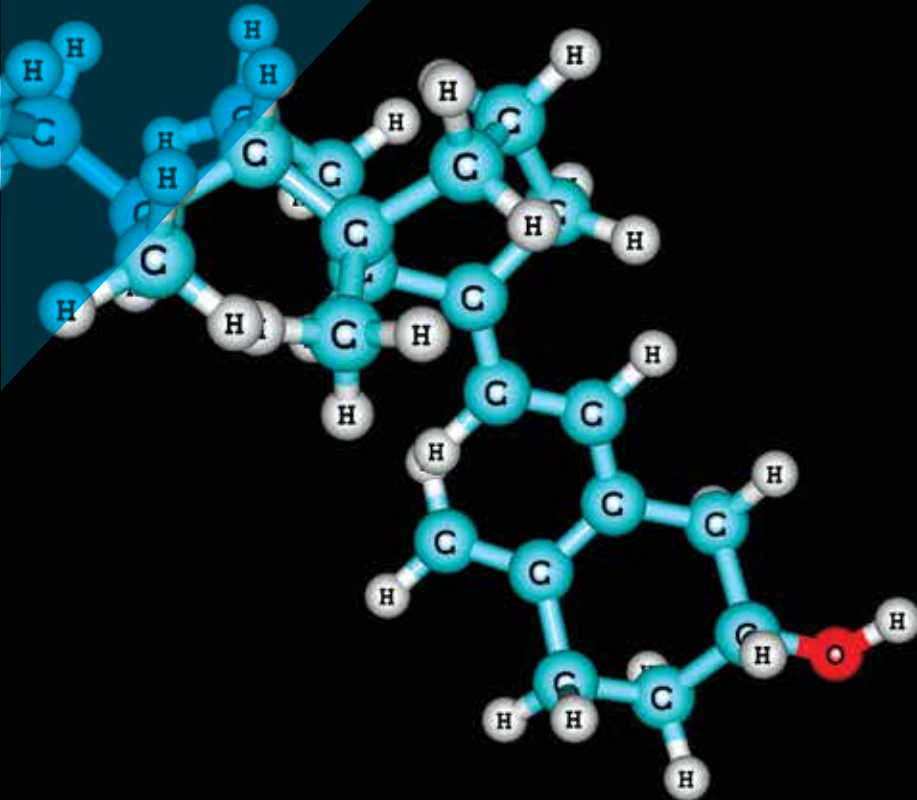


## La vitamine D et ses récepteurs : tous des acteurs dans la guérison de l'épithélium cornéen



Récemment, une équipe de chercheurs a voulu déterminer l'impact de la dysfonction des récepteurs de vitamine D (RVD) sur la guérison d'une atteinte physique infligée à l'épithélium cornéen et sur l'apparence des jonctions étanches de celui-ci<sup>1</sup>.

Deux groupes de souris ont été formés selon le phénotype de la fonctionnalité de leurs RVD et leur âge. Une diète de lactose, de calcium et de phosphore a été suivie par certaines d'entre elles. Chaque souris a subi une blessure cornéenne qui a été mesurée à la lampe à fente à différentes heures suivant l'intervention afin de suivre la vitesse de guérison. Un test de PCR, une microscopie à transmission électronique, un transfert de protéine (immunobuvardage de type Western) et une immunofluorescence ont aussi été effectués afin d'examiner l'expression des protéines formant les jonctions étanches et leur distribution sur l'épithélium cornéen<sup>1</sup>.

**La vitamine D est un nutriment essentiel en raison de son rôle principal qui consiste à maintenir l'homéostasie du calcium<sup>2</sup>. En effet, il est maintenant établi qu'elle augmente l'absorption intestinale de calcium une fois produite à la surface cutanée et hydroxylée par les reins et le foie.**

Les Canadiens de tous les groupes d'âge souffriraient d'une déficience en vitamine D dû à une synthèse endogène et des sources alimentaires limitées malgré des niveaux près de la consommation recommandée<sup>2</sup>. Le problème se répète aussi aux États-Unis<sup>3-4</sup>. Cet enjeu a poussé plusieurs chercheurs à investiguer sur le sujet, ce qui a mené à la découverte de la présence de vitamine D, de son récepteur et d'hydroxylase dans l'œil<sup>5</sup>. Comme la forme active de la vitamine D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) est impliquée dans la prolifération et la différenciation de cellules épithéliales, cette fonction physiologique pourrait être essentielle au niveau de la cornée. Une équipe de chercheurs a étudié l'impact d'une dysfonction du récepteur de la vitamine D sur la guérison d'une blessure épithéliale et sur l'apparence microscopique des jonctions étanches de cette couche de cellules<sup>1</sup>.

