

Diplomarbeit

Vitamin-D-Supplementation bei Leberzirrhose

Eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie zur
Untersuchung der täglich erforderlichen oralen Gabe von Vitamin D bei
PatientInnen mit Leberzirrhose

eingereicht von

Marius Haselberger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie

Universitätsklinikum für Innere Medizin

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr.med.univ. Rudolf Stauber

und

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Stefan Pilz, PhD

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 06.07.2016

Marius Haselberger eh

Meinen Eltern in Dankbarkeit.

Danksagungen

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem Betreuer Univ. Prof. Dr. Rudolf Stauber, der es mir überhaupt erst ermöglicht hat dieses Thema im Rahmen der Diplomarbeit zu bearbeiten. Danken möchte ich ihm auch für seine Betreuung und die Mühen der Korrektur.

Mein Dank gilt auch Priv.-Doz. Dr. Stefan Pilz für seine Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich natürlich auch bei meiner Familie und meinen Eltern im Speziellen, die mir dieses Studium ermöglicht haben und mich stets unterstützen sowie bei meinen Freunden für die schöne Zeit während des Studiums.

Zusammenfassung

Hintergrund: Vitamin D ist momentan im Fokus verschiedener Studien, da ihm eine Vielzahl von möglichen positiven Auswirkungen bei der Prävention und Therapie von Krankheiten unterschiedlichster Organsysteme zugeschrieben werden. Eine hohe Prävalenz von Vitamin-D-Mangel wurde besonders bei PatientInnen mit chronischen Lebererkrankungen festgestellt, Assoziationen zwischen Schwere des Mangels und der Morbidität aufgezeigt sowie verschiedene Hypothesen diskutiert, die diese Zusammenhänge erklären könnten. Zurzeit wird eine Substitution von Vitamin D bei Leberkranken nur zur Vorbeugung und Minderung der hepatischen Osteodystrophie empfohlen. Randomisierte, kontrollierte Studien zur Vitamin-D-Substitution bei LeberzirrhotikerInnen fehlen derzeit. Vor diesem Hintergrund untersuchten wir in dieser Arbeit die Effekte und Sicherheit der Vitamin-D-Substitution bei an Leberzirrhose leidenden PatientInnen.

Methoden: Insgesamt 36 PatientInnen mit Leberzirrhose und Vitamin-D-Mangel wurden in diese Studie inkludiert. Sie wurden zufällig entweder der Placebogruppe oder der Interventionsgruppe, die täglich 2800 IU Vitamin D₃ als Tropfen einnahm, zugeordnet. Serum-25(OH)D, Leberfunktions- und Knochenstoffwechselfparameter wurden zur Baselineuntersuchung, zum Therapieende nach 8 Wochen und zur Follow-up-Visite erhoben und Unterschiede zwischen den Gruppen statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: 3 PatientInnen schieden während der Studie aus, insgesamt 33 PatientInnen schlossen die Studie ab. Für die primäre Zielgröße 25(OH)D wurde ein Treatment effect von 15,2 (8,0-22,4) ng/mL ($p = <0.001$) erzielt, für sämtliche sekundären Zielgrößen konnte kein signifikanter Effekt gezeigt werden.

Diskussion: Es konnte gezeigt werden, dass auch bei Leberzirrhose der 25(OH)D-Spiegel durch eine Vitamin-D-Substitution angehoben werden kann. Zum Nachweis von Auswirkungen auf Leberfunktionsparameter könnte der Stichprobenumfang dieser Studie und die kurze Beobachtungsdauer weniger geeignet gewesen sein. Größere, längere Studien könnten hier in Zukunft zu neuen Erkenntnissen führen. Das in vorangegangenen Studien beschriebene paradoxe Verhalten, dass PTH bei chronischen Lebererkrankungen bei steigenden 25(OH)D-Spiegeln nicht absinkt, konnten wir ebenso beobachten.

Abstract

Background: Due to its potential beneficial effects on preventing and treating a variety of diseases, such as immunological diseases, infections or neoplasia, vitamin D is in the focus of different trials at the moment. A lot of different hypotheses on how vitamin D deficiency effects liver diseases are being discussed, because of the discovery of a very high prevalence of vitamin D deficiency in patients with chronic liver diseases and associations of vitamin D status and morbidity. Vitamin D supplementation is recommended in the presence of risk factors for the development of osteoporosis, which is also common in liver cirrhosis. Since there are no RCTs on vitamin D supplementation in liver cirrhosis yet, we evaluated the effects and safety of vitamin D supplementation in liver cirrhosis in our RCT.

Methods: 36 patients with liver cirrhosis and vitamin D deficiency were enrolled. The patients were randomly divided into two groups, an intervention group and a placebo group. The intervention group was given a daily amount of 2800 IU vitamin D₃ as oily drops. 25(OH)D concentration, parameters of liver function and bone metabolism were tested at baseline, after 8 weeks of treatment and at the follow-up visit. Differences between the two groups were analyzed statistically.

Results: A total of 33 patients completed the trial, 3 patients were lost to follow-up. The treatment effect for the primary outcome 25(OH)D was 15,2 (8,0-22,4) ng/mL ($p = <0.001$). Statistically significant effects on secondary outcomes could not be demonstrated.

Discussion: In this trial we could demonstrate that vitamin D supplementation causes a raise in 25(OH)D concentrations in liver cirrhosis aswell. To evaluate whether vitamin D supplementation has an effect on liver function, longer lasting trials with a bigger number of patients will be needed in the future. As seen in other studies with CLD patients, even though 25(OH)D concentrations raised, PTH levels didn't decrease in our trial, too.

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN	III
ZUSAMMENFASSUNG	IV
ABSTRACT	V
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	VIII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XI
TABELLENVERZEICHNIS	XII
1 EINLEITUNG	1
1.1 VITAMIN D	2
1.1.1 <i>Synthese und Metabolismus</i>	3
1.1.2 <i>Vitamin-D-Mangel</i>	6
1.1.3 <i>Vitamin D und die Regulation des Calciumhaushaltes und Knochenumbaus</i>	7
1.1.4 <i>Vitamin D und die Wirkungen auf die Muskulatur</i>	10
1.1.5 <i>Vitamin D und das kardiovaskuläre System</i>	11
1.1.6 <i>Vitamin D und das Immunsystem</i>	13
1.1.7 <i>Vitamin D und Diabetes mellitus</i>	17
1.2 DIE LEBER	19
1.2.1 <i>Aufbau</i>	19
1.2.2 <i>Funktion</i>	21
1.3 LEBERZIRRHOSE	23
1.3.1 <i>Ätiologie und Morphologie</i>	23
1.3.2 <i>Symptome</i>	25
1.3.3 <i>Diagnostik</i>	27
1.3.4 <i>Therapie</i>	29
1.3.5 <i>Prognose</i>	30
1.4 VITAMIN D UND LEBERZIRRHOSE	32
1.4.1 <i>Einfluss von chronischen Lebererkrankungen auf den Vitamin-D-Status</i>	33
1.4.2 <i>Begünstigung der Fibrosierung der Leber durch Vitamin-D-Mangel</i>	34
1.4.3 <i>Vitamin D und die hepatische Osteodystrophie</i>	35

2	METHODEN	37
2.1	STUDIENDESIGN	37
2.2	EINSCHLUSS- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN	39
2.2.1	<i>Einschlusskriterien</i>	39
2.2.2	<i>Ausschlusskriterien</i>	39
2.3	ZIELGRÖßEN.....	40
2.3.1	<i>Primäre Zielgröße</i>	40
2.3.2	<i>Sekundäre Zielgrößen</i>	40
2.4	LABORMESSUNGEN	40
2.5	STATISTIK	41
3	ERGEBNISSE	42
3.1	STUDIENVERLAUF, DEMOGRAPHISCHE UND KLINISCHE CHARAKTERISTIKA DER STUDIENGRUPPEN	42
3.2	ANALYSE DES THERAPIEEFFEKTES AUF DIE PRIMÄREN UND SEKUNDÄREN ZIELGRÖßEN.....	45
3.3	VERÄNDERUNGEN DER ZIELGRÖßEN BIS ZUM FOLLOW-UP	48
3.4	NEBENWIRKUNGEN UND UNGEPLANTE STATIONÄRE AUFNAHMEN	50
4	DISKUSSION	51
5	LITERATURVERZEICHNIS	55

Glossar und Abkürzungen

1,25(OH) ₂ -D	1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol, Calcitriol
25(OH)D	25-Hydroxyvitamin-D, Calcidiol
ACE	Angiotensin converting enzyme (engl.)
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASH	Alkoholische Steatohepatitis
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
bALP	Bone-specific Alkaline Phosphatase (engl.)
BMD	Bone mineral density (engl.), Knochendichte
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CD	Cluster determinant (engl.)
CLD	Chronic liver disease (engl.)
CRP	C-reaktives Protein
DBP	Vitamin-D-bindendes Protein
DsDNA	Doppelstrang-DNA
ECaC	Epithelialer Calciumkanal
ELF-Score	Enhanced Liver Fibrosis Score (engl.)
FGF-23	Fibroblast growth factor 23 (engl.)
GGT	Gammaglutamyltransferase
GLUT	Glukosetransporter
gp130	Glykoprotein 130
HA	Hyaluronic acid (engl.), Hyaluronsäure
HCC	Hepatocellular carcinoma (engl.)
HOMA-IR	Homeostasis model assessment of insulin resistance (engl.)
HOMA-% β	Homeostasis model assessment of β -cell function (engl.)
IFN	Interferon
IL	Interleukin
ILT-3	Immunoglobulin-like transcript 3 (engl.)
INR	International normalized ratio (engl.)

IP3	Inositoltriphosphat
IU	International unit (engl.)
KI	Konfidenzintervall
LDL	Low density lipoprotein (engl.)
LIF	Leukemia inhibitory factor (engl.)
LPS	Lipopolysaccharid
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor (engl.)
MELD	Model of End Stage Liver Disease (engl.)
MHC	Major histocompatibility complex (engl.)
MMP	Matrix-Metalloprotease
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease (engl.)
NASH	Nicht-alkoholische Steatohepatitis
NK-Zelle	Natürliche Killerzelle
NYHA	New York Heart Association (engl.)
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
OPG	Osteoprotegerin
P1NP	Typ 1 N-terminales Prokollagenpeptid
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern (engl.)
PDGF	Platelet derived growth factor (engl.)
PGE2	Prostaglandin E ₂
PIIINP	Aminoterminalen Propeptids von Prokollagen des Typs III
PLC- γ 1	Phospholipase C- γ 1
PMCa	Plasma membrane calcium pump (engl.)
PTH, PTHi	Parathormon, intaktes Parathormon
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RANK	Receptor activator of nuclear factor kappa B (engl.)
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (engl.)
RCT	Randomized controlled trial (engl.)
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
SVR	Sustained virological response (engl.)
SXR	Steroid and xenobiotic receptor (engl.)

TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF- β	Transforming growth factor β (engl.)
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinase (engl.)
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor
UVB-Strahlung	Ultraviolette Strahlung im Wellenbereich von 280 bis 315 nm
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
VDRE	Vitamin D response element (engl.)
VLDL	Very low density lipoprotein (engl.)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Vitamin D: Synthese und Metabolismus. (Abbildung aus Holick 2007).....	4
Abbildung 2. Zusammenhang zwischen PTH und 25(OH)D. (Abbildung aus Holick 2009)	5
Abbildung 3. Vitamin D, antigenpräsentierende Zellen und erworbene Immunantwort. (Abbildung aus Adams & Hewison 2008)	16
Abbildung 4. Histologische Architektur der Leber. (modifizierte Abbildung aus Ulfig 2005).....	20
Abbildung 5. Aufbau eines Lebersinusoides mit dem Standort der verschiedenen Immunzellen. (Abbildung aus Racanelli & Rehermann 2006)	23
Abbildung 6. Makroskopisches Bild der Leberzirrhose mit großen und kleinen Regeneratknoten. (Abbildung aus Classen et al. 2009b).....	24
Abbildung 7. Mikroskopisches Bild mit breiten Bindegewebssepten. (Abbildung aus Classen et al. 2009b).....	25
Abbildung 8. Studienablauf und durchgeführte Untersuchungen.	38
Abbildung 9. Darstellung des Studienverlaufs im Flussdiagramm.	43
Abbildung 10. Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel der Studiengruppen zur Baselineuntersuchung und nach Therapieende.....	45
Abbildung 11. Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel der Studiengruppen zu den jeweiligen Visiten, einschließlich Follow-up-Visite.	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Häufigste Ursachen für eine Leberzirrhose in einem deutschen Behandlungszentrum. (modifiziert nach Sivanathan et al. 2014).....	23
Tabelle 2. Typische Laborbefunde bei Leberzirrhose.	27
Tabelle 3. Interpretation des ELF-Scores. (modifiziert nach Fagan et al. 2015; Lichtinghagen et al. 2013).....	28
Tabelle 4. Berechnung des Child-Pugh-Scores. (modifiziert nach Herold 2014e)	30
Tabelle 5. Prognose anhand der Child-Pugh-Klassifikation. (modifiziert nach Herold 2014b).....	31
Tabelle 6. Demographische und klinische Merkmale zur Baselineuntersuchung.	44
Tabelle 7. Baseline- und Woche 8-Werte der primären und sekundären Zielgrößen mit Treatment effect.....	47
Tabelle 8. Werte der primären und sekundären Zielgrößen der PatientInnen, die an allen Studienvisiten teilnahmen.	49

1 Einleitung

Vitamin D ist zurzeit Gegenstand einer Vielzahl von Studien. Neben der klassischen Funktion in der Regulation des Calciumhaushaltes werden ihm weitere Effekte zugeschrieben. So könnte es Einfluss auf das kardiovaskuläre System haben oder die Entstehung von Autoimmunkrankheiten, Neoplasien oder Infektionen hemmen. (Holick 2007)

Bei der Leberzirrhose handelt es sich um das Ergebnis chronischer Leberparenchymschädigungen unterschiedlicher Ätiologie. Sie gehört mittlerweile zu den zwanzig häufigsten Todesursachen in Deutschland. (Wiegand & Berg 2013)

Studien kamen zu dem Ergebnis, dass LeberzirrhötikerInnen häufiger an einem Vitamin-D-Mangel leiden als Lebergesunde. (Fisher & Fisher 2007) Zur Erklärung dieses Befundes gibt es einige Hypothesen. Die Aufnahme von Vitamin D aus der Nahrung ist fettabhängig und wird durch Gallensalze gefördert. Cholestatische Erkrankungen könnten also zu einer reduzierten gastrointestinalen Absorption führen. (Bikle 2007) Weitere Erklärungen für reduzierte Vitamin-D-Spiegel bei LeberzirrhötikerInnen umfassen eine eingeschränkte 25-Hydroxylierung von Vitamin D und eine gestörte Synthese von Albumin und Vitamin-D-bindendem Protein (DBP) bei Leberparenchymschäden. (Bikle 2007)

Ferner konnten Putz-Bankuti et al. (Putz-Bankuti et al. 2012) zeigen, dass eine ausgeprägtere Leberfunktionstörung bei PatientInnen mit Leberzirrhose mit einem stärkeren Vitamin-D-Mangel einhergeht und dass niedrigere 25(OH)D-Spiegel mit einer erhöhten leberbezogenen Mortalität und einem gehäuften Auftreten von hepatischen Dekompensationen assoziiert sind. Obwohl diese Assoziationen nachgewiesen wurden, gibt es bislang keine ausreichenden Hinweise aus gut gestalteten RCTs zur richtigen Dosierung der oralen Vitamin-D-Supplementation um diese als Begleittherapie in der klinischen Praxis empfehlen zu können.

Diese Studie soll zeigen, ob durch Supplementierung von Vitamin D bei LeberzirrhötikerInnen (1) die Vitamin-D-Spiegel normalisiert werden können und (2) die Lebersyntheseleistung verbessert werden kann.

Im Theorieteil dieser Diplomarbeit soll zunächst der Vitamin-D-Metabolismus erläutert und der Vitamin-D-Mangel definiert werden, um dann die ossären und nicht-ossären Wirkungen

bzw. Auswirkungen eines Mangels dieses Hormons zu beschreiben. Anschließend an eine Wiederholung der Funktion der Leber und des Krankheitsbildes der Leberzirrhose soll auf die zurzeit bekannten Beziehungen zwischen Vitamin-D-Mangel und Leberzirrhose eingegangen werden.

1.1 Vitamin D

Im frühen 20. Jahrhundert machte Edward Mellanby bei einem Experiment eine Entdeckung. Er fütterte Hundewelpen nach einem von insgesamt vier zur Auswahl stehenden Nahrungsplänen und beobachtete das Wachstum der Welpen. Hierbei fiel auf, dass Welpen, deren Speiseplan Butter, Lebertran oder Vollmilch enthielt, keine oder weniger ausgeprägte Rachitissymptome (bspw. Wachstumsstörungen, ein deformiertes Knochengerüst, Auftreibungen an der Knochen-Knorpel-Grenze der Rippen, Tetanie) zeigten als andere Welpen. (Mellanby 1919; Rajakumar 2003) Mellanby schrieb diesen antirachitischen Effekt aber dem erst kurz zuvor entdeckten fettlöslichen Vitamin A zu. (McCollum & Davis 1913) Durch Oxidierung ist es möglich Vitamin A zu zerstören wodurch es wirkungslos wird. Dennoch behielt Lebertran seine antirachitische Wirkung, woraus Elmer McCollum schloss, dass eine andere Substanz im Lebertran die Kalzifikation der Knochen fördern musste. (McCollum et al. 1922) Nach der Reihenfolge seiner Entdeckung als viertes Vitamin wurde diese Substanz Vitamin D getauft.

Zur gleichen Zeit zeigten andere Studien, dass Rachitis auch durch natürliches Sonnenlicht oder künstliches ultraviolettes Licht erfolgreich behandelt werden kann. (Chick 1923; DeLuca 2004; Huldschinsky 1919)

Streng genommen handelt es sich bei Vitamin D also nicht um ein Vitamin, sondern um ein Hormon, da der Körper es selbst in der Haut unter Einfluss von UVB-Strahlung synthetisieren kann.

1.1.1 Synthese und Metabolismus

Die Synthese von Vitamin D, genauer gesagt Vitamin D₃, findet in der Haut statt. Durch UVB-Bestrahlung wird der B-Ring des 7-Dehydrocholesterols aufgebrochen und es entsteht Prävitamin D₃. (Holick 2005) Am effektivsten sind dabei Wellenlängen von 290 bis 315 nm. (MacLaughlin et al. 1982)

Das so entstandene Prävitamin D₃ ist sehr instabil und wird in einem temperaturabhängigen Prozess sofort zu Vitamin D₃. Dieses tritt aus der Zelle in die extrazelluläre Matrix und gelangt von dort, gebunden an das Vitamin-D-bindende Protein (DBP), in die dermalen Kapillaren und somit in die Zirkulation. (Holick 2006b) Die Syntheseleistung ist dabei davon abhängig wie viel ultraviolettes Licht wirklich in die Epidermis eindringt. Deshalb führen eine stärkere Hautpigmentation und das Auftragen von Sonnencremes mit UVB-Schutzfaktor zu einer bis zu 90% reduzierten Produktion von Vitamin D₃. (Clemens et al. 1982; Matsuoka et al. 1987) So verwundert es auch nicht, dass bei Menschen, die nördlich des 37. Breitengrades leben, die Vitamin-D₃-Synthese im Winter fast vollständig zum Erliegen kommt, da der Winkel der Sonneneinstrahlung zu dieser Zeit so schief ist, dass der allergrößte Teil der UVB-Strahlung von der Ozonschicht absorbiert wird. (Holick 2005) Andererseits führt eine exzessive Sonneneinstrahlung im Sommer nicht zu einer Hypervitaminose, da überschüssiges Vitamin D₃ in der Haut durch die ultraviolette Strahlung in biologisch inaktive Photoisomere umgewandelt wird. (Holick et al. 1981; Holick 2007)

Neben dem in der Haut gebildeten Vitamin D₃ (Cholecalciferol) nimmt der Mensch noch über einige wenige Nahrungsmittel Vitamin D auf. Hierbei ist vor allem Fischöl zu nennen, welches einen relativ hohen Vitamin D₃ Anteil aufweist. In den USA wird Vitamin D außerdem einigen Lebensmitteln zugesetzt, v.a. Milchprodukten wie Käse oder Joghurt. Des Weiteren kommt in Nahrungsmitteln noch Vitamin D₂ (Ergocalciferol) vor, welches mittels ultraviolettem Licht aus dem Ergosterol in Hefen entsteht. (Holick 2007) Es gibt allerdings Hinweise, dass Vitamin D₂ biologisch weniger wirksam ist, da eine Supplementierung mit Vitamin D₃ die 25(OH)D-Spiegel deutlich stärker ansteigen lässt als mit Vitamin D₂. (Trang et al. 1998) Das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D gelangt eingebaut in Chylomikronen über das lymphatische System in die Zirkulation. Im Blut ist Vitamin D an das Vitamin-D-bindende Protein (DBP) oder Lipoproteine gebunden und wird entweder im Fettgewebe gespeichert oder in der Leber freigesetzt, wo es in den Hepatozyten durch die

Vitamin D-25-Hydroxylase (25-OHase; CYP27A1, CYP2R1), welche sich an der inneren Membran der Mitochondrien befindet, zu 25-Hydroxyvitamin-D (25(OH)D; Calcidiol), seiner Hauptzirkulationsform, hydroxyliert wird. (DeLuca 2004; Holick 2006b, Jones et al. 1998)

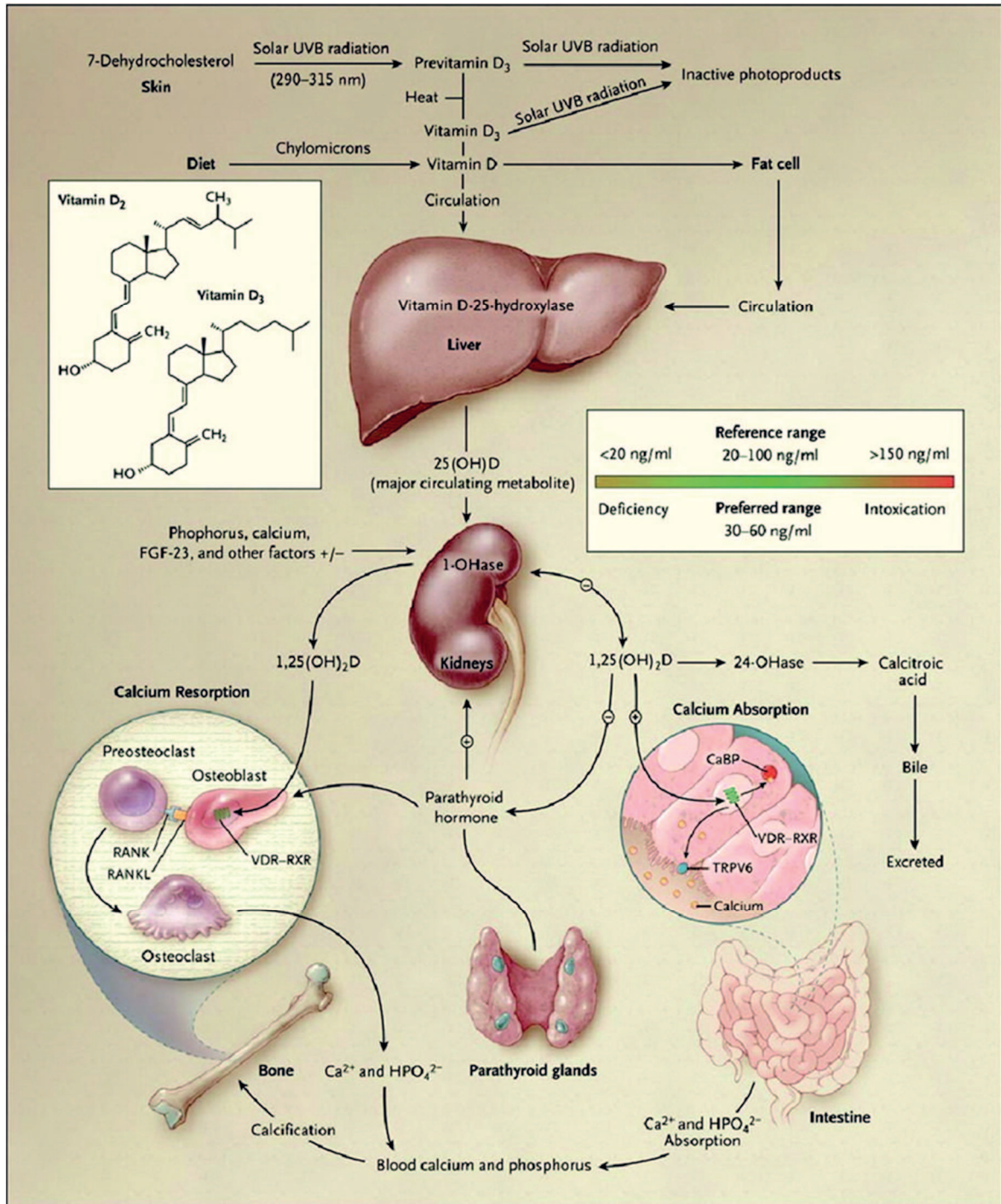


Abbildung 1. Vitamin D: Synthese und Metabolismus. (Abbildung aus Holick 2007)

In der Niere bindet der Komplex aus 25(OH)D und DBP auf der Plasmamembran der Tubuluszelle an Megalin, 25(OH)D gelangt in die Zelle und wird von der 25-Hydroxy-1 α -Hydroxylase (1-OHase; CYP27B1) in den Mitochondrien in seine aktive Form 1,25-

Dihydroxyvitamin-D ($1,25(\text{OH})_2\text{-D}$; Calcitriol) überführt. (Holick 2006b) Diese Überführung unterliegt einer starken Regulation.

