

Aus der

Universitätsklinik des Saarlandes

Klinik für Innere Medizin II – Gastroenterologie und Endokrinologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med F. Lammert

**Einfluss der Vitamin D Therapie auf die Lebersteifigkeit und
die Aminotransferase-Aktivität bei Patienten mit
chronischen Lebererkrankungen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität des Saarlandes

2018

vorgelegt von

Anna König

geboren am 27.12.1990 in Marx/Russische Föderation

Tag der Promotion:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	1
ABSTRACT	3
ZUSAMMENFASSUNG	5
1. EINLEITUNG	6
1.1. CHRONISCHE LEBERERKRANKUNGEN	6
1.1.1. EPIDEMIOLOGIE	6
1.1.2. PATHOGENESE	7
1.1.3. PROGRESSIONSFAKTOREN	9
1.2. DIAGNOSTIK DER LEBERFIBROSE	10
1.2.1. LEBERBIOPSIE	10
1.2.2. BILDGEBENDE VERFAHREN ZUR FIBROSEEINSCHÄTZUNG	11
1.2.3. ELASTOGRAPHIE	11
1.2.4. SERUMMARKER	12
1.3. VITAMIN D	13
1.3.1. VITAMIN D-STOFFWECHSEL	13
1.3.2. PHYSIOLOGISCHE WIRKUNGEN	13
1.3.3. VITAMIN D REFERENZWERTE	14
1.3.4. URSACHEN DES VITAMIN D MANGELS	15
1.3.5. THERAPIEEMPFEHLUNGEN	15
1.3.6. VITAMIN D UND CHRONISCHE LEBERERKRANKUNGEN	16
1.4. ZIELSETZUNG	20
2. PATIENTEN UND METHODEN	21
2.1. PATIENTENKOLLEKTIV	21
2.2. BESTIMMUNG DER LEBERSTEIFIGKEIT MITTELS TRANSIENTER ELASTOGRAPHIE	22
2.3. ANALYSEVERFAHREN DES VITAMIN D	22
2.4. STATISTISCHE VERFAHREN	23
3. ERGEBNISSE	24
3.1. PATIENTENKOLLEKTIV	24
3.2. VERGLEICH DER UNTERGRUPPEN	27
3.3. VITAMIN D	33
3.4. LEBERSTEIFIGKEIT	36
3.5. LEBERPARAMETER	41
3.6. LABORPARAMETER	45
4. DISKUSSION	47

5. ANHANG	52
6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	54
7. TABELLENVERZEICHNIS	57
8. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	58
9. LITERATURVERZEICHNIS	59

Abstract

Patients with chronic liver disease are more likely to develop vitamin D deficiency than the general population. Vitamin D deficiency has been associated with increased liver stiffness in early stages of the disease and with higher mortality in patients with advanced cirrhosis. Increase in liver stiffness has also been associated with unfavorable outcomes. Our **aim** now was to investigate the influence of vitamin D supplementation on liver stiffness and serum liver enzymes in patients with chronic liver disease.

Patients and methods

Patients were included if they suffered from chronic liver disease and if follow-up was completed for at least one year. Patients were subdivided in patients with vitamin D deficiency who received vitamin D supplements (Group 1: 20,000 IU 25OH-cholecalciferol per week), with vitamin D deficiency but without any supplements (Group 2), and patients with sufficient serum vitamin D concentrations without any additional supplementation (Group 3). Liver stiffness measurements (LSM) were obtained by transient elastography, and aminotransferase activities (ALT, AST) were recorded before the start of supplementation and after one year. LSM and aminotransferase levels were compared using Wilcoxon signed-rank tests for related samples or t-tests, as appropriate.

Results

In total, we included 100 patients in groups 1 and 2. However, reflecting the generally low vitamin D levels in patients with chronic liver disease, we were only able to identify 33 patients that fulfilled the inclusion criteria for group 3. Patients who received vitamin D supplements showed a significant increase in serum vitamin D concentrations (10.60 ± 5.24 ng/ml vs. 33.01 ± 14.88 ng/ml, $p < 0.001$). Interestingly, patients with deficiency who received vitamin D showed a significant ($p < 0.05$) decrease in mean liver stiffness from 13.42 ± 15.99 kPa to 9.68 ± 7.83 kPa, whereas in groups 2 and 3 no significant changes were detected. Aminotransferase activities improved in group 1 (ALT: 66.08 ± 73.35 U/l vs. 54.05 ± 58.51 U/L, $p < 0.05$;) and in group 2 (ALT: 67.08 ± 80.89 vs. 49.14 ± 49.65 U/L, $p < 0.01$;) and the levels remained unchanged in group 3. To exclude the influence of HCV treatment, we analysed HCV and non-HCV patients separately. As expected patients on antiviral therapy

showed a significant improvement of ALT activities in groups 1 and 2, however no differences in LSM changes could be detected between patients on and off treatment.

Conclusions

In this analysis we found evidence for positive effects of vitamin D supplements on liver stiffness - but not surrogate markers of hepatic inflammation - across patients with chronic liver disease. Whether the decrease in liver stiffness is an independent favourable factor for disease outcome has to be evaluated in a prospective cohort study.

Zusammenfassung

Die Leberfibrose stellt die gemeinsame Endstrecke aller chronischen Lebererkrankungen dar. Viele der betroffenen Patienten weisen im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung einen Vitamin D-Mangel auf. Der Mangel wurde sowohl mit einer erhöhten Lebersteifigkeit bereits in früheren Erkrankungsstadien als auch mit einer erhöhten Mortalitätsrate bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Zirrhose assoziiert. Diese Arbeit beschäftigt sich vor allem mit der Rolle des Vitamin D als wichtigem Faktor bei der Fibroseprogression und der Therapie. Wir untersuchten den Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung auf die Lebersteifigkeit, gemessen mittels Transienter Elastographie, und auf die Leberenzyme bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen.

Unsere Analyse zeigte bei Patienten mit Mangel eine, im Gegensatz zu Vergleichsgruppen, signifikante Abnahme der mittleren Lebersteifigkeit von $13,4 \pm 16,0$ kPa auf $9,7 \pm 7,8$ kPa ($p < 0,05$) unter einer Vitamin D-Supplementierung. Ob die Abnahme der Lebersteifigkeit ein unabhängiger Faktor für den Krankheitsverlauf ist, muss in einer prospektiven Kohortenstudie evaluiert werden. Ein spezifischer Einfluss auf die Transaminasen konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Diese wiesen in mehreren Gruppen eine signifikante Veränderung auf, wobei wir den Einfluss einer Hepatitis C Behandlung als Störfaktor für möglich erachten.

1. Einleitung

1.1. Chronische Lebererkrankungen

Die gemeinsame Endstrecke aller chronischen Lebererkrankungen bildet die Leberfibrose, die zu einem fortschreitenden Umbau der Leberarchitektur durch die Einlagerung extrazellulärer Matrixproteine führt und im Endstadium als Leberzirrhose bezeichnet wird. In den westlichen Industrieländern spielen vor allem die alkoholische Leberschädigung und die chronischen Virushepatitiden B und C eine große Rolle für die Entstehung der Leberzirrhose. Allerdings ist mit der Einführung neuer wirksamen Therapien gegen das Hepatitis C Virus mit einem Rückgang der HCV - assoziierten Leberzirrhose zu rechnen.

Die Progression der Fibrose bis hin zur Zirrhose ist individuell unterschiedlich und wird von genetischen Faktoren und Umweltfaktoren mitbeeinflusst.¹ Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Auswirkung von Vitamin D auf die Lebersteifigkeit als Marker für die Leberfibrose.

1.1.1. Epidemiologie

In Europa macht die Leberzirrhose einen Anteil von 2 % der Gesamtmortalität der Population aus.^{2, 3} Laut Schätzungen des statistischen Bundesamtes sind allein in Deutschland 4 bis 5 Millionen Menschen an einer Lebererkrankung erkrankt.⁴ In der Todesursachenstatistik aus dem Jahr 2004 finden sich die Lebererkrankungen auf Platz zehn der häufigsten Todesursachen beim Mann.⁵ Im Jahr 2015 sind in Deutschland 9.964 Männer und 5.226 Frauen an einer Lebererkrankung gestorben (ICD-10 Diagnosen K70-77). Dabei steigt die Mortalität mit dem Alter an.⁶ Die Ursachen der Zirrhoseentstehung sind sehr vielfältig. Erhöhter Alkoholkonsum stellt die häufigste Ursache für die Entwicklung einer Leberzirrhose dar.² Die Anzahl der Erwachsenen mit einer durch Alkohol verursachten Lebererkrankung wird in Deutschland auf 2,0 bis 3,2 Mio. geschätzt, von denen 80% Männer sind. Eine Alkoholhepatitis bzw. -zirrhose besteht bei 0,6 bis 1 Mio. der Betroffenen⁴ Die zweithäufigste Ursache sind die viralen Hepatitiden. In der europäischen Bevölkerung sind 0,5-0,7% von einem Hepatitis B Virus und 0,13-3,29% von einem Hepatitis C Virus betroffen.² In Deutschland sind etwa 0,3-0,4% Hbs-Ag-positiv, die Prävalenz für HCV liegt bei ca. 0,3%.⁷ Fettlebererkrankungen der Leber nehmen an Häufigkeit zu und sind zunehmend ein Risikofaktor für die Entstehung einer Leberzirrhose. Die Prävalenz der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (non-alcoholic fatty liver disease = NAFLD) in Europa beträgt bis zu

50%.² Darüber hinaus können weitere, seltene immunologische Erkrankungen, wie die Autoimmunhepatitis, die primär biliäre Cholangitis (PBC) und die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) sowie Speichererkrankungen wie die Hämochromatose oder der Morbus Wilson zur Entstehung einer Leberzirrhose führen.²

1.1.2. Pathogenese

Die Leberfibrose ist die einheitliche Antwort des Lebergewebes auf eine dauerhafte Schädigung.^{8, 9} Kennzeichnend ist dabei die Ausbildung bindegewebiger Septen, die im finalen Stadium, der Zirrhose, die Läppchenarchitektur komplett zerstören.^{1, 10} Dabei lagern sich vermehrt extrazelluläre Matrixproteine ab und bilden ein faseriges Narbengewebe, welches in Form von Knötchen die Leberarchitektur bestimmt.¹ Funktionell zeichnet sich die Leberzirrhose durch einen fortschreitenden Verlust der Leberfunktion aus. Das Gleichgewicht zwischen Bindegewebsproduktion und Bindegewebsabbau ist in Richtung der Synthese verschoben. Die Matrixdegradation ist, im Vergleich zur Matrixsynthese, vermindert. Dabei ist auch die Zusammensetzung des Bindegewebes verändert, denn einige Matrixbestandteile, wie Kollagen Typ I und III, sind häufiger vertreten als andere.^{1, 11}

Die extrazelluläre Matrix (EZM) der gesunden Leber ist aus Kollagenen, Glycosaminoglycanen, Proteoglycanen und strukturellen Glykoproteinen zusammengesetzt. Im Rahmen der Fibrogenese werden die Bindegewebsproteine in abnormer Zusammensetzung im Disse-Raum zwischen den Hepatozyten und den Sinusendothelien vermehrt abgelagert.¹²⁻¹⁴ In der Anfangsphase der Fibrosierung geht die Ablagerung von Proteinen der extrazellulären Matrix im Perisinusoidalraum mit einer Änderungen der Diffusionsstrecke und folglich auch der Stoffwechselfunktion des Lebergewebes einher.^{15, 16} Der Prozess der Fibrogenese erinnert an die Grundmechanismen der Wundheilung.^{1, 12} Nach einer inflammatorischen Reaktion, welche durch eine schädigende Noxe hervorgerufen wird, kommt es zur Nekrose und Apoptose der parenchymatösen Zellen. Dieser Zellerfall führt initial zur Aktivierung des Gerinnungssystems und der Einwanderung von Monozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten, sodass das Bild einer Entzündung entsteht.^{12, 17, 18} Zudem werden die Lebermakrophagen (Kupffer Zellen), die sich an der Innenwand der Lebersinusoide befinden, aktiviert.¹⁹⁻²¹

Geschädigte Hepatozyten sezernieren zusammen mit den Immunzellen eine Vielzahl unterschiedlicher Zytokine wie platelet derived growth factor (PDGF)^{22, 23}, insulin like growth

factor-1 (IGF-1)²⁴, vascular endothelial growth factor VEGF²⁵ und vor allem transforming growth factor- β (TGF- β), den wichtigsten Modulator der Fibrogenese.^{9, 26} In einem veränderten extrazellulären Milieu führen diese Mediatoren gemeinsam mit freien Radikalen²⁷ zur Aktivierung der hepatischen Sternzelle, der Hauptzielzelle dieser Zytokine.

Die hepatische Sternzelle ist in dem subendothelialen Raum zwischen den Hepatozyten und den sinusoidalen Endothelzellen zu finden.¹²

Dabei handelt es sich um Perizyten der Leber, die früher auch Ito-Zellen oder Fettspeicherzellen genannt wurden. Sie gehören zu den nicht-parenchymatösen Zellen des Lebergewebes und stellen die Vitamin A Speicher des Körpers dar.²⁸ Außerdem sind sie an der Antigenpräsentation beteiligt²⁹, kontrollieren die Durchblutung des Sinusoidalkompartiments³⁰ und fungieren womöglich als Vorläuferzellen für Leberepithel- und -endothelzellen.³¹

Die Umwandlung der Sternzelle in eine bindegewebsmatrixproduzierende Zelle (Myofibroblast) ist der entscheidende Schritt der Fibrogenese und macht die HSC zum Hauptproduzenten der EZM in der Leber.^{8, 32, 33} Bereits in den achtziger Jahren wurde entdeckt, dass die hepatischen Sternzellen die wichtigsten Kollagenproduzenten der normalen Rattenleber waren.³⁴ Die Aktivierung der ruhenden Sternzelle zieht mehrere charakteristische Schritte nach sich. Es kommt zu vermehrten Proliferation der Sternzellen, die vor allem durch PDGF getriggert wird,²³ und zur Chemotaxis, wodurch sich die aktivierten Sternzellen vermehrt in der geschädigten Region anreichern.^{33, 35} Die Fibrogenese basiert nicht nur auf der erhöhten Zahl der aktivierten Sternzellen, sondern auch auf der verstärkten Matrixproduktion pro Zelle.²⁸ Die durch sie bedingte verstärkte Kontraktilität könnte zur Erhöhung des portalen Widerstandes beitragen.^{30, 36, 37} Während nach einem einmaligen toxischem Ereignis die hepatische Sternzelle den Weg der Apoptose geht und die Leberstruktur erhalten bleibt, wird bei einer chronischen Schädigung der programmierte Zelltod durch die veränderte Matrix und durch lösliche Faktoren wie TNF- α und IGF-1 gehemmt.³⁸ Außerdem entsteht ein Circulus virtuosus, bei dem sich die inflammatorischen und fibrogenetischen Stimuli gegenseitig verstärken.³⁹

Die verminderte Matrixdegradation basiert sowohl auf einer Hemmung der Produktion von Matrixmetalloproteinasen (MMP), die normalerweise für den Matrixabbau zuständig sind, als auch auf einer Induktion von Inhibitoren der MMP-Aktivierung wie PAI-1 und von Inhibitoren der aktiven MMP wie tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) oder α 2-

Makroglobulin.⁴⁰⁻⁴² Hierbei nehmen die MMPs eine ambivalente Rolle bei der Entstehung der Fibrose ein. Während die Expression von MMP3 und MMP 13 in frühen Stadien dazu dient, die Matrix zu degradieren, um Platz für neusynthetisierte extrazelluläre Matrix zu schaffen, wird in einem späteren Stadium über die Aktivierung der MMP2 die normale Lebermatrix abgebaut und das angehäuften fibrilläre Kollagen bleibt erhalten.⁴³

An der Bindegewebssynthese sind neben den hepatischen Sternzellen wahrscheinlich auch vielen andere Zellen beteiligt. Einige Studien zeigen, dass portale Fibroblasten⁴⁴ und zirkulierende Fibrozyten⁴⁵ zur Fibrogenese beitragen.

1.1.3. Progressionsfaktoren

Epidemiologische Studien konnten eine Reihe von Faktoren identifizieren, die das Risiko eines raschen Fortschreitens chronischer Lebererkrankung deutlich erhöhen. Neben erkrankungsspezifischen Risikofaktoren lassen sich allgemeine Risikofaktoren erkennen, die bei fast allen Lebererkrankungen zu einem rascheren Progress der Leberfibrose führen. Diese sind unter anderem Übergewicht und Diabetes mellitus.⁴⁶⁻⁴⁹ Daneben lassen sich spezifische Risikofaktoren identifizieren, die nur bei einer bestimmten Ätiologie das Risiko erhöhen. Während bei einer alkoholischen Genese das weibliche Geschlecht mehr risikobehaftet ist,⁴⁷ führen bei der chronischen Hepatitis C das männliche Geschlecht, eine HIV-Koinfektion und ein moderater Alkoholkonsum zu einem erhöhten Zirrhoserisiko.^{49, 50} Im Falle der NAFLD zählen neben den allgemeinen Risiken auch Hypertonie und Hyperlipidämie zu den Progressionsfaktoren.⁴⁶

Auch genetische Faktoren spielen bei der Entwicklung der Fibrose eine Schlüsselrolle.⁵¹ Es wurden zahlreiche Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) identifiziert, die mit einer Fibroseprogression assoziiert sind. Dies erklärt auch einen Teil der unterschiedlichen Verlaufsformen trotz gleicher Ätiologie der Erkrankung. Mit Hilfe der SNPs können in der Zukunft die Erstellung eines individuellen Risikoprofils, unter gleichzeitiger Betrachtung der extrinsischen Risikofaktoren, möglich sein.^{52, 53}

Die genetisch vermittelten Risiken sind im Allgemeinen jedoch nicht sehr hoch. So ist die Odds ratio des genetischen Markers, der mit der Leberfibrose assoziiert ist, selten höher als 2-3 und der Genotyp p. 148M/M der Triglyzeridhydrolase PNPLA3 (Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3) der mit einem erhöhten Risiko verbunden ist, ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) zu entwickeln, stellt sowohl für die alkoholische als

auch für die nicht alkoholische Fettlebererkrankung eine wichtige Ausnahme mit klinischer Relevanz dar.^{54, 55}

1.2. Diagnostik der Leberfibrose

1.2.1. Leberbiopsie

Die Leberbiopsie gilt derzeit als der Goldstandard zur Diagnosestellung und Verlaufsbeurteilung einer Lebererkrankung. Die Biopsie erfolgt perkutan, alternativ sind auch ein laparoskopischer oder ein transjugulärer Zugang möglich.^{56, 57} Die histologische Untersuchung ermöglicht eine Aussage über den Schweregrad der entzündlichen Aktivität (Grading) und das Staging der Fibrose.^{58, 59} Die Quantifizierung ist anhand verschiedener Scoring-Systeme wie Desmet und Scheuer, Batts und Ludwig, Knodell oder METAVIR möglich.⁶⁰ Allerdings sind manche Scoring-Systeme nur bei speziellen Ätiologien evaluiert. So ist insbesondere der METAVIR Score bei der chronischen Hepatitis C- Infektion etabliert worden. Im deutschsprachigen Raum kommt häufig der Score von Desmet und Scheuer zur Anwendung.⁶¹⁻⁶⁵ Das Ausmaß der entzündlichen Aktivität wird bei diesem Score in vier Stadien eingeteilt (minimal, mild, mäßig, schwer) und die Fibrose mit fünf Stadien von F0 (keine Fibrose) bis F4 (Zirrhose) beschrieben.⁶³

Für eine sachgemäße Beurteilung ist eine ausreichende Biopsiegröße von 20-25 mm notwendig, um möglichst viele Portalfelder (mindestens 11) zu erfassen.^{66, 67} Da es sich bei der Probe nur um einen geringen Ausschnitt der gesamten Leber handelt, ist die eindeutige Einschätzung des genaueren Fibrorestadiums erschwert. Die Aussagekraft kann unter einem Stichprobenfehler (sampling error) leiden, in dem der Befund der Gewebeprobe aus dem beispielsweise linken Leberlappen nicht mit der Histologie des rechten übereinstimmt.^{68, 69} Auch die Variabilität zwischen verschiedenen Untersuchern darf nicht vernachlässigt werden.^{70, 71}

Bei der perkutanen Leberpunktion muss man, neben den Unannehmlichkeiten für den Patienten, auch mit, wenn auch seltenen, Komplikationen rechnen.^{72, 73} Vor allem treten Punktionsschmerzen und geringe Nachblutungen auf. Schwerwiegende Komplikationen sind allerdings seltener. Das Blutungsrisiko wird mit 0,06 bis 1,7 % und die Letalität mit 0,001 bis 0,003 % angegeben⁷⁴⁻⁷⁶.

Da die Leberbiopsie sich aus den oben genannten Gründen nicht beliebig oft wiederholen lässt, wird verstärkt nach alternativen, nicht invasiven Möglichkeiten zur Leberdiagnostik

gesucht. Dazu zählen neben bildgebenden Verfahren (Sonographie, Computertomographie, Magnetresonanztomographie) auch Abschätzungen der Lebersteifigkeit (ultraschallbasierte Elastographie, MR-Elastographie) aber auch serologische Fibrosemarker, die über eine Blutentnahme die Leberfibrose ermöglichen sollen.

