personnes ayant l'AF n'a observé d'impact sur le décompte des réticulocytes. Toutefois, plusieurs études observationnelles ont observé un lien entre la vitamine D et les réticulocytes : les enfants en déficience de vitamine D avaient de plus hauts taux de réticulocytes que les enfants en suffisance(70, 81, 87). Dans notre étude, l'effet d'une baisse du décompte des réticulocytes sur

l'hémolyse de ces enfants est très incertain, car nous n'avons pas assez de données pour le confirmer : ainsi, seuls 10 enfants ont eu leur bilirubine mesurée à la fin de l'étude. Les réticulocytes seraient un marqueur à long terme de morbidité et seraient ainsi associés à l'hypertension pulmonaire et aux accidents vasculaires cérébraux chez les personnes ayant l'AF(70). Si le lien entre la vitamine D et les réticulocytes est avéré chez les personnes ayant l'AF, un meilleur statut en vitamine D pourrait donc réduire le risque de complications graves associées à l'AF.

En général, l'absence quasi-totale d'effets cliniques dans notre étude s'explique probablement par la durée de l'essai clinique de seulement 3 mois et par les taux initiaux de 25(OH)D de notre cohorte qui étaient suffisants chez la moitié des participants. Dans une étude à plus longue durée et chez une population plus carencée en vitamine D, les effets auraient potentiellement été plus nombreux(112). Contrairement à nous, d'autres études de supplémentation chez les enfants ayant l'AF ont observé des effets cliniques à la supplémentation en vitamine D dont, entre autres, sur la douleur, l'hématologie, l'inflammation et la santé osseuse. Dans l'étude randomisée contrôlée à double aveugle de Osunkwo *et al* chez 39 personnes âgées entre 7 et 21 ans et ayant l'AF, les participants ayant reçu les doses de vitamine D (entre 240 000 et 600 000 UI, ajustées selon le poids et données sur 6 semaines) ont vu une amélioration de leurs scores pour la santé physique du questionnaire PedsQL ainsi qu'une diminution du nombre de jours de douleur lors du pic de 25(OH)D(100). Dans l'étude de Dougherty *et al*, la supplémentation quotidienne en vitamine D à des taux se situant entre 4 000 et 7 000 UI par jour chez des enfants ayant l'AF a permis une amélioration de l'hématologie, bien que modeste, avec une diminution du nombre de patients ayant un décompte plaquettaire élevé ainsi qu'une augmentation de l'HbF(79).

3.2 Rôles de la nutritionniste en anémie falciforme

L'importance de la nutrition en contexte d'AF est encore peu connue, mais est d'une grande importance pour les enfants atteints de la maladie. Depuis notre première étude ayant permis de mesurer le statut nutritionnel en vitamine D des enfants suivis pour AF au CHU Sainte-Justine, la prescription plus systématique de suppléments de vitamine D par les hématologues de la clinique d'AF a permis de grandement améliorer les taux sériques de 25(OH)D chez ces enfants. Ainsi, les

taux de déficience en vitamine D sont passés de près de 70% lors de notre première étude à 16% lors de la seconde. Bien que les enfants suivis pour AF au CHU Sainte-Justine ont maintenant de meilleurs apports en vitamine D, ceux-ci pourraient bénéficier d'autres interventions nutritionnelles. Ainsi, la majorité, soit 53%, n'atteignaient pas le BME pour le calcium alors que chez les enfants canadiens, ce pourcentage se situe entre 19% et 68% selon l'âge et le sexe, avec des apports plus faibles chez les enfants âgés de 9 ans et plus et de sexe féminin(113). Or, dans notre étude, près de 40% des enfants étaient âgés de moins de 9 ans et la majorité (61%) étaient de sexe masculin : des apports en calcium plus élevés auraient donc normalement dû être observés. Ainsi, chez les enfants âgés de moins de 9 ans participant à l'étude, 35% n'atteignaient pas le BME (vs 19% en moyenne chez les enfants canadiens). Dans une étude par Mandese *et al* chez 29 enfants avec AF âgés entre 3 et 18 ans, les apports en calcium étaient de 462 +/- 241 mg ce qui est encore moins élevé que ce que nous avons observé(114) et étaient négativement corrélés avec le nombre d'hospitalisations par année, tout comme les apports en fer, en phosphore et en lipides. Les niveaux d'HbF étaient eux aussi négativement corrélés aux apports alimentaires en plusieurs macros et micros nutriments (glucides, lipides, fer, phosphore et vitamines B1 et B2). Le lien entre les apports en nutriments et les marqueurs de sévérité de l'AF souligne l'importance de la nutrition, encore peu connue, dans le traitement de l'AF. Les retards de croissance, également rapportés comme conséquence de la maladie, peuvent bénéficier eux aussi d'un suivi nutritionnel(54). Les nutritionnistes peuvent avoir un impact non seulement sur la bonne croissance de ces enfants, mais également sur la sévérité de l'AF en assurant des apports adéquats en macros et micros nutriments chez une population qui tend à avoir des apports insuffisants non seulement en énergie, mais aussi en plusieurs nutriments(114).

3.3 Forces et faiblesses

Les forces de notre étude incluent la mesure des apports alimentaires en calcium et en vitamine D par une nutritionniste et de l'adhérence rapportée de la supplémentation, le devis de recherche (étude randomisée contrôlée avec placebo), les suivis téléphoniques hebdomadaires permettant de rapporter les effets indésirables expérimentés par les participants, qu'ils soient reliés ou non au bolus de vitamine D, ainsi que les ratios urinaires de calcium/créatinine réalisés à trois moments différents au cours de l'étude. Peu d'études ont relevé les apports alimentaires en calcium et en

vitamine D de façon aussi précise chez cette population; la plupart s'en étant tenu à évaluer l'apports en catégories d'aliments très précis (ex : nombre de portions de produits laitiers ou de poissons). En outre, l'adhérence à la supplémentation, importante pour l'obtention de taux suffisants de 25(OH)D avec la supplémentation quotidienne, n'a été que très peu rapportée dans les études chez les enfants ayant l'AF.

Notre étude comportait toutefois plusieurs limites. Premièrement, notre taille d'échantillon n'était pas suffisante pour observer des effets cliniques de la supplémentation en vitamine D. De plus, le bolus de vitamine D n'était donné qu'une seule fois lors de l'étude ne permettant pas d'observer des effets à long terme d'une supplémentation en vitamine D à haute dose. Bien que l'adhérence à la supplémentation ait été mesurée, celle-ci était seulement auto-rapportée au début et à la fin de l'étude par les familles. Celle-ci souffre donc d'un manque de précision qui aurait pu être réglé, au moins en partie, par le décompte des pilules ou en pesant les bouteilles de supplément. De plus, les questionnaires sur la qualité de vie et la douleur venaient également avec leurs limites : ceux-ci étaient souvent difficiles à administrer chez les plus jeunes enfants, n'étaient pas toujours répondus par le même parent au début et à la fin de l'étude et étaient parfois complétés par téléphone quelques jours après le rendez-vous à la clinique par manque de temps des familles la journée même. Tous ces détails ont pu venir biaiser les résultats obtenus par les questionnaires et donc limiter les conclusions que nous avons pu en tirer. Enfin, les prises de sang n'ont pas été réalisées à jeun ni au même moment de la journée pour tous les participants ce qui a pu fausser certaines des données prélevées. Par exemple, le marqueur osseux CTX fonctionne sous un cycle circadien et peut donc avoir une variation biologique normale selon le moment où il est prélevé(115).