Frühe Studien zeigten, dass es eine negative Korrelation zwischen Parathormon (PTH) aus den Nebenschilddrüsen und $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumwerten gibt, PTH also bei steigenden $25(\text{OH})\text{D}$ -Werten abnimmt und bei sinkenden $25(\text{OH})\text{D}$ -Werten ansteigt. (Gordon et al. 2004; Malabanan et al. 1998; Sullivan et al. 2005) Intaktes Parathormon (PTHi) erreicht laut Chapuy (Chapuy et al. 1997) ein Plateau von 36 pg/mL wenn $25(\text{OH})\text{D} > 31 \text{ ng/mL}$, für $25(\text{OH})\text{D} < 31 \text{ ng/mL}$ steigt PTHi an.

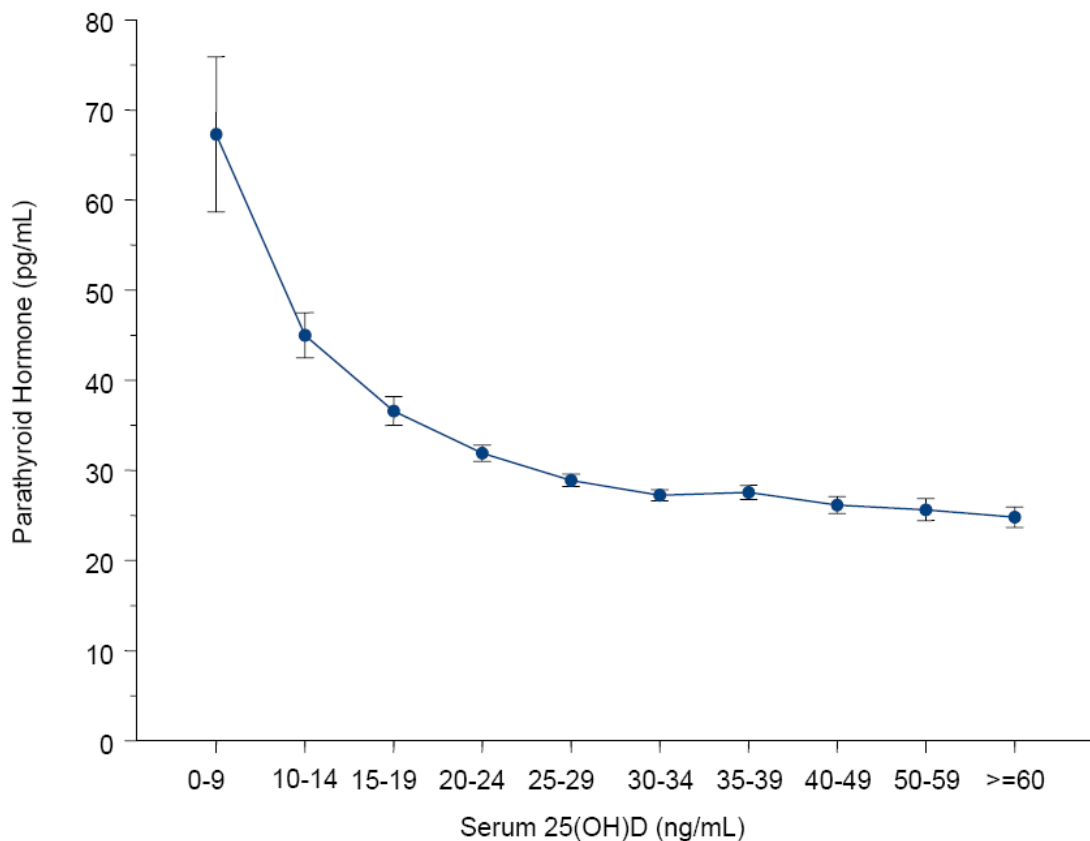


Abbildung 2. Zusammenhang zwischen PTH und $25(\text{OH})\text{D}$. Zur Definition, wie hoch der Vitamin-D-Spiegel im Serum sein muss um eine ausreichende Versorgung mit Vitamin D abzubilden, wurde der Punkt gewählt, ab dem PTH von seinem Plateau ansteigt. (Abbildung aus Holick 2009)

PTH induziert die renale 1-OHase, wodurch mehr biologisch aktives $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ gebildet wird. Dieses wiederum hemmt die Ausschüttung von PTH und somit indirekt seine eigene Bildung. Auch andere Faktoren wie Phosphat, Calcium und der Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) induzieren bzw. inhibieren die 1-OHase. Weiters fördert $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ seine eigene Eliminierung durch die Expression von 25-Hydroxyvitamin D-24-Hydroxylase (24-OHase; CYP24A1), welche eben jenes in einen wasserlöslichen Metaboliten umwandelt, der über die Galle ausgeschieden wird. (Holick 2007)

1.1.2 Vitamin-D-Mangel

Obwohl die aktive Form des Vitamin D, $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$, für die Bestimmung des Vitamin-D-Status‘ theoretisch am besten geeignet scheint, spiegelt ihre Konzentration im Serum den wahren Status nicht wider. Aus verschiedenen Gründen zieht man stattdessen $25(\text{OH})\text{D}$ als Parameter zur Statusbestimmung heran. Zum einen handelt es sich bei $25(\text{OH})\text{D}$ um die Hauptzirkulationsform von Vitamin D, die zirkulierende Menge ist tausendfach größer als die von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$, welches außerdem nur eine geringe Halbwertszeit von 4-6 Stunden hat, im Gegensatz zu der von $25(\text{OH})\text{D}$, welche bei 2-3 Wochen liegt. Schwerer wiegt jedoch, dass bei einem Mangel an Vitamin D die Calciumabsorption im Darm erheblich eingeschränkt ist und es somit zu einem Abfall des ionisierten Calciums im Serum kommt. Hierdurch wird durch die Nebenschilddrüsen vermehrt PTH ausgeschüttet (sekundärer Hyperparathyreoidismus), welches wiederum die 1-OHase vermittelte Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ aus $25(\text{OH})\text{D}$ fördert. Dadurch können bei einem Vitamin-D-Mangel mit erhöhtem PTH und erniedrigtem $25(\text{OH})\text{D}$ normale oder sogar erhöhte $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ Werte vorkommen. (Holick 2009) Deshalb ist die aktive Form des Vitamins ungeeignet zum Bestimmen des Status‘.

Wie im Methodenteil beschrieben wurde ein Vitamin-D-Mangel in unserer Studie als $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel $< 30 \text{ ng/mL}$ definiert, also dem Wert, ab welchem PTH ansteigt. Dies deckt sich mit den Angaben in Fachartikeln, wobei hier meist unterschieden wird zwischen einer Vitamin-D-Insuffizienz bei Werten $< 30 \text{ ng/mL}$ und einem echten Vitamin-D-Mangel $< 20 \text{ ng/mL}$. (Holick 2006a; Holick 2007; Malabanan et al. 1998)

Laut verschiedenen Studien ist ein großer Teil der Bevölkerung in Nordamerika und Europa nicht ausreichend mit Vitamin D versorgt. Die Prävalenz für einen Vitamin-D-Mangel für Heranwachsende wird zwischen 36-48% angegeben. (Gordon et al. 2004, Holick 2006a; Sullivan et al. 2005) 57% der stationären PatientInnen und 52% der postmenopausalen Frauen, welche eine Osteoporosetherapie bekamen, wiesen in Studien einen Vitamin-D-Mangel auf und auch 14% der gesunden Erwachsenen in Frankreich hatten einen solchen Mangel. (Chapuy et al. 1997; Holick et al. 2005; Thomas et al. 1998)

Die Gründe für einen Mangel sind mannigfaltig. Hauptbezugsquelle von Vitamin D ist das bei Sonneneinstrahlung in der Haut gebildete Vitamin D_3 und zu einem kleineren Teil noch über die Nahrung aufgenommenes Vitamin D_2 oder D_3 . (Holick 2007) Zu einem Mangel

kann folglich eine nicht ausreichende Bestrahlung mit UVB-Licht führen, bspw. im Winter (Sullivan et al. 2005), durch Sonnenschutz (Matsuoka et al. 1987) oder auch der flache Winkel der Sonneneinstrahlung in Gegenden oberhalb des 37. Breitengrades. (Holick 2005; Webb et al. 1988) Weiters können eine ungenügende Aufnahme über die Nahrung, eine durch Einlagerung in das Körperfett erniedrigte Bioverfügbarkeit von Vitamin D bei Adipositas (Wortsmann et al. 2000), der Verlust von an DBP gebundenes Vitamin D im Urin beim nephrotischen Syndrom (Holick 2007; Saha 1994) und die Einnahme von Medikamenten, die über den Steroid and xenobiotic receptor (SXR) Einfluss auf den Vitamin-D-Metabolismus nehmen, wie Antikonvulsiva, Antimykotika oder antiretrovirale Mittel, zu einem Vitamin-D-Mangel führen. (Holick et al. 2011; Zhou et al. 2006)

1.1.3 Vitamin D und die Regulation des Calciumhaushaltes und Knochenbaus

Auch wenn Vitamin D in jüngster Zeit Wirkungen auf verschiedenste Systeme zugeschrieben wird, so bleibt sein Einfluss auf den Calciumhaushalt und Knochenumbau die wichtigste Funktion, führte diese doch zur Entdeckung des Hormons und dadurch zum Verschwinden von Rachitis in entwickelten Ländern. Dawson-Hughes et al. (Dawson-Hughes et al. 1997) zeigten in einem dreijährigen Untersuchungszeitraum, dass eine Supplementierung von Calcium und Vitamin D die Inzidenz für eine erste Fraktur von 12,9% auf 5,9% halbiert und die bone mineral density (BMD) in Femurhals und Wirbelsäule gegenüber der Placebogruppe erhöht. Außerdem sanken die Osteocalcinwerte im Serum der Verumgruppe, wodurch die Autoren auf einen anhaltenden Effekt auf das Knochenremodelling schließen. Des Weiteren zeigten verschiedene Studien (Bischoff-Ferrari et al. 2006; Bischoff-Ferrari et al. 2005; Chapuy et al. 1992), dass durch Zuführen von Calcium und Vitamin D das Hüftfrakturrisiko um 26 bis 43% und das Risiko für nichtvertebrale Frakturen um 23 bis 32% verringert werden kann. In Dänemark ließ sich bei selbstständig lebenden SeniorInnen das Auftreten von osteoporotischen Frakturen (einschließlich Frakturen der Wirbelkörper) durch tägliche Gabe von 400 IU Vitamin D und 1000 mg Calcium um 16% verringern. (Larsen et al. 2004) Allerdings wird zur Supplementierung von Vitamin D eine Dosis von mindestens 800 bis 1000 IU empfohlen, weshalb möglicherweise sogar bessere Ergebnisse erzielt werden können als bei einer Gabe von 400 IU. (Larsen et al. 2004)

Aktive Vitamin-D-Metaboliten beeinflussen über drei verschiedene Organsysteme den Calciumhaushalt: Sie erhöhen die intestinale Calciumabsorption, stimulieren die Reifung von Osteoklasten und fördern die renale Resorption von Calcium im distalen Tubulus. (Jones et al. 1998; DeLuca 2004)

1,25(OH)₂-D agiert durch Bindung an den Vitamin-D-Rezeptor (VDR), ein dem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) ähnlichen kernständigen Rezeptor, der über Vitamin D receptor elements (VDRE), welche sich in der Promoterregion der durch Vitamin D regulierten Gene befinden, die Expression bestimmter Gene reguliert. (DeLuca 2004; Jones et al. 1998) So werden sämtliche Wirkungen von 1,25(OH)₂-D von diesem Rezeptor vermittelt, der sich in den Zellen verschiedenster Gewebe befindet. VDREs befinden sich auch in der Promoterregion des Parathormongens. (Demay et al. 1992) So wirkt 1,25(OH)₂-D regulierend auf die Sekretion von PTH aus den Nebenschilddrüsen. Bei Vitamin-D-Mangel entsteht so ein sekundärer Hyperparathyroidismus, bei ausreichender Vitamin-D-Versorgung wird die Sekretion von PTH bis auf ein Baselineniveau gehemmt. (Chapuy et al. 1997)

Um die Osteoklastenreifung zu veranlassen, gibt es drei verschiedene Wege. 1,25(OH)₂-D wirkt über VDR im Zellkern, PTH, Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Interleukin (IL)-1 über die cAMP-abhängige Proteinkinase A und IL-6, IL-11, Leukemia inhibitory factor (LIF) und Oncostatin M über die gp130 Signaltransduktion. (Suda et al. 2003) Über diese Wege wird die durch Osteoblasten vermittelte Osteoklastenreifung induziert. Osteoblasten sind für die Differenzierung von Osteoklastenvorläuferzellen wichtig, da sie ein lokales Milieu schaffen, ohne welches eine Reifung nicht möglich ist. Warum genau eine Differenzierung von Osteoklasten nach räumlicher Trennung von Osteoblasten bspw. mittels einer Membran nicht funktioniert ist nicht abschließend geklärt. (Suda et al. 1999) Allerdings bilden Osteoblasten den Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) und den membranständigen receptor activator of nuclear factor kappa B Ligand (RANKL), welche Bedingungen für eine Osteoklastogenese sind. Durch die Bindung von auf Osteoblasten befindlichem RANKL an den auf der Oberfläche von Osteoklastenvorläuferzellen befindlichem RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) wird die Differenzierung von jenen Vorläuferzellen induziert. Diese Bindung kann durch Osteoprotegerin (OPG), einen Köderrezeptor für RANKL aus der TNF-Rezeptorfamilie, reguliert werden. OPG bindet an RANKL und verhindert so eine Bindung an RANK, was einen inhibierenden Effekt auf die Osteoklastenbildung hat. (Suda et al. 2003; Suda et al. 1999; Suda et al. 2012) Durch die Wirkung von Vitamin D wird auf Osteoblasten vermehrt RANKL exprimiert.

Vitamin D wäre also ein Faktor, der die Resorption von Knochen mit Freisetzung von Calcium in das Plasma fördert. Eben diese Eigenschaft wird in vitro auch beobachtet. Allerdings hat Vitamin D in vivo die gegenteilige Wirkung, es fördert die Mineralisierung des Knochens. (Suda et al. 2003; Suda et al. 2012; Takahashi et al. 2014) Warum sich Vitamin D in vivo anders verhält als in vitro ist nicht abschließend geklärt. Allerdings gibt es verschiedene Hypothesen, die versuchen diese Widersprüchlichkeit zu erklären. So könnte es sein, dass Vitamin D die Anzahl von Osteoklastenvorläuferzellen oder die RANKL-Expression auf Osteoblasten in vivo verringert oder es könnten die unterschiedlichen Vitamin-D-Konzentrationen, welche in vitro 100- bis 1000-fach höher sind als in vivo, dafür verantwortlich sein. (Suda et al. 2012; Takahashi et al. 2014) Physiologische 1,25(OH)₂-D Konzentrationen könnten die durch PTH induzierte RANKL-Expression hemmen, während pharmakologische oder toxische Konzentrationen von 1,25(OH)₂-D selbst direkt die RANKL Expression erhöhen. (Ueno et al. 2003)

In den Enterozyten führt die Bindung von aktivem Vitamin D an den VDR zu vermehrter Expression von Calbindin D, ein Protein welches Calcium bindet und somit als Transportprotein fungieren kann, und des epithelialen Calciumkanals (ECaC). (Holick 2007) Dadurch wird ungefähr 30 bis 40% mehr Calcium aus der Nahrung absorbiert. Aber auch bis zu 80% mehr Phosphor. (DeLuca 2004; Holick 2007)

98% des in den Glomeruli filtrierten Calciums wird wieder reabsorbiert, 15% davon im distalen Tubulus. Dieser ist der Ansatzpunkt für PTH und Vitamin D in der Regulation der renalen Calciumresorption. (Kumar et al. 2012) In Ratten wurde beobachtet, dass bei einem starken Vitamin-D-Mangel eine viel höhere Konzentration von PTH im Serum nötig ist, um einen ähnlichen Effekt auf die Calciumabsorption zu erzielen wie ihn niedrigere PTH-Spiegel bei ausreichend vorhandenem Vitamin D im Serum erzielen. (Yamamoto et al. 1984) 1,25(OH)₂-D erhöht also die Sensibilität der Tubuluszellen auf PTH, besitzt aber gleichzeitig noch einen direkten Effekt auf die renale Calciumreabsorption. 1,25(OH)₂-D erhöht die Expression der Plasma membrane calcium pump (PMCa), welche Calcium aktiv durch die basolaterale Membran der distalen Tubuluszellen transportiert, des epithelialen Calciumkanals (ECaC) und von Calbindin D. (Glendenning et al. 2000; Hoenderop et al. 2001) Diese Effekte führen zusammen dazu, dass Vitamin D den Calciumverlust im Harn stark verringert.

1.1.4 Vitamin D und die Wirkungen auf die Muskulatur

Eine Metaanalyse von Bischoff-Ferrari et al. (Bischoff-Ferrari et al. 2004) zeigte, dass ältere Menschen, die Vitamin-D-Präparate einnahmen, ein um 22% reduziertes Sturzrisiko hatten. Eine neuere Studie zeigte sogar, dass das Zuführen von 700 IU Vitamin D und 500 mg Calcium pro Tag das Sturzrisiko von älteren Frauen um 46% senken konnte, bei Frauen, die wenig körperlich aktiv waren sogar um 65%. (Bischoff-Ferrari et al. 2006) Bei Männern zeigte eine Supplementierung allerdings keinen Effekt. Glerup et al. (Glerup et al. 2000) stellten einen Zusammenhang zwischen der Muskelkraft von Probandinnen und deren Vitamin-D-Status dar. Sie zeigten, dass Frauen mit schwerem Vitamin-D-Mangel, die eine hochdosierte Vitamin D und Calcium Supplementierung bekamen, nach drei bzw. sechs Monaten Therapie deutlich mehr Muskelkraft aufbringen konnten, besonders deutlich ausgeprägt war die Stärkezunahme in den stabilisierenden Muskelgruppen der unteren Extremität (Hüftstrecker, Kniebeuger und –strecker sowie Beuger im Unterschenkel). Eine Stärkezunahme dieser Muskelgruppen könnte eine verringerte Sturzneigung erklären. Außerdem berichteten mit steigendem 25(OH)D-Serumspiegel weniger Probandinnen von Muskel- bzw. Knochenschmerzen.

Rezeptoren für Vitamin D wurden in Muskelzellen nachgewiesen. (Bischoff et al. 2001) Dort entfaltet Vitamin D seine Wirkung auf verschiedene Weise. Es verändert den intrazellulären Calciumspiegel, indem es IP₃-vermittelte Shifts von Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol herbeiführt, was wiederum zu einem Einstrom von extrazellulärem Calcium durch spannungsabhängige Calciumkanäle in die Muskelzelle führt. (Boland 1986; Girgis et al. 2013) Es erhöht außerdem die Aufnahme von Phosphat in die Zelle, welches für die Synthese von ATP und Proteinen benötigt wird. (Birge & Haddad 1975; Girgis et al. 2013) Des Weiteren werden Effekte auf die Differenzierung der Muskelzelle angenommen und es wurden erniedrigte Mengen von kontraktilen Proteinen (Aktin, Myosin, Troponin) in Muskelzellen von Tieren entdeckt, die unter einem Vitamin-D-Mangel litten. (de Boland et al. 1983; Girgis et al. 2013; Pointon et al. 1979)

Die Wirkungen von Vitamin D auf die Muskulatur und den Knochenumbau spielen klinisch also insofern eine Rolle, als sie im Zusammenspiel das Frakturrisiko für ältere Menschen verringern, einerseits durch ein erniedrigtes Sturzrisiko, andererseits durch eine Mineralisierung des Knochens.