1.2.2. Bildgebende Verfahren zur Fibroseinschätzung

Im Rahmen der Leberuntersuchung stehen auch bildgebende Verfahren zur Verfügung. Neben der herkömmlichen Darstellung mittels Sonographie finden die Magnetresonanztomographie (MRT) und die Computertomographie (CT) Verwendung. Allerdings kommen sie in der Routinediagnostik aufgrund der hohen Kosten und der Strahlung nicht regelhaft zur Anwendung.⁷⁷ CT und MRT bleiben jedoch vor allem in der HCC Diagnostik von Bedeutung.⁷⁸

1.2.3. Elastographie

Seit einigen Jahren stehen verschiedene Techniken zur ultraschallbasierten Abschätzung der Lebersteifigkeit zur Verfügung. Dazu zählen unter anderem die transiente Elastographie, Acoustic Radiation Force Imaging (ARFI) und die Scherwellenelastographie. Alle Verfahren basieren auf Ultraschalltechniken, die zur Steifigkeitsabschätzung eingesetzt werden.⁷⁹ Die Lebersteifigkeit korreliert mit dem Ausmaß der Leberfibrose und kann somit als nicht-invasives Verfahren zur Abschätzung des fibrotischen Umbaus der Leber dienen.

Da die transiente Elastographie mittels Fibroscan® weit verbreitet ist, die größte Datenbasis hat und in dieser Studie auch als Phänotypisierungsinstrument verwendet wird, sollen die vorliegenden Daten zu der Methode im Folgenden detaillierter dargestellt werden.

Die transiente Elastographie mit der Fibroscan Technik ist schon seit mehr als 10 Jahren in der Klinik etabliert und für verschiedene Lebererkrankungen ausführlich validiert worden.⁸⁰

Sie ist eine kostengünstige und nicht invasive Methode zur Messung der Gewebselastizität. Außerdem ist sie schnell und beliebig oft durchführbar.^{81, 82} Der FibroScan® ist inzwischen eine Untersuchungsmethode in der Routinediagnostik der Leberfibrose in hepatologisch ausgerichteten Zentren und Praxen.⁸³ Eine Anwendung bei Kindern ist ebenfalls möglich.⁸⁴

Dieses Verfahren weist für die Diagnose einer Leberzirrhose sowohl eine hohe Sensitivität als auch Spezifität auf. Allerdings sind die Ergebnisse für frühe Fibrosestadien (Sensitivität 56-67%) und insbesondere die Trennschärfe zwischen den Fibrosestadien unzureichend, sodass nicht mit hinreichender Sicherheit zwischen den Fibrosestadien F1 und F2 unterschieden

werden kann, da die Messerwerte überlappen. Umgekehrt muss aber die Diagnose einer signifikanten Fibrose / Zirrhose mittels Fibroscan nicht mehr durch eine Biopsie bestätigt werden.⁸⁵ Die Intra- und Interobserver- Variabilität beeinträchtigt im Vergleich zur Leberbiopsie die Methode nicht.⁸⁶ Im Allgemeinen wird das Messergebnis durch Geschlecht und BMI beeinflusst. Frauen weisen dabei durchschnittlich niedrigere Werte als Männer auf.⁸⁷ Schwierigkeiten bei der Durchführung ergeben sich bei adipösen Patienten, aber auch bei Patienten mit Aszites oder mit schmalen Interkostalräumen.⁸² Allerdings wurde seit der Einführung der XL-Sonde die Untersuchung bei adipösen Patienten verbessert.⁸⁸ Da es zur geringfügig höheren Werten nach der Nahrungsaufnahme kommen kann, wird empfohlen, die Untersuchung nüchtern durchzuführen.⁸⁹ Weitere Fehlerquellen stellen beispielsweise eine Steatose, extrahepatische Cholestase, Amyloidose oder Herzinsuffizienz dar.^{90, 91} Auch bei einem akuten Leberschaden kann es zu erhöhten Werten bei der Steifigkeitsmessung kommen.⁹²

1.2.4. Serummarker

Zur Abschätzung des Fibrorestadiums können auch so genannte direkte und indirekte Serummarker der Leberfibrose genutzt werden. Zu den indirekten Parametern zählt man beispielsweise das Bilirubin und die International Normalized Ratio (INR). Direkte Marker sind dagegen Proteine wie Kollagen, die direkt an den Umbauprozessen der extrazellulären Matrix während der Fibrogenese beteiligt sind. Leider sind diese Werte auch bei anderen Erkrankungen, die mit einer Organfibrose einhergehen, erhöht und somit nicht leberspezifisch.⁹³⁻⁹⁵ Serummarker können als singuläre Marker oder in Kombination in Form von Scores zur Einschätzung der Leberfibrose verwendet werden. Zu den häufig verwendeten Scores mit einer Sensitivität von 80% und einer Spezifität von 50% für die Detektion einer signifikanten Fibrose gehört der „AST to platelet ratio index“ (APRI), der aus AST (U/l) und der Thrombozytenzahl ($10^9/l$) berechnet wird. Durch die Anwendung kann ungefähr einem Drittel der Patienten eine Biopsie erspart bleiben, da der Index vor allem eine signifikante Fibrose (Grenzwert 0,5) oder eine Zirrhose (Grenzwert 1,0) wahrscheinlich macht oder ausschließen kann.^{96, 97} Eine Alternative stellt der Fibrotest dar, mit dem die Fibrose in mild (analog METAVIR F0/F1), intermediär (analog METAVIR F2/3) und schwer (analog METAVIR F4) eingeteilt werden kann, wobei dieser Score für die Detektion einer fortgeschrittenen Fibrose eher geeignet ist als für milde Fibrorestufen.^{98, 99} Insgesamt liefern

die Serummarker zwar akzeptable Ergebnisse, können die Leberbiopsie jedoch nur zum Teil ersetzen.¹⁰⁰

1.3. Vitamin D

Diese Dissertation beschäftigt sich mit der Rolle des Vitamin D als Einflussfaktor auf die Leberfibrose. Daher wird im Folgenden vermehrt auf den Vitamin D Haushalt und seine Bedeutung für die chronische Lebererkrankungen eingegangen.

1.3.1. Vitamin D-Stoffwechsel

Normalerweise wird Vitamin D beim Menschen in der Haut produziert. Dort entsteht in einem photochemischen Prozess aus ultraviolettem Licht und dem Steroid 7-Dehydro-Cholesterin das Prävitamin D₃, welches dann zu Vitamin D₃ isomerisiert wird.¹⁰¹ Anschließend wird das Vitamin D, an das Vitamin D bindende Protein (DBP) gebunden, zur Leber transportiert.¹⁰¹ In der Leber wird das Vitamin D₃ enzymatisch hydroxyliert und liegt nun als 25-OH-D₃ (25-Hydroxycholecalciferol, Calcidiol) vor.¹⁰²

Bisher wurde über fünf mikrosomale Enzyme und über ein mitochondriales Cytochrom P450 mit 25-Hydroxylase-Aktivität berichtet.¹⁰³ Von allen Enzymen ist das CYP2R1 hauptsächlich an der 25-Hydroxylierung des Vitamin D beteiligt.¹⁰⁴ Es konnte gezeigt werden, dass der 25-OH-D₃ Spiegel proportional zur Vitamin D₃-Synthese der Haut ist. Aus diesem Grund lässt sich der 25-OH-D₃-Plasmaspiegel gut als Indikator des Vitamin D Status nutzen.¹⁰⁵

Das 25-OH-D₃ erfährt dann in der Niere eine Hydroxylierung am C₁-Atom, wodurch der biologisch aktive Vitamin D-Metabolit 1,25-(OH)₂-D₃ (1,25-Dihydroxycholecalciferol, 1,25-Dihydroxivitamin-D₃, Calcitriol) entsteht.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Das dafür zuständige Enzym ist die 1-Alpha-Hydroxylase (CYP27B1).¹⁰⁹ Diese wird streng reguliert. Zu den wichtigsten regulatorischen Faktoren gehören: Calcitriol, Serum-Kalzium, Serum-Phosphat, Parathormon (PTH) und der Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (FGF23).¹¹⁰⁻¹¹³

1.3.2. Physiologische Wirkungen

Die biologisch aktive Form des Vitamin D, das 1,25-Dihydroxycholecalciferol, wirkt klassischerweise intrazellulär wie ein Steroidhormon, indem es an den Vitamin D Rezeptor (VDR) bindet und unter Komplexbildung mit einem Rezeptor der Retinsäure-Rezeptor-Familie (RXR) die Transkription im Zellkern verändert.¹¹⁴⁻¹¹⁶ Während die Wirkungen über einen intrazellulären Rezeptor meist erst nach Stunden eintreten, kann Vitamin D über einen membranständigen Rezeptor auch schnelle Effekte innerhalb weniger Minuten

vermitteln. Dazu gehört unter anderem die intestinale Kalziumresorption unmittelbar nach einer 1,25-(OH)₂-D₃ Gabe oder die Stimulation der Phosphaufnahme durch die Enterozyten.^{114, 117-119}

Die Expression des intrazellulären VDR wurde bereits in vielen unterschiedlichen Geweben dokumentiert.^{115, 120} Neben Knochen, Niere und Nebenschilddrüse, die für die klassischen Wirkungen des Vitamin D zuständig sind, konnte seine Existenz auch in der Brustdrüse, der Bauchspeicheldrüse und in den Keratinozyten und Makrophagen nachgewiesen werden.¹²¹⁻¹²⁶

Zu seinen wichtigsten und bekanntesten Funktionen gehören die Regulation der Kalziumkonzentration im Blut und die Stabilisierung des Knochenstoffwechsels, wobei der Darm, die Knochen, die Nieren und die Nebenschilddrüsen die Zielorgane darstellen.^{127, 128}

Des Weiteren ist Vitamin D auch an der antiproliferativen Modulation und Differenzierung zahlreicher Zelltypen beteiligt. Dazu gehören die Zellen des Immunsystems, des Knochenmarks, der Haut, der Brust, der Prostata, aber auch die Muskel- und Darmzellen.¹²⁷

In diesem Rahmen wurde eine Beteiligung bei der Entstehung zahlreicher Erkrankungen wie des Diabetes mellitus, der Multiple Sklerose und der rheumatoiden Arthritis oder bei der Regulation des Blutdruckes postuliert.¹²⁹⁻¹³¹

Ferner ist Vitamin D in der Lage das angeborene und erworbene Immunsystem zu modulieren, denn fast alle Zellen einschließlich der aktivierten CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, B-Zellen, Neutrophilen und antigenpräsentierenden Zellen (APC), sowie Makrophagen und dendritische Zellen (DC) exprimieren den VDR.¹³²

1.3.3. Vitamin D Referenzwerte

Die aktuellen Empfehlungen des Institute of Medicine (IOM) der National Academies definieren die Serum 25-OH-D₃-Konzentration von 20 ng/ml als ausreichend, um den Vitamin D Bedarf zu erfüllen.¹³³ Vitamin-D-Spiegel unter 30 ng/ml führen jedoch zum Anstieg des Parathormons.¹³⁴ Veugelers und Ekwaru¹³⁵ konnten zeigen, dass die IOM aufgrund eines statistischen Fehlers eine ausreichende Vitamin D Versorgung unterschätzten. In einer großen Metaanalyse wurden Serum 25-OH-D₃-Spiegel ≤ 30 ng/mL (≤ 75 nmol/l) im Vergleich zu einer Konzentration von > 30 ng/ml) mit einer signifikant (p <0,01) erhöhten Gesamtmortalität assoziiert.¹³⁶

Die meisten Experten empfehlen heute einen Serumspiegel von mindestens 30 ng/ml (75 nmol/l).¹³⁷ Laut der Endocrine Society Clinical Practice Guideline (ESCPG) ist ein Screening

der Patienten mit einem erhöhten Risiko für einen Vitamin D Mangel sinnvoll, damit diese durch Supplementation ein Serumspiegel über 30 ng/ml erreichen.¹³⁸

1.3.4. Ursachen des Vitamin D Mangels

Die Hauptquelle des Vitamin D ist die natürliche Sonnenlichtexposition der Haut.^{139, 140} Eine Sonnenlichtexposition für fünf bis dreißig Minuten zweimal wöchentlich (zwischen 10 und 15 Uhr) ist in der Regel ausreichend.¹³⁹ Allerdings führt eine Sonnenlichtexposition während der Wintermonate bei Personen, die über oder unterhalb des 33 Breitengrades wohnen, zu keiner ausreichenden Vitamin D-Produktion in der Haut. Außerdem gibt es noch weitere Faktoren, wie eine verstärkte Hautpigmentierung, Alter über 65 Jahre und die Anwendung von Sonnenschutzmitteln, die die Vitamin D-Produktion in der Haut reduzieren.^{138, 139, 141, 142} Die mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D-Menge spielt eine untergeordnete Rolle, da nur sehr wenige Lebensmittel reich an Vitamin D sind. Daher stellt die ungenügende Sonneneinstrahlung die Hauptursache des Vitamin D-Mangels dar.¹⁴³

Es gibt noch weitere Ursachen für den Vitamin D-Mangel. Beispielsweise sind übergewichtige Patienten oft nicht in der Lage das Vitamin D aus seinem Fettdepotspeicher in den Kreislauf freizusetzen. Die inverse Korrelation zwischen dem Serumspiegel und dem Body-Mass-Index (BMI) stützt den Zusammenhang zwischen Vitamin D- Mangel und Adipositas.¹⁴⁴ Andere Patienten scheiden aufgrund eines nephrotischen Syndroms vermehrt das an das DBP gebundene 25-OH-D₃ mit dem Urin aus.¹³⁹ Lymphome, Erkrankungen mit chronischer Granulombildung und der primäre Hyperparathyreoidismus sind mit einem erhöhten Risiko für einen Vitamin D-Mangel verbunden. Zu nennen sind auch zahlreiche Medikamente, die den Abbau des 25-OH-D₃ und 1,25-(OH)₂-D₃ erhöhen. Dazu gehören unter anderem Antikonvulsiva oder antiretrovirale Medikamente.^{139, 145}

1.3.5. Therapieempfehlungen

Die von der Gesellschaft für die Endokrinologie herausgegebenen Leitlinien zur Behandlung der Risikopatienten empfehlen für Erwachsene und auch für schwangere oder stillende Frauen 1500 - 2000 IE Vitamin D täglich, um den Serum 25-OH-D₃-Spiegel auf über 30 ng/ml zu erhöhen. Eine tägliche Aufnahmemenge von 10000 IE wird von Erwachsenen ab 18 Jahren toleriert. Erwachsene Patienten mit einem Vitamin D Mangel sollten zunächst für 8 Wochen mit 50.000 IE Vitamin D₂ (oder Vitamin D₃) einmal wöchentlich behandelt werden, um einen 25-OH-D₃-Serumspiegel über 30 ng/ml zu erreichen. Anschließend sollte eine

Erhaltungstherapie mit 1500 - 2000 IE pro Tag erfolgen. Eine zwei- bis dreifach höhere sowohl Initial- als auch Erhaltungsdosis sollten übergewichtige Patienten und Patienten mit einem Malabsorptionssyndrom oder einem durch Medikamente gestörten Vitamin D-Metabolismus erhalten.^{138, 146}

In Bezug auf die chronischen Lebererkrankungen empfiehlt die British Society of Gastroenterology eine tägliche Gabe von 1 g Kalzium und 800 IE Vitamin D.¹⁴⁷ Die European Association for the Study of the Liver empfiehlt Patienten mit einer cholestatischen Lebererkrankung ebenfalls eine tägliche Supplementation von 1 - 1,2 g Kalzium und 400 - 800 IE Vitamin D.¹⁴⁸ Die Substitution von Leberkranken mit Vitamin D ist auch effektiv, so konnten Rode et al.¹⁴⁹ zeigen, dass die Substitution von Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung zu einem adäquaten Anstieg der Vitamin D-Spiegel führt.

1.3.6. Vitamin D und chronische Lebererkrankungen

Die Leber ist ein wichtiger Bestandteil des Vitamin D-Metabolismus. Das vor allem mit Hilfe der UV-Strahlung synthetisierte Vitamin D₃ wird in der Leber zu 25-Hydroxyvitamin-D₃ umgewandelt.¹⁰² Demnach üben Veränderungen und Erkrankungen der Leber einen Einfluss auf den Vitamin D-Stoffwechsel aus.¹⁵⁰ Es ist bereits bekannt, dass der Vitamin D-Mangel eine wichtige Rolle bei chronischen Lebererkrankungen spielt. Mehr als 90% der Leberpatienten weisen einen Vitamin D-Mangel auf, von denen ein Drittel schwer ausgeprägt ist.^{151, 152} Besonders Patienten im Child-Pugh-Stadium C haben signifikant verminderte 25-OH-D₃-Spiegel. Dies zeigt eine negative Korrelation zwischen der Schwere der Lebererkrankung und der Vitamin D-Konzentration im Serum.¹⁵²⁻¹⁵⁴ Ähnliche Ergebnisse im Hinblick auf das Fibroestadium wurden auch bei NAFLD-Patienten beschrieben.¹⁵⁵ Allerdings ist es noch nicht genau geklärt, ob die Lebererkrankung den Vitaminmangel verursacht oder der Mangel die Erkrankung begünstigt.

Ein möglicher Mechanismus für den Vitamin D Mangel bei Leberzirrhosepatienten ist die Beeinträchtigung der 25-Hydroxylierung in der Leber. Es kommt zu einer verminderten Serumkonzentration in Abhängigkeit von dem Grad der Leberschädigung.^{150, 156-158} Allerdings spricht der erneute Serumanstieg infolge einer Vitamin D Substitution für eine erhaltene Hydroxylaseaktivität.¹⁵⁹ Eine schwere Lebererkrankung verringert auch die Synthese der Trägerproteine Albumin und DBP, was eine Senkung des gesamten Vitamin D Levels zur Folge hat. In Studien wird über eine positive Korrelation zwischen den Albumin- und DBP-Spiegeln und der 25-OH-D₃ Konzentration berichtet.^{149, 160} Andererseits wird durch den

Rückgang der Trägerproteine nur der Gesamt-Vitamin D Spiegel und nicht die freie, biologisch aktive Form beeinflusst. Der ungebundene 25-OH-D₃ Anteil, der bei gesunden Patienten nur 0,03% der Gesamtkonzentration ausmacht, wird in dem Fall erhöht. Außerdem verfügt DBP über eine große Vitamin D-Bindungskapazität und die Vitamin D Metabolite nutzen nur 5% der DBP-Bindungsstellen aus. Die Leberschädigung muss folglich ausgeprägt sein, um den Vitamin D Spiegel zu beeinflussen.¹⁶⁰⁻¹⁶²

Bei cholestatischen Lebererkrankungen ist auch die externe Vitamin D Zufuhr durch die Nahrung beeinträchtigt, da die intestinale Absorption von den Gallensalzen abhängig ist.¹⁶³

Neben den modifizierbaren Risikofaktoren des Vitamin D-Mangels gibt es noch eine Reihe von Faktoren, die nicht beeinflussen werden können. Dazu gehören neben Alter oder Geschlecht auch genetische Variationen.^{138, 141, 151} In einer genomweiten Assoziationsstudie wurden Varianten in drei Genloci (*GC*; *DHCR7*; *CYP2R1*) identifiziert, die an dem Transport, der Synthese und an der Hydroxylierung des Vitamins beteiligt sind.^{164, 165} Da es von besonderem Interesse ist, ob diese genetischen Varianten auch bei Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung eine Rolle spielen, wurde in einer weiteren Studie ein Zusammenhang zwischen leicht erhöhter Lebersteifigkeit und der *DHCR7*-Variante nachgewiesen. In fortgeschrittenen Erkrankungsstadien konnte keine Assoziation gefunden werden, was auf an andere dominante Einflussfaktoren zurückgeführt wurde.¹⁶⁶

In Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass Vitamin D die Proliferation der hepatischen Sternzellen inhibiert. Diese exprimieren VDR, der durch 1,25-(OH)₂-D₃ hochreguliert wird. 1,25-(OH)₂-D₃ verhindert die Expression des Cyclin D1, eines Schlüsselfaktors im Zellzyklus der hepatischen Sternzelle. Ferner führt die 1,25-(OH)₂-D₃ Substitution zu einer Hemmung des Kollagens Ia1, sowohl in seiner Promotoraktivität, als auch in der mRNA-Expression und Proteinproduktion.¹⁶⁷ TGF (Transforming growth factor), ein multifunktionelles Zytokin, führt über die Aktivierung der SMAD Proteine (intrazelluläre Proteine) zur veränderten Transkription und damit verbundenen Induktion der profibrogenen Antwort der hepatischen Sternzelle. VDR kann diesen Signalweg in einem durch seinen Liganden aktivierten Zustand antagonisieren.¹⁶⁸ Baur et al.¹⁶⁹ zeigte, dass bei Patienten mit chronischen Hepatitis C Werte über 20 µg/L die Häufigkeit der Fibroseprogression senken können.