3.4 Application clinique du projet

Présentement, la prescription de vitamine D de 1 000 UI par jour se fait de façon routinière pour les enfants suivis à la clinique d'AF du CHU Sainte-Justine. Or, l'adhérence à cette supplémentation peut causer un problème pour certaines familles. La prise d'un bolus oral de vitamine D lors des visites à la clinique pourrait donc être une alternative intéressante pour ces enfants afin que ceux-ci atteignent et maintiennent des taux suffisants de 25(OH)D. Toutefois, il

existe plusieurs freins à l'implantation clinique d'une telle mesure. Il faudrait d'abord, comme nous l'avons fait lors de cette étude, évaluer les apports en calcium des enfants afin d'évaluer le besoin de prescrire une supplémentation ou d'augmenter les apports alimentaires en calcium dans le but d'éviter les symptômes pouvant être causés par une hypocalcémie suite à l'ingestion du bolus de vitamine D. Toutefois, la prescription d'un supplément en calcium engendre un autre problème d'adhérence, puisqu'il s'agit aussi d'un supplément à prendre de façon quotidienne. Dans notre étude, l'adhérence aux suppléments de calcium était plus faible que pour la vitamine D, soit de 62 +/- 41% ce qui pourrait être problématique sur le long terme. Le suivi clinique de la supplémentation par bolus pourrait également être un frein à son implantation clinique, car celle-ci nécessite des mesures qui ne sont pas faites de routine, telles que le ratio urinaire de calcium/créatinine et le calcium sérique. Cependant, ces mesures pourraient possiblement être incorporées de façon routinière dans le suivi clinique des patients. Enfin, les effets indésirables reliés au système gastro-intestinal observés lors de notre étude pourraient s'avérer un frein à l'adhérence aux bolus si les symptômes sont effectivement causés par celui-ci.

3.5 Perspectives futures

Notre étude a permis de démontrer l'efficacité d'un bolus oral de 300 000 UI de vitamine D₃, combiné à une supplémentation quotidienne de 1 000 UI de vitamine D₃, pour l'augmentation des taux sériques de 25(OH)D à des niveaux suffisants. Or, des études longitudinales incluant de plus grandes cohortes, et préférablement multicentriques, sont nécessaires afin d'évaluer les effets cliniques d'une telle supplémentation. L'ajustement des doses selon le poids devrait aussi être examiné étant donné que les taux sériques de 25(OH)D obtenus en sont dépendants(106). Entre-temps, l'implication d'une nutritionniste chez cette clientèle permettrait d'assurer des apports adéquats, non seulement en vitamine D, mais également en calcium et en d'autres nutriments. En effet, le statut nutritionnel des enfants avec AF ne devrait pas être négligé et permettrait potentiellement de diminuer la sévérité de la maladie et d'optimiser leur qualité de vie(114). Enfin, les études de supplémentation futures devront porter une attention particulière à la faisabilité et l'acceptabilité de l'intervention proposée afin d'obtenir un meilleur taux de recrutement. Des interventions ne demandant pas trop de temps sur place aux familles (moins de 30 minutes) et n'exigeant pas de rendez-vous supplémentaires seront ainsi plus faciles à implanter à la pratique

actuelle. De plus, la diminution du nombre de critères d'exclusion, par exemple en étendant l'intervention aux enfants âgés de moins de 5 ans, aiderait à augmenter le nombre d'enfants éligibles à l'étude et pouvant être recrutés et permettrait une meilleure généralisation des résultats.

Chapitre 4: Conclusion

Notre étude a permis de démontrer qu'un bolus de 300 000 UI de vitamine D donné une fois à des enfants ayant l'AF et combiné à une supplémentation quotidienne de 1 000 UI de vitamine D est efficace pour augmenter les taux sériques de 25(OH)D d'au moins 80% des enfants à des taux de 25(OH)D suffisants (≥ 75 nmol/L). Le bolus combiné avec la supplémentation quotidienne était ainsi plus efficace que la supplémentation quotidienne utilisée seule, même chez les enfants adhérents à la supplémentation de vitamine D (≥ 4 jours/semaine). L'étude a toutefois été compliquée par une faisabilité et une acceptabilité plus faible que prévu. De plus, l'intervention n'a pas eu d'impact clinique significatif à l'exception du décompte de réticulocytes abaissé chez les participants du groupe bolus comparativement aux enfants du groupe placebo. Des études de plus longues durées et avec de plus grandes cohortes sont nécessaires pour déterminer les effets cliniques d'une supplémentation à hautes doses de vitamine D chez les enfants ayant l'AF.

Bibliographie

1. Institute of Medicine Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D, Calcium. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Dans: Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, rédacteurs. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US) National Academy of Sciences.; 2011.
2. Jones KS, Assar S, Harnpanich D, Bouillon R, Lambrechts D, Prentice A, et al. 25(OH)D2 half-life is shorter than 25(OH)D3 half-life and is influenced by DBP concentration and genotype. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(9):3373-81. Epub 2014/06/03.
3. Capers PL, Hyacinth HI, Cue S, Chappa P, Vikulina T, Roser-Page S, et al. Body composition and grip strength are improved in transgenic sickle mice fed a high-protein diet. *J Nutr Sci*. 2015;4:e6. Epub 2015/06/20.
4. Christakos S, Hewison M, Gardner DG, Wagner CL, Sergeev IN, Rutten E, et al. Vitamin D: beyond bone. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1287:45-58. Epub 2013/05/21.
5. Borel P, Caillaud D, Cano NJ. Vitamin D bioavailability: state of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;55(9):1193-205. Epub 2014/06/11.
6. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365-408. Epub 2015/12/19.
7. Van Driel M, van Leeuwen J. Vitamin D endocrinology of bone mineralization. *Mol Cell Endocrinol*. 2017;453:46-51. Epub 2017/06/14.
8. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(7):1911-30. Epub 2011/06/08.
9. Maurya VK, Aggarwal M. Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview. *J Food Sci Technol*. 2017;54(12):3753-65. Epub 2017/11/01.
10. Osborn J, Germann A, St Anna L. Clinical inquiries. Which regimen treats vitamin D deficiency most effectively? *J Fam Pract*. 2011;60(11):682-3. Epub 2011/11/04.
11. Hammami MM, Yusuf A. Differential effects of vitamin D2 and D3 supplements on 25-hydroxyvitamin D level are dose, sex, and time dependent: a randomized controlled trial. *BMC Endocr Disord*. 2017;17(1):12. Epub 2017/02/25.
12. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*. 2013;5(7):2502-21. Epub 2013/07/17.
13. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2014;383(9912):146-55. Epub 2013/10/15.
14. Sim JJ, Lac PT, Liu IL, Meguerditchian SO, Kumar VA, Kujubu DA, et al. Vitamin D deficiency and anemia: a cross-sectional study. *Annals of hematology*. 2010;89(5):447-52. Epub 2009/10/21.
15. Kim YL, Kim H, Kwon YE, Ryu DR, Lee MJ, Park KS, et al. Association between Vitamin D Deficiency and Anemia in Patients with End-Stage Renal Disease: A Cross-Sectional Study. *Yonsei Med J*. 2016;57(5):1159-64. Epub 2016/07/13.
16. Nikooyeh B, Neyestani TR. Poor vitamin D status increases the risk of anemia in school children: National Food and Nutrition Surveillance. *Nutrition*. 2018;47:69-74. Epub 2018/02/13.
17. Jin HJ, Lee JH, Kim MK. The prevalence of vitamin D deficiency in iron-deficient and normal children under the age of 24 months. *Blood Res*. 2013;48(1):40-5. Epub 2013/04/17.
18. Smith EM, Tangpricha V. Vitamin D and anemia: insights into an emerging association. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2015;22(6):432-8. Epub 2015/09/29.
19. Smith TJ, Tripkovic L, Lanham-New SA, Hart KH. Vitamin D in adolescence: evidence-based dietary requirements and implications for public health policy. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2018;77(3):292-301. Epub 2017/12/05.

20. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2016;101(2):394-415. Epub 2016/01/09.
21. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*. 2008;122(2):398-417. Epub 2008/08/05.
22. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Annals of epidemiology*. 2009;19(2):73-8. Epub 2008/03/11.
23. 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. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;84(1):18-28. Epub 2006/07/11.
24. Jukic AMZ, Hoofnagle AN, Lutsey PL. Measurement of Vitamin D for Epidemiologic and Clinical Research: Shining Light on a Complex Decision. *American Journal of Epidemiology*. 2017;187(4):879-90.
25. Arneson WL, Arneson DL. Current Methods for Routine Clinical Laboratory Testing of Vitamin D Levels. *Laboratory Medicine*. 2013;44(1):e38-e42.
26. Fraser WD, Tang JCY, Dutton JJ, Schoenmakers I. Vitamin D Measurement, the Debates Continue, New Analytes Have Emerged, Developments Have Variable Outcomes. *Calcified Tissue International*. 2020;106(1):3-13.
27. Munasinghe LL, Willows ND, Yuan Y, Ekwaru JP, Veugelers PJ. Vitamin D Sufficiency of Canadian Children Did Not Improve Following the 2010 Revision of the Dietary Guidelines That Recommend Higher Intake of Vitamin D: An Analysis of the Canadian Health Measures Survey. *Nutrients*. 2017;9(9). Epub 2017/08/29.
28. O'Connor MY, Thoreson CK, Ramsey NL, Ricks M, Sumner AE. The uncertain significance of low vitamin D levels in African descent populations: a review of the bone and cardiometabolic literature. *Progress in cardiovascular diseases*. 2013;56(3):261-9. Epub 2013/11/26.
29. Jarvis JK, Miller GD. Overcoming the barrier of lactose intolerance to reduce health disparities. *J Natl Med Assoc*. 2002;94(2):55-66. Epub 2002/02/21.
30. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266-81. Epub 2007/07/20.
31. Vogiatzi MG, Jacobson-Dickman E, DeBoer MD. Vitamin D supplementation and risk of toxicity in pediatrics: a review of current literature. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(4):1132-41. Epub 2014/01/25.
32. Gunton JE, Girgis CM. Vitamin D and muscle. *Bone reports*. 2018;8:163-7. Epub 2018/07/03.
33. Guirguis-Blake JM, Michael YL, Perdue LA, Coppola EL, Beil TL. Interventions to Prevent Falls in Older Adults: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *Jama*. 2018;319(16):1705-16. Epub 2018/05/02.
34. Kahwati LC, Weber RP, Pan H, Gourlay M, LeBlanc E, Coker-Schwimmer M, et al. Vitamin D, Calcium, or Combined Supplementation for the Primary Prevention of Fractures in Community-Dwelling Adults: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *Jama*. 2018;319(15):1600-12. Epub 2018/04/21.
35. Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R, et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2016;27(4):1281-386. Epub 2016/02/10.
36. Martineau AR, Cates CJ, Urashima M, Jensen M, Griffiths AP, Nurmatov U, et al. Vitamin D for the management of asthma. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2016;9(9):Cd011511. Epub 2016/09/07.

37. Hollis BW, Wagner CL. Clinical review: The role of the parent compound vitamin D with respect to metabolism and function: Why clinical dose intervals can affect clinical outcomes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2013;98(12):4619-28. Epub 2013/10/10.
38. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Bmj*. 2017;356:i6583. Epub 2017/02/17.
39. Illescas-Montes R, Melguizo-Rodríguez L, Ruiz C, Costela-Ruiz VJ. Vitamin D and autoimmune diseases. *Life Sci*. 2019;233:116744. Epub 2019/08/12.
40. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. *The Lancet*. 2017;390(10091):311-23.
41. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010;376(9757):2018-31. Epub 2010/12/07.
42. Serjeant GR. The natural history of sickle cell disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(10):a011783. Epub 2013/07/03.
43. Naik RP, Haywood C, Jr. Sickle cell trait diagnosis: clinical and social implications. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;2015:160-7. Epub 2015/12/08.
44. Vaishya R, Agarwal AK, Edomwonyi EO, Vijay V. Musculoskeletal Manifestations of Sickle Cell Disease: A Review. *Cureus*. 2015;7(10):e358-e.
45. Morris CR. Vascular risk assessment in patients with sickle cell disease. *Haematologica*. 2011;96(1):1-5. Epub 2011/01/05.
46. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev*. 2007;21(1):37-47. Epub 2006/11/07.
47. Adegoke SA, Smith OS, Adekile AD, Figueiredo MS. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and inflammatory cytokines in paediatric sickle cell disease. *Cytokine*. 2017;96:87-93. Epub 2017/04/09.
48. Lettre G, Bauer DE. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: from genetic epidemiology to new therapeutic strategies. *Lancet*. 2016;387(10037):2554-64. Epub 2016/06/30.
49. Benenson I, Porter S. Sickle Cell Disease: Bone, Joint, Muscle, and Motor Complications. *Orthop Nurs*. 2018;37(4):221-7. Epub 2018/07/22.
50. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2017;376(16):1561-73. Epub 2017/04/20.
51. Gouvernement du Québec. Blood and Urine Screening in Newborns : 2019 [cité le 2019-10-01 2019]. Disponible: <https://www.quebec.ca/en/health/advice-and-prevention/screening-and-carrier-testing-offer/blood-and-urine-screening-in-newborns/diseases-screened/>
52. Sickle Cell Disease Association of Canada. Screening and Counselling : 2018 [cité le 2019-10-01 2019]. Disponible: <https://www.sicklecelldisease.ca/eng/2018/09/28/screening-and-counselling/>
53. Osunkwo I. Complete resolution of sickle cell chronic pain with high dose vitamin D therapy: a case report and review of the literature. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2011;33(7):549-51. Epub 2011/09/24.
54. Canadian Haemoglobinopathy Association. Consensus Statement on the Care of Patients with Sickle Cell Disease in Canada. Version 2.0 Ottawa: 2015 [2019].
55. Lee MT, Kattan M, Fennoy I, Arpadi SM, Miller RL, Cremers S, et al. Randomized phase 2 trial of monthly vitamin D to prevent respiratory complications in children with sickle cell disease. *Blood advances*. 2018;2(9):969-78. Epub 2018/05/02.
56. Garadah TS, Hassan AB, Jaradat AA, Diab DE, Kalafalla HO, Kalifa AK, et al. Predictors of Abnormal Bone Mass Density in Adult Patients with Homozygous Sickle-Cell Disease. *Clinical Medicine Insights Endocrinology and Diabetes*. 2015;8:35-40.

57. Voskaridou E, Stoupa E, Antoniadou L, Premetis E, Konstantopoulos K, Papassotiriou I, et al. Osteoporosis and osteosclerosis in sickle cell/beta-thalassemia: the role of the RANKL/osteoprotegerin axis. *Haematologica*. 2006;91(6):813-6. Epub 2006/05/18.
58. Reynolds J. A RE-EVALUATION OF THE "FISH VERTEBRA" SIGN IN SICKLE CELL HEMOGLOBINOPATHY. *American Journal of Roentgenology*. 1966;97(3):693-707.
59. Bernaudin F. Why, Who, When, and How? Rationale for Considering Allogeneic Stem Cell Transplantation in Children with Sickle Cell Disease. *J Clin Med*. 2019;8(10). Epub 2019/09/25.
60. Qureshi A, Kaya B, Pancham S, Keenan R, Anderson J, Akanni M, et al. Guidelines for the use of hydroxycarbamide in children and adults with sickle cell disease: A British Society for Haematology Guideline. *British journal of haematology*. 2018;181(4):460-75. Epub 2018/05/08.
61. Agrawal RK, Patel RK, Shah V, Nainiwal L, Trivedi B. Hydroxyurea in sickle cell disease: drug review. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2014;30(2):91-6.
62. Hyacinth HI, Gee BE, Hibbert JM. The Role of Nutrition in Sickle Cell Disease. *Nutr Metab Insights*. 2010;3:57-67. Epub 2010/01/01.
63. Reid M. Nutrition and sickle cell disease. *C R Biol*. 2013;336(3):159-63. Epub 2013/05/07.
64. Salman EK, Haymond MW, Bayne E, Sager BK, Wiisanen A, Pitel P, et al. Protein and energy metabolism in prepubertal children with sickle cell anemia. *Pediatric research*. 1996;40(1):34-40. Epub 1996/07/01.
65. Singhal A, Parker S, Linsell L, Serjeant G. Energy intake and resting metabolic rate in preschool Jamaican children with homozygous sickle cell disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;75(6):1093-7. Epub 2002/05/31.
66. Zemel BS, Kawchak DA, Fung EB, Ohene-Frempong K, Stallings VA. Effect of zinc supplementation on growth and body composition in children with sickle cell disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;75(2):300-7. Epub 2002/01/30.
67. Nguyen GT, Lewis A, Goldener C, Reed B, Dulman RY, Yang E. Discontinuation of Folic Acid Supplementation in Young Patients With Sickle Cell Anemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2017;39(6):470-2. Epub 2016/08/30.
68. Nolan VG, Nottage KA, Cole EW, Hankins JS, Gurney JG. Prevalence of Vitamin D Deficiency in Sickle Cell Disease: A Systematic Review. *PLoS One*. 2015;10(3).
69. de Oliveira JF, Vicente NG, Santos JP, Weffort VR. [Vitamin D in children and adolescents with sickle cell disease: an integrative review]. *Revista paulista de pediatria : orgao oficial da Sociedade de Pediatria de Sao Paulo*. 2015;33(3):350-5. Epub 2015/07/05. Vitamina D em crianças e adolescentes com doença falciforme: uma revisao integrativa.
70. Adegoke SA, Braga JAP, Adekile AD, Figueiredo MS. The Association of Serum 25-Hydroxyvitamin D With Biomarkers of Hemolysis in Pediatric Patients With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018;40(2):159-62. Epub 2017/01/19.
71. Martyres DJ, Vijenthira A, Barrowman N, Harris-Janz S, Chretien C, Klaassen RJ. Nutrient Insufficiencies/Deficiencies in Children With Sickle Cell Disease and Its Association With Increased Disease Severity. *Pediatr Blood Cancer*. 2016;63(6):1060-4. Epub 2016/02/09.
72. Samson K, McCartney H, Vercauteren S, Wu J, Karakochuk C. Prevalence of Vitamin D Deficiency Varies Widely by Season in Canadian Children and Adolescents with Sickle Cell Disease. *Journal of Clinical Medicine*. 2018;7(2):14.
73. Lee MT, Licursi M, McMahan DJ. Vitamin D deficiency and acute vaso-occlusive complications in children with sickle cell disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(4):643-7. Epub 2015/02/03.
74. Adegoke SA, Oyelami OA, Adekile A, Figueiredo MS. Influence of serum 25-hydroxyvitamin D on the rate of pain episodes in Nigerian children with sickle cell anaemia. *Paediatrics and international child health*. 2017;37(3):217-21. Epub 2017/03/09.