1.1.5 Vitamin D und das kardiovaskuläre System

In Gebieten höherer geographischer Breite wird in epidemiologischen Studien ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko beobachtet, vor allem für ischämische Herzerkrankungen. (Zittermann 2006) Da auch das Vorkommen von Vitamin-D-Mangel steigt, je weiter eine Population vom Äquator entfernt lebt, scheint es plausibel, dass Vitamin D Effekte auf das kardiovaskuläre System hat. Tatsächlich zeigten Metaanalysen, dass ein Mangel an Vitamin D ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer Hypertonie ist. (Kunutsor et al. 2013; Pilz, Gaksch, et al. 2013; Vimaleswaran et al. 2014) Wang et al. (Wang et al. 2008) zeigten in einer prospektiven Framingham-Nachfolgestudie mit einer mittleren Follow-up-Zeit von 5,4 Jahren und 1739 StudienteilnehmerInnen, von denen zur Baseline-Untersuchung niemand eine kardiovaskuläre Erkrankung hatte, dass es einen nicht-linearen Zusammenhang zwischen dem 25(OH)D-Spiegel im Blut und dem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse gibt. Dabei hatten hypertone TeilnehmerInnen mit 25(OH)D-Werten < 15 ng/mL gegenüber Vitamin-D-suffizienten HypertonikerInnen ein erhöhtes Risiko ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, das für TeilnehmerInnen mit Werten < 10 ng/mL sogar noch deutlicher anstieg. Andere Beobachtungsstudien kamen zu ähnlichen Ergebnissen. So korrelierten bei PatientInnen, die zu einer Koronarangiographie in die Klinik kamen, verminderte 25(OH)D- und 1,25(OH)₂-D-Werte mit Parametern, die eine schwerere Herzinsuffizienz anzeigen, wie höhere NT-pro-BNP-Werte, eine höhere NYHA-Klasse und eine geringere Funktion des linken Ventrikels. (Pilz et al. 2008) Natürlich lassen sich bei Beobachtungsstudien Confounder nicht zur Gänze ausschließen und so könnte eine schwere Herzinsuffizienz mit verminderter Leistungsfähigkeit auch dazu führen, dass die betroffene Person weniger Zeit im Freien verbringt und deshalb weniger Vitamin D in der Haut synthetisiert, allerdings handelte es sich in der Framingham-Nachfolgestudie um eine gesunde Population, die sich freiwillig ambulant untersuchen ließ, wodurch Immobilität als Confounder weniger wahrscheinlich wird und in letztgenannter Studie von Pilz et al. war die Korrelation von Vitamin-D-Mangel mit schwerwiegenden Herzinsuffizienzzeichen auch nach Berücksichtigung der physischen Aktivität in der Auswertung signifikant. (Pilz et al. 2008; Wang et al. 2008)

In der Literatur werden verschiedene Wege, die zur Beeinflussung des kardiovaskulären Systems durch Vitamin D führen, genannt. Zu diesen gehören Effekte auf das RAAS, PTH, das Endothel sowie das Myokard.

Die Protease Renin wird von Zellen des juxtaglomerulären Apparats gebildet und gespeichert und unter Einwirkung bestimmter Stimuli freigesetzt. Renin spaltet Angiotensin-I von Angiotensinogen ab, Angiotensin-I wird wiederum vom Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) zu Angiotensin-II überführt. Dieses bewirkt einen Anstieg des totalen peripheren Widerstands durch eine arterielle Vasokonstriktion, die Stimulation des Durstgefühls im Hypothalamus, einen erhöhten glomerulären Filtrationsdruck durch Verengung der Vasa efferentes und stimuliert zusätzlich die Sekretion von Aldosteron, welches zu einer gesteigerten Rückresorption von Wasser und Natrium im distalen Tubulus führt. (Classen et al. 2009d) Über diese Mechanismen führt eine erhöhte Reninaktivität mittelfristig zu einem Anstieg des Blutdrucks.

Vitamin D wurde als negativer Regulator dieses Systems ausgemacht. Li et al. (Li et al. 2002) konnten bei VDR-knockout Mäusen eine stark erhöhte Reninaktivität nachweisen, die zu Hypertonie und kardialer Hypertrophie führte. Gleiches geschieht, wenn die Biosynthese von Calcitriol blockiert wird, bspw. bei CYP27B1-knockout Mäusen, die einen Mangel an 1α -Hydroxylase aufweisen. In beiden Fällen führt die Injektion von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ zu einer Suppression von Renin. (Li 2011) Der durch Calcitriol aktivierte VDR unterbricht den cAMP-Signalweg, was die Transkription von Renin unterbricht und der Entstehung einer Hypertonie entgegengewirkt. (Li 2011)

Ein zweiter wichtiger Ansatz für die protektive Wirkung von Vitamin D auf das kardiovaskuläre System ist seine PTH-senkende Eigenschaft. PTH gilt als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und deren Mortalität. (Kienreich et al. 2013; Pilz, Tomaschitz, Drechsler, Ritz, et al. 2010) Erhöhte PTH-Werte führen zu erhöhtem Blutdruck (Fliser et al. 1997; Jorde et al. 2000) und beeinflussen die Myozytenhypertrophie und das vaskuläre Remodeling. (Wang et al. 2008) Vitamin D wird schon zur Therapie des sekundären Hyperparathyreoidismus bei chronischer Nierenerkrankung eingesetzt und senkt auch hier trotz FGF-23-vermittelter Hemmung der 1α -Hydroxylase die PTH-Serumspiegel. (Pilz, Gaksch, et al. 2013) Andere renoprotektive Wirkungen entfaltet Vitamin D bspw. durch anti-proteinurische Eigenschaften wie dem Schutz vor Schädigung der Podozyten und einer Induktion der Megalinexpression, die zur Resorption von Albumin und DBP benötigt wird. (Kienreich et al. 2013)

Darüber hinaus scheint Vitamin D direkte Effekte auf Herz und Gefäße zu haben. Ein Ausschalten des VDR-Gens in Kardiomyozyten führt zu einer Ventrikelhypertrophie. (Chen et al. 2011) Neben dieser antihypertrophischen Wirkung wird Vitamin D auch eine antifibrotische Wirkung zugeschrieben. (Pilz, Tomaschitz, Drechsler, Dekker, et al. 2010)

In den Gefäßen entfaltet der VDR anti-atherosklerotische Effekte. Seine Aktivierung führt zu einer verminderten Expression von Adhäsionsmolekülen auf dem Endothel, zu einer erhöhten Produktion von Stickstoffmonoxid und zur Hemmung der Schaumzellbildung. (Kienreich et al. 2013)

Obwohl der Vitamin-D-Mangel also ein Risikofaktor für die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen ist, kamen Interventionsstudien zu unterschiedlichen Ergebnissen, die einen positiven Effekt einer Vitamin-D-Supplementation nicht nachweisen konnten. (Kienreich et al. 2013) Larsen et al. (Larsen et al. 2012) konnten trotz erfolgreicher Anhebung des 25(OH)D-Spiegels keine signifikante Reduzierung des Blutdrucks oder der Pulswellengeschwindigkeit feststellen. Allerdings wurden in dieser Studie ProbandInnen mit stark erhöhtem Blutdruck ausgeschlossen und Vitamin-D-suffiziente ProbandInnen eingeschlossen, was zu einer Reduzierung der Effekte der Supplementation geführt haben könnte. Besser konstruiert war die RCT von Pilz et al. (Pilz et al. 2015) Inkludiert wurden hier 200 TeilnehmerInnen mit Hypertonie und 25(OH)D-Spiegeln < 30 ng/ml. Sie bekamen täglich 2800 IU Vitamin D₃ über 8 Wochen. Als primärer Endpunkt diente der über 24 Stunden gemessene systolische Blutdruck, als sekundäre Endpunkte dienten verschiedene Parameter zur Beurteilung der kardiovaskulären Risikofaktoren und der Funktion der durch Hypertonie beeinflussten Endorgane. Die Supplementation führte nur zu einer minimalen, nicht signifikanten Absenkung des systolischen Blutdrucks und bis auf einen Anstieg der Triglyzeride unter Vitamin-D-Gabe gab es keine signifikanten Effekte auf die sekundären Endpunkte.

In der Gesamtschau konnten bislang veröffentlichte RCTs keine positiven Effekte einer Vitamin-D-Supplementation beweisen, allerdings werden in den nächsten Jahren Ergebnisse für große laufende Studien zu weiteren klinischen Outcomes erwartet. (Kienreich et al. 2013)

1.1.6 Vitamin D und das Immunsystem

Das menschliche Immunsystem lässt sich auf verschiedene Weise einteilen. Man unterscheidet das zelluläre von dem auf Plasmaproteinen (also Antikörper, Interleukine und das Komplementsystem) beruhende humorale Immunsystem sowie die angeborene von der erworbenen Immunantwort. Das zelluläre Immunsystem besteht aus Granulozyten, Monozyten und den sich aus diesen entwickelnden Makrophagen und dendritischen Zellen,

NK-Zellen sowie B- und T-Lymphozyten. Letztere lassen sich zusätzlich anhand der auf ihnen ausgeprägten CD (cluster determinant)-Oberflächenmoleküle in CD4+ T-Helfer-Zellen („T_h-Zellen“), CD8+ cytotoxische und CD4+CD25+ regulatorische T-Zellen („T_{reg}“) einteilen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Funktion werden außerdem T_{h1}- von T_{h2}-Zellen abgegrenzt. (Prietl et al. 2010; Schütt & Bröker 2009a)

Ein Zusammenhang zwischen einem Vitamin-D-Mangel und einer erhöhten Inzidenz von Autoimmunerkrankungen, bspw. bei Multipler Sklerose, systemischen Lupus erythematoses (SLE) oder entzündlichen Darmerkrankungen ist mittlerweile unstrittig. (Van Belle et al. 2011) Für verschiedene Erkrankungen wurde eine Assoziation mit bestimmten VDR-Gen-Polymorphismen nachgewiesen, so bspw. bei rheumatoider Arthritis oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen; außerdem kodieren Gene, die mit einem erhöhten Risiko für Multiple Sklerose einhergehen, für CYP27B1 (1- α -Hydroxylase) oder haben VDREs in ihrer Promotorregion. (Van Belle et al. 2011) Im Tiermodell entwickelten IL-10-Knockout-Mäuse eine chronisch entzündliche Colitis deren Symptome sich unter Vitamin-D-Substitution besserten (Kühn et al. 1993). Auch Symptome des SLE besserten sich unter Vitamin-D-Substitution im Tiermodell und führten zu einer erhöhten Lebenserwartung. (Abe et al. 1990) Nicht zuletzt finden Vitamin-D-Analoga auch in der topischen Behandlung der Psoriasis Anwendung. (Holick 2007)

Die meisten Immunzellen besitzen Vitamin-D-Rezeptoren und exprimieren außerdem CYP27B1. (Nagpal et al. 2005) Damit ausreichende Konzentrationen von Calcitriol zur Modulation des Immunsystems erreicht werden, hydroxilieren Immunzellen selbst 25(OH)D zu 1,25(OH)₂-D, wirken also parakrin bzw. autokrin. (Adams & Hewison 2008) Für die Wirkung von Vitamin D auf das erworbene Immunsystem sind besonders antigenpräsentierende Zellen (v.a. Makrophagen, dendritische Zellen) und T-Lymphozyten bedeutend. Antigenpräsentierende Zellen präsentieren das Antigen auf dem MHC-II-Komplex, der an den T-Zell-Rezeptor (TCR) der CD4+ T_h-Zellen bindet. Das CD4-Oberflächenmolekül ist spezifisch für den MHC-II, es dient hier als Korezeptor und verstärkt die Bindung. Die T_h-Zelle wird so aktiviert und produziert ihrerseits Zytokine, die weitere Immunzellen aktivieren. (Schütt & Bröker 2009b)

Insgesamt scheint Vitamin D eine immunmodulierende Wirkung zu haben, die ein Überschießen der Immunantwort verhindert und die Eigentoleranz des Immunsystems

erhöht. Am besten nachvollzogen sind die Effekte von Vitamin D auf die T-Zellen. Von Essen et al. (von Essen et al. 2010) konnten zeigen, dass Calcitriol bei der Aktivierung der T-Zellen eine wichtige Rolle einnimmt. Dies geschieht durch die VDR-induzierte Akkumulation von Phospholipase C- γ 1 (PLC- γ 1), die eine maßgebliche Stellung in der T-Zell-Aktivierung und dem TCR-Signalweg innehat. Neben antiproliferativen Effekten auf T_{H1} -Zellen nimmt Vitamin D zusätzlich Einfluss auf die T_{H1}/T_{H2} -Balance zugunsten der T_{H2} -Zellen. So hemmt Calcitriol die Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine IL-2, IFN- γ und TNF- α aus T_{H1} -Zellen und fördert in T_{H2} -Zellen die Synthese antiinflammatorischer Zytokine wie IL-10 und TGF- β . (Adams & Hewison 2008) Eine Vitamin-D-Substitution führt weiter zu einer Erhöhung des Anteils an regulatorischen T_{reg} -Zellen, die positive Effekte bei der Prävention von Autoimmunkrankheiten und Graft-versus-host Reaktionen haben. (Prietl et al. 2010) Zusätzlich entfaltet Vitamin D suppressive Wirkungen auf antigenpräsentierende Zellen. Die Expression von TLR auf Monozyten wird gehemmt, wodurch diese weniger sensibel auf PAMPs reagieren und somit bspw. die Entstehung einer Sepsis gehemmt wird. Außerdem hemmt Calcitriol die Expression von MHC-II und CD40. Somit entsteht eine protektive Wirkung bei T_{H1} -vermittelten Autoimmunkrankheiten durch die Downregulation von antigenpräsentierenden Molekülen (MHC-II), Kostimulator CD40 und TLR auf Monozyten und dendritischen Zellen. (Sadeghi et al. 2006) Gleichzeitig senkt die Calcitriol-vermittelte Expression von Immunoglobulin-like transcript 3 (ILT-3) die Aktivität der antigenpräsentierenden Zellen. (Penna et al. 2005)

Zusätzlich zu den die T-Zellen betreffenden Effekten entfaltet Calcitriol auch Wirkung auf B-Lymphozyten. So hemmt es die Proliferation dieser, fördert die Apoptose von Plasmazellen und hemmt die Produktion von Immunglobulinen, bspw. DsDNA-Antikörpern. (Pludowski et al. 2013; Van Belle et al. 2011)

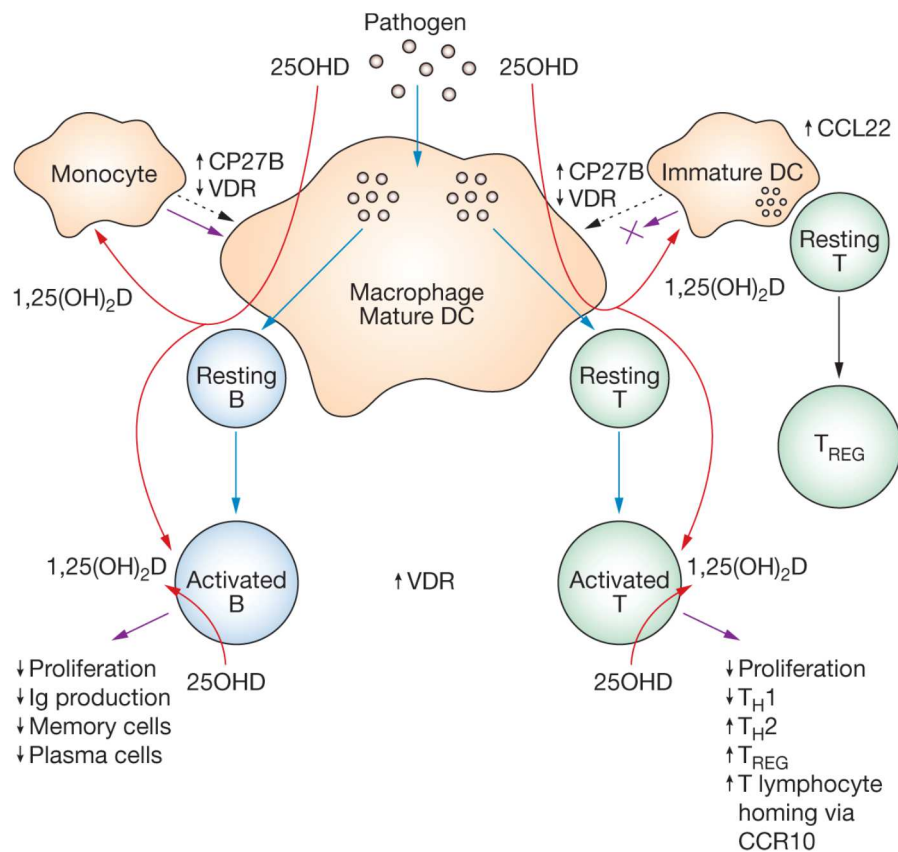


Abbildung 3. Vitamin D, antigenpräsentierende Zellen und erworbene Immunantwort. (Abbildung aus Adams & Hewison 2008)

Vitamin D dient außerdem als Verbindung zwischen TLR-Aktivierung und angeborener Immunantwort. Liu et al. (Liu et al. 2006) konnten zeigen, dass eine Aktivierung der TLR zu einer erhöhten Expression von VDR und CYP27B1 in Makrophagen und Monozyten führte. CYP27B1 hydroxiliert 25(OH)D zu 1,25(OH)₂-D, welche über eine autokrine Induktion des VDR zu einer vermehrten Synthese von Cathelicidin führt. Cathelicidin ist ein sogenanntes Defensin, wirkt antimikrobiell und führt zum Abtöten von Mycobacterium tuberculosis. Dies könnte erklären, warum AfroamerikanerInnen, die häufiger an einem Vitamin-D-Mangel leiden als KaukasierInnen, häufiger an Tuberkulose erkranken und öfter schwere Verläufe erleiden. (Liu et al. 2006)

Beobachtungsstudien legen nahe, dass ein Vitamin-D-Mangel mit einem erhöhten Krebsrisiko einhergeht. Diese Assoziation scheint vor allem für Mamma-, Prostata- und Kolonkarzinome zu gelten. Randomisierte, kontrollierte Studien konnten aufgrund von Qualitätsmängeln bisher keine aussagekräftigen Ergebnisse liefern und es ist nicht abschließend geklärt, ob für die Gesamtpopulation ein Vitamin-D-Mangel mit einer erhöhten Karzinom mortalität einhergeht. Allerdings scheint ein solcher Mangel ein unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von Karzinomen und für KrebspatientInnen

ein Prädiktor für erhöhte Mortalität zu sein. (Pilz, Kienreich, et al. 2013; Pludowski et al. 2013)

1.1.7 Vitamin D und Diabetes mellitus

Diabetes mellitus ist vor allem in den entwickelten Ländern ein zunehmendes Gesundheitsproblem. Unterschieden wird zwischen dem durch den Untergang der β -Zellen des Pankreas und den dadurch entstehenden totalen Insulinmangel ausgelösten Typ 1 Diabetes und dem auf Insulinresistenz basierenden Diabetes mellitus Typ 2. Im Folgenden soll der Einfluss von Vitamin D auf die Entstehung von Diabetes mellitus dargestellt werden.

Mehrere Metaanalysen kamen zu dem Ergebnis, dass ein Mangel an Vitamin D mit einem erhöhten Risiko einhergeht an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken. (Afzal et al. 2013; Mitri & Pittas 2011; Song et al. 2013) Dabei hatten ProbandInnen mit einem 25(OH)D-Spiegel von > 25 ng/ml ein 43% niedrigeres Risiko als ProbandInnen mit einem Spiegel von < 14 ng/ml. (Mitri & Pittas 2011)

VDR wurden in einer Vielzahl von Geweben gefunden, so auch in den β -Zellen des Pankreas; außerdem finden sich hier Vitamin D abhängige, Calcium bindende Proteine. (Johnson et al. 1994; Wallace et al. 2015) Die Insulinsekretion ist abhängig von Änderungen der intrazellulären Calciumkonzentration, Calcitriol reguliert über den VDR den Calciumfluss in den β -Zellen und könnte so Einfluss auf die Insulinsekretion nehmen. (Shi et al. 2002; Wallace et al. 2015) Im Rattenmodell minderte ein Vitamin-D-Mangel die Insulinsekretion, durch Vitamin-D-Substitution stiegen die Insulinspiegel wieder an. (Clark et al. 1981; Mitri & Pittas 2014) Neben Effekten auf die Inselzellen sorgt das Vorhandensein von VDREs in der Promoterregion des Insulinrezeptorgens für ein Ansteigen der Anzahl an Insulinrezeptoren in den Zielgeweben. (Maestro et al. 2002; Maestro et al. 2003) In den Adipozyten kann hierdurch die Lipogenese und Lipolyse beeinflusst werden. (Shi et al. 2002)

Für einen positiven Effekt von Vitamin D auf die Funktion der β -Zellen und die Insulinsensitivität der Zielgewebe beim Menschen sprechen verschiedene Beobachtungsstudien. Bei Chiu et al. (Chiu et al. 2004) korrelierten niedrigere 25(OH)D-Spiegel mit erhöhter Glukosekonzentration während des oralen Glukosetoleranztests (OGTT). In einer prospektiven Beobachtungsstudie mit einer Follow-up-Zeit von 10 Jahren waren die Serum-25(OH)D-Baselinewerte assoziiert mit einem erhöhten 10-Jahres-Risiko

für das Auftreten von Hyperglykämie (gemessen als Nüchtern glukose und 2-Stunden-OGTT-Glukose) und Insulinresistenz (beurteilt nach Nüchterninsulin und HOMA-IR). (Forouhi et al. 2008)

Obwohl Beobachtungsstudien vielversprechende Ergebnisse lieferten, konnten RCTs einen positiven Effekt einer Vitamin-D-Supplementation bei Diabetes mellitus Typ 2 aufgrund von unterschiedlichen, teils widersprüchlichen Ergebnissen nicht eindeutig belegen. Al-Sofiani et al. (Al-Sofiani et al. 2015) konnten nach 12-wöchiger Supplementation einen signifikanten positiven Effekt auf die β -Zellfunktion (beurteilt durch HOMA-% β) erreichen, allerdings ohne Verringerung des HbA_{1c}. Im Gegensatz dazu zeigte in einer anderen RCT eine einjährige Vitamin-D-Gabe von zirka 88.000 IU pro Woche keine signifikanten Wirkungen auf die Insulinsekretion, Insulinsensitivität oder die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2. (Davidson et al. 2013) Pittas et al. (Pittas et al. 2007) beobachteten wiederum, dass eine kombinierte Gabe von 700 IU Vitamin D und 500 mg Calcium bei PatientInnen, die zur Baselineuntersuchung eine erhöhte Nüchtern glukose aufwiesen, im Vergleich zur Kontrollgruppe nach 3 Jahren zu einer geringeren Erhöhung der Nüchtern glukose und des HOMA-IR führten. Für PatientInnen, die zur Baselineuntersuchung eine normale Nüchtern glukose vorwiesen konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden. Möglicherweise profitieren prädiabetische PatientInnen also eher von einer Vitamin-D-Supplementation als gesunde. Zu diesem Zeitpunkt kann nicht sicher gesagt werden, ob die Vitamin-D-Substitution einen positiven Effekt auf den Typ 2 Diabetes hat. Um diese Frage genauer zu klären sind in Zukunft zusätzliche, gut konstruierte RCTs nötig. (Wallace et al. 2015)

Dem Diabetes mellitus Typ1, auch juveniler Diabetes genannt, liegt eine andere Ursache als dem Typ 2 Diabetes zugrunde. Es kommt zu einer autoimmunologischen Zerstörung der β -Zellen und somit zu einem Versiegen der Insulinproduktion. Aufgrund der antiinflammatorischen, immunmodulierenden Eigenschaften von Vitamin D könnte ein Mangel auch hier eine Rolle in der Pathophysiologie spielen. Epidemiologische Studien zeigen, dass die Prävalenz des Typ 1 Diabetes umgekehrt proportional zur Exposition gegenüber UVB-Strahlung ist. (Mitri & Pittas 2014) Es konnte außerdem gezeigt werden, dass verschiedene VDR-Polymorphismen mit Genen interagieren, die für den juvenilen Diabetes prädisponieren. (Israni et al. 2009)

In einer finnischen Studie entwickelten Kinder, die täglich wenigstens 2000 IU Vitamin D substituiert bekamen, signifikant seltener Diabetes mellitus Typ 1. (Hyppönen et al. 2001)

Auch im Tierversuch an Mäusen konnte die Substitution von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ einem durch Untergang der β -Zellen ausgelösten Diabetes entgegenwirken. (Mathieu et al. 1994)

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass eine Vitamin-D-Substitution bei Kindern die Entwicklung eines Typ 1 Diabetes möglicherweise verhindern kann. Bei bereits manifestem Diabetes scheint eine Substitution allerdings keinen Effekt zu haben. (Mitri & Pittas 2014)

1.2 Die Leber

Die Leber befindet sich im rechten oberen Quadranten des Abdomens dicht unter dem Zwerchfell. Sie ist die größte Drüse des menschlichen Körpers und ihr kommt eine zentrale Rolle im Stoffwechsel zu. (Lüllmann-Rauch 2009) Im Folgenden soll ihr Aufbau und ihre Funktion kurz beleuchtet werden.