Es gibt Belege dafür, dass Vitamin D Entzündungsreaktionen hemmt.¹⁷⁰ Die Vitamin D Produktion in der Leber wird während einer Entzündungsreaktion durch proinflammatorische Signale der Gewebsmakrophagen beeinflusst. Sie regulieren die

Autoinduktion der *CYP27B1* Expression und die Synthese von $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$.¹⁷¹ Ferner exprimieren sowohl Makrophagen, als auch Gallengangsepithelzellen den VDR.¹⁷² Einige Studien weisen darauf hin, dass die Aktivierung des VDR durch Gallensäuren und die dadurch verstärkte Cathelicidinexpression einen Schutzmechanismus der Leber vor cholestatischer Zellschädigung darstellen.^{173, 174}

Fast alle Zellen des angeborenen und erworbenen Immunsystems einschließlich der aktivierten CD4^+ und CD8^+ T-Zellen, B-Zellen, Neutrophilen und APCs sowie Makrophagen und DCs exprimieren den VDR.¹³² So könnte Vitamin D einen positiven Effekt bei chronischen Lebererkrankungen durch Aktivierung und Regulation des angeborenen und des erworbenen Immunsystems haben. Es stimuliert die Chemotaxis, die Phagozytose und die Induktion antimikrobieller Proteine wie Cathelicidin oder β -defensin und verstärkt somit die angeborene Immunantwort.¹⁷⁵ Vitamin D beeinflusst zudem das angeborene Immunsystem durch Veränderung der Expression von Toll like Rezeptoren (TLR) und durch Hemmung der Expression multipler Zytokine wie Interleukin (IL)-6. Die TLR, die als starke Induktoren der Immunreaktionen fungieren, werden durch Vitamin D gehemmt.¹⁷⁶ Vor allem wird die TLR2, TLR4 und TLR9 Expression in Monozyten reduziert.¹⁷⁷ Die bakterielle Translokation aus dem Darm in die Leber kann durch Vitamin D ebenfalls beeinflusst werden. Kong et al.¹⁷⁸ zeigten in einer experimentellen Studie, dass durch einen Mangel an Vitamin D die Schleimhautbarriere beeinträchtigt und das Risiko einer bakteriellen Translokation erhöht wird. Das erworbene Immunsystem wird durch die Modulation der T-Zell Antwort auf Krankheitserreger beeinflusst. Sowohl die Aktivierung der naiven T-Zellen¹⁷⁹, als auch die Hemmung der Th1 Zellen, der Interferon (IFN)- γ , IL-2,-Produzenten und Makrophagenaktivatoren, ist von Vitamin D abhängig.¹⁸⁰ Die Entwicklung der Th2-Zellen, die IL-4, IL-5 und IL-10 sezernieren, wird verbessert.¹⁸¹ Zudem werden die Differenzierung und die Expansion der regulatorischen T-Zellen, die die anti-inflammatorischen Zytokine IL-10 und TGF- β sezernieren, durch Vitamin D induziert. Des Weiteren verhindert $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ die Entwicklung der Th17-Zellen, welche eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion spielen, indem die IL-6 und IL-23 Produktion durch die dendritischen Zellen gehemmt wird.¹⁸²

In einer Meta-Analyse von Zittermann et al.¹⁸³ wurde gezeigt, dass ein Mangel an Vitamin D die Sterblichkeit in der Gesamtbevölkerung erhöht. Auch bei chronischen Lebererkrankungen wurde eine inverse Assoziation zwischen Vitamin D und einer erhöhten Mortalität

beobachtet.^{154, 184} Außerdem wurde ein Zusammenhang zwischen Vitaminmangel, bakteriellen Infektionen und Fibrosestadium beschrieben.¹⁸⁵

1.4. Zielsetzung

Aus einigen Studien ist bekannt, dass Vitamin D eine wichtige Rolle bei chronischen Lebererkrankungen spielt. Die meisten dieser Patienten weisen einen Vitamin D-Mangel auf. Es wurden bereits Wirkungen des Vitamins beschrieben, die die Progression der Leberfibrose günstig beeinflussen. Das Ziel dieser Arbeit liegt darin, herauszufinden, ob eine Substitutionsbehandlung mit Vitamin D bei Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung einer Reduktion der Lebersteifigkeit und der Leberfunktionsparameter einhergeht.

2. Patienten und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Die Patienten wurden anhand einer retrospektiven Datenbankanalyse. Ziel war es, drei Gruppen mit chronisch leberkranken Patienten zu identifizieren, die einen Mangel aufwiesen (Vitamin D im Serum < 30 ng/ml) und mit Vitamin D behandelt wurden (Gruppe 1), einen Mangel aufwiesen, aber nicht substituiert wurden (Gruppe 2), und Patienten mit chronischen Lebererkrankungen, die keinen Mangel aufwiesen (Gruppe 3). Es wurde angestrebt pro Gruppe 100 Patienten einzuschließen. Ausgeschlossen wurden Patienten mit Osteoporose oder einem hepatozellulären Karzinom. Die Datenerhebung umfasste neben der Dokumentation der Lebersteifigkeitsmessungen zu den verschiedenen Zeitpunkten auch die Erhebung von Laborwerten der Leberfunktion, des Kalziumstoffwechsels sowie der Nierenfunktion und Entzündungsmarkern (GPT, GOT, γ GT, GLDH, Thrombozyten, die Leukozyten, Kalzium, Kreatinin, alkalische Phosphatase, Gesamtbilirubin, Phosphat, Albumin, INR und CRP).

Alle Daten wurden anonymisiert in die Datenbank aufgenommen, so dass nach der Datenerhebung und Eingabe kein Bezug mehr zu den Patienten hergestellt werden konnte. Es erfolgten paarweise Vergleiche der Ausgangswerte mit den Verlaufswerten nach etwa einem Jahr Beobachtungsdauer unter Therapie (Gruppe 1) oder ohne Therapie (Gruppen 2 und 3). Da nach genau 12 Monaten nicht genügend Vergleichswerte vorhanden waren, wurde der Zeitpunkt 2 auf einen Zeitraum von 9 Monate bis 17 Monate erweitert.

Die HCV-Infektion spielte eine führende Rolle der Genese der Lebererkrankungen in diesem Patientenkollektiv. Da ein Einfluss der HCV-Infektion auf die Ergebnisse erwartet wurde und es Hinweise auf den protektiven Einfluss von Vitamin D auf den Krankheitsverlauf bei chronischer Hepatitis C existierten, wurden Subgruppen gebildet. Die Kohorte wurde für die Merkmale Lebersteifigkeit und GPT in Abhängigkeit vom HCV Status analysiert. Zunächst wurden alle Patienten ohne HCV- Infektion untersucht. Anschließend wurden nur die HCV-Infizierten untersucht. Zuletzt wurden nur die HCV Patienten ausgewertet, die sich in dem Beobachtungszeitraum keiner antiviralen Therapie unterzogen hatten.

2.2. Bestimmung der Lebersteifigkeit mittels transienter Elastographie

In dieser Studie wurde der Fibroscan® als Phänotypisierungsinstrument zur Erfassung der Lebersteifigkeit verwendet. Die Messung erfolgt mit Hilfe eines speziellen Ultraschallkopfs, der mit einem Vibrationssender und einer 5-MHz-Ultraschallsonde ausgestattet ist. Die Sonde wird bei einem liegenden Patienten in einem Interkostalraum über dem rechten Leberlappen platziert. Der rechte Arm des Patienten ist dabei maximal abduziert. Über den Vibrationssender wird ein mechanischer Impuls in Richtung der Leber ausgesendet, woraufhin sich eine 50 Hertz niederfrequente Welle in der Leber ausbreitet. Die Geschwindigkeit dieser Welle wird mittels der im Sondenkopf integrierten 5-MHz-Ultraschallsonde gemessen. Nach zehn erfolgreichen Messungen wird ihr Median mit der Einheit kPa angegeben. Zur Validitätsprüfung sollte der Interquartilsabstand 30% nicht überschreiten.

Die Schallgeschwindigkeit korreliert mit der Steifigkeit der Leber und erlaubt somit den Rückschluss auf das Fibrorestadium.^{81, 82, 186} Je steifer und somit fibrotischer das Lebergewebe ist, desto schneller läuft der Impuls durch das untersuchte Gewebe. Die Grenzwerte zur Einteilung des Fibrorestadiums variieren geringfügig mit der Grunderkrankung. Patienten mit chronischer Hepatitis C wird eine Fibrose > 7,65 kPa diagnostiziert. Während man bei den HCV-Infizierten bei Werten > 13,0 kPa von einer Zirrhose ausgeht, betragen die Grenzwerte chronischer Hepatitis B 11,7 kPa und bei NAFLD 10,3 kPa. Bei einer biliären Lebererkrankung sprechen hingegen erst Werte > 17,9 kPa und bei einer alkoholischen Fettleber eine Steifigkeit > 22,7 kPa für eine Zirrhose.^{85, 186, 187}

2.3. Analyseverfahren des Vitamin D

Die Standardlaborparameter wurden retrospektiv aus den Krankenakten extrahiert. Die Bestimmung der Laborwerte erfolgte durch standardisierte Labortests im Zentrallabor des UKS.

Testprinzip: Die quantitative Bestimmung des 25-OH-D₃ im Serum erfolgt mit dem LIAISON® 25 OH Vitamin D Assay, einem direkten, kompetitiven Chemilumineszenz-Immunoassay. Im ersten Schritt bindet das 25-OH-D₃ an einen spezifischen Antikörper auf der Mikrotiterplatte. Anschließend werden Tracer (mit Isoluminolderivat markiertes 25-OH-D₃) dazugegeben und besetzen die noch übriggebliebenen, freien Antikörperbindungsstellen. Im Anschluss wird das restliche Material ausgespült und durch

die Zugabe der Starter-Reagenzien ein Lichtsignal ausgelöst und gemessen. Dieses Signal korreliert mit der Vitamin D-Konzentration.

Referenzbereich: 30 - 100 ng/ml

2.4. Statistische Verfahren

Die Patientendaten wurden aus dem Klinikinformationssystem SAP ERP IS-H/i.s.h.med, welches alle Arztbriefe, Untersuchungsbefunde, Laborergebnisse und Rezepte beinhaltet, erhoben. Die anschließende statistische Auswertung wurde mit dem Programm IMB SPSS 20 (International Business Machines Corporation, Statistical Package for Social Science) durchgeführt. Da es sich bei unseren Analysen immer um jeweils zwei gepaarte Stichproben handelte, wurden die einzelnen Variablen mit Hilfe des nicht parametrischen Wilcoxon-Tests und des parametrischen t-Test für verbundene Stichproben ausgewertet. Dabei wurde stets auf ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ getestet.

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

Für die retrospektive Analyse wurden 235 Patienten aus den Jahren 2008 bis 2014 eingeschlossen. Davon waren 48,1% Frauen und 51,9% Männer. Im Median lagen das Patientenalter bei 55 Jahren (Spannweite, R=59) und der BMI bei 26,62 kg/m² (R=36,15).(Tabelle 2). Unter den chronisch Leberkranken litten 52,3 % an chronischer Hepatitis C und 27,2 % an chronischer Hepatitis B. Durch Alkoholkonsum verursachte chronische Lebererkrankung lag bei 9,4 % der Patienten vor (Abbildung 1). Eine autoimmune Genese wiesen 6,8 % der Patienten auf (davon 4,7% eine Autoimmunhepatitis, 1,3% eine primär biliäre Cholangitis, 0,4 % eine primär sklerosierende Cholangitis und ebenfalls 0,4% ein Overlap Syndrom). Bei 3,4% wurde eine nicht-alkoholische Fettlebererkrankung, im englischen Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) genannt, diagnostiziert. Bei 0,9% war die Ätiologie der chronischen Lebererkrankung unbekannt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Epidemiologische Daten der Gesamtkohorte

		Anzahl	Prozentualer Anteil
Gruppenaufteilung	Gruppe 1	100	42,6%
	Gruppe 2	102	43,4%
	Gruppe 3	33	14,0%
Geschlecht	Frauen	113	48,1%
	Männer	122	51,9%
Genese der Lebererkrankung	Alkohol	22	9,4%
	NAFLD	8	3,4%
	autoimmun	16	6,8%
	kryptogen	2	0,9%
	HBV	64	27,2%
	HCV	123	52,3%
Antivirale Therapie der Hepatitis C	ja	49	39,8%
	nein	74	60,2%

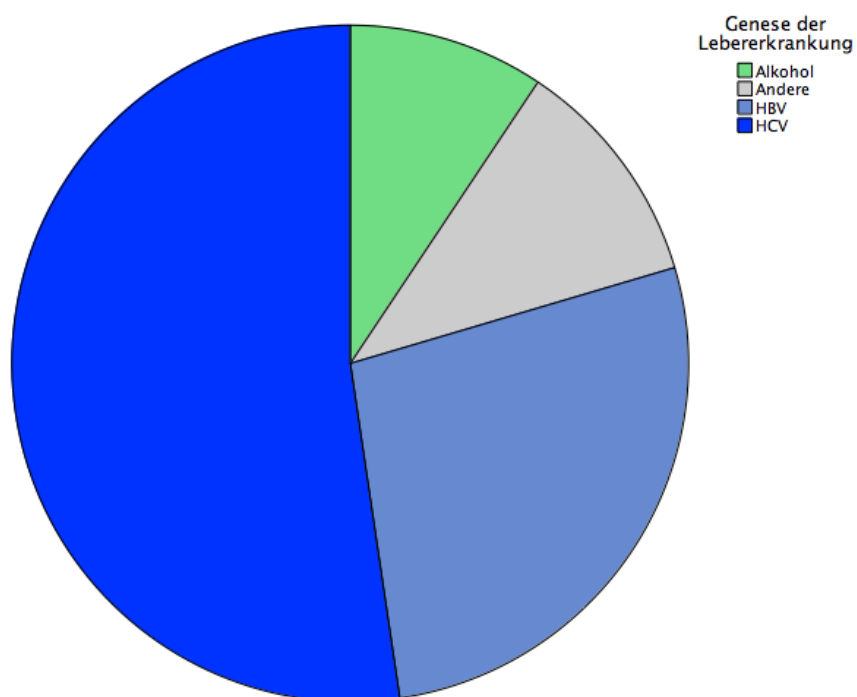
Gruppe 1 = Patienten mit Vitamin D-Mangel und Supplementation, Gruppe 2 = Patienten mit Vitamin D-Mangel ohne Supplementation, Gruppe 3 = Patienten ohne Vitamin D-Mangel. NAFLD = Non alcoholic fatty liver disease. HBV = Hepatitis B Virus. HCV = Hepatitis C Virus.

Tabelle 2: Epidemiologische Daten der Gesamtkohorte

	N		Median	Minimum	Maximum
	Gültig	Fehlend			
Patientenalter	235	0	55	24	83
BMI	141	94	26,62	17,63	53,78

BMI= Body Mass Index

Abbildung 1: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankungen in der Gesamtkohorte



HBV = Hepatitis B Virus. HCV = Hepatitis C Virus.

3.2. Vergleich der Untergruppen

Wir fanden 100 Patienten mit einem Vitamin D-Mangel (Serumkonzentration <30 ng/ml) und einer darauffolgenden Vitamin D-Therapie, die wir der **Gruppe 1** zuordnen konnten. 56% der Patienten waren Männer. Das Patientenalter dieser Gruppe lag im Median bei 57 Jahren (Spannweite, $R=56$) und der BMI bei $26,6$ kg/m² ($R=36,15$) (Tabelle 4). Mit 63% dominierte die virale Hepatitis (44% HCV, 19% HBV) die Genese der chronischen Lebererkrankung dieser Patienten. Die nächsthäufigere Ursache war mit 16% der Alkoholkonsum (Abbildung 2). Bei 14 % der Probanden lag eine autoimmune Erkrankung vor (10 % AIH, 2% PBC, 1% PSC, 1% Overlap-Syndrom). Eine Fettleber oder eine nicht-alkoholische Steatohepatitis wurde bei 5% diagnostiziert. Bei 2 % war die Ursache unbekannt. 55% Patienten mit chronischer Hepatitis C erhielten eine antivirale Therapie. (Tabelle 3).

Patienten der **Gruppe 1** erhielten zum Zeitpunkt 1 noch keine Vitamin D-Supplementation, sondern wiesen einen Vitamin D-Mangel auf. Kurz danach wurde die Vitamin D-Therapie initiiert, sodass der Zeitpunkt 2 der Gruppe 1 auch dem Zeitraum von 9 Monate bis 17 Monate nach der Vitamin D-Supplementation entspricht. Dadurch ergab sich die Möglichkeit, nicht nur einen paarweisen Vergleich innerhalb einer Gruppe zwischen Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 2 durchzuführen, sondern auch den Verlauf zwischen Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 2 der Gruppe 2 und der Gruppe 3, in denen die Patienten keine Supplementation erhielten, mit dem Verlauf der therapierten Patienten der Gruppe 1 zu vergleichen.

Da für den Vergleich der Lebersteifigkeit zunächst nicht genügend Vergleichspaare zur Verfügung standen, wurden die Suchkriterien für den Zeitpunkt 1 des Fibroscans bis maximal 5 Jahre nach hinten und für den Zeitpunkt 2 um 5 Jahre nach vorne erweitert.. Anschließend wurden sowohl die streng definierten als auch die erweiterten Zeitpunkte paarweise verglichen. Da die Ergebnisse vergleichbar waren, entschieden wir uns dafür, in den weiteren, die Lebersteifigkeit betreffenden Auswertungen die erweiterten Zeitpunkte zu verwenden, um eine größere Aussagekraft zu erreichen.

Der Ausgangswert der Vitamin D-Konzentration dieser Patientengruppe lag im Mittel bei $10,57$ ng/ml (SD: $\pm 5,19$) und der Median betrug $10,40$ ng/ml (IQR: $6,70 - 13,65$). Entsprechend unseren Einschlusskriterien befanden sich die Werte deutlich unterhalb der empfohlenen Grenze von 30 ng/ml. Zu diesem Zeitpunkt fand noch keine Vitamin D-Substitution statt. Die dazugehörige GPT war im Durchschnitt bei $65,48$ U/l (SD: $\pm 72,71$), der

Median betrug 42,00 U/l (IQR: 27,00 - 71,00). Die GOT lag im Mittel bei 55,68 U/l (SD: \pm 54,87), der Median betrug 39,00 U/l (IQR: 30,00 - 61,00). Die γ -GT lag im Mittel bei 102,04 U/l (SD: \pm 109,22), der Median betrug 61,5 U/l (IQR: 28,00 - 135,00). Die GLDH lag im Mittel bei 4,86 U/l (SD: \pm 3,78), der Median betrug 3,60 U/l (IQR: 2,30 - 5,60). Die erste Messung der Lebersteifigkeit dieser Patienten, die ebenfalls noch vor der Vitamin D-Substitution erfolgte, betrug durchschnittlich 13,73 kPa (SD: \pm 16,07) und der Median 8,1 kPa (IQR: 5,40 - 12,00) (Tabelle 5).

In die **Gruppe 2** konnten wir 102 Patienten mit einem Vitamin D-Mangel (< 30 ng/ml) und ohne eine entsprechende Vitamin D-Therapie einschließen. 48% der Probanden waren Männer. Das Patientenalter lag im Median bei 53 Jahren (Spannweite, R = 59) und der BMI bei 27,44 kg/m² (R = 20,04) (Tabelle 4). Sowohl das Alter als auch der BMI unterscheiden sich zwischen den ersten zwei Gruppen nicht. Auch in dieser Gruppe dominierten mit insgesamt 90,2 % deutlich die viralen Hepatitiden (55,9% HVC, 34,3% HVB) die Ätiologie der chronischen Lebererkrankungen, gefolgt von der alkoholischen Hepatitis mit nur 4,90 % (Abbildung 3). Mit jeweils einem Prozent waren die Autoimmunhepatitis und die primär biliäre Cholangitis vertreten. Eine antivirale Therapie der Hepatitis C erhielten lediglich 29,82 % der Patienten mit chronischer Hepatitis C (Tabelle 3).

Der Ausgangswert für Vitamin D der zweiten Gruppe lag im Durchschnitt bei 14,22 ng/ml (SD: \pm 6,63), der Median lag bei 13,8 ng/ml (IQR: 9,00 - 18,40). Auch die Vitamin D Werte dieser Gruppe lagen erwartungsgemäß deutlich unterhalb des empfohlenen Grenzwertes von 30 ng/ml. Die in diesem Zeitraum gemessene GPT lag im Mittel bei 67,08 U/l (SD: \pm 80,88), der Median betrug 42,00 U/l (IQR: 27,00 - 76,00). Die gemessene GOT lag im Mittel bei 55,11 U/l (SD: \pm 54,10), der Median betrug 35,00 U/l (IQR: 26,00 - 64,00). Die Ausgangswerte der Transaminasen unterscheiden sich kaum zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2. Die gemessene γ -GT lag im Mittel bei 85,54 U/l (SD: \pm 108,20), der Median betrug 46,00 U/l (IQR: 24,00 - 100,00) und sind somit niedriger als in der Gruppe 1. Die gemessene GLDH lag im Mittel bei 7,13 U/l (SD: \pm 8,25), der Median betrug 4,50 U/l (IQR: 2,40 - 7,20). Die erste Messung der Lebersteifigkeit dieser Patienten betrug durchschnittlich 10,33 kPa (SD: \pm 10,05) und der Median lag bei 7,40 kPa (IQR: 5,30 - 11,00) (Tabelle 5).

Für den Einschluss in **Gruppe 3** konnten wir lediglich 33 Patienten mit suffizienten Vitamin D-Werten identifizieren. Dies spiegelt die Realität der chronisch leberkranken Patienten wider, von denen die Mehrzahl einen Vitamin D Mangel aufweist. 52% der Patienten waren

Männer. Das Patientenalter der dritten Gruppe lag im Median bei 57 Jahren (Spannweite, R = 45), der BMI bei 24,34 kg/m² (R = 12,18) (Tabelle 4). Im Vergleich zu den ersten beiden Gruppen fällt der BMI der Gruppe 3 niedriger aus. Als Ursache der chronischen Lebererkrankung wurden bei den Probanden dieser Gruppe nur die viralen Hepatitiden mit 97,0% (66,7% HCV, 30,3% HBV) und die alkoholische Hepatitis mit 3,0 % diagnostiziert (Abbildung 4). Während Alkohol vor allem in der Gruppe 1 mit 16,0% deutlich vertreten war, handelt es sich in der Gruppe 3 nur noch um einen Patienten. Eine antivirale Therapie der Hepatitis C wurde bei 36% der Patienten mit chronischer Hepatitis C durchgeführt. (Tabelle 3).