75. AlJama A, AlKhalifah M, Al-Dabbous IA, Alqudaihi G. Vitamin D deficiency in sickle cell disease patients in the Eastern Province of Saudi Arabia. *Annals of Saudi medicine*. 2018;38(2):130-6. Epub 2018/04/06.
76. Hood AM, Quinn CT, King CD, Shook LM, Peugh JL, Crosby LE. Vitamin D supplementation and pain-related emergency department visits in children with sickle cell disease. *Complement Ther Med*. 2020;49:102342. Epub 2020/03/10.
77. Brown B, Long K, Agdere L, Kulpa J, Zarzoso-Fernandez S, Choudhary D, et al. The association between vitamin D deficiency and hospitalization outcomes in pediatric patients with sickle cell disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2020;82:102415. Epub 2020/03/15.
78. Rovner AJ, Stallings VA, Kawchak DA, Schall JI, Ohene-Frempong K, Zemel BS. High risk of vitamin D deficiency in children with sickle cell disease. *Journal of the American Dietetic Association*. 2008;108(9):1512-6. Epub 2008/08/30.
79. Dougherty KA, Bertolaso C, Schall JI, Smith-Whitley K, Stallings VA. Safety and Efficacy of High-dose Daily Vitamin D3 Supplementation in Children and Young Adults With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2015;37(5):e308-15. Epub 2015/05/20.
80. Adegoke SA, Smith OS, Adeniyi AT, Adekile AD. Thrombospondin-1 and Vitamin D in Children With Sickle Cell Anemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018. Epub 2018/12/07.
81. Hamdy M, Salama N, Maher G, Elrefae A. Vitamin D and Nonskeletal Complications among Egyptian Sickle Cell Disease Patients. *Adv Hematol*. 2018;2018:3867283. Epub 2018/10/12.
82. Han J, Zhang X, Saraf SL, Gowhari M, Molokie RE, Hassan J, et al. Risk factors for vitamin D deficiency in sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2018. Epub 2018/05/17.
83. Buisson AM, Kawchak DA, Schall J, Ohene-Frempong K, Stallings VA, Zemel BS. Low vitamin D status in children with sickle cell disease. *The Journal of pediatrics*. 2004;145(5):622-7. Epub 2004/11/03.
84. Arlet JB, Courbebaisse M, Chatellier G, Eladari D, Souberbielle JC, Friedlander G, et al. Relationship between vitamin D deficiency and bone fragility in sickle cell disease: a cohort study of 56 adults. *Bone*. 2013;52(1):206-11. Epub 2012/10/18.
85. Jackson TC, Krauss MJ, Debaun MR, Strunk RC, Arbelaez AM. Vitamin D deficiency and comorbidities in children with sickle cell anemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2012;29(3):261-6. Epub 2012/04/06.
86. Garrido C, Cela E, Belendez C, Mata C, Huerta J. Status of vitamin D in children with sickle cell disease living in Madrid, Spain. *European journal of pediatrics*. 2012;171(12):1793-8. Epub 2012/09/06.
87. Gregoire-Pelchat P, Alos N, Ribault V, Pastore Y, Robitaille N, Mailhot G. Vitamin D Intake and Status of Children With Sickle Cell Disease in Montreal, Canada. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018;40(8):e531-e6. Epub 2018/09/14.
88. Gliozzi ML, Rbaibi Y, Long KR, Vitturi DA, Weisz OA. Hemoglobin Alters Vitamin Carrier Uptake and Vitamin D Metabolism in Proximal Tubule Cells: Implications for Sickle Cell Disease. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019. Epub 2019/09/12.
89. Winters AC, Kethman W, Kruse-Jarres R, Kanter J. Vitamin D Insufficiency is a Frequent Finding in Pediatric and Adult Patients with Sickle Cell Disease and Correlates with Markers of Cell Turnover. *Journal of Nutritional Disorders & Therapy*. 2014;04.
90. Adegoke SA, Braga JAP, A DA, Figueiredo MS. Impact of Hydroxyurea on Anthropometry and Serum 25-Hydroxyvitamin D Among Children With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018;40(4):e243-e7. Epub 2017/11/28.
91. Adegoke SA, Figueiredo MS, Adekile AD, Braga JAP. Comparative study of the growth and nutritional status of Brazilian and Nigerian school-aged children with sickle cell disease. *International health*. 2017;9(6):327-34. Epub 2017/10/17.

92. Mohammed S, Addae S, Suleiman S, Adzaku F, Annobil S, Kaddoumi O, et al. Serum calcium, parathyroid hormone, and vitamin D status in children and young adults with sickle cell disease. *Annals of clinical biochemistry*. 1993;30 (Pt 1):45-51. Epub 1993/01/01.
93. Newman JC, Malek AM, Hunt KJ, Marriott BP. Nutrients in the US Diet: Naturally Occurring or Enriched/Fortified Food and Beverage Sources, Plus Dietary Supplements: NHANES 2009-2012. *J Nutr*. 2019;149(8):1404-12. Epub 2019/05/28.
94. Osunkwo I, Hodgman EI, Cherry K, Dampier C, Eckman J, Ziegler TR, et al. Vitamin D deficiency and chronic pain in sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2011;153(4):538-40. Epub 2011/02/01.
95. Mandese V, Bigi E, Bruzzi P, Palazzi G, Predieri B, Lucaccioni L, et al. Endocrine and metabolic complications in children and adolescents with Sickle Cell Disease: an Italian cohort study. *BMC Pediatr*. 2019;19(1):56. Epub 2019/02/13.
96. McCaskill ML, Ogunsakin O, Hottor T, Harville EW, Kruse-Jarres R. Serum 25-Hydroxyvitamin D and Diet Mediates Vaso-Occlusive Related Hospitalizations in Sickle-Cell Disease Patients. *Nutrients*. 2018;10(10). Epub 2018/10/03.
97. Wykes C, Arasaretnam A, O'Driscoll S, Farnham L, Moniz C, Rees DC. Vitamin D deficiency and its correction in children with sickle cell anaemia. *Annals of hematology*. 2014;93(12):2051-6. Epub 2014/07/02.
98. Garrido C, Bardón-Cancho EJ, Fajardo-Sánchez V, Cascón-Pérez-Teijón ME, García-Morín M, Cela E. Evaluation of the effectiveness of prophylactic oral vitamin D (cholecalciferol) in children with sickle cell disease. *Bone*. 2020;133:115228. Epub 2020/01/24.
99. Shams T, Al Wadani H, El-Masry R, Zakaria O. Effect of prophylactic vitamin D on anesthetic outcome in children with sickle cell disease. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. 2014;30(1):20-4. Epub 2014/02/28.
100. Osunkwo I, Ziegler TR, Alvarez J, McCracken C, Cherry K, Osunkwo CE, et al. High dose vitamin D therapy for chronic pain in children and adolescents with sickle cell disease: results of a randomized double blind pilot study. *British journal of haematology*. 2012;159(2):211-5. Epub 2012/08/29.
101. Williams KM, Lee MT, Licursi M, Brittenham GM, Fennoy I. Response to Long-term Vitamin D Therapy for Bone Disease in Children With Sickle Cell Disease. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2018. Epub 2018/04/19.
102. Adewoye AH, Chen TC, Ma Q, McMahan L, Mathieu J, Malabanan A, et al. Sickle cell bone disease: response to vitamin D and calcium. *American journal of hematology*. 2008;83(4):271-4. Epub 2007/10/11.
103. Soe HH, Abas AB, Than NN, Ni H, Singh J, Said AR, et al. Vitamin D supplementation for sickle cell disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;1:Cd010858. Epub 2017/01/21.
104. Santé Canada. La vitamine D et le calcium: Révision des Apports nutritionnels de référence. 2012.
105. Ilahi M, Armas LA, Heaney RP. Pharmacokinetics of a single, large dose of cholecalciferol. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(3):688-91. Epub 2008/03/11.
106. Zittermann A, Ernst JB, Gummert JF, Börgermann J. Vitamin D supplementation, body weight and human serum 25-hydroxyvitamin D response: a systematic review. *Eur J Nutr*. 2014;53(2):367-74. Epub 2013/12/03.
107. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(2):582s-6s. Epub 2008/08/12.
108. McNally JD, Iliriani K, Pojsupap S, Sampson M, O'Hearn K, McIntyre L, et al. Rapid normalization of vitamin D levels: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2015;135(1):e152-66. Epub 2014/12/17.
109. Marcinowska-Suchowierska E, Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Płudowski P, Jones G. Vitamin D Toxicity-A Clinical Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:550. Epub 2018/10/09.