1.2.1 Aufbau

Die Leber wird aus zwei verschiedenen Gefäßen mit Blut versorgt. Der größere Anteil des Blutes wird der Leber über die Pfortader zugeführt. Diese führt venöses, nährstoffreiches Blut aus dem Kapillargebiet des Magen-Darm-Traktes. Der kleinere Teil des Blutes ist arterielles Blut aus der Leberarterie. Zusammen dringen sie in der Leberpforte, aus der der ausführende Gallengang austritt, in die Leber ein und teilen sich in kleinere intrahepatische Gefäße auf. Die intrahepatischen Zweige von Pfortader, Leberarterie und Gallengang verlaufen nebeneinander eingebettet in Bindegewebsstraßen, die Fortführungen der die Leber umschließenden Glisson-Kapsel sind, in die Peripherie der Leber. Diesen Komplex nennt man Glisson-Trias. Glisson-Trias und das ihn umgebende Bindegewebe bilden zusammen im histologischen Präparat das Periportalfeld (Lüllmann-Rauch 2009)

Die histologische Grundeinheit, aus der die Leber aufgebaut ist, ist das Leberläppchen. Hierbei handelt es sich um sechseckige Säulen an deren Rand eingebettet in Bindegewebsstraßen die Gefäße des Glisson-Trias verlaufen. In der Mitte des Leberläppchens befindet sich die Zentralvene. Die im Glisson-Feld befindlichen Zweige der

Pfortader und Leberarterie sind mit der Zentralvene durch großlumige Kapillaren, die sogenannten Sinusoide, verbunden.

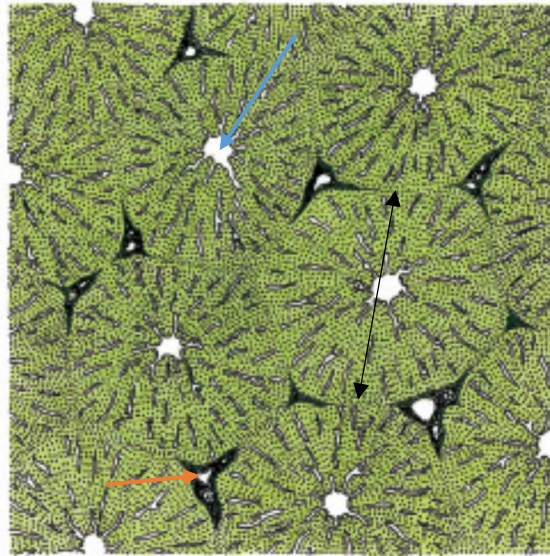


Abbildung 4. Histologische Architektur der Leber. Der schwarze Pfeil zeigt die Grenzen eines Leberläppchens an, der orangene Pfeil deutet auf ein Periportalfeld, der blaue Pfeil auf die Zentralvene. (modifizierte Abbildung aus Ulfig 2005)

Diese Sinusoide besitzen ein fenestriertes Endothel und führen durch den Zusammenfluss von venösem Pfortaderblut und arteriellem Leberarterienblut Mischblut. Durch die großen Poren des Sinusoidendothels können alle nicht-zellulären Bestandteile des Blutes hindurchtreten. Hinter der Endothelwand der Sinusoide befindet sich der Dissé-Raum, in den die Mikrovilli der Hepatozyten hineinragen. Hier findet der Stoffaustausch zwischen Hepatozyt und sinusoidalem Blut statt. Neben den Endothelzellen befinden sich in der Sinusoidwand außerdem die leberspezifischen Makrophagen, die sogenannten Kupffer-Zellen, welche Fremdpartikel, Bakterien und geschädigte Blutzellen phagozytieren sowie die im Dissé-Raum liegenden Ito-Zellen. Diese Ito-Zellen speichern Vitamin A in Lipidtropfen und produzieren zudem Bindegewebsfasern. Sie spielen eine Rolle bei der Fibrosierung der Leber im Rahmen der Leberzirrhose. Auf der den Sinusoiden abgewandten Seite der Hepatozyten befinden sich die Gallenkanälchen. Ihre Gefäßwand besteht aus den mit Tight junctions verbundenen Plasmamembranen der Hepatozyten. In den Gallenkanälchen fließt die Galle Richtung des sich im Glisson-Feld befindlichen Gallenkanals, also der Flussrichtung des Blutes entgegengesetzt. (Lüllmann-Rauch 2009)

Aus den Sinusoiden fließt das Blut schließlich in die Zentralvene, welche über die drei großen Äste der Lebervene Anschluss an die untere Hohlvene und damit den systemischen Kreislauf hat. (Lüllmann-Rauch 2009)

1.2.2 Funktion

Die Leber übernimmt als zentrales Stoffwechselorgan eine Vielzahl von Funktionen ohne die das Leben nicht möglich ist. Landläufig bekannt ist die entgiftende Funktion der Leber. Hierfür bedient sich die Leber der Biotransformation, bei der Stoffe molekular verändert werden und damit besser ausscheidbar sind. Die Biotransformation lässt sich in zwei Phasen unterteilen. Durch Reduktion oder Oxidation und Einfügen eines Sauerstoffatoms durch Cytochrom-P-450-Enzyme wird die Substanz im ersten Schritt polarer gemacht. In Phase zwei erfolgt dann die Konjugation der Substanz mit hydrophilen Stoffen, wodurch stark hydrophile Moleküle entstehen, die einfach über die Galle oder den Urin ausgeschieden werden können. Am häufigsten erfolgt die Konjugation mit Glucuronsäure (bspw. im Falle des aus dem Hämoglobinabbau stammenden Bilirubins) und mit Sulfat (wie bei Steroiden, Katecholaminen und exogenen Stoffen). (Klinke et al. 2010)

Das im Aminosäurestoffwechsel anfallende neurotoxische Ammonium wandelt die Leber im Harnstoffzyklus zu Harnstoff um, welcher über den Urin ausgeschieden wird. (Lüllmann-Rauch 2009)

Als exokrine Drüse produziert die Leber Galle. Gallensalze dienen als Detergentien, sie bilden im Darmlumen mit den Lipiden Mizellen und fördern so wie Aufnahme von lipophilen Stoffen aus der Nahrung. Ein Großteil der Gallensalze wird selbst im terminalen Ileum reabsorbiert, sie unterliegen so dem sog. enterohepatischen Kreislauf. Die Galle ist außerdem ein Werkzeug zur Regulierung des Cholesterinhaushaltes. Von der Leber durch Synthese oder Aufnahme aus Chylomikronenresten und LDL-Lipoproteinen gewonnenes Cholesterin kann über die Galle ausgeschieden werden oder durch VLDL-Lipoproteine ins Blut abgegeben werden. (Klinke et al. 2010)

Die Leber ist außerdem ein wichtiges metabolisches Organ. Sie produziert eine Vielzahl wichtiger Proteine, die Bestandteil des Blutes sind. Zu diesen gehören unter anderem Albumin, Gerinnungsfaktoren, verschiedene Trägerproteine wie bspw. das DBP, das Prohormon Angiotensinogen sowie Apolipoproteine. Die Leber dient als Speicher wichtiger Stoffe, bspw. speichert sie an Ferritin gebundenes Eisen. Des Weiteren dient sie als Glykogenspeicher und sorgt für eine Stabilisierung des Blutzuckerspiegels. Bei hohem

Blutzucker- und Insulinspiegel wird Glukose zu Glykogen verstoffwechselt und gespeichert, in der Zeit zwischen den Mahlzeiten mit niedrigeren Glukose- und Insulinspiegeln stellt sie durch Glykogenolyse, Gluconeogenese und Abgabe von Glukose ins Blut über den insulinunabhängigen Glukosetransporter (GLUT) 2 die Versorgung der Gewebe, insbesondere der Nervenzellen und Erythrozyten, sicher. (Klinke et al. 2010)

Zusätzlich zu ihrer Funktion als Stoffwechsel- und Verdauungsorgan spielt die Leber auch eine große Rolle in der Immunabwehr. Neben den Leberparenchymzellen besteht die Leber zu zirka 20% aus Nicht-Parenchymzellen, hierzu zählen vor allem antigenpräsentierende Zellen wie die Kupffer-Zellen, die dendritischen Zellen und die Endothelzellen der Lebersinusoiden. (Xing et al. 2016) Über das aus dem Verdauungstrakt kommende Portalvenenblut gelangt eine Vielzahl von Antigenen, Zelltrümmern und Mikroorganismen in die Leber. Aufgrund der Architektur der Leber (der Durchmesser der Sinusoide ist kaum größer als ein Lymphozyt, zusammengenommen ergeben die Sinusoide aber einen sehr großen Gefäßquerschnitt wodurch der Druck niedrig und die Fließgeschwindigkeit des Blutes langsam ist) kommen sämtliche Bestandteile des Portalvenenblutes in Kontakt mit Zellen, die immunologische Funktionen haben. Mikroorganismen und Trümmerteile werden von den Kupffer-Zellen phagozytiert und Antigene, wie das Lipopolysaccharid (LPS) Endotoxin, werden über Rezeptoren wie den TLR von antigenpräsentierenden Zellen gebunden. (Knolle & Wohlleber 2016; Racanelli & Rehermann 2006) Hierdurch kann eine Aktivierung der erworbenen Immunantwort erfolgen, bspw. über eine IL-6-Sekretion durch die sinusoidalen Endothelzellen, wodurch die Hepatozyten zur Ausschüttung des akuten Phase-Proteins CRP stimuliert werden oder über Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-12. Dadurch aktivierte T-Zellen induzieren wiederum durch Sekretion von TNF- α und IFN- γ eine Immunantwort. Da die Kupffer-Zellen und Endothelzellen der Lebersinusoiden allerdings konstant mit „physiologischen“ Konzentrationen von LPS und anderen Antigenen in Berührung kommen, führen niedrige Antigenkonzentrationen zur Ausschüttung von IL-10, welches die Differenzierung von T-Zellen und die Migration von dendritischen Zellen in die sekundären Lymphknoten hemmt, also antiinflammatorisch wirkt. Hierdurch soll eine überschießende Immunreaktion verhindert werden. (Racanelli & Rehermann 2006)

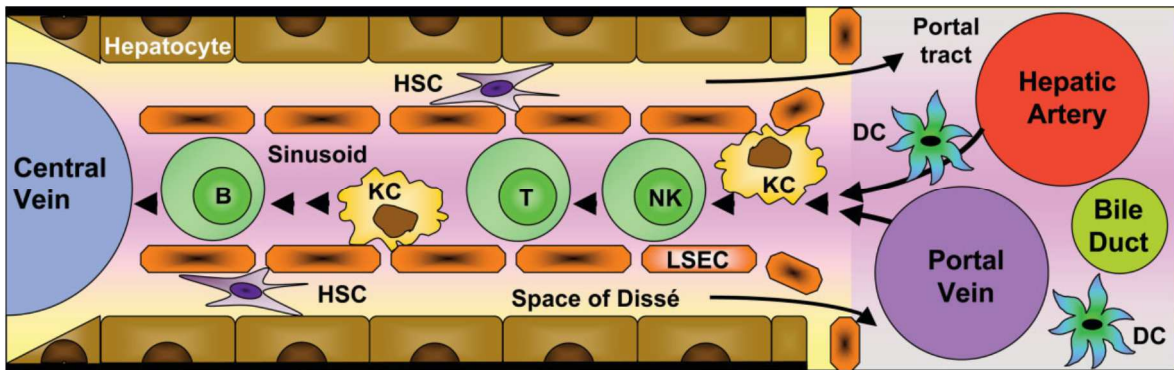


Abbildung 5. Diese Abbildung zeigt die verschiedenen Immunzellen in einem Lebersinusoid. Anschaulich dargestellt ist auch der Dissé-Raum zwischen fenestriertem Endothel und Hepatozyten. Durch die räumliche Enge ist die Antigenerkennung und -präsentation erleichtert. Gebraucht werden hier englische Abkürzungen für die jeweiligen Zellen. DC = dendritische Zelle, HSC = Ito-Zelle, KC = Kupffer-Zelle, LSEC = Endothelzelle der Lebersinusoid. (Abbildung aus Racanelli & Rehmann 2006)

1.3 Leberzirrhose

1.3.1 Ätiologie und Morphologie

Bei der Leberzirrhose handelt es sich um die gemeinsame Endstrecke von chronischen Schädigungen des Leberparenchyms aufgrund vielfältiger Ursachen. Zu diesen zählen die nutritiv-toxischen Einflüsse im Sinne einer alkoholischen Steatohepatitis (ASH) bzw. nichtalkoholischen Steatohepatitis (NASH) sowie die Virushepatitiden B, C und D, welche

Tabelle 1. Häufigste Ursachen für eine Leberzirrhose in einem deutschen Behandlungszentrum. Mehrfachnennungen waren möglich. (modifiziert nach Sivanathan et al. 2014)

Ätiologie	%
Alkohol	52
HCV	28
HBV	14
NASH	6

zusammen für das Gros der Leberzirrhosen ursächlich sind (Classen et al. 2009a), weiters Autoimmunkrankheiten wie die Autoimmunhepatitis, die primär biliäre Zirrhose und die

primär sklerosierende Cholangitis, die Speicherkrankheiten Hämochromatose und Morbus Wilson, der Alpha-1-Antitrypsinmangel sowie eine chronische Stauungsleber bei chronischer Rechtsherzinsuffizienz oder einem Verschluss der Lebervenen (Budd-Chiari-Syndrom). (Herold 2014a) Leberzirrhosen, bei denen die zugrunde liegende Erkrankung nicht eindeutig festgestellt werden kann, heißen kryptogene Leberzirrhosen. Aufgrund der sich verbessernden Diagnostik sinkt ihr Anteil an der Gesamtheit der Zirrhosen stetig, wohingegen die Bedeutung der NASH in letzter Zeit zunimmt. (Classen et al. 2009a) Die Prävalenz der Leberzirrhose wird in Europa zwischen 200-300 pro 100.000 Einwohner geschätzt, wobei Männer deutlich häufiger betroffen sind als Frauen. (Classen et al. 2009a) Mit einer Mortalität von 8.9 pro 100.000 Einwohner pro Jahr gehört sie zu den zwanzig häufigsten Todesursachen in Deutschland. (Wiegand & Berg 2013)

Die Regenerationsfähigkeit der Hepatozyten ist im Vergleich zu anderen Geweben sehr gut, allerdings führen dauerhaft fortlaufende Schädigungen zu einer fehlgeleiteten Reparatur. (Lüllmann-Rauch 2009)

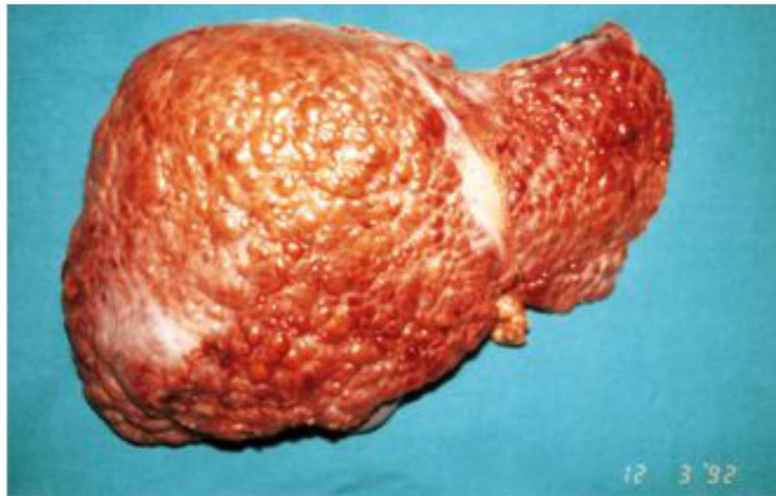


Abbildung 6. Makroskopisches Bild der Leberzirrhose mit großen und kleinen Regeneratknoten. (Abbildung aus Classen et al. 2009b)

Durch ausgeschüttete Zytokine und nekrotisches Material kommt es zu einer Aktivierung der Kupfer-Zellen und Rekrutierung von Entzündungszellen, wodurch es wiederum zur Ausschüttung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren kommt, infolge dessen die Ito-Zellen eine Umwandlung zu Myofibroblasten durchlaufen und anschließend vermehrt extrazelluläre Matrixproteine produzieren, die im Dissé-Raum akkumulieren und so den Strömungswiderstand in den Sinusoiden erhöhen sowie den Stoffaustausch erschweren.

(Silbernagl & Lang 2009) Diese Veränderungen sind in fortgeschrittenem Stadium als bindegewebige Septen zwischen den Portalfeldern sichtbar.

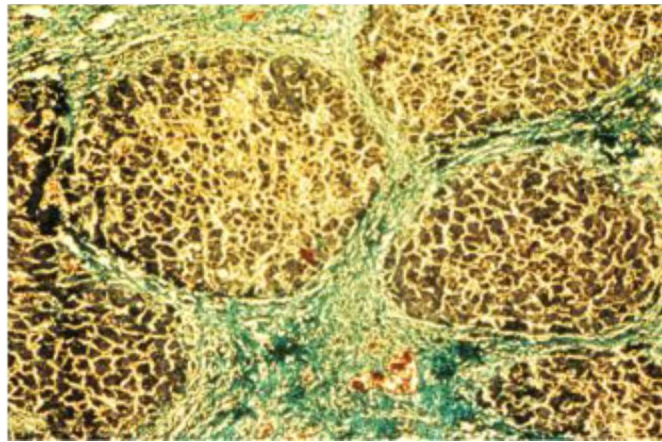


Abbildung 7. Mikroskopisches Bild mit breiten Bindegewebssepten. (Abbildung aus Classen et al. 2009b)

Zusätzlich zu diesen Veränderungen sind außerdem aus proliferierten Hepatozytenverbänden bestehende Regeneratknoten typisch für eine Zirrhose. Auf Basis dieser Regeneratknoten unterteilt man die Leberzirrhose morphologisch in eine mikronoduläre (bei Knotendurchmessern bis 3 mm), makronoduläre (Durchmesser 3 mm - 3 cm) bzw. eine gemischtknotige Form; genaue Aussagen zur Ätiologie der Zirrhose lassen sich anhand der Morphologie allerdings nicht machen. (Herold 2014a)

1.3.2 Symptome

Die Leberzirrhose verläuft meist über lange Zeit klinisch stumm, häufig treten in der kompensierten Phase lediglich unspezifische Allgemeinsymptome wie Müdigkeit und allgemeine Leistungsminderung auf. Später können sich sogenannte Leberhautzeichen ausprägen. Zu diesen gehören Spidernaevi, spinnenbeinähnliche Teleangiectasien, die vor allem am Oberkörper und im Gesicht vorkommen. (Herold 2014a) Auch das Palmar- bzw. Plantarerythem sowie die Dupuytren-Kontraktur, eine Beugekontraktur des vierten und fünften Fingers aufgrund von Verhärtung und Schrumpfung der Palmaraponeurose, werden häufig als durch die Zirrhose bedingte Hautveränderungen genannt. (Classen et al. 2009b) Oft kommt es bei Männern als Folge von hormonellen Störungen zum Verlust der Sekundärbehaarung und gegebenenfalls zur Gynäkomastie. (Herold 2014a)

Da die Symptomatik im kompensierten Stadium so unspezifisch ist, wird die Leberzirrhose in vielen Fällen erst beim Auftreten von Dekompensationszeichen diagnostiziert. Unter dem fortschreitendem Niedergang der Hepatozyten leidet die Funktionsfähigkeit der Leber. Eine gestörte Synthesefunktion führt vor allem zu einer nicht mehr ausreichenden Bereitstellung von Gerinnungsfaktoren, ein erhöhter INR-Wert ist der sensitivste Marker für eine Synthesestörung der Leber, außerdem kann im Verlauf auch die Serum-Albuminkonzentration sinken. (Classen et al. 2009c; Herold 2014b) Durch die geringere Konzentration von Gerinnungsfaktoren liegt bei der dekompensierten Leberzirrhose eine starke Blutungsneigung vor, welche verstärkt werden kann durch eine Thrombozytopenie; diese tritt bei Leberzirrhose gehäuft auf, da bei portalem Hypertonus eine Splenomegalie (Vergrößerung der Milz) mit Hypersplenismus (pathologisch erhöhte Milzfunktion) auftreten kann. Stark erhöhte Bilirubinspiegel führen zur typischen Gelbfärbung von Skleren und Haut, dem (in diesem Fall intrahepatischen) Ikterus und zeigen eine gestörte Ausscheidungsfunktion an. (Classen et al. 2009b)

Durch den bindegewebigen Umbau der Leberstruktur kommt es zu einer Verringerung des Gefäßquerschnitts und dadurch zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstands. Somit kommt es zu einer portalen Hypertension. In der Folge bilden sich Kollateralkreisläufe aus. Durch das in den Kollateralvenen erhöhte Durchflussvolumen kommt es zur Bildung von Varizen, bspw. in Form des Caput medusae der Nabelregion oder als Ösophagusvarizen, deren Ruptur mit einhergehender massiver Ösophagusvarizenblutung eine gefürchtete Komplikation darstellt, mit einer vom Child-Stadium abhängigen hohen Letalität von 10-50%. (Herold 2014c)

Durch den erhöhten Druck im portalen System kommt es zum Abpressen von Flüssigkeit in die Bauchhöhle, diese Flüssigkeit wird Aszites genannt. Große Mengen Aszites können zu einer deutlichen Zunahme des Bauchumfangs führen und durch den erhöhten intraabdominellen Druck durch Zwerchfellhochstand zu Dyspnoe führen. Bedeutende Komplikation bei Aszites ist die spontane bakterielle Peritonitis, die wie die Ösophagusvarizenblutung eine hohe Letalität hat. (Herold 2014d) Durch die Bildung von portosystemischen Shunts in Form der Kollateralvenen und der erniedrigten Entgiftungsfähigkeit der Leber kann es zur hepatischen Enzephalopathie kommen, welche durch erhöhte Ammoniakspiegel verursacht wird. Dies kann von Verwirrtheit bis zum Koma führen. Eine nicht anders erklärbare akute Verschlechterung der Nierenfunktion bei Leberzirrhose mit Aszites nennt man hepatorenales Syndrom. Provozierende Faktoren sind unter anderem eine aggressive Diuretikatherapie, großvolumige Parazentese ohne

entsprechende Albuminsubstitution oder eine spontan bakterielle Peritonitis. (Classen et al. 2009c)

Abschließend ist außerdem zu sagen, dass eine Leberzirrhose auch immer Präkanzerose des hepatozellulären Karzinoms (HCC) ist, wobei die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines HCCs je nach zugrundeliegender Erkrankungen variiert. Bspw. beträgt bei der durch eine Autoimmunhepatitis bedingten Zirrhose das Risiko ein HCC zu entwickeln 2.9% in 10 Jahren, bei Hepatitis B 19.8% in 13 Jahren. (Wiegand & Berg 2013)

1.3.3 Diagnostik

Der Goldstandard zur Diagnosestellung der Leberzirrhose ist die Leberbiopsie. Da diese invasive Diagnostik mit nicht unerheblichen Nebenwirkungen verbunden sein kann, wird bei eindeutiger Diagnosestellung allerdings meist auf eine Probenentnahme verzichtet. (Wiegand & Berg 2013) Dies ist dann der Fall, wenn bspw. Dekompensationszeichen schon stark ausgeprägt sind.