Entsprechend unseren Einschlusskriterien lag der Ausgangswert für Vitamin D der dritten Gruppe wie erwartet im Durchschnitt bei 33,07 ng/ml (SD: ± 9,03), der Median betrug 31,40 ng/ml (IQR: 25,20 - 37,10). Die in diesem Zeitraum gemessene GPT lag im Mittel bei 84,52 U/l (SD: ± 81,19), der Median betrug 52,00 U/l (IQR: 36,00 - 95,00). Die gemessene GOT lag im Mittel bei 72,38 U/l (SD: ± 63,79), der Median betrug 49,00 U/l (IQR: 30,00 - 75,00). Die Ausgangswerte der Transaminasen sind in der dritten Gruppe höher. Die gemessene γ -GT lag im Mittel bei 54,97 U/l (SD: ± 51,83), der Median bei 30,00 U/l (IQR: 21,00 - 75,00) und fällt im Gegenteil zu den Transaminasen geringer aus als in den vorherigen Gruppen. Die gemessene GLDH lag im Mittel bei 7,97 U/l (SD: ± 6,80), der Median betrug 5,60 U/l (IQR: 2,10 - 13,70). Die erste Messung der Lebersteifigkeit dieser Patienten betrug durchschnittlich 7,89 kPa (SD: ± 4,62) und der Median 5,9 kPa (IQR: 4,80 - 10,30) (Tabelle 5).

Tabelle 3: Untergruppenvergleich

		Gruppe 1		Gruppe 2		Gruppe 3	
		Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
Geschlecht	männlich	56	56,0%	49	48,0%	17	51,5%
	weiblich	44	44,0%	53	52,0%	16	48,5%
Genese der Lebererkrankung	Alkohol	16	16,0%	5	4,9%	1	3,0%
	NAFLD	5	5,0%	3	2,9%	0	0,0%
	autoimmun	14	14,0%	2	2,0%	0	0,0%
	kryptogen	2	2,0%	0	0,0%	0	0,0%
	HBV	19	19,0%	35	34,3%	10	30,3%
	HCV	44	44,0%	57	55,9%	22	66,7%
Antivirale Therapie der chronischen Hepatitis C	ja	24	54,6%	17	29,8%	8	36,4%
	nein	20	45,5%	40	70,2%	14	63,6%

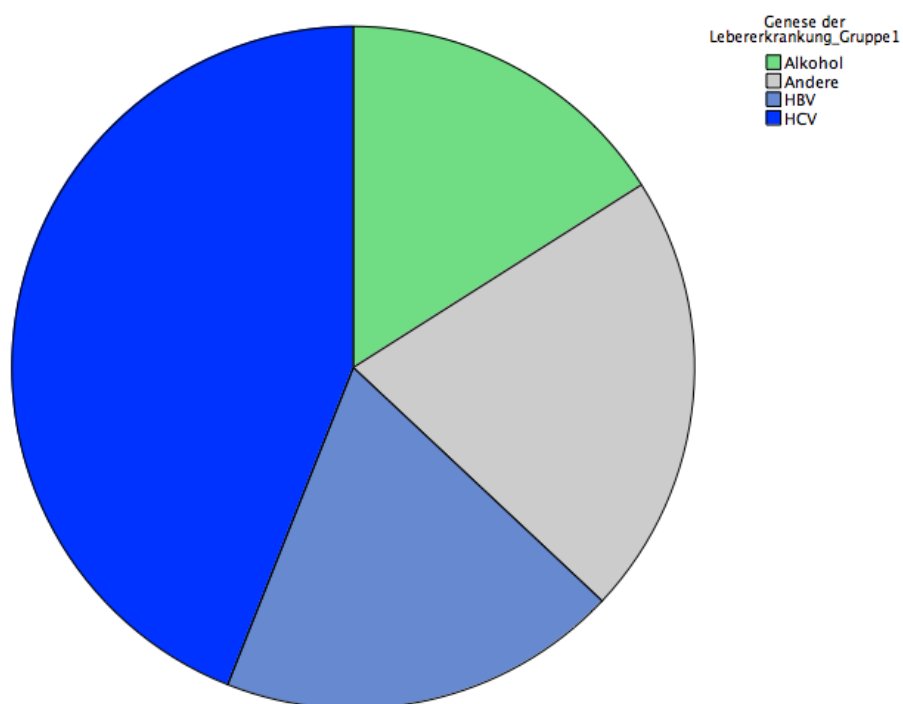
Gruppe 1 = Patienten mit Vitamin D-Mangel und Supplementation, Gruppe 2 = Patienten mit Vitamin D-Mangel ohne Supplementation, Gruppe 3 = Patienten ohne Vitamin D-Mangel.

Tabelle 4: Untergruppenvergleich

			Anzahl	Fehlend	Median	Minimum	Maximum
Kategorie	Gruppe 1	Alter	100	0	57	25	81
		BMI	100	25	26,26	17,63	53,78
	Gruppe 2	Alter	102	0	53	24	83
		BMI	102	55	27,44	20,31	41,35
	Gruppe 3	Alter	33	0	57	38	83
		BMI	33	14	24,34	17,76	29,94

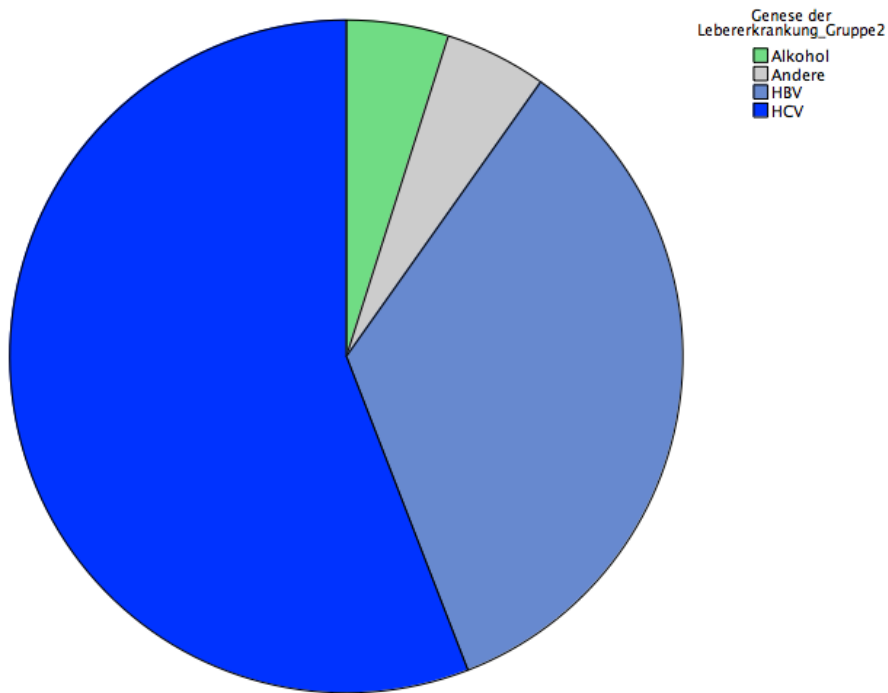
Gruppe 1 = Patienten mit Vitamin D-Mangel und Supplementation, Gruppe 2 = Patienten mit Vitamin D-Mangel ohne Supplementation, Gruppe 3 = Patienten ohne Vitamin D-Mangel. BMI=Body Mass Index.

Abbildung 2: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 1



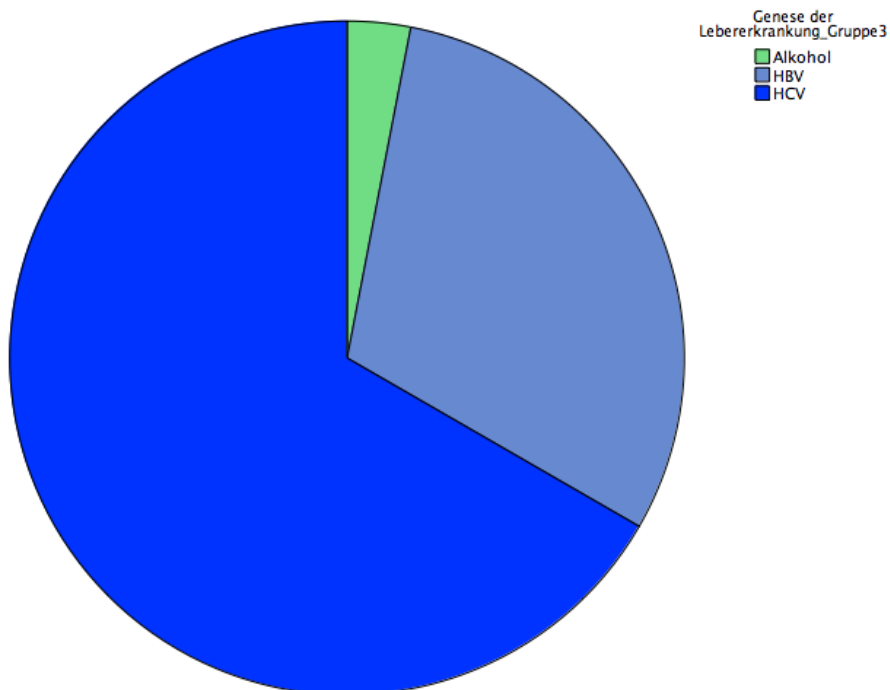
HBV = Hepatitis B Virus. HCV = Hepatitis C Virus.

Abbildung 3: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 2



HBV = Hepatitis B Virus. HCV = Hepatitis C Virus.

Abbildung 4: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 3

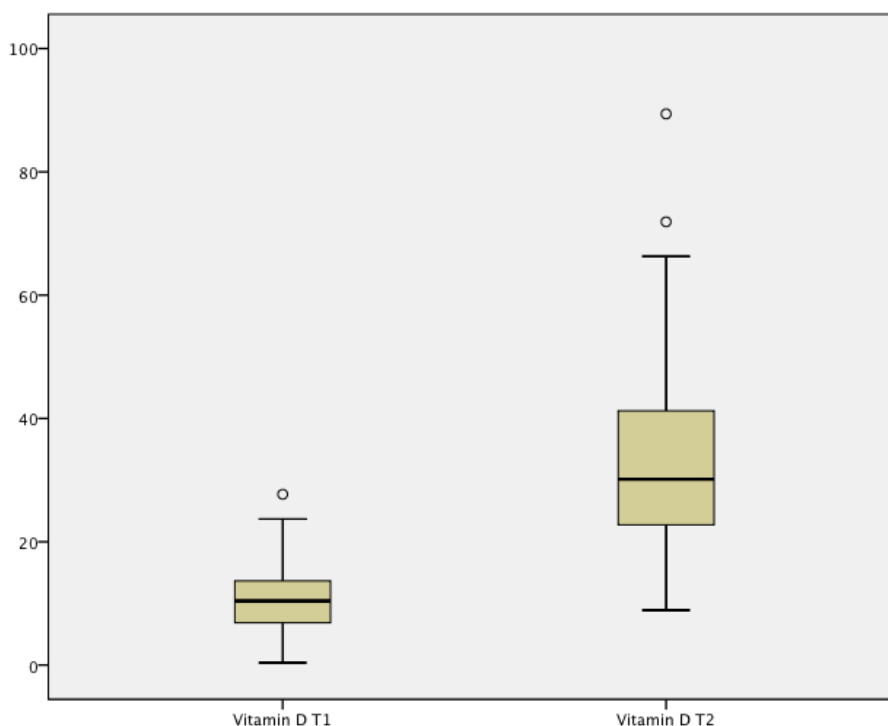


HBV = Hepatitis B Virus. HCV = Hepatitis C Virus.

3.3. Vitamin D

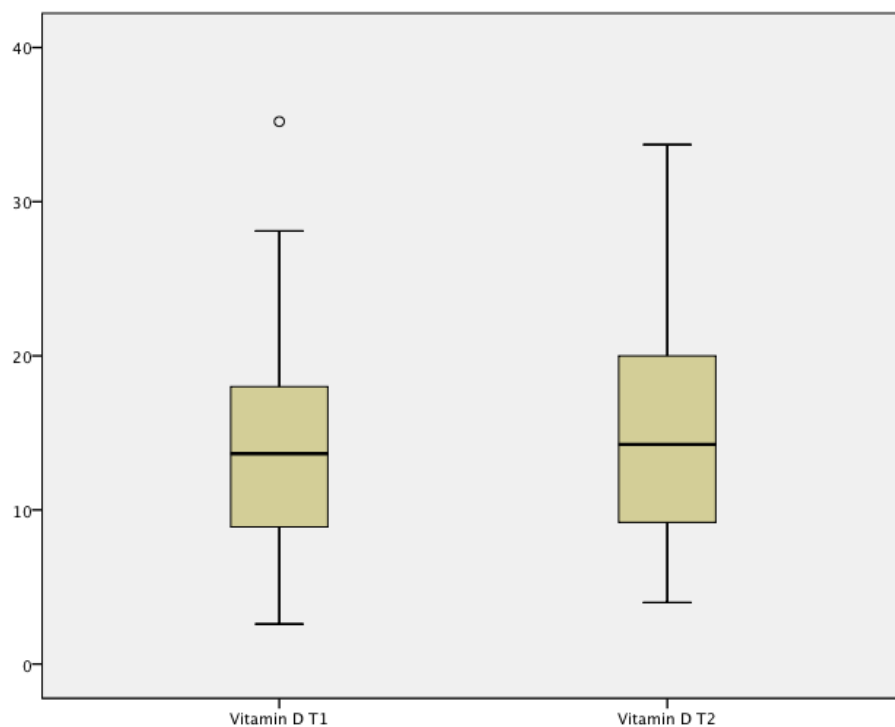
Um den Effekt der Vitamin D Supplementation in der **Gruppe 1** zu überprüfen, wurden die Vitamin D-Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 2 verglichen. Wie erwartet stieg der Wert signifikant an (T1: $10,60 \pm 5,24$ ng/ml vs. T2: $33,01 \pm 14,88$ ng/ml; $p=0,001$). Im Boxplot ist der deutliche Anstieg der Vitamin D Werte zum Zeitpunkt 2 im Vergleich zum Zeitpunkt 1 abgebildet (Abbildung 5.).

Abbildung 5: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1



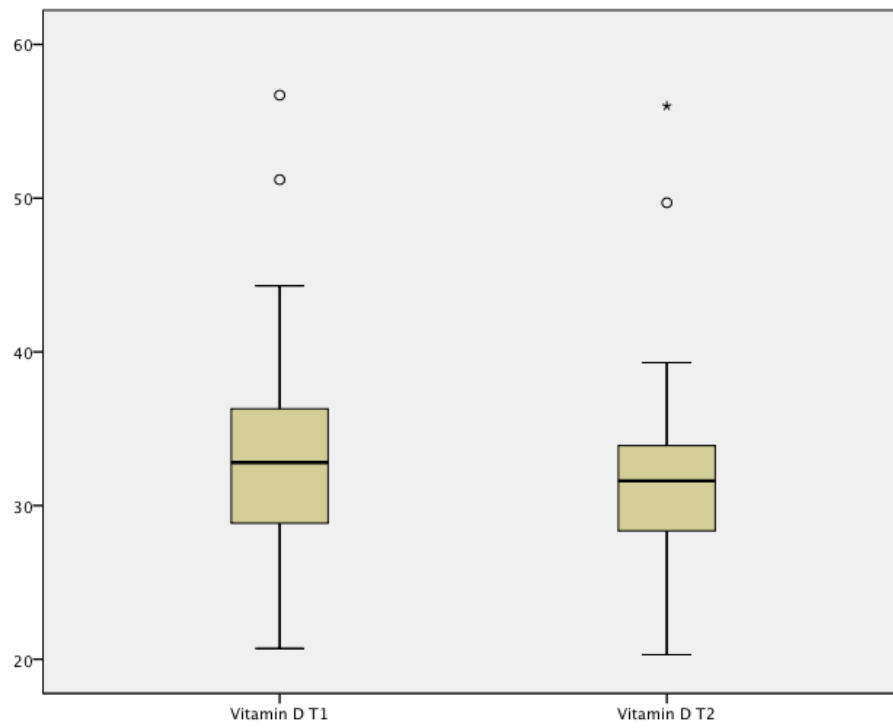
Auch in der **Gruppe 2**, in der sich ausschließlich Patienten mit einem Vitamin D-Mangel befanden, mussten die Vitamin D-Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt 1 und 2 verglichen werden. Wie vorauszusehen bestand aufgrund der fehlenden Vitamin D-Supplementation kein Unterschied (T1: $13,96 \pm 6,78$ ng/ml vs. T2: $14,92 \pm 6,84$ ng/ml, $p=0,204$) (Abbildung 6).

Abbildung 6: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2



Erwartungsgemäß blieb auch in der **Gruppe 3**, in der sich nur Patienten mit einem normalen Vitamin D-Status befanden, die Vitamin D Werte zwischen dem Zeitpunkt 1 und 2 unverändert (T1: $33,69 \pm 8,31$ ng/ml vs. T2: $32,58 \pm 7,61$ ng/ml, $p=0,415$) (Abbildung 7).

Abbildung 7: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3



3.4. Lebersteifigkeit

Zunächst wurde für die **Gruppe 1** die Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 im Vergleich zum Zeitpunkt 2 untersucht. Die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests waren sowohl bei den streng definierten Zeitpunkten als auch bei den erweiterten Zeiträumen signifikant (T1: $20,75 \pm 6,25$ kPa vs. T2: $11,38 \pm 11,76$ kPa, $p=0,023$ bzw. T1: $13,42 \pm 15,99$ kPa vs. T2: $9,68 \pm 7,83$ kPa, $p=0,022$) und zeigten einen Abfall der Steifigkeit zum Zeitpunkt 2. (Abbildung 8 und 9). Ebenso signifikant fiel der τ -Test für gepaarte Stichproben sowohl bei den streng definierten ($p=0,046$) Zeitpunkten als auch bei den erweiterten Zeiträumen ($p=0,019$) aus.

Abbildung 8: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1.

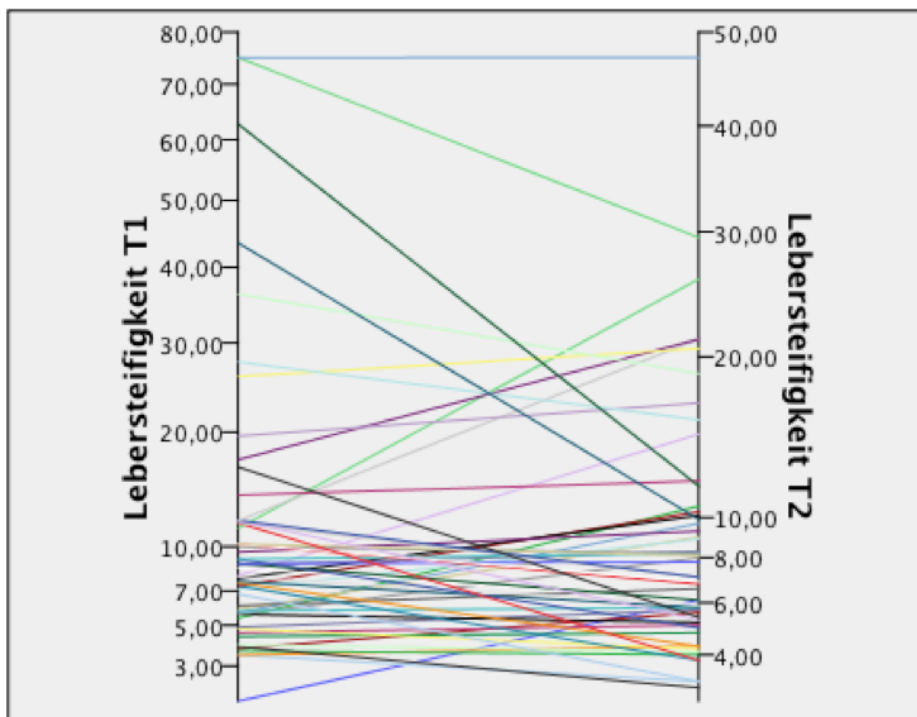
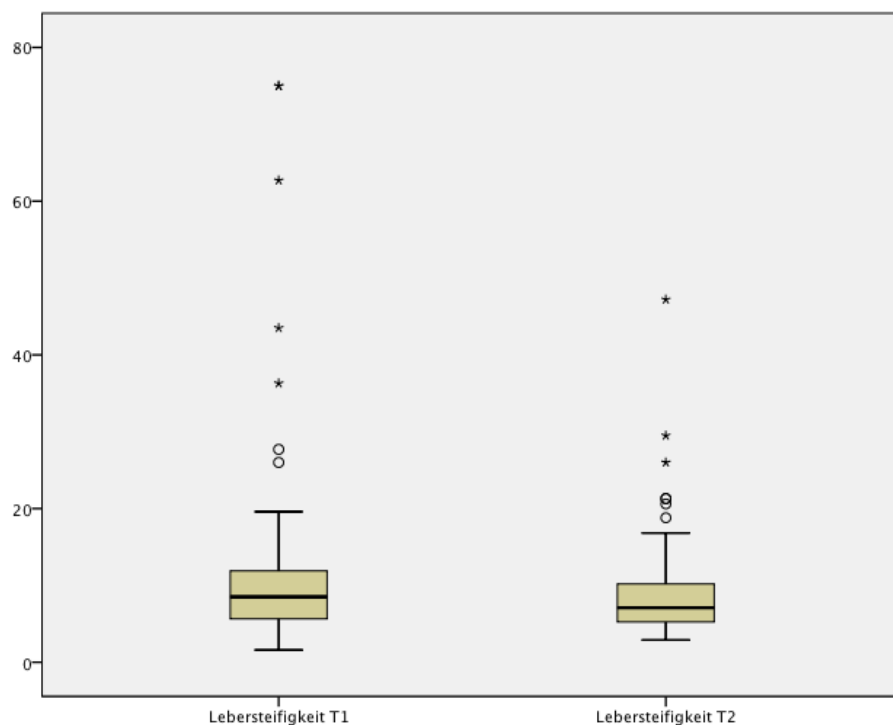


Abbildung 9: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1



Der Vergleich der Lebersteifigkeit der **Gruppe 2** zum Zeitpunkt 1 im Vergleich zum Zeitpunkt 2 fiel im Wilcoxon-Test sowohl für den streng definierten Zeitpunkt (T1: $7,82 \pm 3,86$ kPa vs. T2: $7,66 \pm 3,88$ kPa, $p=0,836$) als auch für die erweiterten Zeiträume (T1: $10,85 \pm 10,63$ kPa vs. T2: $10,23 \pm 10,83$ kPa, $p=0,401$) nicht signifikant aus. (Abbildung 10 und 11). Da in dieser Gruppe nur Patienten mit einem Vitamin D-Mangel, die keine Supplementation erhalten haben, vorzufinden sind, untermauert dieses Ergebnis unsere Vermutung, dass die Vitamin D-Supplementation sich positiv auf die Lebersteifigkeit auswirkt.