110. Kaguelidou F, Amiel P, Blachier A, Iliescu C, Roze JC, Tsimaratos M, et al. Recruitment in pediatric clinical research was influenced by study characteristics and pediatricians' perceptions: a multicenter survey. *J Clin Epidemiol.* 2013;66(10):1151-7. Epub 2013/07/17.
111. Wendler D, Jenkins T. Children's and their parents' views on facing research risks for the benefit of others. *Archives of pediatrics & adolescent medicine.* 2008;162(1):9-14. Epub 2008/01/09.
112. Heaney RP. Health is better at serum 25(OH)D above 30ng/mL. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:224-8. Epub 2012/10/13.
113. Santé Canada. Calcium: Usual intakes from food and supplement sources. 2012.
114. Mandese V, Marotti F, Bedetti L, Bigi E, Palazzi G, Iughetti L. Effects of nutritional intake on disease severity in children with sickle cell disease. *Nutr J.* 2016;15(1):46. Epub 2016/05/01.
115. Chubb SA. Measurement of C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) in serum. *Clin Biochem.* 2012;45(12):928-35. Epub 2012/04/17.

Annexe 1

DATA AND SAFETY MONITORING BOARD REPORT

PROTOCOL TITLE: A Vitamin D Intervention in Children with Sickle Cell Disease: A Pilot Randomized Controlled Trial

PROTOCOL NUMBER: 2018-1811

PROTOCOL VERSION: Version 2, January 11, 2018

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Geneviève Mailhot, PhD, RD and Nathalie Alos, MD
CHU Sainte-Justine University Hospital
Research Center

MEETING DATE: NA

DATE REPORT ISSUED: March 23th, 2020

DATA CUTOFF DATE: March 10th, 2020

DATE OF LAST DATA REVIEW: NOVEMBER 25TH, 2019

PREPARED BY: Pascale Grégoire-Pelchat
RD, Msc(c)
Nutrition Departement, Université de Montréal

Table of Contents

Executive Summary	cix
Protocol Synopsis	cx
1.0 Report Overview	cxiii
2.0 Response to Most Recent DSMB Recommendations/Requests	cxiii
3.0 Enrollment Status	cxiv
4.0 Subject Status	cxvi
5.0 Demographics (and Baseline Characteristics if Appropriate)	cxvii
6.0 Safety Summary	cxviii
6.1 Stopping Rules	cxviii
6.2 Deaths	cxviii
6.3 Unanticipated Problems	cxviii
6.4 Adverse Events	cxviii
6.5 Serious Adverse Events	cxviii
6.6 Laboratory Findings	cxix
6.7 Other Clinical Tests	Erreur ! Signet non défini.
7.0 Protocol Deviations	cxxii
8.0 Quality Management	Erreur ! Signet non défini.
9.0 Outcomes Data	cxxiv
Appendix A: Additional Data Listings	cxxvi

Executive Summary

Report Overview	This report reviews enrollment and safety data available in the study database as of March, 10 th 2020. Summary tables are provided in the body of the report.
Enrollment Status	<ul style="list-style-type: none">• 369 subjects have been screened for this study.• 97 subjects have been approached for this study 42 subjects have been enrolled.
Subject Status	<ul style="list-style-type: none">• 37 subjects have completed the urinary test post 7 days 38 subjects have completed the protocol. No treated subjects have been discontinued (withdrawn) from the study.
Safety Summary	63 adverse events have occurred in 28 subjects. There have been no additional serious adverse events. Of the 63 adverse events, all were considered either mild or moderate.
Protocol Deviations	14 protocol deviations associated with 13 subjects have been reported. None of the deviations has impacted subject safety.

Protocol Synopsis

Protocol Title	A Vitamin D Intervention in Children with Sickle Cell Disease: A Pilot Randomized Controlled Trial
Principal Investigator	Geneviève Mailhot and Nathalie Alos
Study Sites	CHU Sainte-Justine
Study Activation Date	15 november 2018
Planned Accrual	72 patients
Planned Accrual Period	9 months
Planned Duration	12 months
Study Design	Pilot double-blind randomized controlled trial
Study Objectives	<p><u>Primary objectives:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> To assess the feasibility of recruitment and intervention To assess the acceptability of the intervention by patients and parents To assess the safety of the vitamin D₃ bolus (serum and urinary calcium levels, serum 25OHD) <p><u>Secondary objectives:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> To observe the mean change in total serum 25OHD from baseline to 3 months. At 3 months, a raise of the 25OHD level to 75nmol/L or more is expected. To observe the effects of the vitamin D₃ bolus intervention in improving growth (height, weight and BMI), haematological (fetal hemoglobin), inflammatory (TNF and IL-6), bone health (PTH, biochemical markers of bone formation and resorption, musculoskeletal pain) and quality of life.

Treatment Description	<p><u>Experimental group</u>: a single liquid bolus of 300,000 IU oral vitamin D₃, which corresponds roughly to 3,333 IU/day;</p> <p><u>Control group</u>: placebo identical in taste and appearance.</p>
Inclusion Criteria	Children aged 5 to 17 years regardless of SCD genotypes (e.g. HbSS, HbSC, HbS/β-thalassemia, others)
Exclusion Criteria	Conditions or use of medications known to interfere with calcium or vitamin D absorption or metabolism, known hypercalcemia, conditions characterized by a hypersensitivity to vitamin D (e.g. granulomatous disorders), patients clinically diagnosed with rickets or other conditions requiring vitamin D therapy, history or presence of urolithiasis, anticipated difficult follow up, patients already enrolled in other investigational studies, and recent hospitalization for severe pain crisis or acute sickle complication in the past 2 weeks
Study Outcomes	<p>Feasibility and acceptability: i) identification and number needed to screen to identify eligible candidates; ii) willingness of patients and parents to participate in the study and of clinicians to recruit; iii) reasons and rates of refusal, recruitment and attrition, and burden of participation; iv) response rates to questionnaires and compliance to the interventions</p> <p>Safety: Calcium/creatinine ratio will be measured at baseline, on day 7 (+/-3 days) and at 3 months post bolus. Serum calcium will be measured if deemed necessary. The proportion of children with episodes of hypercalciuria, hypercalcemia or serum 25OHD levels > 250nmol/L as well as any other adverse health effects will be documented at endpoint. Adverse events will be inquire by weekly follow-up phone calls.</p> <p>Dietary intakes and sun exposure: Calcium and vitamin D intakes will be assessed at baseline and endpoint. Sun exposure will be evaluated at both timepoints.</p>