Deux groupes de souris ont été formés selon leur âge et leur phénotype associé aux RVD. Des souris du type sauvage (+/+), hétérozygote (+/-) et aux RVD dysfonctionnels (-/-), toutes âgées de quatre semaines, ont formé le premier groupe<sup>1</sup>. Le deuxième groupe rassemblait des souris âgées de 10 semaines, mais comprenant les trois mêmes phénotypes. Certaines d'entre elles ont été soumises à une diète spéciale comprenant 20% de lactose, 2,0% de Ca<sup>2+</sup> et 1,5% de PO<sub>4</sub><sup>-1</sup>. En effet, une telle diète réduit les effets d'une déficience en RVD<sup>6</sup>. Après avoir été anesthésiée, chacune des souris a subi une blessure épithéliale sur la cornée d'une longueur de 2 mm faite par une « brosse d'agar ». Un traitement d'antibiotiques en onguent composé de bacitracine, néomycine et polymyxine, combiné à une injection intramusculaire de 0.5% buprenorphine a suivi l'intervention. Puis, la longueur des blessures a été mesurée à l'aide d'un biomicroscope à 0, 5, 24 et 29 heures après l'opération<sup>1</sup>. Les progressions de la guérison des souris âgées de 4 semaines n'étaient pas significativement différentes, puisque les caractéristiques du phénotype de dysfonction en vitamine D (hypocalcémie, croissance retardée, hyperstimulation de la parathyroïde) ne se manifestent qu'après la 21<sup>e</sup> journée de vie<sup>7</sup>. Par contre, en observant les souris âgées de 10 semaines, les chercheurs ont remarqué un écart notable entre les taux de guérison des souris aux RVD défectueux et des souris témoins, surtout 24 heures après l'intervention. Vingt-six heures étaient nécessaires à la fermeture complète de la blessure de 2 mm chez les souris aux RVD défectueux (-/-). En comparaison, l'épithélium cornéen des souris aux RVD fonctionnels (+/+) et au phénotype hétérozygote (+/-) a pris moins de 24 heures pour se refermer. Seul l'épithélium cornéen des souris (-/-) qui ont reçu la diète de suppléments s'est refermé aussi rapidement<sup>1</sup>. Ensuite, les souris âgées de 10 semaines ont subi un test de PCR afin d'évaluer leurs taux d'ARN messagers associés à la production d'occludine et de zonula occludens-1, deux protéines formant les jonctions étanches des cellules épithéliales<sup>8</sup>.

**Cette technique révèle une réduction de l'ADNm d'occludine et de zonula occludens-1 chez les souris aux RVD dysfonctionnels âgés de 10 ans par rapport aux souris témoins.**

Dans le cas des celles au phénotype hétérozygote pour les RVD, leur quantité d'ADNm d'occludine est comparable au groupe de contrôle tandis que leur proportion d'ADNm associé au zonula occludens-1 est similaire aux souris (-/-). Par la suite, l'immunobuvardage des protéines (Western Blot) a révélé une expression d'occludine diminuée chez les souris avec une dysfonction des RVD. La diète spéciale permettait de la rétablir à un niveau normal<sup>1</sup>. La quantité de jonctions serrées au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéen serait diminuée au niveau des cornées des souris âgées de 10 ans avec les récepteurs dysfonctionnels par rapport aux tissus de contrôle selon la microscopie à transmission électronique. L'immunofluorescence a démontré le même résultat quant aux zonulae occludentes-1<sup>1</sup>.

**Tel qu'il a déjà été démontré par les études passées, la structure particulière de l'épithélium pavimenté stratifié de la cornée lui permet d'assurer sa fonction de barrière par rapport à l'environnement extérieur<sup>1</sup>. Or, dans un œil sain dont la totalité des récepteurs sont fonctionnels, la vitamine D accélérerait la différenciation des cellules épithéliales à la suite d'une blessure, pour que l'épithélium puisse retrouver l'apparence lui permettant de remplir cette fonction<sup>5</sup>.**

De plus, afin d'offrir à l'œil une protection optimale, les cellules composant les couches de ce tissu forment une surface grâce à des jonctions étanches qui contrôlent les passages intercellulaires d'ions, d'eau et de certaines molécules tout en assurant une certaine polarité à cet épithélium<sup>8-9</sup>. Toutefois, si ces jonctions serrées se détériorent à cause d'atteintes physiques, l'œil risque d'être touché par des infections ou un amincissement de la cornée dû à une perte de cellules<sup>8, 10-11</sup>. Ainsi, leur intégrité se doit d'être maintenue.