Abbildung 10: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2.

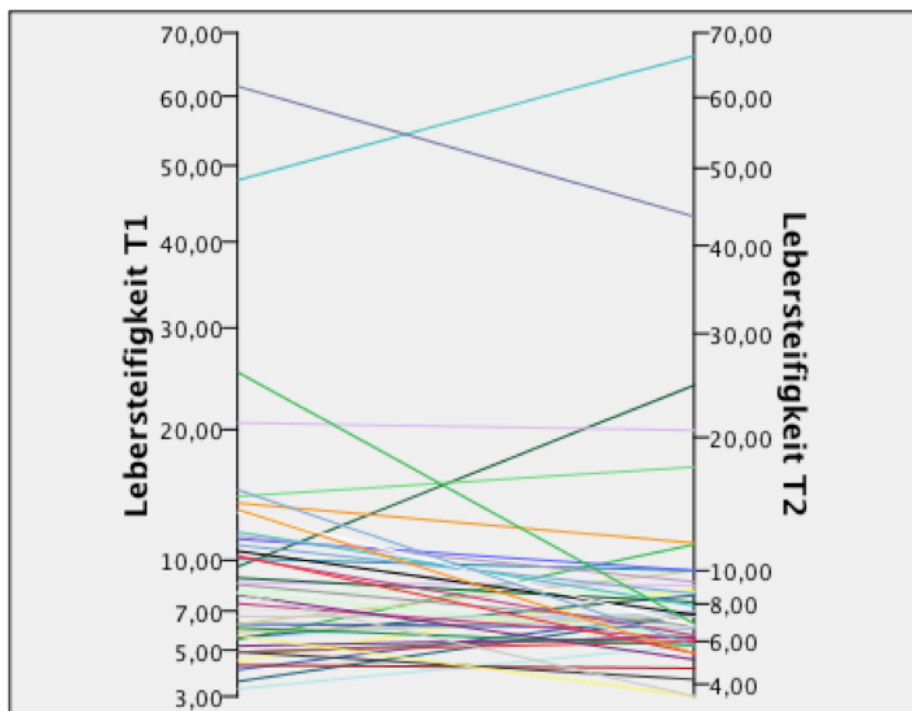
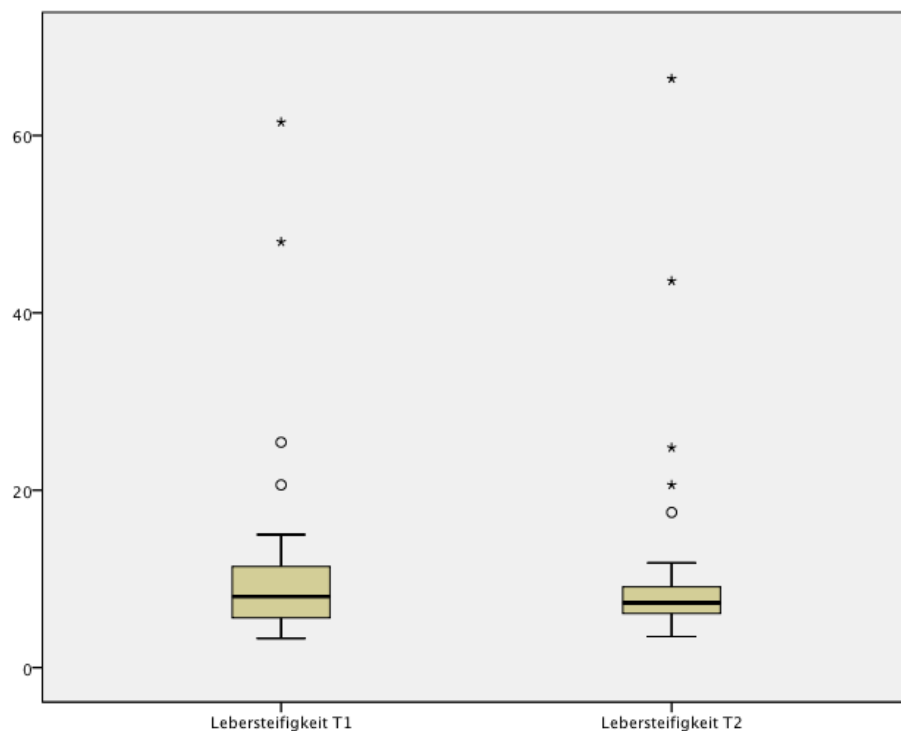


Abbildung 11: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2



Wie in der Gruppe 2 fiel auch in der **Gruppe 3** der Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 sowohl für den streng definierten Zeitpunkt (T1: $7,52 \pm 4,39$ kPa vs. T2: $6,98 \pm 3,76$ kPa, $p=0,223$) als auch für die erweiterten Zeiträume (T1: $8,00 \pm 4,92$ kPa vs. T2: $8,45 \pm 6,83$ kPa, $p=1,00$) nicht signifikant aus (Abbildung 12 und 13). Dieses Ergebnis unterstützt ebenfalls unsere Vermutung über den Einfluss des Vitamin D auf die Lebersteifigkeit, denn in der dritten Gruppe sind nur Patienten mit einer normalen Serumkonzentration (ohne Vitamin D Supplementation) zu finden.

Abbildung 12: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3.

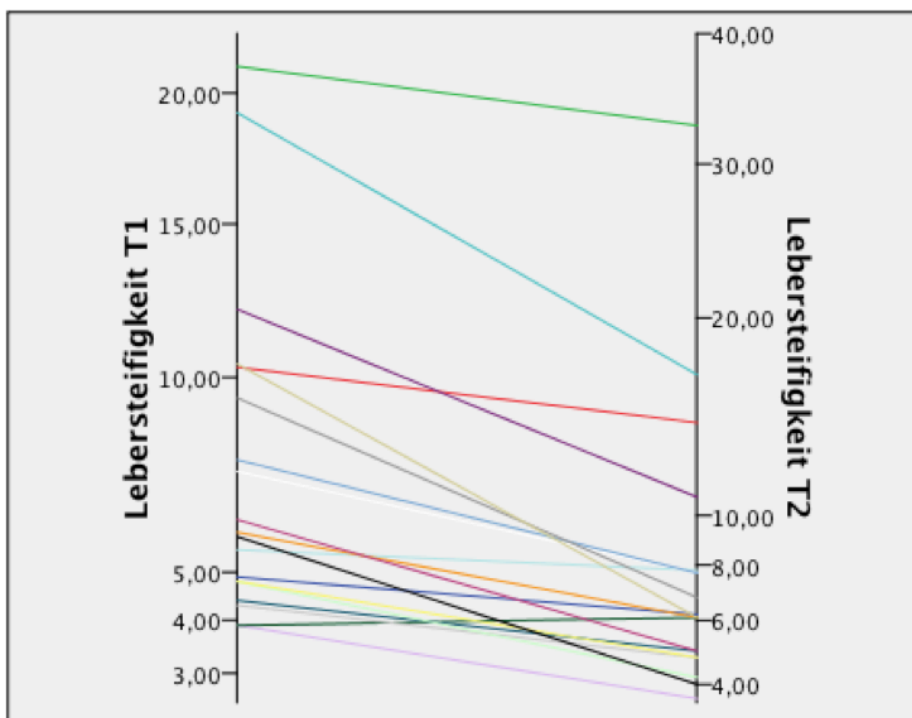
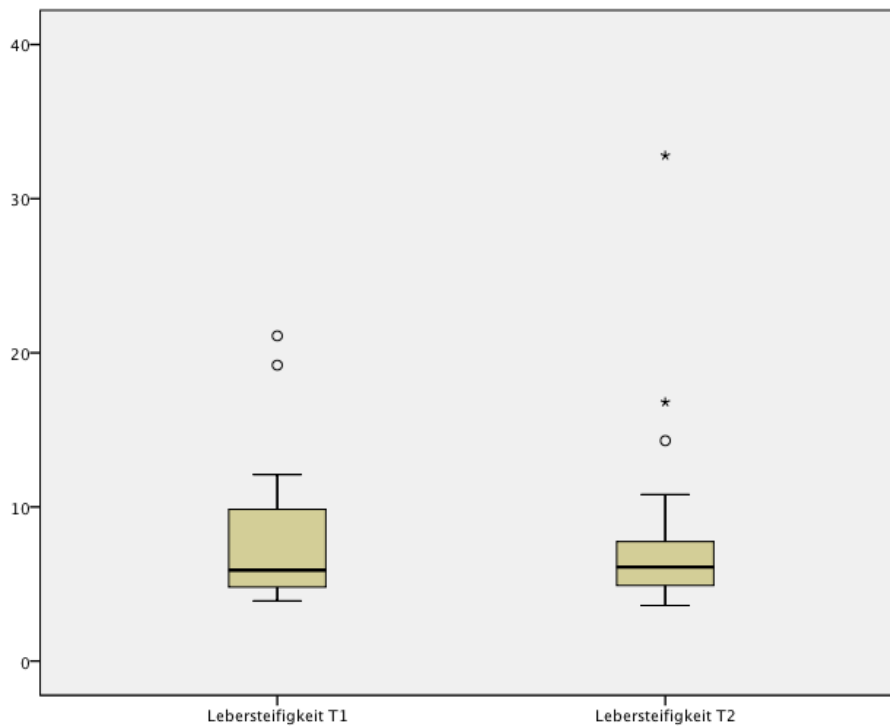


Abbildung 13: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3

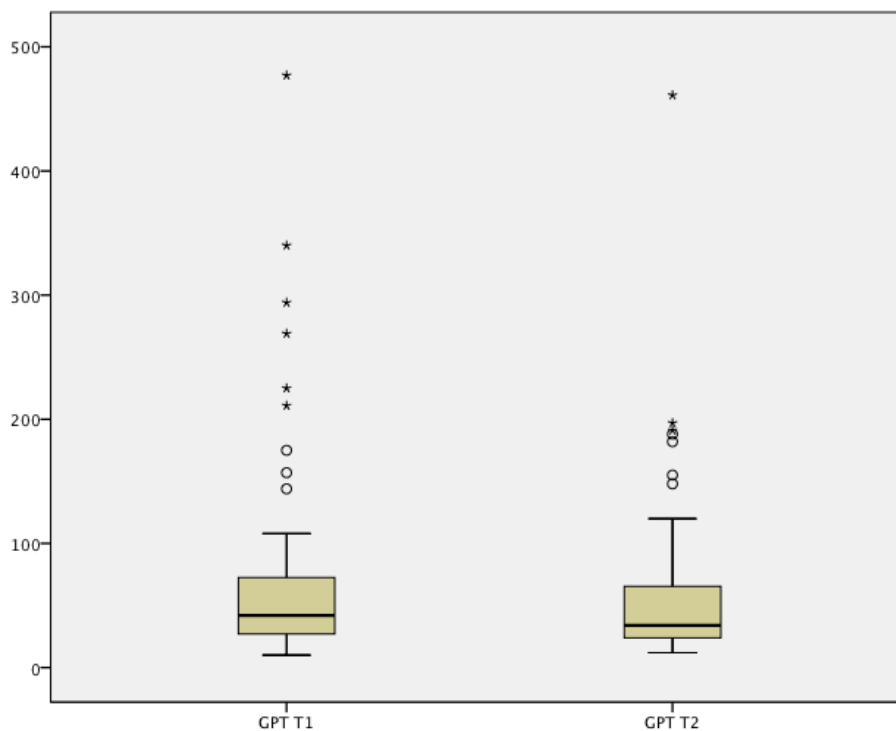


Über fünfzig Prozent unserer Patienten litten an einer HCV-Infektion. Da wir einen Einfluss der HCV auf unsere Ergebnisse erwartet hatten, wurde die Kohorte für die Merkmale Fibroscan und GPT noch getrennt betrachtet. Zunächst wurden alle HCV-negativen Patienten untersucht, wobei die Ergebnisse der Lebersteifigkeiten aller drei Gruppen keine signifikanten Unterschiede aufwiesen. Lediglich die Gruppe 1 zeigte einen Trend zu einer niedrigeren Lebersteifigkeit ($p=0,073$). Anschließend wurden alle HCV-Infizierten der drei Gruppen untersucht, wobei auch hier die Veränderung der Steifigkeit über dem Signifikanzniveau blieb. Betrachtet man ausschließlich HCV-Patienten, die eine antivirale Therapie erhielten, zeigte die Gruppe 1 einen Abfalltrend der Lebersteifigkeit (T1: $13,68 \pm 10,60$ kPa, vs. T2: $9,80 \pm 5,55$ kPa, $p=0,053$), die Gruppe 2 eine signifikante Reduktion (T1: $12,42 \pm 6,94$ kPa vs. T2: $6,47 \pm 2,30$ kPa, $p=0,028$). Einschränkend ist zu erwähnen, dass es sich in der Gruppe 2 nur um sechs Patienten handelt. Zuletzt wurden gezielt nur HCV-positive Patienten ausgewertet, die sich noch keiner antiviralen Therapie unterzogen hatten. Hier zeigten sich jedoch ebenfalls keine signifikanten Änderungen in den Lebersteifigkeitsmessungen.

3.5. Leberparameter

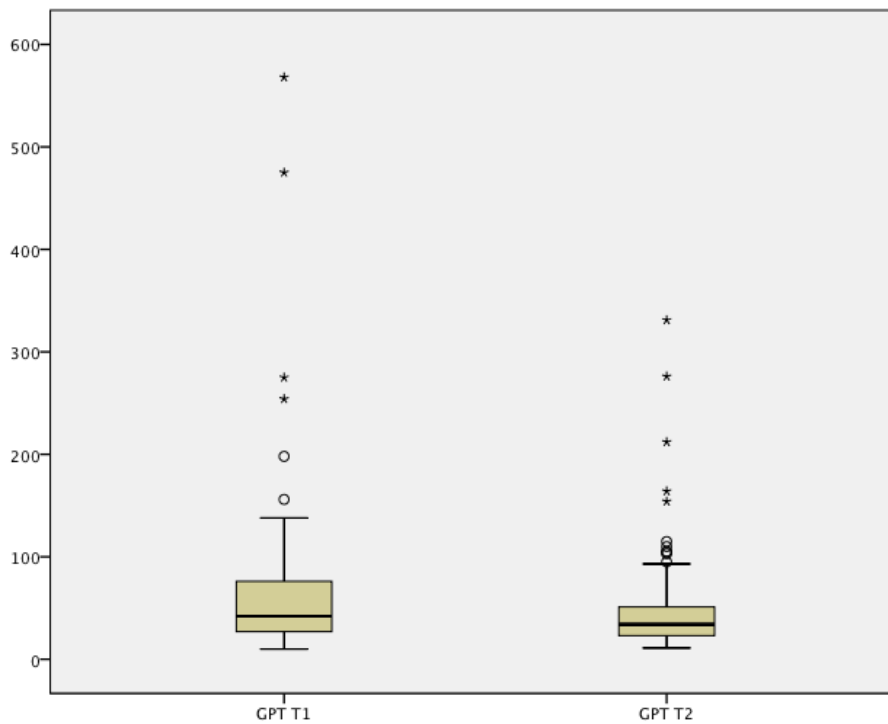
Vergleicht man die Laborwerte der Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten, so fällt ein signifikanter Abfall der GPT (T1: $66,08 \pm 73,35$ U/l vs. T2: $54,05 \pm 58,51$ U/l, $p=0,035$) (Abbildung 14), γ -GT (T1: $102,74 \pm 110,03$ U/l vs. T2: $92,67 \pm 130,85$ U/l, $p=0,011$) sowie der Thrombozyten (T1: $200,89 \pm 96,23 \cdot 10^9/l$ vs. T2: $186,58 \pm 84,23 \cdot 10^9/l$, $p=0,015$) in der Gruppe 1 auf.

Abbildung 14: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1



Auch in der **Gruppe 2** fallen die GPT (T1: $67,08 \pm 80,89$ U/l vs. T2: $49,14 \pm 49,65$ U/l, $p=0,004$) (Abbildung 15) und γ -GT (T1: $86,84 \pm 108,96$ U/l vs. T2: $72,47 \pm 110,68$ U/l, $p=0,011$) signifikant ab. Daneben zeigt auch die GOT einen signifikanten Abfall (T1: $56,08 \pm 55,05$ U/l vs. T2: $43,39 \pm 33,06$ U/l, $p=0,021$).

Abbildung 15: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2

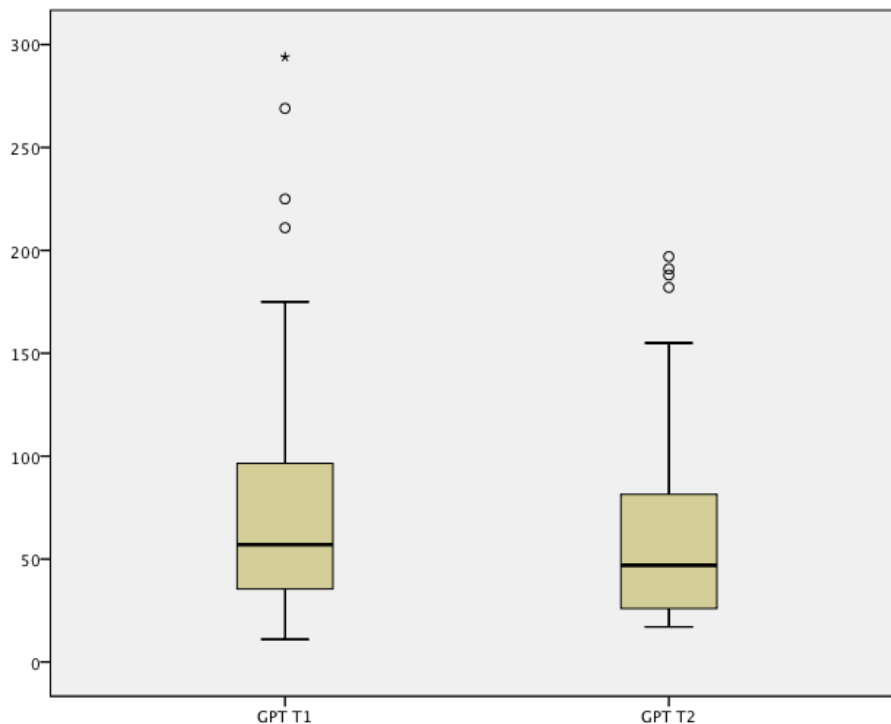


In der **Gruppe 3** blieben alle für die Leberdiagnostik wichtigen Parameter unverändert.

Wie bereits bei den Ergebnissen der Lebersteifigkeit beschrieben, wurde die Kohorte für die Merkmale Fibroscan und GPT nochmals gesondert für HCV-positive und HCV-negative Patienten betrachtet.

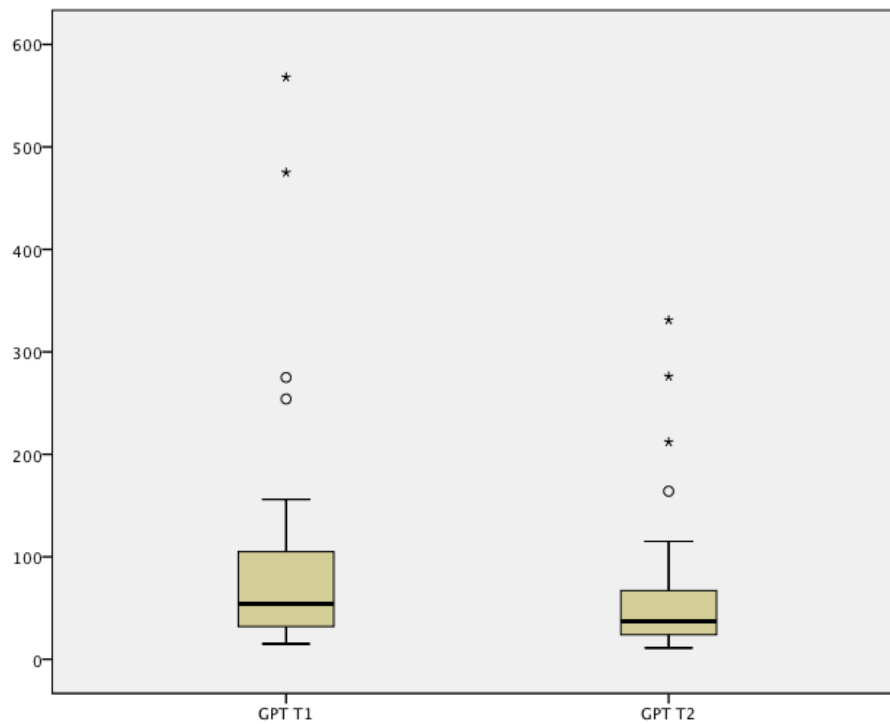
Während die Ergebnisse der Patienten der **Gruppe 1**, die nicht HCV infiziert waren, für beide Merkmale über dem Signifikanzniveau blieben, zeigten die ausschließlich HCV-Infizierten einen signifikanten Abfall der GPT (T1: $79,42 \pm 66,01$ U/l vs. T2: $64,56 \pm 52,54$ U/l, $p=0,032$) (Abbildung 16). Im τ -Test war der GPT-Abfall allerdings nicht signifikant ($p=0,060$). Die Lebersteifigkeit blieb unverändert. Beim Betrachten der ausschließlich antiviral therapierten HCV Patienten fiel das Ergebnis der GPT noch eindeutiger aus (T1: $87,92 \pm 62,63$ U/l vs. T2: $64,71 \pm 59,90$ U/l, $p=0,006$). Bei den HCV-Patienten, die sich noch keiner antiviralen Therapie unterzogen hatten, wurden keine Veränderungen beobachtet.