Ansonsten baut die Diagnostik auf Anamnese (z.B. Alkoholkonsum, i.v.-Drogenabusus, Medikamenteneinnahme) und körperlicher Untersuchung auf. (Wiegand & Berg 2013) Palpatorisch kann die Leber vergrößert, verkleinert oder verhärtet sein und eine höckrige Oberfläche aufweisen. Ebenfalls kann eine Splenomegalie tastbar sein. (Herold 2014b)

Tabelle 2. Typische Laborbefunde bei Leberzirrhose.

Laborparameter	Interpretation
↑ Transaminasen (ALT, AST)	Leberzellschädigung
↑ GGT, AP, Bilirubin	Cholestase
↓ Albumin, ↑ INR	Verminderte Syntheseleistung

Zusätzlich zu den oben aufgeführten typischen Veränderungen in den routinemäßig abgenommenen Laborparametern sollten eine Hepatitis-Serologie, Autoantikörperdiagnostik sowie Elektrophorese zur Einschränkung der Differenzialdiagnosen erfolgen. (Classen et al. 2009b) Erhöhte Ammoniakspiegel können bei hepatischer Enzephalopathie messbar sein.

Mittels Serumuntersuchung können einige sogenannte Fibrosemarker bestimmt werden, die in Studien unter bestimmten Voraussetzungen eine ähnliche Sensitivität und Spezifität zur Beurteilung einer Leberzirrhose besaßen wie die pathologische Beurteilung von durch Biopsien gewonnenen Probenmaterials. (Rosenberg et al. 2004) Zu diesen Markern gehört unter anderem die Hyaluronsäure (HA). Die Leber ist das wichtigste Organ in der Synthese und dem Abbau dieser und eine Schädigung der Leberzellen kann mit einer Erhöhung der Serumwerte einhergehen. (Rostami & Parsian 2013) Allerdings sind diese kein spezifischer Marker für das Vorliegen einer Leberzirrhose, andere Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis, Psoriasis oder auch verschiedene Krebsarten können ebenfalls zu einem Anstieg der Hyaluronsäure im Serum führen. (Rostami & Parsian 2013) Aus den Hyaluronsäurewerten kann zusammen mit den Serumwerten des Aminoterminalen Propeptids von Prokollagen des Typs III (PIIINP) und TIMP Inhibitor der Metalloproteinase 1 (TIMP-1), welche am Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix beteiligt sind oder dabei anfallen, der Enhanced Liver Fibrosis (ELF)-Score berechnet werden. (Lichtinghagen et al. 2013) Dieser Score teilt die Leberzirrhose in eine leichte, eine moderate und eine schwere Fibrose ein. Durch Verwendung dieser Marker kann in bestimmten Fällen eine Leberbiopsie vermieden werden, außerdem kann ein eventuelles Fortschreiten der Zirrhose beurteilt werden. (Imbert-Bismut et al. 2001; Rostami & Parsian 2013)

Tabelle 3. Interpretation des ELF-Scores. (modifiziert nach Fagan et al. 2015; Lichtinghagen et al. 2013)

ELF-Score	
< 7,7	Keine oder milde Fibrose
≥ 7,7 bis < 9,8	Moderate Fibrose
≥ 9,8 bis < 11,3	Schwere Fibrose bis Zirrhose
≥ 11,3	Sichere Abgrenzung der Leberzirrhose

Großer Bedeutung in der Abklärung der Leberzirrhose kommt den bildgebenden Verfahren, im Speziellen der Ultraschalluntersuchung, zu. Typische sonographische Befunde sind ein inhomogenes Leberparenchym mit Regeneratknoten, eine unregelmäßige Leberoberfläche, rarefizierte Lebervenen, ein abgerundeter Leberrand und eine Hypertrophie des Lobus caudatus. (Herold 2014e) Zeichen der portalen Hypertonie sind eine erweiterte Pfortader (Durchmesser >13 mm), eine Verringerung der Flussgeschwindigkeit in der Pfortader (<12

cm/s) und Aszites. (Classen et al. 2009b) Als spezielles sonographisches Verfahren findet die Elastografie Anwendung. Hier wird die Fortpflanzungsgeschwindigkeit einer elastischen Verformung in der Leber gemessen, welche als Maß der Lebersteifigkeit mit dem Fibrosegrad korreliert. (Herold 2014e)

1.3.4 Therapie

Die Leberzirrhose wird therapiert durch Allgemeinmaßnahmen und, wenn möglich, einer Behandlung der Grunderkrankung. Allgemein ist eine Alkoholkarenz sowie der Verzicht auf lebertoxische Medikamente geboten, bei Alkoholismus erfolgt eine Substitution von Folsäure und Vitamin B₁, bei hepatischer Enzephalopathie sollten abführende Maßnahmen bspw. mit Laktulose eingeleitet werden um die Aufnahme von durch Darmbakterien produziertes Ammoniak zu verringern. (Herold 2014f)

Ein Fortschreiten der Zirrhose kann bei der Autoimmunhepatitis durch Immunsuppression, bei Hämochromatose durch Aderlässe oder Chelator-Therapie, bei Morbus Wilson durch Kupferentfernung mittels D-Penicillamin und bei chronischen Virushepatitiden durch eine antivirale Therapie verhindert werden, teilweise gelingt sogar die Elimination der Viren. (Herold 2014b)

Beim Auftreten von Komplikationen können diese symptomatisch behandelt werden. Aszites kann je nach Schweregrad durch Flüssigkeits- und Natriumrestriktion, Gabe von Aldosteronantagonisten und Schleifendiuretika sowie Parazentese mit Albuminsubstitution behandelt werden. (Herold 2014g) Die spontane bakterielle Peritonitis wird antibiotisch behandelt, beim Auftreten von Rezidiven ist eine Sekundärprophylaxe zu erwägen. Das Mittel der Wahl zur Primärprophylaxe von Ösophagusvarizenblutungen sind nichtselektive Betablocker, wie bspw. Carvedilol, zur Sekundärprophylaxe nach stattgefundener Blutung kommt die endoskopische Ligatur der Varizen zum Einsatz. (Herold 2014g) Sollten die Auswirkungen der portalen Hypertension nicht beherrschbar sein, wie bspw. in Form von schwerem therapierefraktärem Aszites oder nicht stillbaren Ösophagusvarizenblutungen, kann ein sogenannter transjugularer intrahepatischer portosystemischer Shunt (TIPS) eingesetzt werden. (Classen et al. 2009c) Hierdurch sinkt der Druck in der Pfortader, allerdings wird bei diesem Shunt die Leber umgangen, wodurch sie ihrer entgiftenden Funktion schlechter nachkommen kann, was die Entstehung einer hepatischen

Encephalopathie begünstigt. Die Ultima Ratio in der Behandlung der Leberzirrhose stellt die Lebertransplantation dar, die aber aufgrund der eingeschränkten Verfügbarkeit von Spenderorganen einigen Bedingungen unterliegt.

1.3.5 Prognose

1.3.5.1 Child-Pugh-Score

Die am häufigsten genutzte Klassifikation zur Einteilung der Leberzirrhose in Schweregrade ist die Child-Pugh-Score. Anders als der ELF-Score, der Ausdruck der Schwere der morphologischen Veränderungen der Leber ist, basiert der Child-Pugh-Score auf Parametern, die Indikatoren der Leberfunktion sind und klinischen Befunden, die eine Dekompensation der Zirrhose anzeigen. Die genaue Berechnung des Scores sowie die Prognose bezüglich Mortalität der einzelnen Schweregrade sind in Tabelle 4 und 5 dargestellt.

Tabelle 4. Berechnung des Child-Pugh-Scores. (modifiziert nach Herold 2014e)

Punkte	1	2	3
Bilirubin (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albumin (g/dl)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
PZ (INR)	<1.7	1.7-2.3	>2.3
Aszites	keine	+, leicht kontrollierbar	++, schlecht kontrollierbar
Hepatische Encephalopathie	keine	I°-II°	III°-IV°

Tabelle 5. Prognose anhand der Child-Pugh-Klassifikation. (modifiziert nach Herold 2014b)

Klasse	Punktezahl	1-Jahres-Überlebensrate
A	5-6	Fast 100%
B	7-9	85%
C	10-15	35%

1.3.5.2 Model of End Stage Liver Disease (MELD)

Um genauere Aussagen über die Prognose machen zu können und somit die Anzahl der PatientInnen zu senken, die während der Wartezeit auf ein Lebertransplantat versterben, entwickelten Wissenschaftler der Mayo Clinic das Model for End-Stage Liver Disease (MELD). Aus den Parametern INR, Serum-Kreatinin und Serum-Bilirubin wird ein Wert ermittelt, der zwischen 6 und 40 liegt. Die genaue mathematische Formel zur Berechnung lautet:

$$9,57 * \log(\text{Kreatinin}) + 3,78 * \log(\text{Bilirubin}) + 11,2 * \log(\text{INR}) + 6,43. \text{ (Kamath \& Kim 2007)}$$

Der niedrigste Wert für alle drei Parameter ist mit 1 festgelegt und das Serum-Kreatinin darf nicht größer als 4 mg/dl sein.

Das MELD erlaubt eine feinere Unterteilung der PatientInnen und damit eine genauere Aussage über die Mortalität um der/dem „kränkesten“ Patientin/Patienten schneller ein Transplantat zukommen zu lassen. Zur Berechnung werden außerdem nur objektive Parameter herangezogen, wohingegen bei Child-Pugh mit Aszites und hepatischer Enzephalopathie ebenfalls subjektive Parameter in die Bewertung einfließen. (Kamath & Kim 2007) Da einige Erkrankungen, wie zum Beispiel das hepatozelluläre Karzinom, im MELD nicht abgebildet werden gibt es Standardausnahmen, um auf der Warteliste für ein Transplantat richtig abgebildet zu werden. (Schmidt 2007)

1.4 Vitamin D und Leberzirrhose

Im Vergleich mit der Normalpopulation ist die Prävalenz eines Vitamin-D-Mangels mit bis zu 92% bei PatientInnen mit einer chronischen Lebererkrankung deutlich erhöht. (Arteh et al. 2010) Während man diese erhöhte Prävalenz aufgrund der reduzierten intestinalen Aufnahme früher nur bei cholestatischen Lebererkrankungen, speziell der primär biliären Zirrhose, annahm, wurden mittlerweile bei chronisch Leberkranken unabhängig von der Ursache auffällig verringerte 25(OH)D-Spiegel nachgewiesen. (Stokes et al. 2013) Bspw. hatten PatientInnen mit nicht-alkoholischer Steatosis hepatis eine um 26% höhere Wahrscheinlichkeit insuffiziente Vitamin-D-Spiegel aufzuweisen als die gesunde Kontrollgruppe. (Eliades et al. 2013) Dabei scheint der Mangel umso ausgeprägter zu sein je schwerer die Lebererkrankung ist. Putz-Bankuti et al. (Putz-Bankuti et al. 2012) zeigten, dass höhere Child-Pugh-Scores mit niedrigeren 25(OH)D-Spiegeln korrelierten, gleiches galt für den MELD-Score. Diese Assoziation blieb auch unter Berücksichtigung von Alkoholabusus und der damit einhergehenden Malnutrition als Ursache der Leberzirrhose signifikant. Zusätzlich korrelierten in dieser Studie Mortalität und Vitamin-D-Mangel, sodass der 25(OH)D-Status zusammen mit der Child-Pugh-Score und der MELD-Score Prädiktor für das Auftreten von erhöhter Mortalität und hepatischer Dekompensation ist. (Putz-Bankuti et al. 2012) Auch Fisher et al. (Fisher & Fisher 2007) bemerkten, dass Serum-25(OH)D mit Leberfunktionsparametern korreliert. Ein moderater bis schwerer Mangel stand im Zusammenhang mit Koagulopathie, Hyperbilirubinämie, Hypalbuminämie, erhöhter alkaliner Phosphatase, Anämie sowie Thrombozytopenie. Histologisch zeigte sich ebenfalls ein Zusammenhang zwischen dem Vitamin-D-Status und der Schwere der Lebererkrankung. Bei der nicht-alkoholischen Steatohepatitis (NASH) korrelierten niedrigere 25(OH)D-Werte mit zunehmender Schwere der Steatose, Hepatozytenballonierung und Fibrose. Allein Serum-25(OH)D und die Insulinkonzentration waren hier Prädiktoren der NAFLD Activity Score in Biopsien. (Dasarathy et al. 2014)

1.4.1 Einfluss von chronischen Lebererkrankungen auf den Vitamin-D-Status

Fraglich bleibt, ob der Vitamin-D-Mangel durch die Dysfunktion der Leber entsteht oder 25(OH)D eine Rolle in der Entstehung der Leberzirrhose spielt. Es werden verschiedene Gründe für die umgekehrte Proportionalität von Vitamin D und (fortgeschrittener) chronischer Lebererkrankung diskutiert, von denen einige dafür sprechen, dass eine chronische Lebererkrankung zu niedrigen 25(OH)D-Werten führt. So könnte eine generell niedrigere Sonnenlichtexposition chronisch Kranker zu verminderter Vitamin-D-Synthese in der Haut führen, die durch einen Ikterus zusätzlich verstärkt würde. Über die Nahrung aufgenommenes Vitamin D könnte durch den Mangel an Gallensalzen bei cholestatischen Erkrankungen oder dem intestinalen Ödem bei portaler Hypertension schlechter aufgenommen werden. (Stokes et al. 2013) Da bei einer gestörten Synthesefunktion der Leber das Serum-Albumin sinkt und eine Korrelation zwischen sinkenden Albuminwerten und Vitamin-D-Mangel gezeigt werden konnte (Fisher & Fisher 2007), könnte die Beeinträchtigung der Synthesefunktion durch verminderte Produktion von DBP zu einem Vitamin-D-Mangel führen. Da es sich bei den Vitamin D hydroxylierenden Enzymen in der Leber um Cytochrom-P450-Enzyme (bspw. CYP27A1) handelt, könnte eine infolge der Leberzirrhose verringerte Expression dieser zu erniedrigten 25(OH)D-Werten führen. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen niedrigem 25(OH)D und verminderter Expression von CYP27A1 konnte nachgewiesen werden. (Petta et al. 2010) Allerdings ist eine gestörte Hydroxylierung bei Leberzirrhose umstritten, da bspw. Malham et al. (Malham et al. 2012) durch orale single-dose Applikation von 300.000 IU Vitamin D den 25(OH)D-Spiegel bei PatientInnen mit Leberzirrhose ethyltoxischer Genese anheben konnten, was für eine erhaltene Fähigkeit zur Hydroxylierung von Vitamin D spricht. Diese Studie war allerdings nicht Placebo-kontrolliert.

Durch diese genannten Gründe könnten chronische Leberschädigungen zu einem Absinken des Vitamin-D-Spiegels führen. Es liegt nahe, dass die Entstehung eines Mangels multifaktoriell bedingt ist und dass sich Vitamin-D-Mangel und chronische Leberschädigungen wechselseitig beeinflussen.

1.4.2 Begünstigung der Fibrosierung der Leber durch Vitamin-D-Mangel

Ein Vitamin-D-Mangel soll auf verschiedene Arten die Entstehung einer Leberfibrose begünstigen. Einerseits soll er bspw. durch eine Dysfunktion der Pankreas- β -Zellen und einer höheren Prävalenz von Diabetes mellitus indirekt zur Entstehung einer NASH beitragen. (Eliades et al. 2013) In der Therapie der chronischen Hepatitis C hängt ein Therapieerfolg im Sinne einer sustained viral response (SVR) und weniger ausgeprägten Fibrose auch vom Vitamin-D-Status der/des Patientin/Patienten ab. (Iruzubieta et al. 2014; Petta et al. 2010)

Vitamin D werden aber auch direkte antiinflammatorische und antifibrotische Eigenschaften zugeschrieben. Monozyten und Makrophagen besitzen Vitamin-D-Rezeptoren und exprimieren zusätzlich CYP27A1 bzw. CYP27B1 Enzyme, womit sie in der Lage sind Vitamin D zu hydroxilieren. Hierdurch kann durch parakrine Sekretion ein selbstregulatorischer Effekt erzielt werden, bei dem die erworbene Immunantwort gebremst wird. (Iruzubieta et al. 2014; Van Belle et al. 2011) 1,25(OH)₂-D hat einen hemmenden Einfluss auf die Expression des MHC-Klasse-II-Komplexes und steuert die T-Zell-Aktivierung. (Iruzubieta et al. 2014; von Essen et al. 2010) Dabei reduziert es die Zahl von T_{H1}-Zellen, welche mit IL-2 und IFN- γ proinflammatorische Zytokine produzieren und steigert die Zahl von T_{H2}-Zellen, die die antiinflammatorisch wirksamen Zytokine IL-4, IL-5 und IL-10 freisetzen. (Iruzubieta et al. 2014) Hierdurch wird einer überschießenden Entzündungsreaktion entgegengewirkt, die ein Trigger zur Fibrosierung der Leber wäre. Hierzu passt, dass niedrige 25(OH)D-Spiegel bei chronischer Hepatitis C mit verminderter CYP27A1 Expression in Hepatozyten, aber stärkerer Entzündungsaktivität, Nekrose und Fibrose korrelierten. (Petta et al. 2010)

Lipopolysaccharide (LPS) sind Bestandteil der Zellmembran von gramnegativen Bakterien und zählen zu den Endotoxinen. Diese LPS können aus dem Darm durch die Darmwand in das Blut gelangen und an Toll-like Rezeptoren (TLR), vor allem TLR4, binden, welche in Monozyten exprimiert werden. (Eliades & Spyrou 2015) Da das venöse Blut des Darms zuerst in die Leber gelangt und diese als Teil des mononukleär-phagozytären Systems eine große Anzahl an Monozyten und Macrophagen besitzt, kann es hier durch Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen zu einer Entzündungsreaktion mit einhergehendem

Leberschaden kommen. (Iruzubieta et al. 2014) Ein Mangel an Vitamin D könnte diesen Prozess verstärken, da $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ die Expression der TLRs reduziert. (Roth et al. 2012)

Durch die eben genannten Eigenschaften kann Vitamin D durch Abschwächung des intrahepatischen entzündlichen Geschehens Einfluss auf die Entstehung einer Fibrosierung der Leber nehmen. Zusätzlich werden aber noch direkte antifibrotische Wirkungen beschrieben. Im Tiermodell konnte die Gabe von Vitamin D die Entwicklung einer Zirrhose durch Thioacetamid makro- und mikroskopisch vermindern, eine bestehende Zirrhose allerdings nicht verbessern. (Abramovitch et al. 2015) Nachgewiesen werden konnte eine hemmende Wirkung auf die Expression von Platelet-derived growth factor (PDGF), Transforming growth factor beta (TGF- β), TIMP-1 und Kollagen $\text{I}\alpha 1$. Letzteres ist Bestandteil der extrazellulären Matrix. Durch die Hemmung von TIMP-1 erhöht Vitamin D die Aktivität der Matrixmetalloproteinasen (MMP), welche Proteine der extrazellulären Matrix zerlegen und somit einer Fibrosierung entgegenwirken. (Abramovitch et al. 2011) TIMP-1 selbst besitzt zusätzlich antiapoptotische Wirkung auf die Ito-Zellen, während PDGF und TGF- β die Aktivierung und Proliferation von Ito-Zellen begünstigen, was eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Leberzirrhose spielt. (Thompson et al. 2011) Vitamin D wirkt also antiproliferativ auf Ito-Zellen. Die Synthese von Kollagen $\text{I}\alpha 1$ wird von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}$ durch Reduzierung der Promoteraktivität, mRNA-Expression und Proteinexpression gehemmt. (Abramovitch et al. 2015)

1.4.3 Vitamin D und die hepatische Osteodystrophie

Eine wichtige Erscheinung bei der fortgeschrittenen Leberzirrhose ist die Verringerung der Knochendichte (BMD, engl. Bone mineral density), dies wird als hepatische Osteodystrophie bezeichnet. Sie tritt vor allem bei zusätzlichem Vitamin-D-Mangel gehäuft auf, weshalb für PatientInnen mit Leberzirrhose und Osteoporose eine Vitamin-D-Substitution empfohlen wird. (Leslie et al. 2003)

12-50% der LeberzirrotikerInnen weisen eine Osteoporose auf, wobei die Reduktion der Knochenmasse abhängig ist von Ätiologie, Dauer und Schwere der Zirrhose. (Savic et al. 2014) Bei PatientInnen mit ethyltoxischer Leberzirrhose korrelierten höhere Child-Pugh-Scores mit niedrigerem Serum- $25(\text{OH})\text{D}$, höherem CrossLaps und niedrigerem Osteocalcin. CrossLaps ist ein Abbauprodukt des Kollagens und Osteocalcin ist ein von den Osteoblasten

gebildeter Teil der nicht-kollagenen extrazellulären Matrix, beide Parameter werden zur Diagnostik der Osteoporose bzw. des Knochenumbaus bestimmt. (Savic et al. 2014)

Lai et al. (Lai et al. 2015) zeigten, dass eine Zirrhose mit verminderter Synthesefunktion (beurteilt durch pathologisch niedriges Serum-Albumin) zu niedrigerem gesamt und freiem Serum-25(OH)D sowie DBP führt als eine Zirrhose mit suffizienter Syntheseleistung der Leber. Die physiologische negative Korrelation zwischen 25(OH)D und PTH bestand dort zwar bei PatientInnen mit normalem Serum-Albumin, bei Beeinträchtigung der Synthesefunktion bestand diese negative Korrelation allerdings nicht mehr. Dieses paradoxe Verhalten von 25(OH)D und PTH in PatientInnen mit chronischen Lebererkrankungen wurde auch schon in anderen Studien beschrieben. (Fisher & Fisher 2007; Savic et al. 2014; Stokes et al. 2013) Serum-Calcium und -Phosphat blieben bei Lai et al. (Lai et al. 2015) unabhängig von der Dysfunktion unverändert. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Savic et al. (Savic et al. 2014) war Osteocalcin bei allen PatientInnen mit Zirrhose erhöht, gleiches gilt für die knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) und Typ 1 N-terminales Prokollagenpeptid (P1NP). Die Autoren (Lai et al. 2015) schlossen deshalb darauf, dass bei chronischen Lebererkrankungen trotz normaler PTH-Werte ein hoher Knochenumsatz vorliegt. Aufgrund ihrer Ergebnisse stellten sie außerdem infrage, ob das gesamt-Serum-25(OH)D bei Leberzirrhose mit Synthesedysfunktion zur Beurteilung des Vitamin-D-Status‘ geeignet sei.

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Bei unserer klinischen Studie handelt es sich um eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie im Parallelgruppendesign, die an der Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des Universitätsklinikums für Innere Medizin in Graz und am LKH Hörgas-Enzenbach durchgeführt wurde. Hier erfolgte auch die Rekrutierung der PatientInnen.