Plusieurs protéines interagissent afin d'assembler des complexes de jonctions étanches. Parmi celles-ci, l'occludine est l'une des composantes importantes participant à la fonction de barrière de protection lorsqu'elle forme des complexes avec la zonula occludens-1<sup>12,13</sup>. Par le passé, il a été établi qu'une supplémentation en vitamine D augmente l'expression d'occludine. L'immunobuvardage des protéines de type Western dans cette recherche a démontré qu'une déficience en récepteurs de vitamine D la diminue<sup>1,5</sup>. Les résultats ont confirmé l'existence d'un lien entre la vitamine D et l'expression de l'occludine, protéine essentielle pour la migration des cellules vers une zone blessée de la cornée afin de permettre sa fermeture<sup>1,14</sup>. En augmentant la production d'occludine, une supplémentation en vitamine D influence l'intégrité des jonctions étanches in vitro et la différenciation des cellules de la cornée<sup>1,5</sup>. Donc, une dysfonction des RVD aurait un impact sur l'intégrité des jonctions et sur la guérison des atteintes physiques de l'épithélium cornéen<sup>1</sup>. Pour poursuivre, la vitamine D, conjointement avec l'hormone de la parathyroïde, assure l'homéostasie du calcium qui est un minéral essentiel pour la guérison de cette couche cornéenne<sup>15</sup>. À la suite d'une blessure, le calcium qui se propage dans les cellules à proximité de la zone atteinte permet de stimuler leur prolifération<sup>16-17</sup>. Afin de permettre la migration de cellules vers la blessure, le calcium agit comme signal intracellulaire sur les glycoprotéines E-cadhérine médiatrices d'adhésion cellulaire qui activent l'assemblage de jonctions étanches<sup>18</sup>. Ainsi, une dysfonction des RVD, postulent les chercheurs, empêcherait la formation de nouvelles jonctions serrées dans la zone épithéliale blessée à la suite de l'hypocalcémie engendrée<sup>1</sup>. Ensuite, une diète riche en calcium, lactose et phosphore est renommée pour réduire les effets d'une déficience en RVD et normaliser le taux d'expression d'occludine<sup>6</sup>. Une telle diète a permis aux souris ayant une déficience en récepteurs de vitamine D d'obtenir un taux de guérison comparable aux souris dont les récepteurs étaient fonctionnels<sup>1</sup>.

**Une hypothèse a été émise par les chercheurs afin d'expliquer ce résultat. Lors de la fermeture d'une blessure épithéliale, il y a une prolifération des cellules basales vers la face apicale et des cellules souches en périphérie du limbe vers le centre de la cornée<sup>19</sup>. Cette migration horizontale est possible grâce à la différenciation des cellules souches près du limbe en cellules migratoires amplificatrices durant la formation de nouvelles cellules épithéliales. Ce processus est initié par les métabolites de la vitamine A qui interagissent sur les récepteurs X des rétinoïdes (RXR) et les récepteurs de l'acide rétinoïque<sup>20</sup>.**

De plus, tout comme la vitamine D et ses récepteurs, la vitamine A et ses RXR maintiennent l'intégrité des complexes de jonctions serrées et le rôle de barrière de l'épithélium cornéen<sup>21</sup>. Ainsi, les chercheurs ont émis l'hypothèse que les récepteurs de vitamine D semblent également avoir la capacité de se lier aux récepteurs RXR. Cela pourrait confirmer l'importance de la vitamine D dans le maintien de cette intégrité et de cette barrière. Un supplément de cette vitamine permettrait de surmonter une dysfonction de ses récepteurs.

Pour conclure, cette étude effectuée sur des tissus animaux a permis de constater le rôle de la vitamine D et ses récepteurs dans la guérison de l'épithélium cornéen ainsi que dans le maintien de l'intégrité de ses jonctions serrées. Sachant l'importance d'une réparation adéquate de l'épithélium cornéen à la suite d'une atteinte physique en raison de sa fonction de barrière, cette avancée est intéressante. Elle ouvre la porte à de nouvelles recherches qui permettront, peut-être, de trouver un moyen d'optimiser le transport de la vitamine D à partir des larmes et de la chambre antérieure afin d'améliorer l'efficacité de la guérison épithéliale de la cornée. 