Abbildung 16: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 der HCV Patienten in der Gruppe 1



Nach dem gleichen Prinzip wurde die **Gruppe 2** untersucht. Auch hier zeigte sich nur ein signifikanter Abfall der GPT bei Patienten mit einer Hepatitis C (T1: $83,72 \pm 100,26$ U/l vs. T2: $58,49 \pm 61,45$ U/l, $p=0,013$) (Abbildung 17). Beim Betrachten der ausschließlich antiviral therapierten HCV-Patienten fiel auch in der Gruppe 2 das Ergebnis der GPT noch eindeutiger aus (T1: $110,94 \pm 160,59$ U/l vs. T2: $30,59 \pm 22,10$ U/l, $p=0,007$) Die HCV-Infizierten, die noch keine antivirale Therapie erhalten haben, sind auch in der Gruppe 2 nicht signifikant verändert. Ebenso waren bei allen HCV-negativen Patienten sowohl Fibroscan als auch GPT nicht signifikant verändert. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Abfall der GPT sowohl bei HCV-Patienten mit einem Vitamin D-Mangel, die eine Supplementation erfahren haben, als auch bei solchen ohne Vitamin D-Therapie, möglicherweise auf die antivirale Therapie der Hepatitis C zurückzuführen ist. HCV-Infizierte ohne eine antivirale Therapie zeigten keinen Rückgang der GPT.

Abbildung 17: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 der HCV Patienten in der Gruppe 2.



Die Untersuchung des Einflusses der Hepatitis C in der **Gruppe 3** führte in allen Tests zu keinen signifikanten Ergebnissen. Sowohl die ausschließlich HCV-Infizierten, mit oder ohne antiviraler Therapie, als auch alle anderen leberkranken Patienten unter Ausschluss der Hepatitispatienten zeigen weder für den Fibroscan noch für die GPT signifikante Veränderungen.

3.6. Laborparameter

Zu den weiteren, von uns miterfassten Laborwerten gehörten Leukozyten, Kalzium, Kreatinin, alkalische Phosphatase, Gesamtbilirubin, Phosphat, Albumin, INR und CRP. Lediglich die Leukozyten (T1: $6,71 \pm 2,77 \cdot 10^9/l$ vs. T2: $5,97 \pm 2,93 \cdot 10^9/l$, $p=0,005$) (Abbildung 18) und das Kalzium (T1: $2,35 \pm 0,38 \text{ mmol/l}$ vs. T2: $2,37 \pm 0,11 \text{ mmol/l}$, $p=0,001$) (Abbildung 19) wiesen in der **Gruppe 1** eine signifikante Veränderung auf. Der Leukozytenabfall könnte dem Einfluss des Vitamin D auf antiinflammatorische Prozesse geschuldet sein. Eine Erhöhung der Kalziumkonzentration war aufgrund der Vitamin D-Wirkung auf den Kalziumhaushalt erwartet.

Abbildung 18: Vergleich der Leukozyten zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1

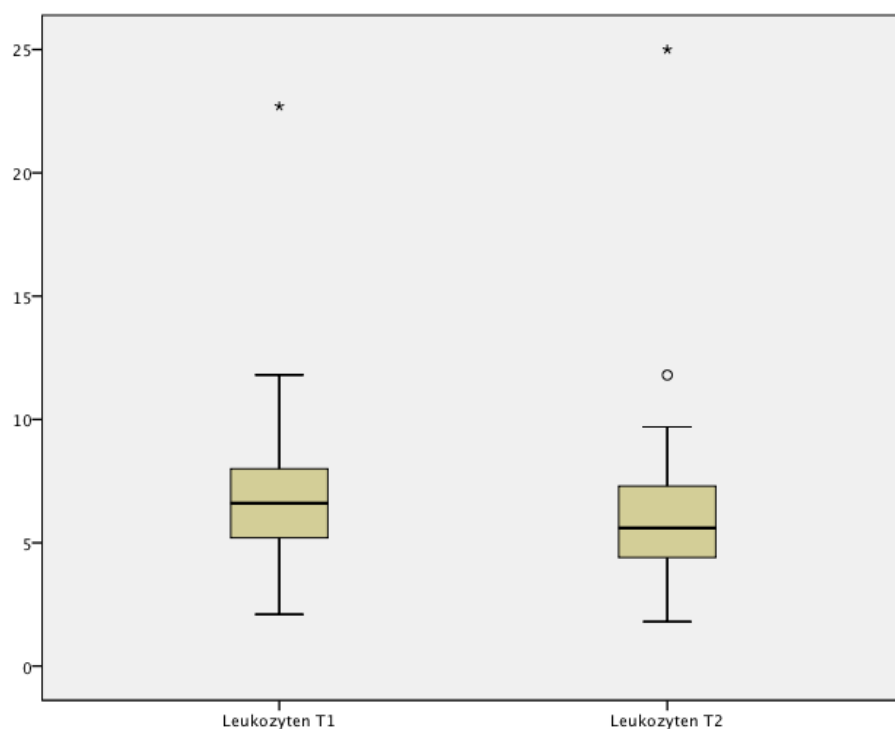
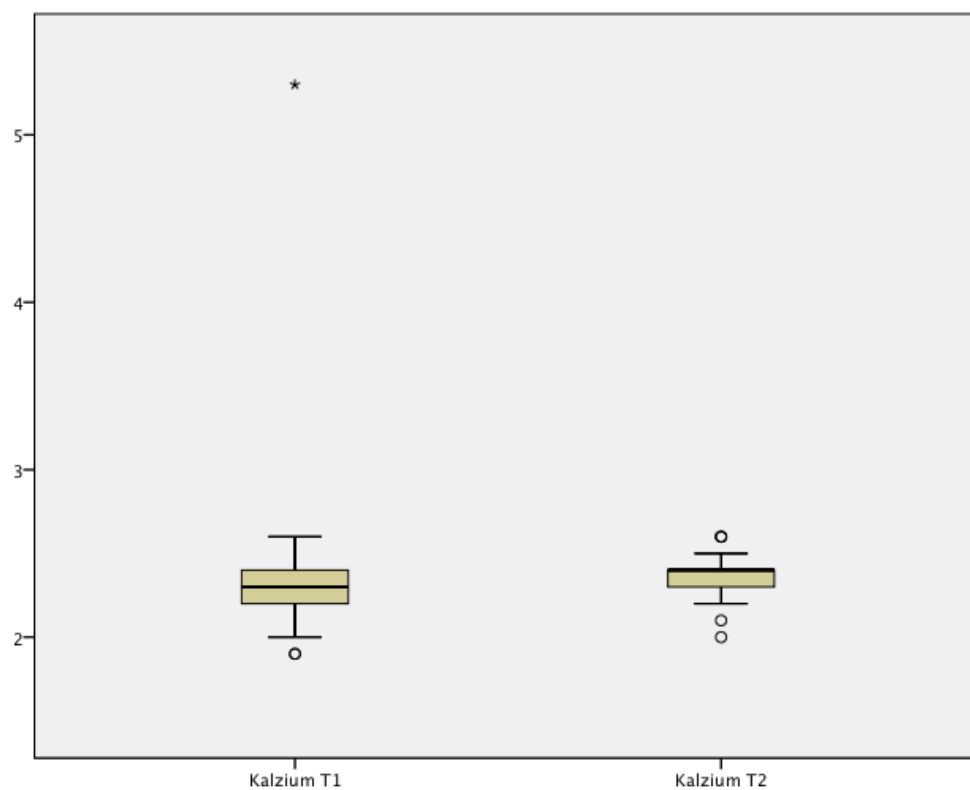


Abbildung 19: Vergleich der Kalziumkonzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1



Bei der Untersuchung der **Gruppe 2** zeigten sich keine signifikanten Änderungen.

In der **Gruppe 3** wies nur das CRP (T1: $1,55 \pm 0,25$ mg/l vs. T2: $1,25 \pm 0,34$ mg/l, $p=0,009$) einen geringfügig signifikanten Abfall auf.

4. Diskussion

Die Leberfibrose stellt die gemeinsame Endstrecke aller chronischen Lebererkrankungen dar. Im Endstadium wird diese als Leberzirrhose bezeichnet.¹ Diese Arbeit untersucht die Rolle des Vitamin D bei der Fibroseprogression und -therapie.

Im Rahmen unserer Studie zeigte die retrospektive Analyse der Patienten mit einem Vitamin D-Mangel, die eine Vitamin D Supplementation erhielten, eine Abnahme der mittleren Lebersteifigkeit. Des Weiteren konnten wir eine Verbesserung der Transaminasen aufzeigen. Die Rolle des Vitamins D im Zusammenhang mit chronischen Lebererkrankungen wurde bereits in zahlreichen Studien beschrieben. Die meisten Patienten mit chronischen Lebererkrankungen weisen einen Vitamin D-Mangel auf.^{151, 152} Dass eine Vitamin D-Supplementation bei chronisch Leberkranken erfolgreich durchführbar ist, zeigte der signifikante Anstieg der Vitamin-D-Serumkonzentration unserer Patienten. Ähnliche Beobachtungen machten Pilz et al.¹⁸⁸ bei Zirrhosepatienten. Die Patienten erhielten im Rahmen einer placebokontrollierten Studie täglich 2800 IE Vitamin D₃, während unsere Patienten mit 20000 IE einmal pro Woche substituiert wurden.

Baur et al.¹⁶⁹ empfehlen allen chronisch leberkranken Patienten eine Vitamin D-Substitution. Die European Association for the Study of the Liver empfiehlt bereits Patienten mit einer cholestatischen Lebererkrankung eine tägliche Supplementation von 1 - 1,2 g Kalzium und 400 - 800 IE Vitamin D.¹⁴⁸ Eine optimale therapeutische Wirkung scheint vor allem in den frühen Stadien der Lebererkrankung erreicht werden zu können.^{167, 189}

Neben einer Veränderung der Lebersteifigkeit und der Transaminasen war bei den supplementierten Patienten ein signifikanter Abfall für γ -GT zu beobachten. Allerdings sank die γ -GT auch in Gruppe 2 ab. Einen Zusammenhang zwischen Vitamin D und γ -GT-Aktivität zeigte auch die Studie von de Almeida et al.,¹⁹⁰ die eine inverse Korrelation von γ -GT und Vitamin D-Mangel (<30 ng/ml) bei HCV-Infizierten beschrieben. In einer anderen Studie wurde nach einer Vitamin D-Substitution eine Verbesserung des Albuminspiegels, der Thrombozytenzahl und des Child-Pugh-Stadiums beobachtet.¹⁹¹ Hingegen wiesen unsere Patienten nach der Supplementation einen signifikanten Abfall der Thrombozytenzahl auf. Korrespondierend zu unseren Ergebnissen wurde über eine thrombozytenmodulierende Funktion des Vitamins D und seine inverse Korrelation mit der Thrombozytenzahl berichtet.^{192, 193} Des Weiteren wiesen die Leukozyten und das Kalzium unter der Vitamin D-

Substitution signifikante Veränderungen auf. Der Leukozytenabfall könnte dem Einfluss des Vitamins D auf antiinflammatorische Prozesse geschuldet sein. Eine Erhöhung der Kalziumkonzentration haben wir aufgrund der Vitamin D-Wirkung im Kalziumhaushalt erwartet.

Es sind bereits einige Wirkungen des Vitamins D bekannt, die mögliche positive Auswirkungen auf die Fibroseprogression haben könnten. Potter et al.¹⁹⁴ gingen der Frage nach, ob eine Hemmung der Fibroseprogression durch den Ausgleich des Vitaminspiegels erzielt werden kann. In einer Studie von Beilfuss et al.¹⁸⁹ wurde die antifibrotische Wirkung des Vitamins D durch die Hemmung der TGF- β -assoziierten Effekte in der humanen hepatischen Sternzelle nachgewiesen. Ihre Arbeit deckt sich gut mit den Ergebnissen weiterer experimenteller Studien.^{167, 168} Darüber hinaus zeigten Beilfuss et al., dass Vitamin D den VDR-Abbau reduziert, der laut Ding et al.¹⁶⁸ eine wichtige Rolle bei der Modulation der Wundheilungsreaktion in der Leber spielt.

Dazu passt die Abnahme der Lebersteifigkeit bei den mit Vitamin D behandelten Patienten in unserer Studie, während in den Gruppen 2 und 3 keine Veränderungen nachgewiesen wurden. In einer ähnlich konzipierten Studie wurde der Einfluss einer Vitamin D-Therapie auf die Lebersteatose bei NAFLD Patienten untersucht. Bereits nach vier Wochen konnten die ersten Erfolge, beurteilt anhand der Leberfettquantifizierung (Controlled attenuation parameter, CAP) beobachtet werden. CAP zeigte eine signifikante ($p=0,007$) Reduktion (von 330 ± 32 auf 307 ± 41 dB/m).¹⁹⁵ Es gab bisher jedoch noch keine klinischen Untersuchungen der Vitamin-D-Substitution zur Therapie der Leberfibrose. Allerdings wurde kürzlich eine Assoziation zwischen 25-OH-D₃ Mangel und Leberfibrose beschrieben, wobei die Lebersteifigkeit, gemessen mittels transients Elastographie, wie in unserer Arbeit als Maß für die Fibrose herangezogen wurde. Die Vitamin D-Serumkonzentrationen zeigten eine inverse Korrelation zur Lebersteifigkeit.¹⁹⁶

Ebenso konnten Lorvand et al.¹⁹⁷ nach einer zwölfwöchigen Vitamin D und Kalzium-Substitution einen Abfall der GPT bei NAFLD verzeichnen. Barchetta et al.¹⁹⁸ untersuchten über einen Zeitraum von 24 Wochen den Einfluss einer Vitamin D-Supplementation auf metabolische und kardiovaskuläre Parameter bei NAFLD-Patienten. Hierbei konnte, im Unterschied zu unseren Ergebnissen, keine Veränderung der Transaminasen beobachtet werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Kitson et al.¹⁹⁹ nach ebenfalls einer 24 Wochen langen hochdosierten Vitamin D-Therapie bei Patienten mit NASH. Ebenso konnten Sharifi

et al.²⁰⁰ keinen Einfluss von Vitamin D auf die Transaminasen feststellen, beschrieben allerdings eine Reduktion des CRP, welche sich durch seine immunmodulatorische Wirkung erklären lassen könnte. Auch wir konnten eine Reduktion der Leukozytenzahl als möglichen antiinflammatorischen Effekt des Vitamins D verzeichnen; das CRP blieb allerdings in unserer Studie unverändert. Lediglich in der Gruppe 3, bei Patienten mit ohnehin normwertigen Serumspiegeln, wies das CRP einen signifikanten Abfall auf. Auch Foroughi et al.²⁰¹ konnten keinen signifikanten Abfall des CRP bei NAFLD-Patienten im Vergleich zur Placebo-Gruppe feststellen.

Entgegen unserer Vermutung zeigen auch Patienten in der Gruppe 2 eine Verbesserung einiger Parameter. Für die Transaminasen wurden signifikante Abfälle verzeichnet, ebenso für die γ -GT. Eine mögliche Erklärung könnten die divergierenden Verteilungen der Ätiologien und Therapien sein.

Der klinische Verlauf der Lebererkrankung ist von den einzelnen Ursachen und unterschiedlichen Risikofaktoren abhängig. So sind vor allem Hepatitis B und C sowie die alkoholische Lebererkrankung in Europa von großer Bedeutung.²⁰² Dies spiegelt sich auch in der Ursachenverteilung unserer Kohorte wieder. In allen drei Patientengruppen stellt vor allem die Virushepatitis C eine der häufigsten Ursachen dar. Um den Einfluss der HCV-Behandlung auszuschließen, untersuchten wir HCV-Infizierte und nicht-HCV-Patienten getrennt im Hinblick auf die GPT-Aktivität und die Lebersteifigkeit. Die GPT zeigte bereits in der gesamten Gruppe 1 und der Gruppe 2, noch vor der Unterteilung in die einzelnen Subgruppen, einen signifikanten Abfall. Während sich der Abfall in der Gruppe 1 mit der Vitamin D Substitution erklären lassen könnte, wäre die antivirale Therapie der HCV Patienten eine mögliche Ursache für die fallenden Werte beider Gruppen. Bei der Untersuchung der Lebersteifigkeit konnte für die nicht HCV-infizierten und die HCV-infizierten ein Trend, für die tatsächlich antiviral therapierten Patienten jedoch eine signifikante Reduktion der Lebersteifigkeit gezeigt werden. Einschränkend muss hier erwähnt werden, dass es sich hier nur um sehr geringe Patienten Zahlen handelt. Man kann also neben einem möglichen Effekt der HCV-Therapie auf die Lebersteifigkeit einen zusätzlichen Effekt auf die Lebersteifigkeit durch die Vitamin D-Substitution postulieren. Für eine multivariate Analyse enthielten die Einzelgruppen jedoch zu wenige Patienten.

Betrachtet man in den Abbildungen zur Einzelfalldarstellung die Verläufe einzelner Patienten, so wird deutlich, dass unter der Beobachtung einige Patienten einen deutlichen,

andere Patienten nur einen geringen, gar keinen oder sogar ansteigenden Verlauf der Lebersteifigkeit aufwiesen. Zukünftige Analysen sollten sich daher auf die Charakteristika von Patienten, die auf eine Vitamin D-Substitution ansprechen und solche, die nicht ansprechen, fokussieren. Möglicherweise lassen sich so die Patienten identifizieren, die von einer gezielten zusätzlichen Substitution von Vitamin D profitieren.

Limitationen der Studie

In der retrospektiven Analyse haben wir 235 Patienten aus den Jahren 2008 bis 2014 untersucht. Während für die ersten beiden Gruppen genügend Patienten gefunden wurden, konnten wir für den Einschluss in die dritte Gruppe nur 33 Patienten mit suffizienten Vitamin D Werten identifizieren. Dies deckt sich mit der Realität der chronisch leberkranken Patienten wieder, von denen die Mehrzahl einen Vitamin D-Mangel aufweist.^{151, 152} Da es sich bei unserer Studie um eine retrospektive Analyse handelt, ist unser Patientenkollektiv heterogen. Besonders bezüglich der Ursachenverteilung fanden wir Unterschiede. Obwohl die viralen Hepatitiden in allen drei Gruppen die häufigste Genese darstellen, war Alkohol vor allem in der Gruppe 1 deutlich vertreten, in der Gruppe 3 war nur ein Patient betroffen. Ebenso erhielten nur 37% der Probanden der Gruppe 3 eine antivirale Therapie der Hepatitis C, das waren 18% weniger als in der Gruppe 1. An einer NAFLD oder einer Autoimmunerkrankung litten hauptsächlich Patienten der Gruppe 1, während in den beiden anderen Gruppen diese Ätiologien weniger relevant waren.

Bereits im Vorfeld wurden Patienten mit möglichen Einflussfaktoren, wie Osteoporose oder hepatozelluläres Karzinom, nicht in die Kohorte aufgenommen. Trotzdem sollte man weitere Faktoren beachten, die den Erfolg einer Substitutionstherapie beeinflussen können. Beispielsweise stellt das Übergewicht einen wichtigen Faktor dar. Viele unserer Patienten zeigten einen erhöhten BMI. So hätte eine gewichtsadaptierte Dosis effizientere Ergebnisse erbringen können.^{146, 203} Auch die Jahreszeit bzw. die individuelle Sonnenlichtexposition sollten berücksichtigt werden. Die anfängliche Serumkonzentration ist für den Therapieerfolg des Vitamins wichtig, da eine von der Ausgangskonzentration abhängige Ansprechrate beschrieben wurde.²⁰⁴ Neben den äußeren Faktoren modulieren auch genetische Polymorphismen, die sowohl an der Synthese als auch an der Umwandlung und dem Transport des Vitamins beteiligt sind, ebenfalls die Ergebnisse der Substitution.²⁰⁵

Zudem ist zu berücksichtigen, dass die Messung mittels transienter Elastographie durch zahlreiche Faktoren beeinflusst werden kann. Im Allgemeinen wird das Messergebnis durch Geschlecht und BMI verändert.⁸⁷ Schwierigkeiten bei der Durchführung ergeben sich bei adipösen Patienten.⁸² Weitere Störquellen stellen beispielsweise Steatose, extrahepatische Cholestase oder Herzinsuffizienz dar.^{90, 91} Auch bei einem akuten Leberschaden kann es zu falsch hohen Werten kommen.⁹² Gleichwohl wurden unsere Patienten allesamt an einem spezialisierten Zentrum behandelt und von qualifizierten Mitarbeitern per Fibroscan untersucht. Dabei wurden alle gängigen Qualitätsindikatoren für eine möglichst genaue Fibroscanmessung seitens der Untersucher beachtet.

Ebenso sind weitere Faktoren zu bedenken, die unabhängig von der Vitamin D-Therapie eine Veränderung der Lebersteifigkeit nach sich gezogen haben könnten. Möglicherweise haben einige Patienten eine Ernährungsumstellung mit positiver Auswirkung auf den Leberstoffwechsel vollzogen. So hätte bereits eine einmonatige Alkoholkarenz eine Verbesserung der Steifigkeit bei Patienten mit einer alkoholischen Lebererkrankung bewirken können.²⁰⁶ Bei chronisch HCV-infizierten Patienten nimmt die Steifigkeit nach erfolgreicher antiviralen Therapie ab.²⁰⁷

Der Vitamin D-Mangel ist im Rahmen zahlreicher chronischer Lebererkrankungen zu finden. Obwohl der Nachweis der Vitamin-D-Supplementierung bei viraler Hepatitis und assoziierten Lebererkrankungen nach wie vor begrenzt ist, zeigt sich ein großes Potenzial diese adjuvante Therapie anzuwenden.²⁰⁸ Es wurden bereits vielfältige sowohl metabolische als auch entzündungshemmende oder antifibrotische Eigenschaften des Vitamins D beschrieben. Es bestehen allerdings noch Diskrepanzen innerhalb der existierenden, den Einfluss einer Vitamin D-Substitution untersuchenden Studien. In dieser Analyse fanden wir Hinweise auf positive Effekte einer Vitamin D-Substitution auf die Lebersteifigkeit bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen. Ob die Abnahme der Lebersteifigkeit ein unabhängiger protektiver Faktor für den weiteren Krankheitsverlauf ist, muss in einer prospektiven Kohortenstudie evaluiert werden.