Zur Fallzahlberechnung (www.quantitativeskills.com/sisa/calculations/samsize.htm) wurden publizierte Daten zum Vitamin-D-Spiegel bei LeberzirrhotikerInnen herangezogen. (Putz-Bankuti et al. 2012) Bei einem angenommenen Serum-25(OH)D von 15 ± 10 ng/ml zu Studienbeginn und einem in der Interventionsgruppe bei Therapieende zu beobachtenden Serum-25OH(D) von 30 ± 20 ng/ml mit α von 5% und einer Power von 95% wurden 26 PatientInnen pro Gruppe berechnet. Um eventuelle Drop-outs zu kompensieren war es vorgesehen 30 PatientInnen pro Gruppe einzuschliessen.

Laut einer Faustregel führt eine tägliche Substitution von 100 IU Vitamin D₃ zu einer Erhöhung des 25(OH)D-Spiegels um 1 ng/ml. (Heaney 2008) Da nach Putz-Bankuti et al. (Putz-Bankuti et al. 2012) bei LeberzirrhotikerInnen von einem Minimalwert von 5 ng/ml 25(OH)D auszugehen ist und wir durch die Substitution optimale Werte von > 32 ng/ml (Heaney 2008) erreichen wollen, wählten wir eine Interventionsdosis von 2800 IU Vitamin D₃ pro Tag. Eine Vitamin-D-Intoxikation, die sich hauptsächlich durch Zeichen der Hyperkalzämie ausdrückt, ist erst ab Serumwerten > 150 ng/ml zu erwarten. (Holick 2007) Nach momentaner Studienlage gilt eine tägliche Einnahme von 10.000 IU Vitamin D₃ als sicher. (Heaney 2008)

Nach durchgeführter Randomisierung mittels eines webbasierten Programms (<http://www.randomizer.at>) wurde die Studienmedikation, bestehend aus 2800 IU Vitamin D₃ in Form von Oleovit Vitamin D₃ Tropfen (produziert von Fresenius Kabi Austria, Graz, Österreich) und einem Placeboöl aus mittelkettigen Triglyzeriden (MCT), entsprechend in nummerierte Fläschchen gefüllt. Um gleichgroße Interventions- und Kontrollgruppen zu erhalten erfolgte eine Blockrandomisierung ohne weitere Stratifizierung. Anschließend wurden über 8 Wochen täglich 2800 IU Vitamin D₃ bzw. Placeboöl gegeben. Nach diesem Interventionszeitraum von 8 Wochen erfolgte eine zweite Studienvisite mit Datenerhebung

und Rückgabe der Studienmedikation. Nach weiteren vier Wochen ohne Intervention erfolgte die Follow-up-Visite mit erneuter Datenerhebung.

Die Intervention erfolgte in Monaten mit geringer UVB-Intensität um den Einfluss der Sonnenlichtexposition auf den 25(OH)D-Spiegel möglichst gering zu halten.

Die PatientInnen und sämtliche MitarbeiterInnen, die die Untersuchungen durchführten oder Studienmedikation zuteilten, wussten bis zum Ende der Follow-up-Zeit nicht, welche/r PatientIn welche Studienmedikation bekam.

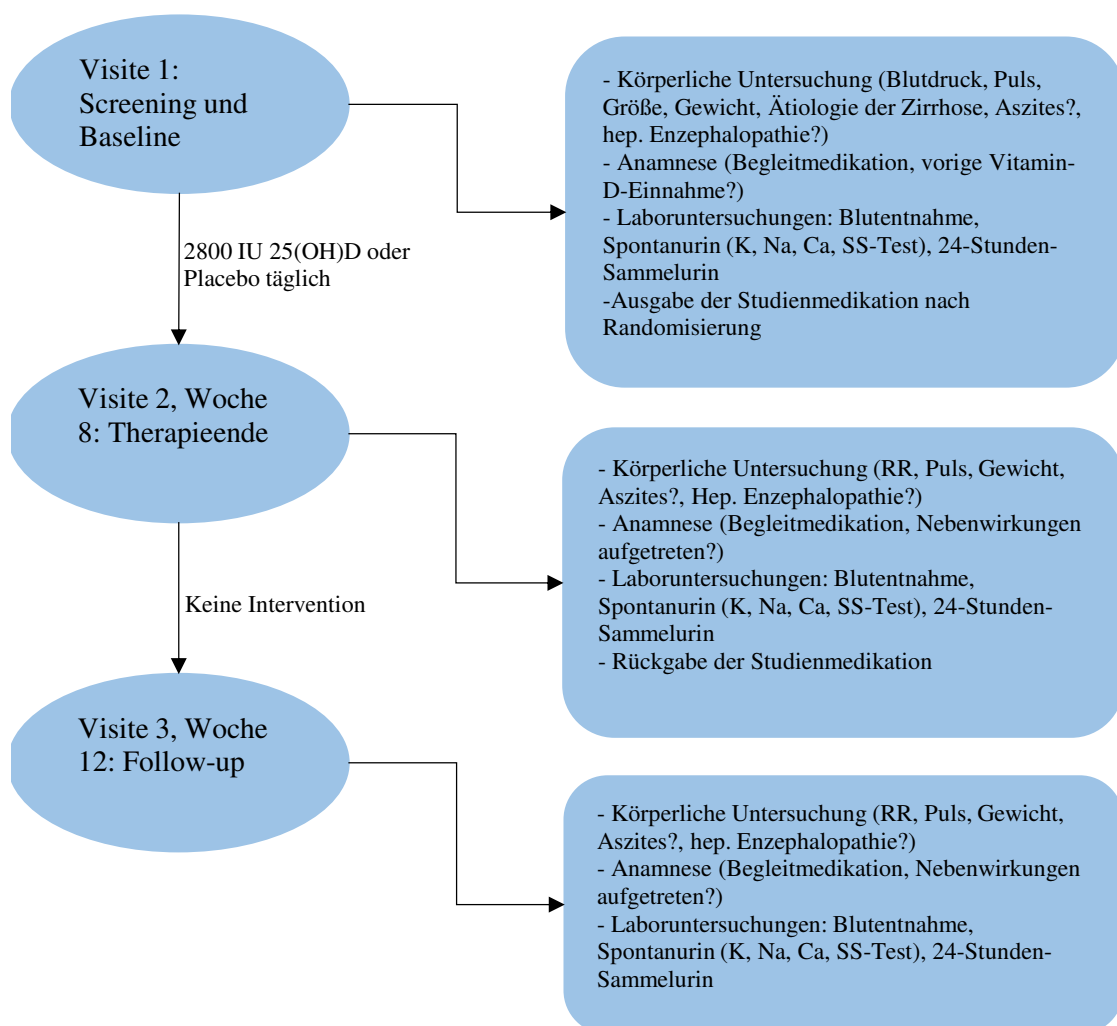


Abbildung 8. Studienablauf und durchgeführte Untersuchungen.

2.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien

2.2.1 Einschlusskriterien

- Histologisch oder klinisch (durch typische sonographische Befunde sowie biochemische Veränderungen beurteilt) diagnostizierte Leberzirrhose
- Serum-25(OH)D < 30 ng/ml
- Alter zwischen 18 und 85 Jahren
- Unterschriebene Einverständniserklärung

2.2.2 Ausschlusskriterien

- Hyperkalzämie > 2,65 mmol/l
- Schwangerschaft und stillende Frauen
- Medikamenteneinnahme im Rahmen einer anderen klinischen Studie
- GFR < 15 ml/min/1.73m²
- Schwere Erkrankung mit einer voraussichtlichen Lebenserwartung von unter einem Jahr
- Vorliegen einer klinisch signifikanten, akuten, medikamentös behandlungsbedürftigen Erkrankung
- Regelmäßige Einnahme von mehr als 800 IU täglich bis 4 Wochen vor Studienbeginn
- Allergien auf die Studienmedikation

2.3 Zielgrößen

2.3.1 Primäre Zielgröße

Als primäre Zielgröße wurde der 25(OH)D-Serumspiegel festgelegt.

2.3.2 Sekundäre Zielgrößen

Als sekundäre Zielgrößen dienen Leberfunktionsparameter (im Detail: Aspartat-Aminotransferase, Alanin-Aminotransferase, Gammaglutamyltransferase, Alkalische Phosphatase, Cholinesterase, Albumin, INR und Bilirubin), die ELF-Score als Fibrosemarker sowie Parameter des Calciumhaushalts und Knochenumbaus (PTH_i, gesamt Serum-Calcium, freies Calcium im Serum, Calcium im Harn sowie Serum-Phosphat).

2.4 Labormessungen

Das Serum-25(OH)D wurde durch ein Chemiluminescence Assay (IDS-iSYS 25-Hydroxyvitamin D Assay; Immunodiagnostic Systems Ltd., Boldon, Vereinigtes Königreich) mit einem IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System bestimmt. Serum-PTH_i wurde durch ein Electrochemiluminescence Assay mit einem Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt.

Die restlichen betrachteten Parameter, die aus Blut oder Harn gewonnen wurden, wurden mit herkömmlichen Routinelabormethoden bestimmt. Vor jeder Blutentnahme blieben die PatientInnen wenigstens 12 Stunden nüchtern.

2.5 Statistik

Die gemessenen Werte wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov-Testes bzw. anhand deskriptiver Statistiken auf Normalverteilung getestet. Nicht normalverteilte Parameter wurden für die statistische Auswertung logarithmiert (\log_{10}). Zur statistischen Auswertung der Veränderungen der Zielgrößen zwischen der Interventions- und der Kontrollgruppe zur Woche 8-Visite wurde eine für die Baselinewerte angepasste Kovarianzanalyse (ANCOVA) nach dem Intention-to-treat-Prinzip angewendet. Eine Änderung der Zielgrößen bis zur Woche 12-Visite (Follow-up) einschließlich der vierwöchigen interventionsfreien Zeit wurde mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet.

Ergebnisse mit einem p-Wert von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet. Für die statistischen Analysen wurde das Programm SPSS Version 22.0 verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Studienverlauf, demographische und klinische Charakteristika der Studiengruppen

Insgesamt 46 PatientInnen wurden in der Screeninguntersuchung auf ihre Eignung zur Teilnahme an dieser Studie geprüft. Aufgrund beschränkter finanzieller Mittel wurden anstatt der kalkulierten 60 PatientInnen nur 36 TeilnehmerInnen einer der beiden Studiengruppen zugeordnet. Die Baselineuntersuchungen begannen am 12. Dezember 2013, am 3. Juli 2014 erfolgte die letzte Follow-up-Visite. Das Flussdiagramm in Abbildung 9 zeigt den Studienverlauf genauer.

Von den 36 eingeschlossenen PatientInnen wurden 29 am LKH Graz und 7 am LKH Hörgas-Enzenbach betreut. Bei insgesamt 20 (56%) PatientInnen, 9 (50%) in der Placebo- und 11 (61%) in der Interventionsgruppe, war die Leberzirrhose ethyltoxischer Genese, bei 5 (14%) PatientInnen aufgrund von chronischer Hepatitis C (4 in der Placebo- und ein Patient in der Interventionsgruppe). Bei insgesamt 9 (25%) PatientInnen wurde eine andere Ursache für die Zirrhose angegeben, bei je einer/einem PatientIn pro Gruppe wurde keine Angabe zur Ätiologie gemacht. Je Gruppe wurden 15 (83%) PatientInnen als Child-Pugh A sowie 3 (17%) als Child-Pugh B klassifiziert. In der Interventionsgruppe war der Median der Child-Pugh-Score 5 (5 – 6) und in der Placebogruppe 5 (5 - 5), der Median der MELD-Score 10 (8 – 12) bzw. 9 (7 -10).

16 (44%) PatientInnen bekamen bis spätestens 4 Wochen vor Studienbeginn eine Vitamin-D-Vortherapie, je 8 pro Gruppe. 2 (11%) PatientInnen in der Interventionsgruppe nahmen während der Studie Calciumpräparate ein, bei 11 (61%) PatientInnen der Interventionsgruppe bzw. 8 (44%) der Placebogruppe erfolgte eine Diuretikatherapie. Kein/e PatientIn nahm Bisphosphonate ein.

Weitere Details zu den Baselinewerten der StudienteilnehmerInnen finden sich in Tabelle 6.

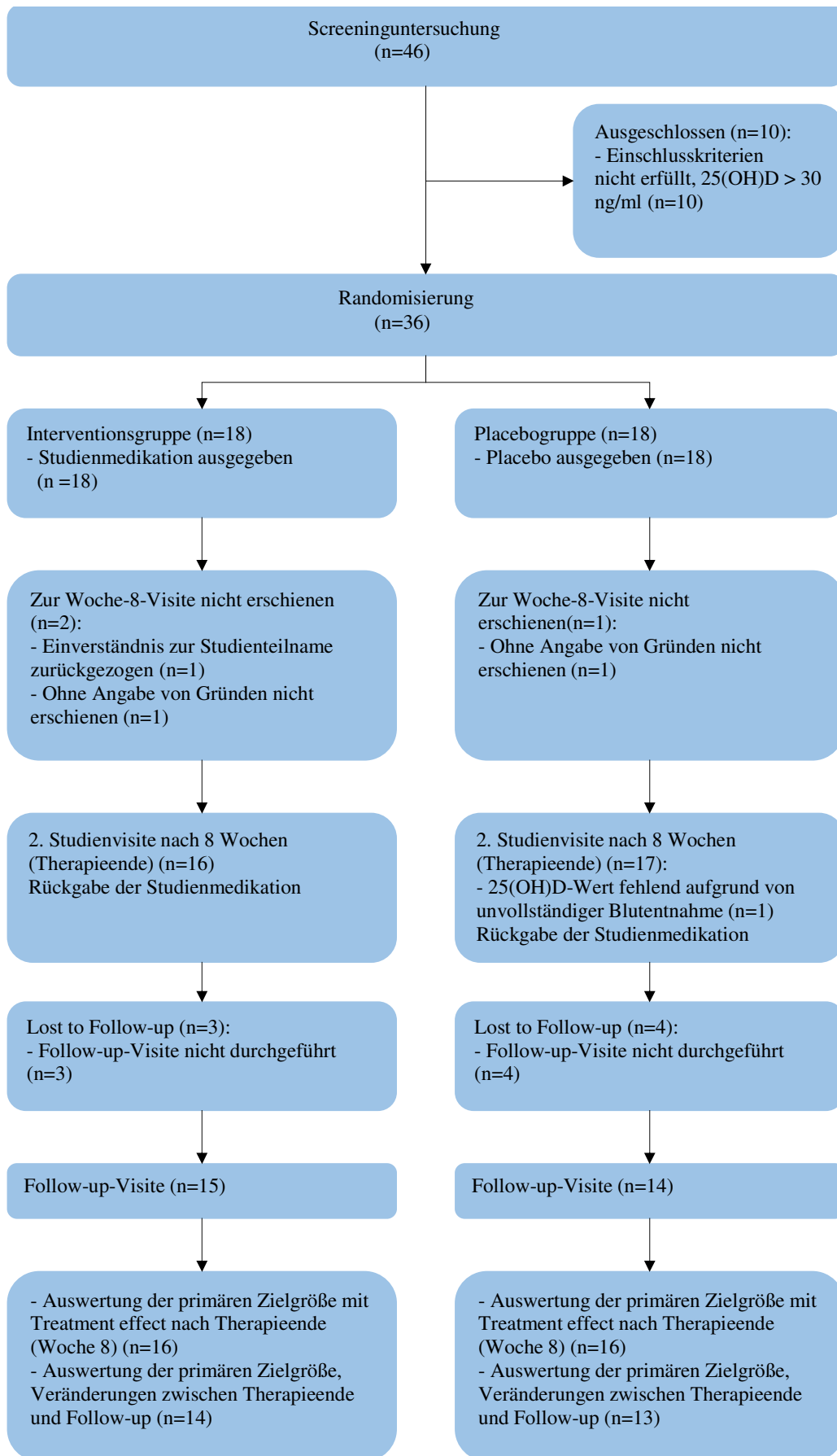


Abbildung 9. Darstellung des Studienverlaufs im Flussdiagramm.

Tabelle 6. Demographische und klinische Merkmale zur Baselineuntersuchung.

	Vitamin D (n=18)	Placebo (n=18)	p-Wert
Demographische Daten:			
Alter (in Jahren)	63,0 ± 9,2	58,0 ± 9,2	0,110
Weiblich	6 (33%)	3 (17%)	0,248
BMI (kg/m ²)	27,9 ± 5,2	26 ± 3,3	0,204
Alkoholische Leberzirrhose	11 (61%)	9 (50%)	0,502
Klinische Parameter:			
25(OH)D (ng/mL)	15,9 ± 7,5	15,5 ± 7,0	0,882
PTHi (pg/mL)	39,3 ± 11,2	42,1 ± 19,0	0,596
MELD-Score#	10 (8 - 12)	9 (7 - 10)	0,136
Child-Pugh-Score#	5 (5 - 6)	5 (5 - 5)	0,570
Bilirubin gesamt (mg/dL)#	1,04 (0,74 - 1,43)	0,72 (0,49 - 1,06)	0,104
AST (IU/L)#	52 (32 - 61)	37 (26 - 59)	0,448
ALT (IU/L)#	35 (27 - 44)	29 (20 - 49)	0,874
GGT (IU/L)#	97 (46 - 240)	113 (74 - 180)	0,967
AP (IU/L)#	105 (78 - 149)	93 (80 - 114)	0,340
CHE (IU/L)	5245 ± 1829	5417 ± 2222	0,801
Albumin (g/dL)	4,0 ± 0,4	4,1 ± 0,6	0,642
INR#	1,29 (1,15 - 1,36)	1,17 (1,08 - 1,32)	0,102
ELF-Score	11,5 ± 1,3	10,9 ± 1,1	0,125
CRP (mg/L)#	2,7 (1,2 - 7,9)	3,7 (1,1 - 6,8)	0,633
Thrombozyten (pro nl)#	116 (70 - 155)	121 (90 - 162)	0,661
Triglyzeride (mg/dL)#	105 (69 - 150)	121 (89 - 146)	0,944
Cholesterin (mg/dL):			
LDL	95 ± 31	105 ± 34	0,396
HDL	42 ± 17	45 ± 13	0,557
gesamt	166 ± 43	178 ± 40	0,420
Serum-Calcium (mmol/L):			
frei	1,16 ± 0,05	1,16 ± 0,04	1,000
gesamt	2,32 ± 0,09	2,35 ± 0,12	0,557
Serum-Phosphat (mmol/L)	1,00 ± 0,22	1,02 ± 0,16	0,834
Harn-Calcium (mmol/L)	2,57 ± 2,32	2,52 ± 1,54	0,942
Serum-Natrium (mmol/L)#	139 (138 - 140)	139 (137 - 141)	0,869
Serum-Kreatinin (mg/dL)#	0,85 (0,76 - 0,99)	0,86 (0,77 - 1,00)	0,864
Harn-Kreatinin (mg/dL)	91,53 ± 70,13	112,78 ± 54,55	0,323
eGFR (mL/min/1.73m ²)#	91 (69 - 96)	94 (83 - 99)	0,266
Calciumsubstitution	2 (11%)	0 (0%)	0,486
Diuretikatherapie	11 (61%)	8 (44%)	0,317
Der Anteil der PatientInnen mit einem bestimmten Merkmal an der Gesamtgröße der Gruppe ist in absoluten Zahlen und Prozenten angegeben. Normalverteilte Parameter sind mit Mittelwert und Standardabweichung, nicht-normalverteilte (s. #) mit Median sowie unterem und oberem Quartil angegeben. Der Vergleich der Gruppen erfolgte mit dem paired t-Test und dem Chi ² - bzw. Fishers exaktem Test.			

3.2 Analyse des Therapieeffektes auf die primären und sekundären Zielgrößen

Von den 36 randomisierten PatientInnen nahmen 33 an den Baseline- und Woche 8-Untersuchungen teil. Diese 33 PatientInnen wurden in die Analyse des Interventionseffektes eingeschlossen. Von den 3 nicht analysierten PatientInnen blieben je ein/e PatientIn pro Gruppe dem der Baselineuntersuchung nachfolgenden Termin zum Therapieende ohne Angabe von Gründen fern (lost to follow-up) und eine Patientin der Interventionsgruppe zog aufgrund eines schweren Krankheitsverlaufs (hepatischer Hydrothorax) ihre Einwilligung zur Studienteilnahme zurück. Für einen weiteren Patienten der Placebogruppe fehlte in der Woche 8 der 25(OH)D-Wert aufgrund einer inkompletten Blutabnahme, weshalb für die primäre Zielgröße 16 PatientInnen je Gruppe analysiert wurden. Die statistische Auswertung erfolgte nach dem Intention-to-treat-Prinzip, für fehlende Werte wurde keine Imputation vorgenommen

Für die primäre Zielgröße 25(OH)D konnte ein signifikanter Effekt der Vitamin-D-Substitution dargestellt werden (Treatment effect = 15,2 (8,0 - 22,4, 95% KI) ng/mL, $p = <0.001$) (Abbildung 10).

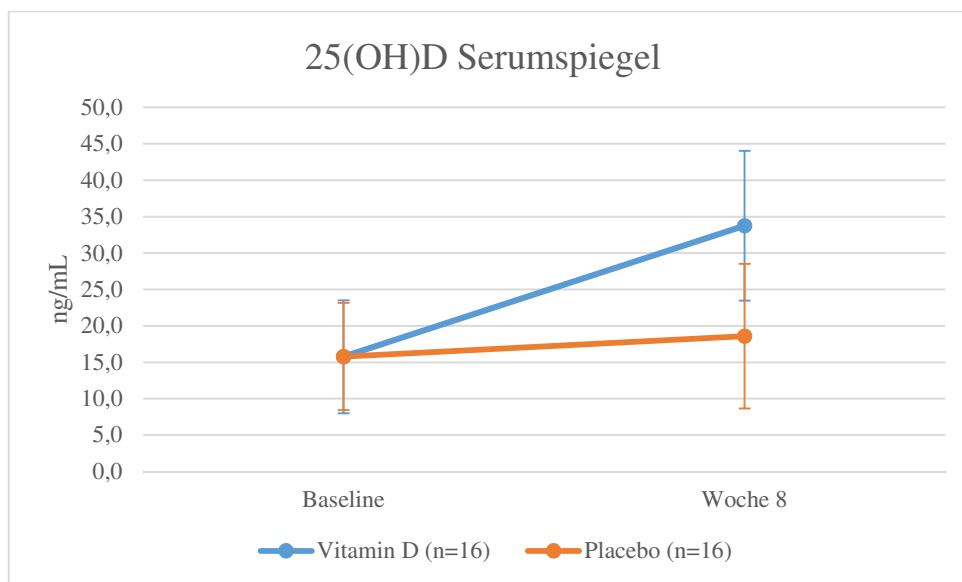


Abbildung 10. Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel der Studiengruppen zur Baselineuntersuchung und nach Therapieende. Berücksichtigt sind nur die je 16 in die Analyse eingeschlossenen PatientInnen. Eingezeichnet sind Mittelwert und Standardabweichung.

Für die Transaminasen AST (Treatment effect = 0 (-13 - 13, 95% KI) IU/L, p = 0.663) und ALT (Treatment effect = -1 (-17 - 14, 95% KI) IU/L, p = 0,962) konnte kein signifikanter Effekt der Intervention gezeigt werden. Gleiches gilt für den Syntheseparameter INR (Treatment effect = 0,06 (-0,14 - 0,25, 95% KI), p = 0.610), den Cholestaseparameter Bilirubin (Treatment effect = 0,15 (-0,13 - 0,43, 95% KI) mg/dL, p = 0,628) sowie den Fibrosemarker ELF-Score (Treatment effect = 0.0 (-0,4 - 0,3, 95% KI), p = 0,836). Auch wurde kein Effekt auf PTHi (Treatment effect = -2,3 (-10,1 - 5,4, 95% KI) pg/mL, p = 0,548) als Parameter des Knochenumbaus erreicht. Somit konnte insgesamt kein Effekt auf die sekundären Zielgrößen gezeigt werden (siehe auch Tabelle 7).