1. Elizondo RA, Yin Z, Lu X, Watsky MA. Effect of vitamin D receptor knockout on cornea epithelium wound healing and tight junctions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2014 [cited 2014 Aug];55(8):5245-51. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med&NEWS=N&AN=25061117>
2. Weiler H. *Vitamin D: The current state in Canada*, A CCFN Watching Brief. août 2008 : 1-7.
3. Whiting SJ, Green TJ, Calvo MS. Vitamin D intakes in North America and Asia-Pacific countries are not sufficient to prevent vitamin D insufficiency. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2007 [cited 2007 Mar];103(3-5):626-30. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=17218094>
4. Calvo MS, Whiting SJ. Prevalence of vitamin D insufficiency in Canada and the United States: importance to health status and efficacy of current food fortification and dietary supplement use. *Nutr Rev* [Internet]. 2003 [cited 2003 Mar];61(3):107-13. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=12723644>
5. Yin Z, Pintea V, Lin Y, Hammock BD, Watsky MA. Vitamin D enhances corneal epithelial barrier function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2011 [cited 2011 Sep];52(10):7359-64. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med&NEWS=N&AN=21715350>
6. Kollenkirchen U, Fox J, Walters MR. Normocalcemia without hyperparathyroidism in vitamin D-deficient rats. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1991 [cited 1991 Mar];6(3):273-8. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med3&NEWS=N&AN=2035354>
7. Li YC, Amling M, Pirro AE, Priemel M, Meuse J, Baron R, Delling G, Demay MB. Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets, and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. *Endocrinology* [Internet]. 1998 [cited 1998 Oct];139(10):4391-6. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=9751523>
8. Ban Y, Dota A, Cooper LJ, Fullwood NJ, Nakamura T, Tsuzuki M, Mochida C, Kinoshita S. Tight junction-related protein expression and distribution in human corneal epithelium. *Exp Eye Res* [Internet]. 2003 [cited 2003 Jun];76(6):663-9. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=12742348>
9. Matter K, Balda MS. Signalling to and from tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2003 [cited 2003 Mar];4(3):225-36. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=12612641>
10. Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* [Internet]. 1993 [cited 1993 Dec];123(6 Pt 2):1777-88. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med3&NEWS=N&AN=8276896>
11. Yi X, Wang Y, Yu FS. Corneal epithelial tight junctions and their response to lipopolysaccharide challenge. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2000 [cited 2000 Dec];41(13):4093-100. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=11095601>
12. Fanning AS, Jameson BJ, Jesaitis LA, Anderson JM. The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton. *J Biol Chem* [Internet]. 1998 [cited 1998 Nov 6];273(45):29745-53. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=9792688>
13. Du D, Xu F, Yu L, Zhang C, Lu X, Yuan H, Huang Q, Zhang F, Bao H, Jia L, Wu X, Zhu X, Zhang X, Zhang Z, Chen Z. The tight junction protein, occludin, regulates the directional migration of epithelial cells. *Dev Cell* [Internet]. 2010 [cited 2010 Jan 19];18(1):52-63. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med&NEWS=N&AN=20152177>
14. Lin Y, Ubels JL, Schotanus MP, Yin Z, Pintea V, Hammock BD, Watsky MA. Enhancement of vitamin D metabolites in the eye following vitamin D3 supplementation and UV-B irradiation. *Curr Eye Res* [Internet]. 2012 [cited 2012 Oct];37(10):871-8. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med&NEWS=N&AN=22632164>
15. Chi C, Trinkaus-Randall V. New insights in wound response and repair of epithelium. *J Cell Physiol* [Internet]. 2013 [cited 2013 May];228(5):925-9. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med&NEWS=N&AN=23129239>
16. Bikle DD, Ng D, Tu CL, Oda Y, Xie Z. Calcium- and vitamin D-regulated keratinocyte differentiation. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2001 [cited 2001 May 25];177(1-2):161-71. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=11377831>
17. Sung YJ, Sung Z, Ho CL, Lin MT, Wang JS, Yang SC, Chen YJ, Lin CH. Intercellular calcium waves mediate preferential cell growth toward the wound edge in polarized hepatic cells. *Exp Cell Res* [Internet]. 2003 [cited 2003 Jul 15];287(2):209-18. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=12837277>
18. Gonzalez-Mariscal L, Contreras RG, Bolivar JJ, Ponce A, Chavez De Ramirez B, Cerejido M. Role of calcium in tight junction formation between epithelial cells. *Am J Physiol* [Internet]. 1990 [cited 1990 Dec];259(6 Pt 1):C978-86. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med3&NEWS=N&AN=2124417>
19. Kruse FE. Stem cells and corneal epithelial regeneration. *Eye* [Internet]. 1994 [cited 1994];8 ( Pt 2):170-83. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med3&NEWS=N&AN=7958018>
20. Kruse FE, Tseng SC. Retinoic acid regulates clonal growth and differentiation of cultured limbal and peripheral corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 1994 [cited 1994 Apr];35(5):2405-20. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med3&NEWS=N&AN=7512942>
21. Kubota H, Chiba H, Takakuwa Y, Osanai M, Tobioka H, Kohama G, Mori M, Sawada N. Retinoid X receptor alpha and retinoic acid receptor gamma mediate expression of genes encoding tight-junction proteins and barrier function in F9 cells during visceral endodermal differentiation. *Exp Cell Res* [Internet]. 2001 [cited 2001 Feb 1];263(1):163-72. In: Ovid MEDLINE(R) [Internet]. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med4&NEWS=N&AN=11161715>