5. Anhang

Tabelle 5: Untergruppenvergleich der Laborparameter

			Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
Vitamin D Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	10.57	10,40	5,19	,40	27,70
		Gruppe 2	14.22	13,80	6,63	2,60	35,20
		Gruppe 3	33.07	31,40	9,03	20,70	56,70
Fibroscan Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	13.73	8,10	16,07	1,60	75,00
		Gruppe 2	10.33	7,40	10,05	2,70	61,50
		Gruppe 3	7.89	5,90	4,62	3,90	21,10
GPT Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	65.48	42,00	72,71	10,00	477,00
		Gruppe 2	67.08	42,00	80,88	10,00	568,00
		Gruppe 3	84.52	52,00	81,19	7,00	303,00
GOT Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	55.86	39,00	54,87	16,00	432,00
		Gruppe 2	55.11	35,00	54,10	17,00	367,00
		Gruppe 3	72.38	49,00	63,79	15,00	272,00
γ-GT Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	102.04	61,50	109,22	12,00	595,00
		Gruppe 2	85.54	46,00	108,20	9,00	612,00
		Gruppe 3	54.97	30,00	51,83	13,00	252,00
GLDH Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	4.86	3,60	3,78	1,00	19,00
		Gruppe 2	7.13	4,50	8,25	1,10	37,80
		Gruppe 3	7.97	5,60	6,80	1,50	21,80
Thrombozyten Zeitpunkt 1	Kategorie	Gruppe 1	202.00	189,50	94,80	26,00	476,00
		Gruppe 2	221.50	215,00	98,02	29,00	701,00
		Gruppe 3	216.52	232,00	72,15	55,00	332,00
Leukozyten	Kategorie	Gruppe 1	6.60	6,45	2,68	2,10	22,70
		Gruppe 2	6.53	6,40	2,33	1,90	15,70
		Gruppe 3	6.17	5,70	2,78	2,00	15,00

Calcium	Kategorie	Gruppe 1	2.35	2,30	,34	1,90	5,30
		Gruppe 2	2.35	2,30	,11	2,10	2,70
		Gruppe 3	2.34	2,30	,11	2,10	2,60
Kreatinin	Kategorie	Gruppe 1	.87	,80	,33	,50	2,89
		Gruppe 2	.85	,80	,20	,41	1,56
		Gruppe 3	.92	,80	,34	,58	2,14
Alkalische Phosphatase	Kategorie	Gruppe 1	87.30	72,00	45,64	40,00	303,00
		Gruppe 2	78.66	70,50	37,90	34,00	315,00
		Gruppe 3	76.03	63,00	29,26	36,00	169,00
Bilirubin im Serum	Kategorie	Gruppe 1	1.31	,60	2,52	,20	19,70
		Gruppe 2	.76	,60	,85	,10	7,30
		Gruppe 3	.63	,50	,37	,20	1,80
Phosphat	Kategorie	Gruppe 1	3.05	3,10	,68	1,30	5,40
		Gruppe 2	3.01	3,00	,56	1,80	4,00
		Gruppe 3	2.94	2,85	,54	2,30	4,40
Albumin im Serum	Kategorie	Gruppe 1	41.96	44,00	7,36	5,00	52,00
		Gruppe 2	44.12	45,00	4,91	24,00	53,00
		Gruppe 3	43.19	44,00	3,31	35,00	47,00
INR	Kategorie	Gruppe 1	1.13	1,04	,36	,91	3,50
		Gruppe 2	1.08	1,00	,31	,86	3,09
		Gruppe 3	1.13	1,01	,44	,91	2,81
CRP	Kategorie	Gruppe 1	4.71	1,10	12,51	,30	89,20
		Gruppe 2	3.14	,70	6,58	,30	37,80
		Gruppe 3	1.49	,90	1,26	,30	5,40

Gruppe 1= Patienten mit Vitamin D Mangel und Supplementation, Gruppe 2= Patienten mit Vitamin D Mangel ohne Supplementation, Gruppe 3= Patienten ohne Vitamin D Mangel, SD=Standardabweichung.

6. Abkürzungsverzeichnis

AIH	Autoimmunhepatitis
ALT	Alanin-Aminotransferase
APC	Antigen-presentig cell
APRI	AST to Platelet Ratio Index
ARFI	Acoustic Radiation Force Imaging
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMD	Bone mineral density
BMI	Body-Mass-Index
CD	Cluster of Differentiation
CLD	Chronic liver disease
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DBP	Vitamin-D-bindende Protein
DC	Dendritic cells
ESCPG	Endocrine Society Clinical Practice Guideline
EZM	Extrazelluläre Matrix
FGF	Fibroblast growth factor
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase

HBs-Ag	Hepatitis-B surface antigen
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCC	Hepatocellular carcinoma
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSC	Hepatic stellate cell
ICD	International Classification of Diseases
IE	Internationale Einheit
IFN	Interferon
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartile Range
kPa	Kilopascal
MHz	Megahertz
MMP	Matrixmetalloproteinase
MRT	Magnetresonanztomographie
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SD	Standard Deviation
SNP	Single Nucleotide Polymorphism

TGF	Transforming growth factor
Th-Zellen	T-Helferzellen
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinase
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor necrosis factor
p	P-Wert
PBC	Primary biliary cirrhosis
PDGF	Platelet-derived growth factor
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
PTH	Parathormon
R	Range
U	Units
UKS	Universtitätsklinikum des Saarlandes
UV	Ultraviolett
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
VEGF	Vascular endothelial growth factor
γ-GT	Gamma-Glutamyltransferase

7. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Epidemiologische Daten der Gesamtkohorte</i>	25
<i>Tabelle 2: Epidemiologische Daten der Gesamtkohorte</i>	26
<i>Tabelle 3: Untergruppenvergleich</i>	30
<i>Tabelle 4: Untergruppenvergleich</i>	31
<i>Tabelle 5: Untergruppenvergleich der Laborparameter</i>	52

8. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankungen in der Gesamtkohorte</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 2: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 1</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 3: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 2</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 4: Verteilung der Ätiologie der Lebererkrankung in der Gruppe 3</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 5: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 6: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2</i>	<i>34</i>
<i>Abbildung 7: Vergleich der Vitamin D-Konzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 8: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1.....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 9: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1.....</i>	<i>37</i>
<i>Abbildung 10: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2.....</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 11: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2.....</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 12: Darstellung der individuellen Entwicklung der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3.....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 13: Vergleich der Lebersteifigkeit zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 3.....</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 14: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1.....</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 15: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 2.....</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 16: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 der HCV Patienten in der Gruppe 1</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 17: Vergleich der GPT zum Zeitpunkt 1 und 2 der HCV Patienten in der Gruppe 2.</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 18: Vergleich der Leukozyten zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 19: Vergleich der Kalziumkonzentration zum Zeitpunkt 1 und 2 in der Gruppe 1</i>	<i>46</i>

9. Literaturverzeichnis

1. Bataller, R, Brenner, DA: Liver fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 115: 209-218, 2005.
2. Blachier, M, Leleu, H, Peck-Radosavljevic, M, Valla, DC, Roudot-Thoraval, F: The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of hepatology*, 58: 593-608, 2013.
3. Zatonski, WA, Sulkowska, U, Manczuk, M, Rehm, J, Boffetta, P, Lowenfels, AB, La Vecchia, C: Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe. *Eur Addict Res*, 16: 193-201, 2010.
4. Statistische Bundesamt: Chronische Leberkrankheit und -zirrhose, Kapitel 5.22 [Gesundheitsbericht für Deutschland, 1998]. [Online im Internet:] URL: www.gbe-bund.de/gbe10/F?F=937D, [Stand: 24.08.2015, 09:49], 1998.
5. Statistische Bundesamt: Häufige Todesursachen, Kapitel 1.4.2 [Gesundheit in Deutschland, 2006]. [Online im Internet:] URL: www.gbe-bund.de/gbe10/F?F=10565D, [Stand: 17.11.2015, 16:55], 2006.
6. Statistische Bundesamt: Gesundheit, Todesursachen in Deutschland. [Online im Internet:] URL: <https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen2120400127004.pdf>, [Stand: 24.08.2015, 14:44], Fachserie 12, Reihe 4, 2012.
7. Poethko-Muller, C, Zimmermann, R, Hamouda, O, Faber, M, Stark, K, Ross, RS, Thamm, M: [Epidemiology of hepatitis A, B, and C among adults in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 56: 707-715, 2013.
8. Friedman, SL: Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *The New England journal of medicine*, 328: 1828-1835, 1993.
9. Friedman, SL: Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem*, 275: 2247-2250, 2000.
10. Brunt, EM: Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 31: 241-246, 2000.
11. Knittel, T, Schuppan, D, Meyer zum Buschenfelde, KH, Ramadori, G: Differential expression of collagen types I, III, and IV by fat-storing (Ito) cells in vitro. *Gastroenterology*, 102: 1724-1735, 1992.
12. Friedman, SL: Liver fibrosis -- from bench to bedside. *Journal of hepatology*, 38 Suppl 1: S38-53, 2003.
13. Schuppan, D: Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: collagens and glycoproteins. *Seminars in liver disease*, 10: 1-10, 1990.
14. Schuppan, D, Ruehl, M, Somasundaram, R, Hahn, EG: Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Seminars in liver disease*, 21: 351-372, 2001.
15. Fischer, HP, Flucke, U, Zhou, H: [Pathology along the liver sinusoids: endothelial and perisinusoidal findings]. *Der Pathologe*, 29: 37-46, 2008.
16. Schaffner, F, Poper, H: Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterology*, 44: 239-242, 1963.

17. Heymann, F, Trautwein, C, Tacke, F: Monocytes and macrophages as cellular targets in liver fibrosis. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 8: 307-318, 2009.
18. Neubauer, K, Knittel, T, Armbrust, T, Ramadori, G: Accumulation and cellular localization of fibrinogen/fibrin during short-term and long-term rat liver injury. *Gastroenterology*, 108: 1124-1135, 1995.
19. Matsuoka, M, Tsukamoto, H: Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 11: 599-605, 1990.
20. Naito, M, Hasegawa, G, Ebe, Y, Yamamoto, T: Differentiation and function of Kupffer cells. *Medical electron microscopy : official journal of the Clinical Electron Microscopy Society of Japan*, 37: 16-28, 2004.
21. Thurman, RG: II. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *The American journal of physiology*, 275: G605-611, 1998.
22. Borkham-Kamphorst, E, van Roeyen, CR, Ostendorf, T, Floege, J, Gressner, AM, Weiskirchen, R: Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis. *Journal of hepatology*, 46: 1064-1074, 2007.
23. Pinzani, M: PDGF and signal transduction in hepatic stellate cells. *Front Biosci*, 7: d1720-1726, 2002.
24. Scharf, JG, Knittel, T, Dombrowski, F, Muller, L, Saile, B, Bräulke, T, Hartmann, H, Ramadori, G: Characterization of the IGF axis components in isolated rat hepatic stellate cells. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 27: 1275-1284, 1998.
25. Yoshiji, H, Kuriyama, S, Yoshii, J, Ikenaka, Y, Noguchi, R, Hicklin, DJ, Wu, Y, Yanase, K, Namisaki, T, Yamazaki, M, Tsujinoue, H, Imazu, H, Masaki, T, Fukui, H: Vascular endothelial growth factor and receptor interaction is a prerequisite for murine hepatic fibrogenesis. *Gut*, 52: 1347-1354, 2003.
26. Knittel, T, Janneck, T, Muller, L, Fellmer, P, Ramadori, G: Transforming growth factor beta 1-regulated gene expression of Ito cells. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 24: 352-360, 1996.
27. De Minicis, S, Brenner, DA: NOX in liver fibrosis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 462: 266-272, 2007.
28. Friedman, SL: Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*, 88: 125-172, 2008.
29. Winau, F, Hegasy, G, Weiskirchen, R, Weber, S, Cassan, C, Sieling, PA, Modlin, RL, Liblau, RS, Gressner, AM, Kaufmann, SH: Ito cells are liver-resident antigen-presenting cells for activating T cell responses. *Immunity*, 26: 117-129, 2007.
30. Rockey, DC: Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver. *Seminars in liver disease*, 21: 337-349, 2001.
31. Kordes, C, Sawitza, I, Muller-Marbach, A, Ale-Agha, N, Keitel, V, Klonowski-Stumpe, H, Haussinger, D: CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 352: 410-417, 2007.
32. Gressner, AM: Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. *Kidney Int Suppl*, 54: S39-45, 1996.
33. Olaso, E, Friedman, SL: Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. *Journal of hepatology*, 29: 836-847, 1998.
34. Friedman, SL, Roll, FJ, Boyles, J, Bissell, DM: Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82: 8681-8685, 1985.

35. Ikeda, K, Wakahara, T, Wang, YQ, Kadoya, H, Kawada, N, Kaneda, K: In vitro migratory potential of rat quiescent hepatic stellate cells and its augmentation by cell activation. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 29: 1760-1767, 1999.
36. Rockey, DC: Cellular pathophysiology of portal hypertension and prospects for management with gene therapy. *Clinics in liver disease*, 5: 851-865, 2001.
37. Rockey, DC: Vascular mediators in the injured liver. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 37: 4-12, 2003.
38. Iredale, JP: Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Seminars in liver disease*, 21: 427-436, 2001.
39. Maher, JJ: Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Seminars in liver disease*, 21: 417-426, 2001.
40. Arthur, MJ: Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*, 279: G245-249, 2000.
41. Herbst, H, Wege, T, Milani, S, Pellegrini, G, Orzechowski, HD, Bechstein, WO, Neuhaus, P, Gressner, AM, Schuppan, D: Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 RNA expression in rat and human liver fibrosis. *Am J Pathol*, 150: 1647-1659, 1997.
42. Knittel, T, Fellmer, P, Ramadori, G: Gene expression and regulation of plasminogen activator inhibitor type I in hepatic stellate cells of rat liver. *Gastroenterology*, 111: 745-754, 1996.
43. Benyon, RC, Arthur, MJ: Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Seminars in liver disease*, 21: 373-384, 2001.
44. Tang, L, Tanaka, Y, Marumo, F, Sato, C: Phenotypic change in portal fibroblasts in biliary fibrosis. *Liver*, 14: 76-82, 1994.
45. Kisseleva, T, Uchinami, H, Feirt, N, Quintana-Bustamante, O, Segovia, JC, Schwabe, RF, Brenner, DA: Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *Journal of hepatology*, 45: 429-438, 2006.
46. Clark, JM: The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol*, 40 Suppl 1: S5-10, 2006.
47. Horie, Y, Yamagishi, Y, Ebinuma, H, Hibi, T: Obesity, type 2 diabetes, age, and female gender: significant risk factors in the development of alcoholic liver cirrhosis. *Hepatology international*, 7: 280-285, 2013.
48. Livingston, SE, Deubner, H, Bruden, DL, McMahan, BJ, Homan, CE, Townshend-Bulson, LJ, Bruce, MG, Hennessy, TW, Williams, JL, Gretch, DR: Factors associated with the progression of fibrosis on liver biopsy in Alaska Native and American Indian persons with chronic hepatitis C. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie*, 24: 445-451, 2010.
49. Poynard, T, Bedossa, P, Opolon, P: Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet (London, England)*, 349: 825-832, 1997.
50. Sagnelli, C, Uberti-Foppa, C, Pasquale, G, De Pascalis, S, Coppola, N, Albarello, L, Doglioni, C, Lazzarin, A, Sagnelli, E: Factors influencing liver fibrosis and necroinflammation in HIV/HCV coinfection and HCV mono-infection. *Infection*, 41: 959-967, 2013.
51. Day, CP: Genetic studies to identify hepatic fibrosis genes and SNPs in human populations. *Methods Mol Med*, 117: 315-331, 2005.
52. Bataller, R, North, KE, Brenner, DA: Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 37: 493-503, 2003.

53. Huang, H, Shiffman, ML, Cheung, RC, Layden, TJ, Friedman, S, Abar, OT, Yee, L, Chokkalingam, AP, Schrodi, SJ, Chan, J, Catanese, JJ, Leong, DU, Ross, D, Hu, X, Monto, A, McAllister, LB, Broder, S, White, T, Sninsky, JJ, Wright, TL: Identification of two gene variants associated with risk of advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 130: 1679-1687, 2006.
54. Krawczyk, M, Portincasa, P, Lammert, F: PNPLA3-associated steatohepatitis: toward a gene-based classification of fatty liver disease. *Seminars in liver disease*, 33: 369-379, 2013.
55. Zhang, S, Wu, H, Wu, X, Lian, W, Wang, Y, Zhang, X, Peng, X: Association between PNPLA3 rs738409 polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma and its development in patients with cirrhosis: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8: 6638-6649, 2015.
56. Ble, M, Procopet, B, Miquel, R, Hernandez-Gea, V, Garcia-Pagan, JC: Transjugular liver biopsy. *Clinics in liver disease*, 18: 767-778, 2014.
57. Schneider, AR, Benz, C, Adamek, HE, Jakobs, R, Riemann, JF, Arnold, JC: Minilaparoscopy versus conventional laparoscopy in the diagnosis of hepatic diseases. *Gastrointest Endosc*, 53: 771-775, 2001.
58. Dienstag, JL: The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 36: S152-160, 2002.
59. Marcellin, P, Asselah, T, Boyer, N: Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 36: S47-56, 2002.
60. Schirmacher, P, Fleig, WE, Tannapfel, A, Langner, C, Dries, V, Terracciano, L, Denk, H, Dienes, HP: [Bioptic diagnosis of chronic hepatitis. Results of an evidence-based consensus conference of the German Society of Pathology, of the German Society for Digestive and Metabolic Diseases and of Compensated Hepatitis (HepNet)]. *Der Pathologe*, 25: 337-348, 2004.
61. Batts, KP, Ludwig, J: Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol*, 19: 1409-1417, 1995.
62. Bedossa, P, Poynard, T: An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 24: 289-293, 1996.
63. Desmet, VJ, Gerber, M, Hoofnagle, JH, Manns, M, Scheuer, PJ: Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 19: 1513-1520, 1994.
64. Ishak, K, Baptista, A, Bianchi, L, Callea, F, De Groote, J, Gudat, F, Denk, H, Desmet, V, Korb, G, MacSween, RN, et al.: Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of hepatology*, 22: 696-699, 1995.
65. Knodell, RG, Ishak, KG, Black, WC, Chen, TS, Craig, R, Kaplowitz, N, Kiernan, TW, Wollman, J: Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 1: 431-435, 1981.
66. Bedossa, P, Dargere, D, Paradis, V: Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 38: 1449-1457, 2003.
67. Cholongitas, E, Senzolo, M, Standish, R, Marelli, L, Quaglia, A, Patch, D, Dhillon, AP, Burroughs, AK: A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*, 125: 710-721, 2006.
68. Regev, A, Berho, M, Jeffers, LJ, Milikowski, C, Molina, EG, Pyrsopoulos, NT, Feng, ZZ, Reddy, KR, Schiff, ER: Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in

- patients with chronic HCV infection. *The American journal of gastroenterology*, 97: 2614-2618, 2002.
69. Siddique, I, El-Naga, HA, Madda, JP, Memon, A, Hasan, F: Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 38: 427-432, 2003.
 70. Gronbaek, K, Christensen, PB, Hamilton-Dutoit, S, Federspiel, BH, Hage, E, Jensen, OJ, Vyberg, M: Interobserver variation in interpretation of serial liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*, 9: 443-449, 2002.
 71. Petz, D, Klauck, S, Rohl, FW, Malfertheiner, P, Roessner, A, Rocken, C: Feasibility of histological grading and staging of chronic viral hepatitis using specimens obtained by thin-needle biopsy. *Virchows Arch*, 442: 238-244, 2003.
 72. Myers, RP, Fong, A, Shaheen, AA: Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 28: 705-712, 2008.
 73. van der Poorten, D, Kwok, A, Lam, T, Ridley, L, Jones, DB, Ngu, MC, Lee, AU: Twenty-year audit of percutaneous liver biopsy in a major Australian teaching hospital. *Intern Med J*, 36: 692-699, 2006.
 74. Hederstrom, E, Forsberg, L, Floren, CH, Prytz, H: Liver biopsy complications monitored by ultrasound. *Journal of hepatology*, 8: 94-98, 1989.
 75. Minuk, GY, Sutherland, LR, Wiseman, DA, MacDonald, FR, Ding, DL: Prospective study of the incidence of ultrasound-detected intrahepatic and subcapsular hematomas in patients randomized to 6 or 24 hours of bed rest after percutaneous liver biopsy. *Gastroenterology*, 92: 290-293, 1987.
 76. Piccinino, F, Sagnelli, E, Pasquale, G, Giusti, G: Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *Journal of hepatology*, 2: 165-173, 1986.
 77. Berzigotti, A, Ashkenazi, E, Reverter, E, Abalde, JG, Bosch, J: Non-invasive diagnostic and prognostic evaluation of liver cirrhosis and portal hypertension. *Disease markers*, 31: 129-138, 2011.
 78. Ayyappan, AP, Jhaveri, KS: CT and MRI of hepatocellular carcinoma: an update. *Expert review of anticancer therapy*, 10: 507-519, 2010.
 79. Sarvazyan, A, Hall, TJ, Urban, MW, Fatemi, M, Aglyamov, SR, Garra, BS: AN OVERVIEW OF ELASTOGRAPHY - AN EMERGING BRANCH OF MEDICAL IMAGING. *Current medical imaging reviews*, 7: 255-282, 2011.
 80. de Ledinghen, V, Vergniol, J: Transient elastography for the diagnosis of liver fibrosis. *Expert review of medical devices*, 7: 811-823, 2010.
 81. Foucher, J, Chanteloup, E, Vergniol, J, Castera, L, Le Bail, B, Adhoute, X, Bertet, J, Couzigou, P, de Ledinghen, V: Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*, 55: 403-408, 2006.
 82. Sandrin, L, Fourquet, B, Hasquenoph, JM, Yon, S, Fournier, C, Mal, F, Christidis, C, Ziou, M, Poulet, B, Kazemi, F, Beaugrand, M, Palau, R: Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*, 29: 1705-1713, 2003.
 83. Gobel, T, Schadewaldt-Tummers, J, Greiner, L, Poremba, C, Haussinger, D, Erhardt, A: Transient elastography improves detection of liver cirrhosis compared to routine screening tests. *World journal of gastroenterology*, 21: 953-960, 2015.