Tabelle 7. Baseline- und Woche 8-Werte der primären und sekundären Zielgrößen mit Treatment effect.

Parameter	Baseline	Woche 8	Treatment effect	p-Wert
25(OH)D in ng/mL				
Vitamin D (n=16)	15,8 ± 7,8	33,8 ± 10,3	15,2 (8,0 - 22,4)	<0,001
Placebo (n=16)	15,8 ± 7,4	18,6 ± 9,9		
Bilirubin gesamt in mg/dL #				
Vitamin D (n=16)	1,05 (0,78 - 1,45)	1,01 (0,82 - 1,36)	0,15 (-0,13 - 0,43)	0,628
Placebo (n=17)	0,72 (0,48 - 1,08)	0,59 (0,48 - 0,96)		
AST in IU/L #				
Vitamin D (n=16)	52 (33 - 62)	51 (35 - 67)	0 (-13 - 13)	0,663
Placebo (n=17)	37 (25 - 61)	47 (28 - 61)		
ALT in IU/L #				
Vitamin D (n=16)	39 (29 - 46)	36 (29 - 52)	-1 (-17 - 14)	0,962
Placebo (n=17)	28 (20 - 46)	30 (20 - 39)		
GGT in IU/L #				
Vitamin D (n=16)	97 (44 - 314)	100 (55 - 288)	1 (-36 - 38)	0,440
Placebo (n=17)	122 (74 - 192)	139 (56 - 225)		
AP in IU/L #				
Vitamin D (n=16)	112 (79 - 176)	124 (75 - 180)	8 (-10 - 25)	0,700
Placebo (n=17)	88 (80 - 118)	98 (75 - 105)		
CHE in IU/L				
Vitamin D (n=16)	5273 ± 1935	5225 ± 2034	-4 (-355 - 346)	0,980
Placebo (n=17)	5275 ± 2206	5232 ± 2106		
Albumin in g/dL				
Vitamin D (n=16)	4,0 ± 0,4	3,9 ± 0,5	-0,1 (-0,28 - 0,11)	0,366
Placebo (n=17)	4,0 ± 0,6	4,0 ± 0,5		
INR #				
Vitamin D (n=16)	1,27 (1,14 - 1,39)	1,24 (1,12 - 1,45)	0,06 (-0,14 - 0,25)	0,610
Placebo (n=15)	1,18 (1,08 - 1,39)	1,18 (1,10 - 1,29)		
ELF-Score				
Vitamin D (n=16)	11,5 ± 1,2	11,7 ± 1,2	0,0 (-0,4 - 0,3)	0,836
Placebo (n=16)	10,9 ± 1,1	11,1 ± 1,2		
PTHi in pg/mL				
Vitamin D (n=16)	38,8 ± 11,3	38,5 ± 15,1	-2,3 (-10,1 - 5,4)	0,548
Placebo (n=16)	41,5 ± 20,1	42,6 ± 15,3		
Calcium gesamt in mmol/L				
Vitamin D (n=16)	2,33 ± 0,09	2,27 ± 0,66	0,00 (-0,05 - 0,04)	0,849
Placebo (n=17)	2,34 ± 0,11	2,28 ± 0,12		
freies Calcium in mmol/L				
Vitamin D (n=16)	1,15 ± 0,05	1,15 ± 0,05	0,02 (-0,02 - 0,05)	0,254
Placebo (n=17)	1,15 ± 0,05	1,13 ± 0,06		
Phosphat in mmol/L				
Vitamin D (n=16)	0,99 ± 0,22	1,03 ± 0,20	0,04 (-0,06 - 0,13)	0,448
Placebo (n=17)	1,02 ± 0,17	1,01 ± 0,14		
Harn-Calcium in mmol/L				
Vitamin D (n=13)	2,85 ± 2,59	2,30 ± 2,01	0,34 (-0,53 - 1,24)	0,412
Placebo (n=17)	2,55 ± 1,58	1,74 ± 1,05		
eGFR in mL/min/1.73m ² #				
Vitamin D (n=16)	92 (73 - 96)	90 (73 - 100)	-4 (-10 - 1)	0,211
Placebo (n=17)	95 (86 - 99)	94 (89 - 102)		
Normalverteilte Parameter sind mit Mittelwert und Standardabweichung angegeben, nicht- normalverteilte (gekennzeichnet mit #) mit Median sowie unterem und oberem Quartil. Der Treatment effect wird mit 95% Konfidenzintervall angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANCOVA.				

3.3 Veränderungen der Zielgrößen bis zum Follow-up

An der Follow-up-Visite 4 Wochen nach Therapieende nahmen insgesamt 29 der 36 PatientInnen teil, im Detail 15 PatientInnen der Interventions- und 14 in der Placebogruppe. Insgesamt 6 der 7 am LKH Hörgas-Enzenbach betreuten PatientInnen blieben der Follow-up-Visite fern, 5 davon ohne Angabe von Gründen und zusätzlich eben jene Patientin, die schon vor der Woche-8-Visite aufgrund eines schweren Krankheitsverlauf ihre Einwilligung zur Studienteilnahme zurückzog. Ohne Angabe von Gründen nahm außerdem ein am LKH Graz betreuter Patient nicht an der Follow-up-Visite teil. Dieser war auch schon der Woche-8-Visite fern geblieben. Die Analyse der Veränderung der primären Zielgröße bis zum Follow-up-Termin erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) bei 14 PatientInnen der Interventions- und 13 PatientInnen der Placebogruppe, da je Gruppe bei einer/einem PatientIn der 25(OH)-D-Wert in Woche 8 fehlte.

Eine statistisch signifikante Veränderung des 25(OH)D-Spiegels trat nur in der Interventions- ($p = < 0,001$), nicht aber in der Placebogruppe ($p = 0,460$) auf. Der 25(OH)D-Spiegel der Interventionsgruppe blieb auch nach der interventionsfreien Zeit zwischen Therapieende und Follow-up auf einem erhöhten Niveau (siehe Abbildung 11).

Für die sekundären Zielgrößen konnte während der Studiendauer keine statistisch signifikante Veränderung nachgewiesen werden (siehe auch Tabelle 8).

Tabelle 8. Werte der primären und sekundären Zielgrößen der PatientInnen, die an allen Studienvisiten teilnahmen.

Parameter	Baseline	Woche 8	Woche 12	p-Wert
25(OH)D in ng/mL				
Vitamin D (n=14)	16,4 ± 8,1	34,1 ± 10,1	33,9 ± 12,8	<0,001
Placebo (n=13)	16,2 ± 6,6	18,5 ± 10,5	20,8 ± 9,1	0,460
Bilirubin gesamt in mg/dL #				
Vitamin D (n=14)	1,05 (0,81 - 1,43)	1,01 (0,81 - 1,39)	1,22 (0,87 - 1,68)	0,914
Placebo (n=14)	0,69 (0,44 - 1,06)	0,58 (0,50 - 0,83)	0,75 (0,63 - 1,58)	0,262
AST in IU/L #				
Vitamin D (n=14)	53 (32 - 67)	51 (35 - 70)	49 (34 - 68)	0,996
Placebo (n=14)	38 (24 - 64)	46 (26 - 65)	51 (28 - 77)	0,822
ALT in IU/L #				
Vitamin D (n=14)	42 (31 - 50)	39 (33 - 55)	33 (30 - 54)	0,990
Placebo (n=14)	33 (19 - 52)	34 (19 - 42)	33 (21 - 54)	0,967
GGT in IU/L #				
Vitamin D (n=14)	83 (43 - 372)	89 (49 - 344)	102 (49 - 329)	0,956
Placebo (n=14)	133 (73 - 222)	142 (69 - 224)	149 (65 - 216)	0,938
AP in IU/L #				
Vitamin D (n=14)	112 (80 - 194)	124 (75 - 181)	117 (73 - 186)	0,992
Placebo (n=14)	93 (77 - 114)	97 (74 - 104)	96 (73 - 107)	0,915
CHE in IU/L				
Vitamin D (n=14)	5155 ± 2048	5060 ± 2130	5002 ± 2074	0,981
Placebo (n=14)	5686 ± 2073	5708 ± 1960	5762 ± 2138	0,995
Albumin in g/dL				
Vitamin D (n=14)	4,1 ± 0,4	3,9 ± 0,5	3,8 ± 0,5	0,368
Placebo (n=14)	4,1 ± 0,6	4,0 ± 0,6	4,1 ± 0,6	0,932
INR #				
Vitamin D (n=14)	1,29 (1,12 - 1,45)	1,24 (1,11 - 1,56)	1,23 (1,10 - 1,51)	0,960
Placebo (n=12)	1,14 (1,07 - 1,37)	1,16 (1,09 - 1,29)	1,19 (1,05 - 1,38)	0,974
ELF-Score				
Vitamin D (n=14)	11,3 ± 1,1	11,5 ± 1,1	11,2 ± 1,2	0,816
Placebo (n=13)	10,8 ± 1,1	11,0 ± 1,2	10,8 ± 1,2	0,913
PTHi in pg/mL				
Vitamin D (n=14)	40,4 ± 10,8	39,4 ± 14,9	38,9 ± 12,8	0,953
Placebo (n=13)	40,6 ± 18,9	43,0 ± 15,7	39,2 ± 16,0	0,847
Calcium gesamt in mmol/L				
Vitamin D (n=14)	2,33 ± 0,10	2,27 ± 0,06	2,28 ± 0,09	0,152
Placebo (n=14)	2,36 ± 0,11	2,29 ± 0,12	2,34 ± 0,13	0,339
freies Calcium in mmol/L				
Vitamin D (n=14)	1,15 ± 0,06	1,14 ± 0,05	1,14 ± 0,05	0,732
Placebo (n=14)	1,16 ± 0,03	1,13 ± 0,06	1,13 ± 0,03	0,071
Phosphat in mmol/L				
Vitamin D (n=14)	0,96 ± 0,17	0,99 ± 0,15	0,97 ± 0,13	0,828
Placebo (n=14)	1,02 ± 0,18	0,99 ± 0,13	1,00 ± 0,15	0,852
Harn-Calcium in mmol/L				
Vitamin D (n=14)	2,85 ± 2,59	2,30 ± 2,01	1,87 ± 1,78	0,499
Placebo (n=14)	2,79 ± 1,53	1,82 ± 1,01	2,75 ± 2,01	0,200
eGFR in mL/min/1.73m² #				
Vitamin D (n=14)	82 (66 - 95)	88 (70 - 94)	90 (80 - 98)	0,178
Placebo (n=14)	94 (83 - 99)	94 (89 - 101)	97 (87 - 100)	0,853
Normalverteilte Parameter sind mit Mittelwert und Standardabweichung angegeben, nicht- normalverteilte (gekennzeichnet mit #) mit Median sowie unterem und oberem Quartil. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einfaktorieller ANOVA.				

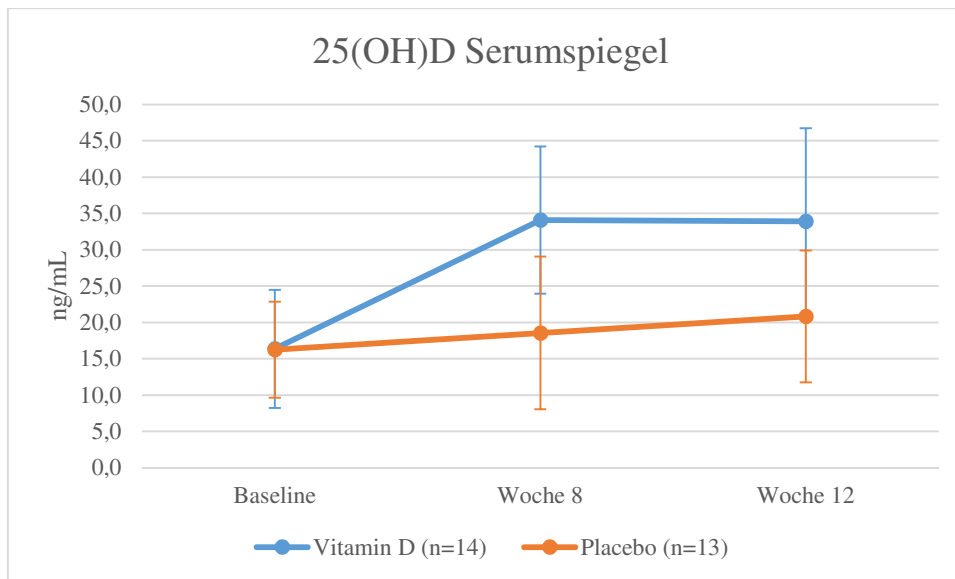


Abbildung 11. Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel der Studiengruppen zu den jeweiligen Visiten, einschließlich Follow-up-Visite. Berücksichtigt sind nur jene PatientInnen, bei denen für alle drei Visiten 25(OH)D-Werte vorliegen. Eingezeichnet sind Mittelwert und Standardabweichung.

3.4 Nebenwirkungen und ungeplante stationäre Aufnahmen

Während der Dauer der Studie gab es mehrere stationäre Aufnahmen von StudienteilnehmerInnen. Drei Aufnahmen erfolgten aufgrund von Aszites, eine Aufnahme aufgrund von starker Übelkeit und Erbrechen und eine Aufnahme aufgrund einer akut aufgetretenen Soorpharyngitis. Diese stationären Aufnahmen wurden nicht mit der Einnahme der Studienmedikation in einen kausalen Zusammenhang gebracht. Ferner erfolgte innerhalb der Studiendauer bei einer Patientin in der Interventionsgruppe eine elektive Ösophagusvarizenligatur.

Bei einem Patienten in der Interventionsgruppe trat fünf Tage nach Therapiebeginn ein generalisierter Prurigo auf. Der Patient nahm die Studienmedikation daraufhin nicht mehr ein, wurde aber in die Analyse eingeschlossen. Weitere relevante Nebenwirkungen traten weder in der Interventions- noch der Placebogruppe auf.

4 Diskussion

Mit dieser Studie konnten wir zeigen, dass der Vitamin-D-Serumspiegel bei LeberzirrhotikerInnen durch orale Supplementation mit Vitamin D₃ angehoben werden kann, mit unserer Dosis sogar auf ein suffizientes 25(OH)D-Niveau von $33,8 \pm 10,3$ ng/mL. Dass der 25(OH)D-Spiegel in der Interventionsgruppe auch im interventionsfreien Zeitraum zwischen Therapieende und Follow-up nicht abfiel, könnte bedeuten, dass zur Aufrechterhaltung einer suffizienten Vitamin-D-Versorgung keine kontinuierliche Therapie nötig ist, sondern Intervallgaben bspw. in den sonnenarmen Wintermonaten ausreichen. Signifikante Auswirkungen auf sekundäre Zielgrößen konnten wir jedoch nicht zeigen, weder für Parameter der Leberschädigung, Syntheseleistung, Cholestase noch für den Fibrosemarker ELF-Score oder andere Knochenstoffwechselfparameter.

Von klinischer Relevanz ist diese Arbeit, da sie nach unserem Wissen die erste RCT zur Vitamin-D-Supplementation bei Leberzirrhose ist. Aufgrund der Rolle der Leber im Vitamin-D-Metabolismus und der vielfältigen möglichen Einflüsse einer chronischen Lebererkrankung auf den Vitamin-D-Spiegel ist es von großem Interesse zu zeigen, ob durch orale Substitution Serum-25(OH)D angehoben werden kann. Aufgrund der potentiell positiven Auswirkungen auf die Morbidität und der geringen Kosten könnte die Vitamin-D-Substitution eine interessante Ergänzung in der Therapie verschiedener Erkrankungen darstellen. Da in dieser Arbeit ein ähnlicher Treatment effect bei gleicher Dosis und Interventionsdauer erzielt wurde wie bei einer vor kurzem veröffentlichten Studie zur Vitamin-D-Substitution bei hypertensiven PatientInnen, kann angenommen werden, dass zum Anheben des 25(OH)D-Spiegels bei PatientInnen mit chronischen Lebererkrankungen eine ähnliche Dosis verabreicht werden kann wie bei anderen Patientengruppen oder der Normalpopulation. (Pilz et al. 2015)

Die Prävalenz eines Vitamin-D-Mangels ist bei LeberzirrhotikerInnen generell hoch und auch im Vergleich mit PatientInnen, die nicht an einer chronischen Lebererkrankungen leiden, deutlich höher. (Arteh et al. 2010) Den in einer vorangegangenen Publikation (Putz-Bankuti et al. 2012) bei LeberzirrhotikerInnen festgestellten Mittelwert der 25(OH)D-Spiegel konnten wir hier bestätigen ($16,0 \pm 9,2$ ng/mL bei Putz-Bankuti et al., $15,7 \pm 7,2$ ng/mL in dieser Arbeit). Eine Vielzahl von möglichen Ursachen könnte zu diesem

ausgeprägten Vitamin-D-Mangel führen. So setzen sich chronisch Kranke im Allgemeinen weniger Sonnenlicht aus, was zu einer, durch einen Ikterus noch verstärkten, geringeren Produktion von Vitamin D in der Haut führt. Eine bei starkem Alkoholkonsum häufig auftretende Malnutrition sowie ein Mangel an Gallensalzen bei cholestatischen Zuständen oder ein bei portaler Hypertension auftretendes intestinales Ödem könnten zu einer verminderten intestinalen Aufnahme von Vitamin D führen, durch eine verminderte Syntheseleistung der Leber könnte weniger DBP produziert werden, die Hydroxylierung von Vitamin D in der Leber könnte gestört sein sowie der katabole Abbau von 25(OH)D erhöht. (Iruzubieta et al. 2014; Stokes et al. 2013) Da wir durch orales Zuführen von Vitamin D₃ den 25(OH)D-Spiegel anheben konnten, scheint zumindest eine Hydroxylierung von Vitamin D in der Leber noch möglich zu sein, ebenso die intestinale Aufnahme. Dies deckt sich mit den Beobachtungen anderer Interventionsstudien. (Malham et al. 2012)

Die Parameter des Calciummetabolismus, insbesondere PTH, sind bei der Definition des Vitamin-D-Mangels ausschlaggebend und werden bei Therapie- und Dosisempfehlungen als Kontrollparameter für den Therapieerfolg herangezogen. (Holick et al. 2011) Aus diesem Grund haben wir diese Parameter ebenfalls untersucht. Die Leber spaltet PTHi ab und eliminiert die inaktiven Metaboliten. Bei Lebererkrankungen kann also die Bestimmung des gesamten PTH zu erhöhten PTH-Werten führen, obwohl kein sekundärer Hyperparathyreoidismus (PTH > 40 pg/mL) vorliegt. (Duarte et al. 2001; Holick 2009) Aus diesem Grund wird bei Lebererkrankungen nicht gesamt PTH, sondern PTHi bestimmt. Aufgefallen ist in dieser Arbeit, dass PTHi nach Vitamin-D-Substitution mit erfolgreicher Anhebung des Serum-25(OH)D entgegen der gängigen Lehrmeinung nicht absank, sondern gleich geblieben ist. Dieses „paradoxe“ Verhalten von PTH bei LeberzirrhotikerInnen im Gegensatz zur bekannten negativen Korrelation von Vitamin D und PTH in anderen Patientengruppen wurde schon in vorangegangenen Publikationen beschrieben. (Duarte et al. 2001; Miroliaee et al. 2010; Savic et al. 2014) Dass eine reduzierte Knochendichte und Osteoporose bei PatientInnen mit chronischen Lebererkrankungen häufiger vorkommen als in der Normalpopulation könnte also an einem PTH-unabhängigen erhöhten Knochenumsatz liegen. (Fisher & Fisher 2007; Lai et al. 2015; Leslie et al. 2003) Aufgrund dieser Erkenntnis wird infrage gestellt, ob die Bestimmung des gesamten Serum-25(OH)D zur genauen Beurteilung des biologisch wirksamen Vitamin-D-Status‘ bei chronischen Lebererkrankungen geeignet ist. (Lai et al. 2015) Für das genaue Verständnis der

pathophysiologischen Mechanismen des erhöhten Knochenumsatz sind weitere Studien nötig.

Der geringe Stichprobenumfang stellt eine Schwäche unserer RCT dar, da so tatsächlich vorhandene Effekte bspw. auf die sekundären Zielgrößen übersehen werden können (Fehler 2. Art). Die gleiche Auswirkung auf die Resultate der sekundären Zielgrößen könnte auch der mit 8 bzw. 12 Wochen relativ kurze Beobachtungszeitraum haben. Dies ist insofern von Bedeutung als verschiedene Studien nahelegen, dass Vitamin D aufgrund seiner antifibrotischen, antiinflammatorischen und metabolischen Effekte positive Wirkungen bei chronischen Lebererkrankungen haben könnte. (Abramovitch et al. 2011; Dasarathy et al. 2014; Iruzubieta et al. 2014; Roth et al. 2012) Unsere Studienpopulation bestand aus KaukasierInnen mit kompensierter Leberzirrhose großteils ethyltoxischer Genese. Andere Ätiologien, bspw. virale Hepatitis, könnten ebenso wie ProbandInnen anderer Ethnie zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Da wir zur Bestimmung von 25(OH)D ein Immunoassay und nicht die als erste Wahl geltende Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS) verwendet haben, konnten bestimmte Vitamin-D-Metaboliten wie das biologisch weniger aktive C3-Epimer nicht bestimmt werden. Da nicht zweifelsfrei bekannt ist ob dieses Epimer nur bei Kindern oder auch in bedeutendem Maße bei Erwachsenen vorkommt und welchen biologischen Stellenwert es hat, könnte dies zu Ungenauigkeiten bei der Bestimmung des Vitamin-D-Status‘ führen. (Stokes et al. 2013; Wallace et al. 2010) Außerdem wurden weder klinische Zielgrößen noch weitere Parameter zur Beurteilung des Vitamin-D-Status‘, wie DBP, bestimmt. DBP könnte eine Rolle spielen bei der Aufrechterhaltung des Vitamin-D-Spiegels bei ZirrhotikerInnen und damit Bedeutung haben für die Beurteilung der Langzeitwirkung der Vitamin-D-Supplementation. (Malham et al. 2012)

Ergänzend sei erwähnt, dass wir keine relevanten Nebenwirkungen durch die Vitamin-D-Substitution feststellen konnten. Dies zeigt die Sicherheit von Vitamin D in der therapeutischen Anwendung, bei der häufig noch Bedenken bezüglich der Gefahren der Hypervitaminosis D, gekennzeichnet durch $25(OH)D > 150 \text{ ng/mL}$, Hyperkalzämie und Hyperkalzurie, bestehen. Durch die dargestellte Sicherheit der Verwendung von Vitamin D₃ und den nachgewiesenen Effekt unserer Supplementation auf den Vitamin-D-Spiegel der ProbandInnen kann diese Studie als Grundlage für umfangreichere, längere

Nachfolgestudien zur Untersuchung von potentiellen positiven Effekten auf den Verlauf von chronischen Lebererkrankungen dienen.

Ergebnisse dieser Arbeit wurden unter dem Titel „Effects of Vitamin D Supplementation on Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Cirrhotic Patients: A Randomized Controlled Trial.“, Pilz S, Putz-Bankuti C, Gaksch M, Spindelboeck W, Haselberger M, Rainer F, Posch A, Kreuzer P, Stojakovic T, Stadlbauer V, Obermayer-Pietsch B, Stauber RE in *Nutrients* im Mai 2016 veröffentlicht (PMID: 27171112).