	<p>Mean change of 25OHD levels: Blood will be collected at baseline and 3 months post bolus. Serum 25OHD will be measured at both times.</p> <p>Clinical outcomes: Those outcomes will be either collected or measured at baseline and endpoint:</p> <p>(i) Growth: weight, height and BMI.</p> <p>(ii) Haematological: complete blood count, bilirubin, lactate dehydrogenase (as index of hemolysis) and creatinine.</p> <p>(iii) Inflammatory: serum TNF and IL-6</p> <p>(iv) Bone health and musculoskeletal pain: serum PTH and biochemical markers of bone formation (P1NP) and resorption (C-telopeptides (CTX)) will be measured. Musculoskeletal pain will be assessed with the Brief Pain Inventory.</p> <p>(v) SCD-related complications: Other complications affecting bone, the kidneys, the retina, blood vessels, the heart, the lungs, the spleen, the liver and gallbladder will be noted.</p> <p>(vi) Quality of life: Health-related quality of life will be assessed through the Pediatric Quality of life inventory.</p>
--	---

1.0 REPORT OVERVIEW

The purpose of this report is to review final enrollment and safety data for the subjects enrolled in the <<A vitamin D Intervention in Children with Sickle Cell Disease: A Pilot Randomized Controlled Trial>>. This report reflects data from the study database as of March 10th, 2020. Within the body of the report are summary tables of enrollment, demographic characteristics, and adverse events. There have been 1 DSMB meetings for this study on October 26th, 2018 in person with two members of the committee and on October 29th, 2018 by phone conference with the third member. At that time, the DSMB approved the study protocol and the start of this study. There has also been 5 report data for this study on May 6th, 2019, on July 4th, 2019, on July 25th, 2019, on October 25th, 2019 and on November 25th, 2019 which were sent by email to all members of the committee. Readers of this report were asked to maintain the confidentiality of the information provided in this report.

2.0 RESPONSE TO MOST RECENT DSMB RECOMMENDATIONS/REQUESTS

Recommandations that were made in the last meeting and response:

- 1) Measure 25(OH)D if patients are hospitalized during the duration of the study.

Patients enrolled in the study have been given a card to put on the back of their hospital card for the duration of the study. On this card, there is the phone number of the PI and instructions to call at this number in case of hospitalization. This has been made to ensure a better follow up of hospitalized patients and to allow us to ask for the measurement of 25(OH)D during the hospitalization of those patients.

- 2) The measure of the ratio calcium/creatinine in different laboratories (for the second measure of ratio calcium/creatinine) can induce a bias because procedures and equipment can vary between laboratories. Measures should all be made at Sainte-Justine's hospital to exclude such bias.

It has been decided that the variability between laboratories is not clinically significant and does not constitute an additional risk for the study participants. Furthermore, asking patients to come back at Sainte-Justine for that measure would reduce study participation. However, the variability of the measures between laboratories will be considered in the data analysis.

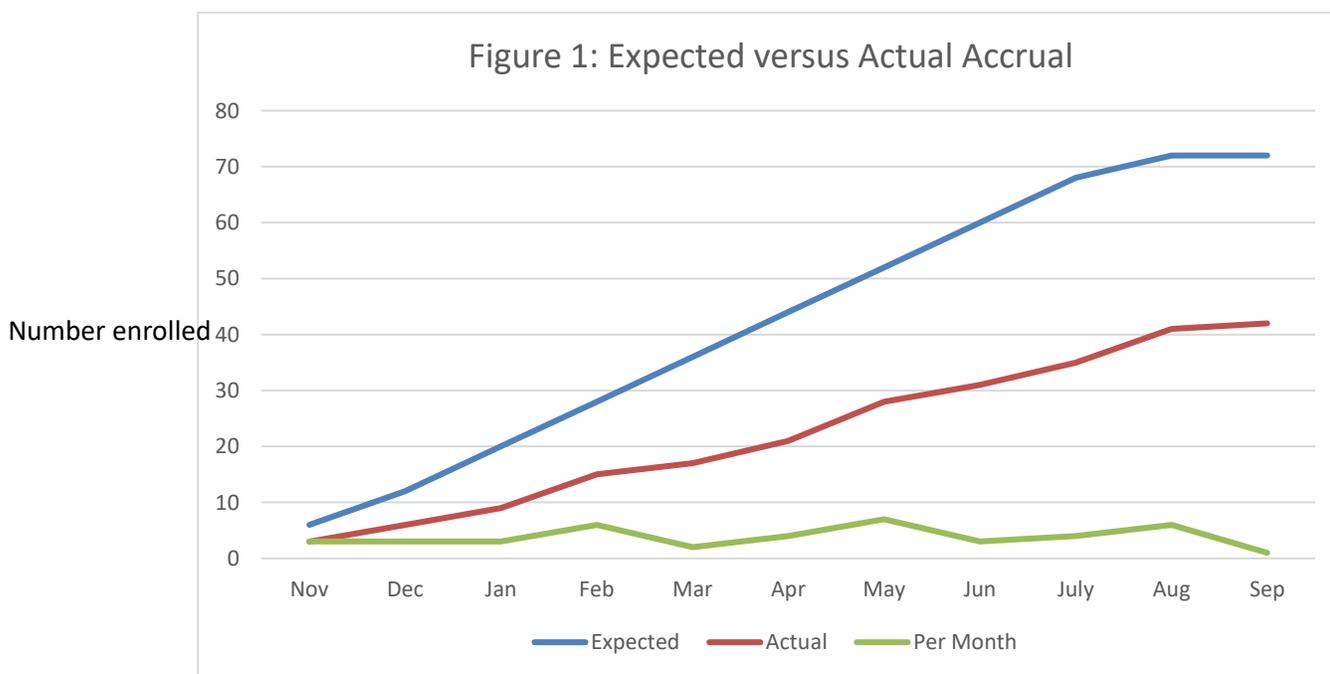
No recommandation has been made following the first, second, third, forth and fifth report data.

3.0 ENROLLMENT STATUS

Table 1. Subject Enrollment Status for All Subjects

	Total
Pre-Screened	369
Declined consent	55
Consented and Screened	42
Eligible	38

Figure 1: Expected versus Actual Accrual



	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	June	July	Aug	Sep
Expected	6	12	20	28	36	44	52	60	68	72	72
Actual	3	6	9	15	17	21	28	31	35	41	42
Per Month	3	3	3	6	2	4	7	3	4	6	1

Table 2: Reasons for Screen Failures

Reason	Total N	Total %*
Too young (<5 years old)	104	28
Too old/adult transfer planned in less than 3 months (>17 years old)	12	3
History of urolithiasis	20	5
Difficult follow-up expected	66	18
Bone disease requiring supplementation	7	2
Medication interfering with calcium or vitamin D metabolism	9	2
Others	9	2
Total Screened	369	
Total Screen Failures	227	62

* - % of the total number screened

4.0 SUBJECT STATUS

Table 3: Study's major milestones and number of subjects who have completed each

Major milestones	Number of subjects who have completed each milestones
Baseline visit	38*
Urinary test (7 +/- 3 days post bolus)	37
Final study visit	38

*4 participants withdrew before completing the baseline visit.

Table 4: Number of subjects who have terminated the study and reasons why

Reasons for termination of study	Number of subjects
Protocol completed	38
Voluntary withdrawal	4
Lost to follow-up	0
Adverse event	0
Death	0
Total	42

5.0 TABLE 5: DEMOGRAPHICS AND BASELINE CHARACTERISTICS

Characteristics		Total participants (%)
N:		42
Gender	Male	25 (60)
	Female	17 (40)
Ethnicity	African	22 (52)
	Haitian	18 (43)
	Maghrebines	1 (2)
	African and haitian	1 (2)
Genotype	HbSS	25 (60)
	HbSC	12 (29)
	S/Bthal+	4 (10)
	S/Bthal0	0 (0)
	Other	1 (2)
Medication/treatment	Hydrea	27 (64)
	Transfusions (at least one in the last year)	5 (12)
Age	Mean	10.09
	Median	9.54
	Standard Deviation	3.56
	Minimum	5.08
	Maximum	17.42

6.0 SAFETY SUMMARY

6.1 Deaths

There has been no death during the course of the study.

6.2 Unanticipated Problems

There has been no unanticipated problems during the course of the study.

6.3 Adverse Events

Table 6. Summary of All Adverse Events for Consented Subjects

Topics	Total N=63
Number of AEs reported	63
Number of Subjects with AEs [1]	28
Number of SAEs reported	0
Number of Subjects with SAEs [1]	0
Number of AEs by Severity*	63
Mild or moderate	63 (100%)
Severe	0 (0%)
Subjects with AEs by Severity [2]**	
Mild or moderate	63 (100%)
Severe	0 (0%)
Number of AEs by Relatedness to Treatment*	Total N=63
Unrelated	63 (100%)
Possible	0 (0.0%)
Related	0 (0.0%)
Subjects with AEs by Relatedness to Treatment [2]**	Total N=28
Unrelated	28 (100%)
Possible	0 (0.0%)
Related	0 (0.0%)

[1] Subjects who experience one or more AEs or SAEs are counted only once.

[2] Subjects are counted only once within a particular severity grade or relatedness category.

* Percentages are based on number of AEs reported for each treatment group.

** Percentages are based on N for each treatment group.

All adverse events are listed in table 12 in the appendix A.

6.4 Serious Adverse Events

There have been no serious adverse events during the course of this study.

6.5 Laboratory Findings

Table 7: Laboratory Test Results Summary

Laboratory Test	Sample Study Visits	N	Mean	SD	Min	Median	Max
25(OH)D¹ (nmol/L)	Screening	38	75.1	26.7	23.1	75.4	124.5
	3 Months- Bolus	18	97.6	22.5	63.3	95.5	135.8
	3 Months- Placebo	20	74.3	18.9	36.0	73.4	108.3
Ionized calcium (mmol/L)	Screening	40	1.27	0.04	1.20	1.27	1.36
	3 Months - Bolus	17	1.27	0.04	1.19	1.28	1.38
	3 Months- Placebo	20	1.26	0.04	1.19	1.25	1.36
Phosphorus (mmol/L)	Screening	40	1.51	0.16	1.15	1.51	1.94
Alkaline phosphatase (U/L)	Screening	40	193	71	59	185	402
Creatinine (umol/L)	Screening	37	49	8	38	47	73
	3 Months - Bolus	8	47	5	37	48	53
	3 Months- Placebo	4	43	9	32	43	53
	6 Months - Bolus	7	46	6	37	46	55
	6 Months - Placebo	7	47	6	40	47	55
Calcium/creatinine (urine) (mmol/mmol)	Screening	40	0.07	0.12	0.00	0.00	0.53
	7 days (+/-3d) - Bolus	17	0.18	0.19	0.00	0.15	0.63
	7 days (+/-3d) Placebo	18	0.15	0.15	0.00	0.12	0.59
	3 Months - Bolus	18	0.08	0.13	0.00	0.00	0.40
	3 Months- Placebo	20	0.12	0.11	0.00	0.15	0.32
Leukocytes (*10 ⁹ /L)	Screening	42	7.73	2.88	2.99	7.77	14.02
	3 Months – Bolus	11	8.33	2.86	5.07	8.05	14.93
	3 Months - Placebo	9	8.37	3.36	3.90	9.24	14.07
	6 Months – Bolus	9	9.06	5.64	5.10	6.05	22.24
	6 Months - Placebo	16	8.48	3.68	3.09	8.30	16.24
Erythrocytes (*10 ¹² /L)	Screening	42	3.44	0.94	2.04	3.23	5.68
	3 Months – Bolus	11	2.74	0.37	1.92	2.68	3.39
	3 Months – Placebo	9	2.91	0.48	2.17	2.85	3.60
	6 Months – Bolus	9	2.97	0.66	2.04	2.76	4.26
	6 Months - Placebo	16	3.37	1.05	2.23	3.03	5.50
Hemoglobin (g/L)	Screening	42	100	15	70	102	132
	3 Months - Bolus	11	90	9	75	89	105
	3 Months- Placebo	9	95	13	65	99	106
	6 Months - Bolus	9	93	12	77	94	107

	6 Months - Placebo	16	97	16	65	100	126
Laboratory Test	Sample Study Visits	N	Mean	SD	Min	Median	Max
Hematocrit (%)	Screening	42	0.285	0.042	0.201	0.291	0.364
	3 Months – Bolus	11	0.256	0.030	0.206	0.254	0.302
	3 Months – Placebo	9	0.270	0.039	0.183	0.277	0.316
	6 Months – Bolus	9	0.268	0.036	0.218	0.267	0.316
	6 Months - Placebo	16	0.276	0.045	0.188	0.284	0.350
VGM (fL)	Screening	42	85.9	12.6	63.9	88.0	109.8
	3 Months – Bolus	11	93.8	6.7	85.3	93.8	107.3
	3 Months- Placebo	9	93.1	9.1	84.3	90.2	113.6
	6 Months – Bolus	9	91.9	9.7	74.2	90.1	109.3
	6 Months – Placebo	16	85.8	16.3	63.6	85.1	112.4
TGMH (pg)	Screening	42	30.2	4.7	21.5	30.8	39.2
	3 Months – Bolus	11	33.2	2.6	30.2	32.6	39.1
	3 Months – Placebo	9	32.8	3.4	28.3	32.2	39.1
	6 Months – Bolus	9	32.0	3.5	25.1	32.1	38.2
	6 Months – Placebo	16	30.2	5.6	21.7	30.3	41.2
CCMH (g/100mL)	Screening	42	352	12	325	355	372
	3 Months – Bolus	11	353	6	345	352	364
	3 Months - Placebo	9	352	12	323	356	365
	6 Months – Bolus	9	349	7	339	350	362
	6 Months - Placebo	16	352	13	329	349	372
Platelet (*10 ⁹ /L)	Screening	42	322	144	120	299	757
	3 Months – Bolus	11	368	122	158	403	528
	3 Months – Placebo	9	344	158	134	339	601
	6 Months – Bolus	9	286	135	99	325	458
	6 Months - Placebo	16	338	195	116	284	785
VPM (fL)	Screening	36	9.8	0.7	8.7	9.7	11.5
	3 Months – Bolus	10	9.8	0.5	8.7	9.7	10.7
	3 Months – Placebo	8	9.8	0.7	8.9	9.7	10.8
	6 Months – Bolus	9	10.0	0.8	8.8	9.9	11.5
	6 Months - Placebo	15	9.8	0.7	9.1	9.7	12.0
Neutrophils (*10 ⁹ /L)	Screening	42	3.6	1.6	1.1	3.5	6.6
	3 Months – Bolus	11	3.7	2.1	1.1	3.6	7.6
	3 Months - Placebo	9	3.8	1.8	1.5	3.5	6.4
	6 Months – Bolus	9	4.7	4.4	1.8	3.2	16.1
	6 Months - Placebo	15	4.7	2.89	1.3	4.7	11.8
Lymphocytes (*10 ⁹ /L)	Screening	42	3.1	1.4	1.0	2.8	7.4
	3 Months – Bolus	11	3.5	1.1	2.4	3.4	6.3
	3 Months – Placebo	9	3.5	1.9	1.8	2.4	6.3

	6 Months – Bolus	9	3.1	1.5	1.6	2.6	6.3
	6 Months – Placebo	15	2.6	1.3	0.6	2.6	5.8
Laboratory Test	Sample Study Visits	N	Mean	SD	Min	Median	Max
Monocytes (*10⁹/L)	Screening	42	0.74	0.43	0.10	0.70	2.00
	3 Months – Bolus	11	0.84	0.38	0.40	0.70	1.50
	3 Months- Placebo	9	0.84	0.44	0.30	0.70	1.40
	6 Months – Bolus	9	0.94	0.79	0.40	0.70	2.7
	6 Months – Placebo	15	0.86	0.41	0.20	1.00	1.4
Eosinophils (*10⁹/L)	Screening	42	0.23	0.23	0.00	0.20	1.00
	3 Months – Bolus	11	0.29	0.20	0.10	0.20	1.00
	3 Months – Placebo	9	0.16	0.16	0.00	0.10	0.50
	6 Months – Bolus	9	0.22	0.28	0.00	0.10	0.90
	6 Months – Placebo	15	0.18	0.15	0.00	0.10	0.50
Basophils (*10⁹/L)	Screening	42	0.04	0.05	0.00	0.00	0.10
	3 Months – Bolus	11	0.04	0.05	0.00	0.00	0.10
	3 Months – Placebo	9	0.02	0.04	0.00	0.00	0.10
	6 Months – Bolus	9	0.02	0.04	0.00	0.00	0.10
	6 Months – Placebo	15	0.04	0.05	0.00	0.00	0.10
Reticulocytes (*10⁹/L)	Screening	42	188.5	101.3	65.1	168.9	517.2
	3 Months – Bolus	11	145.7	35.9	72.9	141.5	186.4
	3 Months – Placebo	9	249.5	79.2	106.3	226.3	353.8
	6 Months – Bolus	9	176.6	83.3	34.2	168.3	335.4
	6 Months – Placebo	16	245.3	128.4	81.4	211.4	563.0
PTH (pmol/L)	Screening	40	2.8	1.4	1.1	2.7	6.4
	3 Months – Bolus	18	2.8	1.3	0.8	2.7	5.8
	3 Months – Placebo	20	3.1	1.8	0.3	2.8	7.4
CTX (ng/mL)	Screening	38	0.2819	0.2511	0.0176	0.1809	0.9882
	3 Months - Bolus	18	0.3422	0.2664	0.0953	0.2118	1.0959
	3 Months – Placebo	20	0.2141	0.1667	0.0176	0.1915	0.7747
P1NP (pg/mL)	Screening	38	78.826	12.832	44.397	77.726	113.089
	3 Months – Bolus	18	79.091	8.133	65.639	80.004	91.602
	3 Months - Placebo	20	77.510	17.117	52.699	74.144	113.984