5 Literaturverzeichnis

- Abe, J. et al., 1990. Prevention of Immunological Disorders in MRL/l Mice by a New Synthetic Analogue of Vitamin D3: 22-Oxa-1alpha,25 Dihydroxyvitamin D3. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 36(1), pp.21–31.
- Abramovitch, S. et al., 2015. Vitamin D inhibits development of liver fibrosis in an animal model but cannot ameliorate established cirrhosis. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 308, pp.G112–G120. Available at: <http://ajpgi.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajpgi.00132.2013>.
- Abramovitch, S. et al., 2011. Vitamin D inhibits proliferation and profibrotic marker expression in hepatic stellate cells and decreases thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Gut*, 60, pp.1728–37. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21816960>.
- Adams, J.S. & Hewison, M., 2008. Regulation of Innate and Adaptive Immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 4, pp.80–90.
- Afzal, S., Bojesen, S.E. & Nordestgaard, B.G., 2013. Low 25-hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: A prospective cohort study and metaanalysis. *Clinical Chemistry*, 59, pp.381–391.
- Al-Sofiani, M.E. et al., 2015. Effect of Vitamin D Supplementation on Glucose Control and Inflammatory Response in Type II Diabetes: A Double Blind, Randomized Clinical Trial. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 13(1), pp.1–5. Available at: http://www.endometabol.com/?page=article&article_id=22604.
- Arteh, J., Narra, S. & Nair, S., 2010. Prevalence of Vitamin D Deficiency in Chronic Liver Disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 55, pp.2624–2628. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10620-009-1069-9>.
- Van Belle, T.L., Gysemans, C. & Mathieu, C., 2011. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: A vital player? *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 25(4), pp.617–632. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2011.04.009>.
- Bikle, D.D., 2007. Vitamin D insufficiency/deficiency in gastrointestinal disorders. *Journal of bone and mineral research*, 22, pp.V50–V54.
- Birge, S.J. & Haddad, J.G., 1975. 25-Hydroxycholecalciferol Stimulation of Muscle Metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 56(November), pp.1100–1107.
- Bischoff, H.A. et al., 2001. In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human skeletal muscle tissue. *The Histochemical journal*, 33(1), pp.19–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352397> [Accessed March 23, 2015].

- Bischoff-Ferrari, H.A. et al., 2004. Effect of Vitamin D on falls: a meta-analysis. *JAMA*, 291(16), pp.1999–2006. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15113819> [Accessed March 20, 2015].
- Bischoff-ferrari, H.A. et al., 2006. Estimation of optimal serum concentrations of 25-OH Vit. D for multiple health outcomes. *The American journal of clinical nutrition*, 25, pp.18–28.
- Bischoff-Ferrari, H.A. et al., 2005. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*, 293(18), pp.2257–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15886381> [Accessed February 23, 2015].
- Bischoff-Ferrari, H.A., Orav, E.J. & Dawson-Hughes, B., 2006. Effect of cholecalciferol plus calcium on falling in ambulatory older men and women: a 3-year randomized controlled trial. *Archives of internal medicine*, 166(4), pp.424–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505262> [Accessed March 15, 2015].
- De Boland, A.R., Albornoz, L.E. & Boland, R., 1983. The effect of cholecalciferol in vivo on proteins and lipids of skeletal muscle from rachitic chicks. *Calcified tissue international*, 35(6), pp.798–805. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6317149> [Accessed March 23, 2015].
- Boland, R., 1986. Role of vitamin D in skeletal muscle function. *Endocrine reviews*, 7(4), pp.434–48. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3536463> [Accessed March 23, 2015].
- Chapuy, M. et al., 1997. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in an Adult Normal Population. *Osteoporosis International*, pp.439–443.
- Chapuy, M.C. et al., 1992. Vitamin D 3 and Calcium to Prevent Hip Fractures in Elderly Women. *New England Journal of Medicine*, 327(23), pp.1637–1642. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1331788> [Accessed March 15, 2015].
- Chen, S. et al., 2011. Cardiomyocyte-specific deletion of the vitamin D receptor gene results in cardiac hypertrophy. *Circulation*, 124, pp.1838–1847.
- Chick, D.H., 1923. Study of rickets in Vienna 1919-1922. *Medical Research Council*, 77, pp.41–51. Available at: <http://hdl.handle.net/2027/coo.31924003472002>.
- Chiu, K.C. et al., 2004. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *The American journal of clinical nutrition*, 79(4), pp.820–825.
- Clark, S.A., Stumpf, W.E. & Sar, M., 1981. Effect of 1,25 Dihydroxyvitamin D3 on Insulin Secretion. *Diabetes*, 30, pp.1–5.
- Classen, M., Diehl, V. & Kochsiek, K., 2009a. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Munich: Urban & Fischer, p. 991.
- Classen, M., Diehl, V. & Kochsiek, K., 2009b. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Munich: Urban & Fischer, pp. 992–993.

- Classen, M., Diehl, V. & Kochsiek, K., 2009c. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Munich: Urban & Fischer, pp. 994–995.
- Classen, M., Diehl, V. & Kochsiek, K., 2009d. Renale Synthese von Modulatoren des Blutdrucks. In *Innere Medizin*. Munich: Urban & Fischer, p. 1227.
- Clemens, T.L. et al., 1982. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet*, 1(8263), pp.74–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6119494> [Accessed March 23, 2015].
- Dasarathy, J. et al., 2014. Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non alcoholic fatty liver disease. *Liver international*, 34(6), pp.118–127.
- Davidson, M.B. et al., 2013. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. *Diabetes Care*, 36, pp.260–266.
- Dawson-Hughes, B. et al., 1997. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *The New England journal of medicine*, 337, pp.670–676.
- DeLuca, H.F., 2004. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*, 80, pp.1689–1696.
- Demay, M.B. et al., 1992. Sequences in the human parathyroid hormone gene that bind the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor and mediate transcriptional repression in response to 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(September), pp.8097–8101.
- Duarte, M.P. et al., 2001. Calcium-parathyroid hormone-vitamin D axis and metabolic bone disease in chronic viral liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 16, pp.1022–1027.
- Eliades, M. et al., 2013. Meta-analysis: vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 38(June), pp.246–254. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/apt.12377>.
- Eliades, M. & Spyrou, E., 2015. Vitamin D: A new player in non-alcoholic fatty liver disease? *World journal of gastroenterology : WJG*, 21(6), pp.1718–1727. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4323447&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Von Essen, M.R. et al., 2010. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nature Immunology*, 11(4), pp.344–349. Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ni.1851>.
- Fagan, K.J. et al., 2015. ELF score ≥ 9.8 indicates advanced hepatic fibrosis and is influenced by age, steatosis and histological activity. *Liver International*, 35, pp.1673–1681.

- Fisher, L. & Fisher, A., 2007. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 5, pp.513–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17222588>.
- Fliser, D. et al., 1997. Subacute infusion of physiological doses of parathyroid hormone raises blood pressure in humans. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 12, pp.933–938.
- Forouhi, N.G. et al., 2008. Baseline Serum 25-Hydroxy Vitamin D Is Predictive of Future Glycemic Status and Insulin Resistance: The Medical Research Council Ely Prospective Study 1990–2000. , 57, pp.2619–2625.
- Girgis, C.M. et al., 2013. The roles of vitamin D in skeletal muscle: Form, function, and metabolism. *Endocrine Reviews*, 34(February 2013), pp.33–83.
- Glendenning, P. et al., 2000. Calcitriol upregulates expression and activity of the 1b isoform of the plasma membrane calcium pump in immortalized distal kidney tubular cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, 380(1), pp.126–132.
- Glerup, H. et al., 2000. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcified Tissue International*, 66, pp.419–424.
- Gordon, C.M. et al., 2004. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 158(6), pp.531–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15184215> [Accessed March 23, 2015].
- Heaney, R.P., 2008. Vitamin D in health and disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3, pp.1535–1541.
- Herold, G., 2014a. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, p. 545.
- Herold, G., 2014b. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, pp. 546–547.
- Herold, G., 2014c. Leberzirrhose. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, p. 546.
- Herold, G., 2014d. Portale Hypertension. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, p. 548.
- Herold, G., 2014e. Portale Hypertension. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, p. 550.
- Herold, G., 2014f. Portale Hypertension. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, p. 547+554.
- Herold, G., 2014g. Portale Hypertension. In *Innere Medizin*. Cologne: Dr. med. Gerd Herold, pp. 551–553.

- Hoenderop, J.G. et al., 2001. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12, pp.1342–1349.
- Holick, M.F. et al., 2011. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(July), pp.1911–1930.
- Holick, M.F., 2006a. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clinic proceedings*, 81(3), pp.353–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16529140> [Accessed February 21, 2015].
- Holick, M.F. et al., 2005. Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(March), pp.3215–3224.
- Holick, M.F., 2006b. Resurrection of vitamin D and rickets. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(8), pp.2062–2072.
- Holick, M.F., 2005. The Vitamin D Epidemic and its Health Consequences. *The Journal of Nutrition*, 135, p.2739S–2748S.
- Holick, M.F., 2007. Vitamin D Deficiency. *NEJM*, 357, pp.266–281. Available at: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMra070553>.
- Holick, M.F., 2009. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation And Clinical Application. *Annals of epidemiology*, 19(2), pp.73–78.
- Holick, M.F., MacLaughlin, J.A. & Doppelt, S.H., 1981. Regulation of cutaneous previtamin D3 photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science (New York, N.Y.)*, 211(4482), pp.590–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6256855> [Accessed March 23, 2015].
- Huldschinsky, K., 1919. Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 45, pp.712–713.
- Hyppönen, E. et al., 2001. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: A birth-cohort study. *Lancet*, 358(9292), pp.1500–1503.
- Imbert-Bismut, F. et al., 2001. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*, 357, pp.1069–1075.
- Iruzubieta, P. et al., 2014. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World Journal of Hepatology*, 6(12), pp.901–915. Available at: <http://www.wjgnet.com/1948-5182/full/v6/i12/901.htm>.
- Israni, N. et al., 2009. Interaction of Vitamin D receptor with HLA DRB1*0301 in Type 1 diabetes patients from North India. *PLoS ONE*, 4(12), p.e8023.

- Johnson, J. a. et al., 1994. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *The American Journal of Physiology*, 267, pp.356–360.
- Jones, G., Strugnell, S. a & DeLuca, H.F., 1998. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological reviews*, 78(4), pp.1193–1231.
- Jorde, R. et al., 2000. Relation between low calcium intake, parathyroid hormone, and blood pressure. *Hypertension*, 35(5), pp.1154–1159.
- Kamath, P.S. & Kim, W.R., 2007. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology*, 45, pp.797–805. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.21563>.
- Kienreich, K. et al., 2013. Vitamin D, arterial hypertension & cerebrovascular disease. *The Indian journal of medical research*, 137(April), pp.669–79. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3724247&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Klinke, R. et al., 2010. Physiologie der Leber. In *Physiologie*. Stuttgart: Thieme, pp. 469–479.
- Knolle, P. a & Wohlleber, D., 2016. Immunological functions of liver sinusoidal endothelial cells. *Cellular & Molecular Immunology*, (13), pp.1–7. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/cmi.2016.5>.
- Kühn, R. et al., 1993. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*, 75(2), pp.263–274. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/009286749380068P> [Accessed February 1, 2016].
- Kumar, R., Tebben, P.J. & Thompson, J.R., 2012. Vitamin D and the kidney. *Archives of biochemistry and biophysics*, 523(1), pp.77–86. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3361542&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 23, 2015].
- Kunutsor, S., Apekey, T. & Steur, M., 2013. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol*, 28, pp.205–221.
- Lai, J.C. et al., 2015. Total 25(OH) vitamin D, free 25(OH) vitamin D and markers of bone turnover in cirrhotics with and without synthetic dysfunction. *Liver International*, 35, pp.2294–2300. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/liv.12819>.
- Larsen, E.R., Mosekilde, L. & Foldspang, A., 2004. Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: a pragmatic population-based 3-year intervention study. *Journal of bone and mineral research*, 19(3), pp.370–378.
- Larsen, T. et al., 2012. Effect of cholecalciferol supplementation during winter months in patients with hypertension: a randomized, placebo-controlled trial. *American journal of hypertension*, 25, pp.1215–1222.

- Leslie, W.D., Bernstein, C.N. & Leboff, M.S., 2003. AGA technical review on osteoporosis in Hepatic disorders. *Gastroenterology*, 125, pp.941–966.
- Li, Y.C. et al., 2002. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *Journal of Clinical Investigation*, 110(2), pp.229–238.
- Li, Y.C., 2011. Molecular mechanism of vitamin D in the cardiovascular system. *Journal of Investigative Medicine*, 59(6), pp.868–871.
- Lichtinghagen, R. et al., 2013. The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: Normal values, influence factors and proposed cut-off values. *Journal of Hepatology*, 59(2), pp.236–242. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.016>.
- Liu, P.T. et al., 2006. Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-Mediated Human Antimicrobial Response. *Science*, 311, pp.1770–1773.
- Lüllmann-Rauch, R., 2009. Leber. In *Taschenlehrbuch Histologie*. Stuttgart: Thieme, pp. 393–406.
- MacLaughlin, J.A., Anderson, R.R. & Holick, M.F., 1982. Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin. *Science (New York, N.Y.)*, 216(4549), pp.1001–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6281884> [Accessed March 23, 2015].
- Maestro, B. et al., 2003. Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84, pp.223–230. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960076003000323>.
- Maestro, B. et al., 2002. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Cell biochemistry and function*, 20, pp.227–232.
- Malabanan, a, Veronikis, I. & Holick, M., 1998. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet*, 351, pp.805–806. Available at: <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/9519960>.
- Malham, M. et al., 2012. The effect of a single oral megadose of vitamin D provided as either ergocalciferol (D(2)) or cholecalciferol (D(3)) in alcoholic liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 24, pp.172–178. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22027703>.
- Mathieu, C. et al., 1994. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia*, 37(6), pp.552–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7926338> [Accessed February 12, 2016].
- Matsuoka, L.Y. et al., 1987. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 64(6), pp.1165–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3033008> [Accessed March 23, 2015].

- McCollum, E. et al., 1922. An Experimental Demonstration of the Existence of a Vitamin which Promotes Calcium Deposition. *Journal of Biological Chemistry*, 53, pp.293–312.
- McCollum, E.V. & Davis, M., 1913. The Necessity of certain Lipins in the Diet during Growth. *Journal of Biological Chemistry*, 15, pp.167–175.
- Mellanby, E., 1919. An experimental investigation on rickets. *Lancet*, 1, pp.407–412.
- Miroliaee, A. et al., 2010. Disturbances of parathyroid hormone-vitamin D axis in non-cholestatic chronic liver disease: A cross-sectional study. *Hepatology International*, 4, pp.634–640.
- Mitri, J. & Pittas, A.G., 2014. Vitamin D and diabetes. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*, 43(1), pp.205–232.
- Mitri, J. & Pittas, A.G., 2011. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65(9), pp.1005–1015.
- Nagpal, S., Na, S. & Rathnachalam, R., 2005. Noncalcemic Actions of Vitamin D Receptor Ligands. *Endocrine Reviews*, 26(5), pp.662–687. Available at: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/er.2004-0002>.
- Penna, G. et al., 2005. Expression of the inhibitory receptor ILT3 on dendritic cells is dispensable for induction of CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. *Blood*, 106(10), pp.3490–3497.
- Petta, S. et al., 2010. Low vitamin d serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*, 51, pp.1158–1167.
- Pilz, S. et al., 2008. Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 93(October), pp.3927–3935.
- Pilz, S. et al., 2015. Effects of Vitamin D on Blood Pressure and Cardiovascular Risk Factors A Randomized Controlled Trial. *Hypertension*.
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Drechsler, C., Ritz, E., et al., 2010. Parathyroid hormone level is associated with mortality and cardiovascular events in patients undergoing coronary angiography. *European Heart Journal*, 31, pp.1591–1598.
- Pilz, S., Gaksch, M., et al., 2013. The role of vitamin D deficiency in cardiovascular disease: Where do we stand in 2013? *Archives of Toxicology*, 87, pp.2083–2103.
- Pilz, S., Kienreich, K., et al., 2013. Vitamin D and cancer mortality: Systematic review of prospective epidemiological studies. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13(2), pp.107–117. Available at: http://www.researchgate.net/publication/232698372_Vitamin_D_and_Cancer_Mortality

- ty_Systematic_Review_of_Prospective_Epidemiological_Studies\http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed11&NEWS=N&AN=2013442788.
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Drechsler, C., Dekker, J.M., et al., 2010. Vitamin D deficiency and myocardial diseases. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54, pp.1103–1113.
- Pittas, A.G. et al., 2007. The Effects of Calcium and Vitamin D Supplementation on Blood Glucose and Markers of Inflammation in Nondiabetic Adults. *Diabetes Care*, 30(4), pp.980 – 986. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17277040>.
- Pludowski, P. et al., 2013. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews*, 12, pp.976–989. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2013.02.004>.
- Pointon, J.J., Francis, M.J. & Smith, R., 1979. Effect of vitamin D deficiency on sarcoplasmic reticulum function and troponin C concentration of rabbit skeletal muscle. *Clinical science (London, England : 1979)*, 57(3), pp.257–63. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/113165> [Accessed March 23, 2015].
- Prietl, B. et al., 2010. Vitamin D supplementation and regulatory T cells in apparently healthy subjects: vitamin D treatment for autoimmune diseases? *The Israel Medical Association journal : IMAJ*, 12, pp.136–139.
- Putz-Bankuti, C. et al., 2012. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver international*, 32(7), pp.845–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22222013>.
- Racanelli, V. & Rehmann, B., 2006. The liver as an immunological organ. *Hepatology*, 43(2), pp.54–62.
- Rajakumar, K., 2003. Vitamin D, Cod-Liver Oil, Sunlight, and Rickets: A Historical Perspective. *Pediatrics*, 112(2), pp.132–135.
- Rosenberg, W.M.C. et al., 2004. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: A cohort study. *Gastroenterology*, 127, pp.1704–1713. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508504015537>.
- Rostami, S. & Parsian, H., 2013. Hyaluronic Acid: From Biochemical Characteristics to its Clinical Translation in Assessment of Liver Fibrosis. *Hepatitis Monthly*, 13(12), pp.1–9. Available at: http://www.hepatmon.com/?page=article&article_id=13787.
- Roth, C.L. et al., 2012. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates nonalcoholic fatty liver disease and increases hepatic resistin and toll-like receptor activation. *Hepatology*, 55, pp.1103–1111. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.24737>.
- Sadeghi, K. et al., 2006. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J*

- Immunol*, 36, pp.361–370. Available at:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16402404.
- Saha, H., 1994. Calcium and vitamin D homeostasis in patients with heavy proteinuria. *Clinical nephrology*, 41(5), pp.290–6. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8050209> [Accessed March 23, 2015].
- Savic, Z. et al., 2014. Vitamin D status, bone metabolism and bone mass in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Bratisl Lek Listy*, 115(9), pp.573–578.
- Schmidt, H., 2007. Eine faire Chance für jeden. *Deutsches Ärzteblatt international*, 104(August), p.2324.
- Schütt, C. & Bröker, B., 2009a. Was gehört zum Immunsystem? In *Grundwissen Immunologie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, pp. 2–21.
- Schütt, C. & Bröker, B., 2009b. Wie erkennen die Immunzellen ein Antigen? In *Grundwissen Immunologie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, pp. 22–34.
- Shi, H. et al., 2002. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits uncoupling protein 2 expression in human adipocytes. *FASEB journal*, 16, pp.1808–10. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12223452>.
- Silbernagl, S. & Lang, F., 2009. Leberzirrhose. In *Taschenatlas Pathophysiologie*. Stuttgart: Thieme, pp. 186–189.
- Sivanathan, V. et al., 2014. Ätiologie und Komplikationen der Leberzirrhose: Daten eines deutschen Zentrums. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 139, pp.1758–1762.
- Song, Y. et al., 2013. Blood 25-hydroxy vitamin D levels and incident type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care*, 36, pp.1422–1428.
- Stokes, C.S. et al., 2013. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver international*, 33, pp.338–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23402606>.
- Suda, T. et al., 1999. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine reviews*, 20(March), pp.345–57. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10368775>.
- Suda, T. et al., 2003. Vitamin D and bone. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(August 2002), pp.259–266.
- Suda, T., Takahashi, F. & Takahashi, N., 2012. Bone effects of vitamin D - Discrepancies between in vivo and in vitro studies. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 523(1), pp.22–29. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2011.11.011>.

- Sullivan, S.S. et al., 2005. Adolescent girls in Maine are at risk for vitamin D insufficiency. *Journal of the American Dietetic Association*, 105(6), pp.971–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15942551> [Accessed February 19, 2015].
- Takahashi, N. et al., 2014. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *BoneKEy reports*, 3(October 2013), p.495. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3944126&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Thomas, M.K. et al., 1998. Hypovitaminosis D in Medical Inpatients. *The New England Journal of Medicine*, 338, pp.777–783.
- Thompson, K.J., McKillop, I.H. & Schrum, L.W., 2011. Targeting collagen expression in alcoholic liver disease. *World journal of gastroenterology*, 17(20), pp.2473–81. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3103805&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Trang, H.M. et al., 1998. Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, pp.854–858.
- Ueno, Y. et al., 2003. In vivo administration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses the expression of RANKL mRNA in bone of thyroparathyroidectomized rats constantly infused with PTH. *Journal of Cellular Biochemistry*, 90, pp.267–277.
- Ulfing, N., 2005. Die Leber (Hepar). In *Kurzlehrbuch Histologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, p. 151.
- Vimaleswaran, K.S. et al., 2014. Association of vitamin D status with arterial blood pressure and hypertension risk: a mendelian randomisation study. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 8587(September), pp.1–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24974252>.
- Wallace, a. M. et al., 2010. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: Current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids*, 75, pp.477–488. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2010.02.012>.
- Wallace, I.R. et al., 2015. Vitamin D and Insulin Resistance. *Clinical Endocrinology*, p.n/a–n/a. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/cen.12760>.
- Wang, T.J. et al., 2008. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 117, pp.503–511.
- Webb, A.R., Kline, L. & Holick, M.F., 1988. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ synthesis in human skin. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 67(2), pp.373–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2839537> [Accessed March 23, 2015].

- Wiegand, J. & Berg, T., 2013. The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis. *Deutsches Ärzteblatt international*, 110(3), pp.85–91. Available at: <http://www.aerzteblatt.de/int/archive/article/134324/The-Etiology-Diagnosis-and-Prevention-of-Liver-Cirrhosis-Part-1-of-a-Series-on-Liver-Cirrhosis><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3583179&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Wortsman, J. et al., 2000. Original Research Communications Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, pp.690–693.
- Xing, X.K. et al., 2016. Immune function of nonparenchymal liver cells. *Genetics and Molecular Research*, 15(1), pp.1–7.
- Yamamoto, M. et al., 1984. Vitamin D deficiency and renal calcium transport in the rat. *The Journal of clinical investigation*, 74(August), pp.507–513.
- Zhou, C. et al., 2006. Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *Journal of Clinical Investigation*, 116(6), pp.1703–1712.
- Zittermann, A., 2006. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 92, pp.39–48.