¹ Only one participant had an additional dosage for 25(OH)D during the study, before the 3 months post treatment, because the participant had experienced symptoms which could have been related to the bolus. The dosage, which was made 1 month post bolus, was of 250 nmol/L and calcemia as well as calciuria were normal.

7.0 PROTOCOL DEVIATIONS

Protocol deviations

Participant #5:

- The second urinary test was made after 2 weeks and 1 day instead of 7 days +/- 3 days because of lack of availability of the parent to do the test on time.

Participant #7:

- Laboratory error* on the second urinary test. Urinary test made a second time 12 days post-bolus (instead of 7 days +/- 3 days).

Participant #9:

- Laboratory error* twice on the second urinary test. The second urinary test was not made a third time because it was already 2 months post bolus.

Participant #15:

- Laboratory error* on the second urinary test. Urinary test was made 3 weeks post-bolus directly at Sainte-Justine Hospital (instead of 7 days +/- 3 days).
- Ended study before the planned end of trial because of lack of availability to come back at Sainte-Justine. The study was finished after 2 months, 1 week and 4 days (instead of 3 months +/- 2 weeks)

Participant #33:

- Ended study after the planned end of trial because of convenience issue: the next medical appointment was after the window planned for the study which is of 3 months +/- 2 weeks. Instead, the study was finished after 3 months, 2 weeks and 5 days.

Participant #50:

- Ended study before the planned end of trial because of lack of availability to come back at Sainte-Justine. The study was finished after 2 months, 1 week and 5 days (instead of 3 months +/- 2 weeks)

Participant #51:

- Ended study after the planned end of trial because of convenience issue: the next medical appointment was after the window planned for the study which is of 3 months +/- 2 weeks. Instead, the study was finished after 3 months, 3 weeks and 3 days.

Participant #54:

- Ended study after the planned end of trial because of convenience issue: the next medical appointment was after the window planned for the study which is of 3 months +/- 2 weeks. Instead, the study was finished after 3 months, 2 weeks and 2 days.

Participant #59:

- Ended study before the planned end of trial because of lack of availability to come back at Sainte-Justine. The study was finished after 2 months, 1 week and 4 days (instead of 3 months +/- 2 weeks).

Participant #72:

- No results received for the second urinary test made in extern. Urinary test was made a second time 4 weeks post-bolus directly at Sainte-Justine Hospital (instead of 7 days +/- 3 days).

Participant #81:

- Ended study after the planned end of trial because of lack of availability to come back at Sainte-Justine. The study was finished after 3 months, 2 weeks and 2 days (instead of 3 months +/- 2 weeks)

Participant #82:

- Ended study after the planned end of trial because of lack of availability to come back at Sainte-Justine. The study was finished after 3 months, 2 weeks and 2 days (instead of 3 months +/- 2 weeks)

Participant #93:

- Second urinary test made after 1 month instead of 7 days +/- 3 days.

*A new medical request has been created and given to the study participants from February 2019. No laboratory error has occurred since then.

8.0 OUTCOMES DATA

Table 8: Dietary intakes

	Baseline (n=40)				
	Total	Dietary intakes	Supplementation		
			Intake	% patients supplementing (n)	Reported compliance (%)
Vitamin D (IU/day)	962 +/- 535	184 +/- 113	731 +/- 452	88 (35)	82 +/- 31
Calcium (mg/day)	950 +/- 444	892 +/- 410	15 +/- 52	13 (5)	86 +/- 32

	End of study - placebo (n=20)					End of study – bolus (n=18)				
	Total	Dietary intakes	Supplementation			Total	Dietary intakes	Supplementation		
			Intake	% patients supplementing (n)	Reported compliance (%)			Intake	% patients supplementing (n)	Reported compliance (%)
Vitamin D (IU/day)	1079 +/- 292	187 +/- 98	879 +/- 302	100 (20)	85 +/- 28	4,466 +/- 242	199 +/- 125	4,262 +/- 217	100 (18)	92 +/- 18
Calcium (mg/day)	939 +/- 228	810 +/- 242	90 +/- 164	40 (8)	51 +/- 40	1090 +/- 312	930 +/- 378	110 +/- 216	28 (5)	81 +/- 40

Table 9: Sun exposure- Time spent under the sun per day depending on seasons (in minutes)

	Spring	Summer	Fall	Mean (total)
Baseline (n=38)	84 +/- 57	160 +/- 90	73 +/- 51	97 +/- 57
End of study – Placebo (n=20)	84 +/- 57	180 +/- 83	62 +/- 38	102 +/- 45
End of study – Bolus (n=18)	88 +/- 62	161 +/- 89	82 +/- 57	105 +/- 62

Table 10- BPI scores: Pain at its worst in the last 24 hours

	Baseline (n=38)	End of study - Placebo (n=20)	End of study – Bolus (n=18)
BPI scores¹	0.34 +/- 1.51	0.55 +/- 1.70	0.50 +/- 1.47

1. BPI score are on a scale of 0 to 10, 0 being no pain and 10 being pain as bad as you can imagine

Table 11- Life quality scores

	Children's scores (%)			Adult's scores (%)		
	Baseline (n=35)	End of study - Placebo (n=19)	End of study – Bolus (n=17)	Baseline (n=38)	End of study – Placebo (n=20)	End of study – Bolus (n=18)
Physical Functioning	88 +/- 13	85 +/- 13	84 +/- 16	87 +/- 13	84 +/- 16	83 +/- 16
Emotional Functioning	83 +/- 15	78 +/- 12	79 +/- 20	79 +/- 19	79 +/- 17	76 +/- 17
Social Functioning	87 +/- 17	83 +/- 23	78 +/- 23	89 +/- 14	80 +/- 20	85 +/- 15
School Functioning	71 +/- 14	71 +/- 14	74 +/- 23	73 +/- 17	72 +/- 16	73 +/- 17
Total	82 +/- 10	79 +/- 11	79 +/- 17	82 +/- 13	79 +/- 15	80 +/- 14

Legends: 100% is the best score, indicating having never experienced any of the problems mentioned in the questionnaire, and 0% is the worst score, indicating always experiencing the problems mentioned in the questionnaire.

Appendix A: Additional Data Listings

Table 12: List of complications during the study- number of participants affected by each complication and number of times each complication has occurred in total

Complications	Number of participants affected	Number of time each complication has occurred
Gastritis	1	1
Headache	4	6
Constipation	2	2
Vomiting and diarrhea	1	1
Fever	6	6
Small red bumps	4	4
Cold	5	5
Vaso-occlusive crisis	8	10
Pain	5	5
Chronic pain	4	NA
Fatigue	1	2
Difficulty breathing on exertion	1	1
Nausea	3	4
Ear infection	1	1
Height loss of D9	1	1
Appetite diminution	1	1
Diarrhea	2	2
Vomiting	3	3
Sore throat	2	2
Spots on the skin	1	1
Emergency visit	7	10
Hospitalization	3	3

All adverse events were resolved on their own or with appropriate medication. None were related to the study.