84. de Ledinghen, V, Le Bail, B, Rebouissoux, L, Fournier, C, Foucher, J, Miette, V, Castera, L, Sandrin, L, Merrouche, W, Lavrand, F, Lamireau, T: Liver stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 45: 443-450, 2007.
85. Friedrich-Rust, M, Ong, MF, Martens, S, Sarrazin, C, Bojunga, J, Zeuzem, S, Herrmann, E: Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*, 134: 960-974, 2008.
86. Fraquelli, M, Rigamonti, C, Casazza, G, Conte, D, Donato, MF, Ronchi, G, Colombo, M: Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*, 56: 968-973, 2007.
87. Roulot, D, Czernichow, S, Le Clesiau, H, Costes, JL, Vergnaud, AC, Beaugrand, M: Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *Journal of hepatology*, 48: 606-613, 2008.
88. de Ledinghen, V, Vergniol, J, Foucher, J, El-Hajbi, F, Merrouche, W, Rigalleau, V: Feasibility of liver transient elastography with FibroScan using a new probe for obese patients. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 30: 1043-1048, 2010.
89. Mederacke, I, Wursthorn, K, Kirschner, J, Rifai, K, Manns, MP, Wedemeyer, H, Bahr, MJ: Food intake increases liver stiffness in patients with chronic or resolved hepatitis C virus infection. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 29: 1500-1506, 2009.
90. Janssens, F, Spahr, L, Rubbia-Brandt, L, Giostra, E, Bihl, F: Hepatic amyloidosis increases liver stiffness measured by transient elastography. *Acta gastro-enterologica Belgica*, 73: 52-54, 2010.
91. Wong, VW, Chan, HL: Transient elastography. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 25: 1726-1731, 2010.
92. Sagir, A, Erhardt, A, Schmitt, M, Haussinger, D: Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 47: 592-595, 2008.
93. Pinzani, M, Rombouts, K, Colagrande, S: Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *Journal of hepatology*, 42 Suppl: S22-36, 2005.
94. Pinzani, M, Vizzutti, F, Arena, U, Marra, F: Technology Insight: noninvasive assessment of liver fibrosis by biochemical scores and elastography. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 5: 95-106, 2008.
95. Wasmuth, HE, Trautwein, C: [Liver fibrosis : clinics, diagnostics and management]. *Internist (Berl)*, 51: 14-20, 2010.
96. Shaheen, AA, Myers, RP: Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 46: 912-921, 2007.
97. Wai, CT, Greenson, JK, Fontana, RJ, Kalbfleisch, JD, Marrero, JA, Conjeevaram, HS, Lok, AS: A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 38: 518-526, 2003.
98. Poynard, T, Morra, R, Halfon, P, Castera, L, Ratziu, V, Imbert-Bismut, F, Naveau, S, Thabut, D, Lebec, D, Zoulim, F, Bourliere, M, Cacoub, P, Messous, D, Munteanu, M, de Ledinghen, V: Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol*, 7: 40, 2007.

99. Shaheen, AA, Wan, AF, Myers, RP: FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *The American journal of gastroenterology*, 102: 2589-2600, 2007.
100. Shaheen, AA, Myers, RP: Systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of fibrosis marker panels in patients with HIV/hepatitis C coinfection. *HIV Clin Trials*, 9: 43-51, 2008.
101. Holick, MF: Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of clinical investigation*, 116: 2062-2072, 2006.
102. DeLuca, HF: Metabolism and molecular mechanism of action of vitamin D: 1981. *Biochemical Society transactions*, 10: 147-158, 1982.
103. Ohyama, Y, Yamasaki, T: Eight cytochrome P450s catalyze vitamin D metabolism. *Front Biosci*, 9: 3007-3018, 2004.
104. Cheng, JB, Levine, MA, Bell, NH, Mangelsdorf, DJ, Russell, DW: Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 7711-7715, 2004.
105. Holick, MF: The cutaneous photosynthesis of previtamin D₃: a unique photoendocrine system. *J Invest Dermatol*, 77: 51-58, 1981.
106. Fraser, DR, Kodicek, E: Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature*, 228: 764-766, 1970.
107. Gray, R, Boyle, I, DeLuca, HF: Vitamin D metabolism: the role of kidney tissue. *Science (New York, NY)*, 172: 1232-1234, 1971.
108. Holick, MF, Garabedian, M, DeLuca, HF: 1,25-dihydroxycholecalciferol: metabolite of vitamin D₃ active on bone in anephric rats. *Science (New York, NY)*, 176: 1146-1147, 1972.
109. Prosser, DE, Jones, G: Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci*, 29: 664-673, 2004.
110. Bland, R, Walker, EA, Hughes, SV, Stewart, PM, Hewison, M: Constitutive expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in a transformed human proximal tubule cell line: evidence for direct regulation of vitamin D metabolism by calcium. *Endocrinology*, 140: 2027-2034, 1999.
111. Fukase, M, Birge, SJ, Jr., Rifas, L, Avioli, LV, Chase, LR: Regulation of 25 hydroxyvitamin D₃ 1-hydroxylase in serum-free monolayer culture of mouse kidney. *Endocrinology*, 110: 1073-1075, 1982.
112. Perwad, F, Portale, AA: Vitamin D metabolism in the kidney: regulation by phosphorus and fibroblast growth factor 23. *Mol Cell Endocrinol*, 347: 17-24, 2011.
113. Silver, J, Naveh-Many, T, Mayer, H, Schmelzer, HJ, Popovtzer, MM: Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo in the rat. *The Journal of clinical investigation*, 78: 1296-1301, 1986.
114. Haussler, MR, Jurutka, PW, Mizwicki, M, Norman, AW: Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 α ,25(OH)₂vitamin D₃: genomic and non-genomic mechanisms. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 25: 543-559, 2011.
115. Haussler, MR, Whitfield, GK, Haussler, CA, Hsieh, JC, Thompson, PD, Selznick, SH, Dominguez, CE, Jurutka, PW: The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 13: 325-349, 1998.

116. Jurutka, PW, Bartik, L, Whitfield, GK, Mathern, DR, Barthel, TK, Gurevich, M, Hsieh, JC, Kaczmarska, M, Haussler, CA, Haussler, MR: Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular mechanism of action, and novel nutritional ligands. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 22 Suppl 2: V2-10, 2007.
117. Karsenty, G, Lacour, B, Ulmann, A, Pierandrei, E, Druke, T: Early effects of vitamin D metabolites on phosphate fluxes in isolated rat enterocytes. *The American journal of physiology*, 248: G40-45, 1985.
118. Liang, CT, Barnes, J, Balakir, RA, Sacktor, B: Characterization of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-dependent calcium uptake in isolated chick duodenal cells. *The Journal of membrane biology*, 90: 145-156, 1986.
119. Nemere, I, Yoshimoto, Y, Norman, AW: Calcium transport in perfused duodena from normal chicks: enhancement within fourteen minutes of exposure to 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology*, 115: 1476-1483, 1984.
120. Bouillon, R, Carmeliet, G, Verlinden, L, van Etten, E, Verstuyf, A, Luderer, HF, Lieben, L, Mathieu, C, Demay, M: Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev*, 29: 726-776, 2008.
121. Christakos, S, Norman, AW: Studies on the mode of action of calciferol. XVIII. Evidence for a specific high affinity binding protein for 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in chick kidney and pancreas. *Biochemical and biophysical research communications*, 89: 56-63, 1979.
122. Colston, K, Hirt, M, Feldman, D: Organ distribution of the cytoplasmic 1,25-dihydroxycholecalciferol receptor in various mouse tissues. *Endocrinology*, 107: 1916-1922, 1980.
123. Kream, BE, Jose, M, Yamada, S, DeLuca, HF: A specific high-affinity binding macromolecule for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in fetal bone. *Science (New York, NY)*, 197: 1086-1088, 1977.
124. Reichrath, J, Schilli, M, Kerber, A, Bahmer, FA, Czarnetzki, BM, Paus, R: Hair follicle expression of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors during the murine hair cycle. *The British journal of dermatology*, 131: 477-482, 1994.
125. Stumpf, WE, Sar, M, Reid, FA, Tanaka, Y, DeLuca, HF: Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science (New York, NY)*, 206: 1188-1190, 1979.
126. Veldman, CM, Cantorna, MT, DeLuca, HF: Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Archives of biochemistry and biophysics*, 374: 334-338, 2000.
127. Jones, G: Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1 α -hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3). *Semin Dial*, 20: 316-324, 2007.
128. Jones, G, Strugnell, SA, DeLuca, HF: Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*, 78: 1193-1231, 1998.
129. Cannell, JJ, Hollis, BW: Use of vitamin D in clinical practice. *Altern Med Rev*, 13: 6-20, 2008.
130. Holick, MF: Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 80: 1678s-1688s, 2004.

131. Li, YC, Kong, J, Wei, M, Chen, ZF, Liu, SQ, Cao, LP: 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *The Journal of clinical investigation*, 110: 229-238, 2002.
132. Baeke, F, Takiishi, T, Korf, H, Gysemans, C, Mathieu, C: Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*, 10: 482-496, 2010.
133. Ross, AC, Manson, JAE, Abrams, SA, Aloia, JF, Brannon, PM, Clinton, SK, Durazo-Arvizu, RA, Gallagher, JC, Gallo, RL, Jones, G, Kovacs, CS, Mayne, ST, Rosen, CJ, Shapses, SA: The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96: 53-58, 2011.
134. Holick, MF, Siris, ES, Binkley, N, Beard, MK, Khan, A, Katzer, JT, Petruschke, RA, Chen, E, de Papp, AE: Prevalence of Vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90: 3215-3224, 2005.
135. Heaney, R, Garland, C, Baggerly, C, French, C, Gorham, E: Letter to Veugelers, P.J. and Ekwaru, J.P., A statistical error in the estimation of the recommended dietary allowance for vitamin D. *Nutrients* 2014, 6, 4472-4475; doi:10.3390/nu6104472. *Nutrients*, 7: 1688-1690, 2015.
136. Garland, CF, Kim, JJ, Mohr, SB, Gorham, ED, Grant, WB, Giovannucci, EL, Baggerly, L, Hofflich, H, Ramsdell, JW, Zeng, K, Heaney, RP: Meta-analysis of all-cause mortality according to serum 25-hydroxyvitamin D. *Am J Public Health*, 104: e43-50, 2014.
137. Bischoff-Ferrari, HA: Optimal serum 25-hydroxyvitamin D levels for multiple health outcomes. *Adv Exp Med Biol*, 810: 500-525, 2014.
138. Holick, MF, Binkley, NC, Bischoff-Ferrari, HA, Gordon, CM, Hanley, DA, Heaney, RP, Murad, MH, Weaver, CM: Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96: 1911-1930, 2011.
139. Holick, MF: Vitamin D deficiency. *The New England journal of medicine*, 357: 266-281, 2007.
140. Holick, MF: McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *The American journal of clinical nutrition*, 60: 619-630, 1994.
141. Wacker, M, Holick, MF: Vitamin D - effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients*, 5: 111-148, 2013.
142. Wacker, M, Holick, MF: Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermato-endocrinology*, 5: 51-108, 2013.
143. Holick, MF, Chen, TC, Lu, Z, Sauter, E: Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 22 Suppl 2: V28-33, 2007.
144. Wortsman, J, Matsuoka, LY, Chen, TC, Lu, Z, Holick, MF: Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American journal of clinical nutrition*, 72: 690-693, 2000.
145. Clements, MR, Davies, M, Fraser, DR, Lumb, GA, Mawer, EB, Adams, PH: Metabolic inactivation of vitamin D is enhanced in primary hyperparathyroidism. *Clinical science (London, England : 1979)*, 73: 659-664, 1987.
146. Ekwaru, JP, Zwicker, JD, Holick, MF, Giovannucci, E, Veugelers, PJ: The importance of body weight for the dose response relationship of oral vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D in healthy volunteers. *PloS one*, 9: e111265, 2014.
147. Collier, JD, Ninkovic, M, Compston, JE: Guidelines on the management of osteoporosis associated with chronic liver disease. *Gut*, 50 Suppl 1: i1-9, 2002.

148. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *Journal of hepatology*, 51: 237-267, 2009.
149. Rode, A, Furlanos, S, Nicoll, A: Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterologie clinique et biologique*, 34: 618-620, 2010.
150. Imawari, M, Akanuma, Y, Itakura, H, Muto, Y, Kosaka, K, Goodman, DS: The effects of diseases of the liver on serum 25-hydroxyvitamin D and on the serum binding protein for vitamin D and its metabolites. *J Lab Clin Med*, 93: 171-180, 1979.
151. Arteh, J, Narra, S, Nair, S: Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci*, 55: 2624-2628, 2010.
152. Fisher, L, Fisher, A: Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 5: 513-520, 2007.
153. Miroliaee, A, Nasiri-Toosi, M, Khalilzadeh, O, Esteghamati, A, Abdollahi, A, Mazloumi, M: Disturbances of parathyroid hormone-vitamin D axis in non-cholestatic chronic liver disease: a cross-sectional study. *Hepatology international*, 4: 634-640, 2010.
154. Putz-Bankuti, C, Pilz, S, Stojakovic, T, Scharnagl, H, Pieber, TR, Trauner, M, Obermayer-Pietsch, B, Stauber, RE: Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 32: 845-851, 2012.
155. Targher, G, Bertolini, L, Scala, L, Cigolini, M, Zenari, L, Falezza, G, Arcaro, G: Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 17: 517-524, 2007.
156. Hepner, GW, Roginsky, M, Moo, HF: Abnormal vitamin D metabolism in patients with cirrhosis. *Am J Dig Dis*, 21: 527-532, 1976.
157. Mawer, EB, Klass, HJ, Warnes, TW, Berry, JL: Metabolism of vitamin D in patients with primary biliary cirrhosis and alcoholic liver disease. *Clinical science (London, England : 1979)*, 69: 561-570, 1985.
158. Petta, S, Camma, C, Scazzone, C, Tripodo, C, Di Marco, V, Bono, A, Cabibi, D, Licata, G, Porcasi, R, Marchesini, G, Craxi, A: Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 51: 1158-1167, 2010.
159. Skinner, RK, Sherlock, S, Long, RG, Wilis, MR: 25-Hydroxylation of vitamin D in primary biliary cirrhosis. *Lancet (London, England)*, 1: 720-721, 1977.
160. Bikle, DD, Halloran, BP, Gee, E, Ryzen, E, Haddad, JG: Free 25-hydroxyvitamin D levels are normal in subjects with liver disease and reduced total 25-hydroxyvitamin D levels. *The Journal of clinical investigation*, 78: 748-752, 1986.
161. Iruzubieta, P, Teran, A, Crespo, J, Fabrega, E: Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World journal of hepatology*, 6: 901-915, 2014.
162. White, P, Cooke, N: The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab*, 11: 320-327, 2000.
163. Compston, JE: Hepatic osteodystrophy: vitamin D metabolism in patients with liver disease. *Gut*, 27: 1073-1090, 1986.
164. Ahn, J, Yu, K, Stolzenberg-Solomon, R, Simon, KC, McCullough, ML, Gallicchio, L, Jacobs, EJ, Ascherio, A, Helzlsouer, K, Jacobs, KB, Li, Q, Weinstein, SJ, Purdue, M, Virtamo, J, Horst, R, Wheeler, W, Chanock, S, Hunter, DJ, Hayes, RB, Kraft, P, Albanes, D: Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 19: 2739-2745, 2010.

165. Wang, TJ, Zhang, F, Richards, JB, Kestenbaum, B, van Meurs, JB, Berry, D, Kiel, DP, Streeten, EA, Ohlsson, C, Koller, DL, Peltonen, L, Cooper, JD, O'Reilly, PF, Houston, DK, Glazer, NL, Vandenput, L, Peacock, M, Shi, J, Rivadeneira, F, McCarthy, MI, Anneli, P, de Boer, IH, Mangino, M, Kato, B, Smyth, DJ, Booth, SL, Jacques, PF, Burke, GL, Goodarzi, M, Cheung, CL, Wolf, M, Rice, K, Goltzman, D, Hidiroglou, N, Ladouceur, M, Wareham, NJ, Hocking, LJ, Hart, D, Arden, NK, Cooper, C, Malik, S, Fraser, WD, Hartikainen, AL, Zhai, G, Macdonald, HM, Forouhi, NG, Loos, RJ, Reid, DM, Hakim, A, Dennison, E, Liu, Y, Power, C, Stevens, HE, Jaana, L, Vasani, RS, Soranzo, N, Bojunga, J, Psaty, BM, Lorentzon, M, Foroud, T, Harris, TB, Hofman, A, Jansson, JO, Cauley, JA, Uitterlinden, AG, Gibson, Q, Jarvelin, MR, Karasik, D, Siscovick, DS, Econs, MJ, Kritchevsky, SB, Florez, JC, Todd, JA, Dupuis, J, Hypponen, E, Spector, TD: Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet (London, England)*, 376: 180-188, 2010.
166. Grunhage, F, Hochrath, K, Krawczyk, M, Hoblinger, A, Obermayer-Pietsch, B, Geisel, J, Trauner, M, Sauerbruch, T, Lammert, F: Common genetic variation in vitamin D metabolism is associated with liver stiffness. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 56: 1883-1891, 2012.
167. Abramovitch, S, Dahan-Bachar, L, Sharvit, E, Weisman, Y, Ben Tov, A, Brazowski, E, Reif, S: Vitamin D inhibits proliferation and profibrotic marker expression in hepatic stellate cells and decreases thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Gut*, 60: 1728-1737, 2011.
168. Ding, N, Yu, RT, Subramaniam, N, Sherman, MH, Wilson, C, Rao, R, Leblanc, M, Coulter, S, He, M, Scott, C, Lau, SL, Atkins, AR, Barish, GD, Gunton, JE, Liddle, C, Downes, M, Evans, RM: A vitamin D receptor/SMAD genomic circuit gates hepatic fibrotic response. *Cell*, 153: 601-613, 2013.
169. Baur, K, Mertens, JC, Schmitt, J, Iwata, R, Stieger, B, Eloranta, JJ, Frei, P, Stickel, F, Dill, MT, Seifert, B, Ferrari, HA, von Eckardstein, A, Bochud, PY, Mullhaupt, B, Geier, A: Combined effect of 25-OH vitamin D plasma levels and genetic vitamin D receptor (NR 111) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 32: 635-643, 2012.
170. Adams, JS, Hewison, M: Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 4: 80-90, 2008.
171. Liu, PT, Stenger, S, Li, H, Wenzel, L, Tan, BH, Krutzik, SR, Ochoa, MT, Schaubert, J, Wu, K, Meinken, C, Kamen, DL, Wagner, M, Bals, R, Steinmeyer, A, Zugel, U, Gallo, RL, Eisenberg, D, Hewison, M, Hollis, BW, Adams, JS, Bloom, BR, Modlin, RL: Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science (New York, NY)*, 311: 1770-1773, 2006.
172. Gascon-Barre, M, Demers, C, Mirshahi, A, Neron, S, Zalzal, S, Nanci, A: The normal liver harbors the vitamin D nuclear receptor in nonparenchymal and biliary epithelial cells. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 37: 1034-1042, 2003.
173. D'Aldebert, E, Biyeyeme Bi Mve, MJ, Mergey, M, Wendum, D, Firrincieli, D, Coilly, A, Fouassier, L, Corpechot, C, Poupon, R, Housset, C, Chignard, N: Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. *Gastroenterology*, 136: 1435-1443, 2009.
174. Han, S, Li, T, Ellis, E, Strom, S, Chiang, JY: A novel bile acid-activated vitamin D receptor signaling in human hepatocytes. *Mol Endocrinol*, 24: 1151-1164, 2010.

175. Van Belle, TL, Gysemans, C, Mathieu, C: Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: a vital player? *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 25: 617-632, 2011.
176. Sadeghi, K, Wessner, B, Laggner, U, Ploder, M, Tamandl, D, Friedl, J, Zugel, U, Steinmeyer, A, Pollak, A, Roth, E, Boltz-Nitulescu, G, Spittler, A: Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol*, 36: 361-370, 2006.
177. Dickie, LJ, Church, LD, Coulthard, LR, Mathews, RJ, Emery, P, McDermott, MF: Vitamin D3 down-regulates intracellular Toll-like receptor 9 expression and Toll-like receptor 9-induced IL-6 production in human monocytes. *Rheumatology (Oxford)*, 49: 1466-1471, 2010.
178. Kong, J, Zhang, Z, Musch, MW, Ning, G, Sun, J, Hart, J, Bissonnette, M, Li, YC: Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*, 294: G208-216, 2008.
179. von Essen, MR, Kongsbak, M, Schjerling, P, Olgaard, K, Odum, N, Geisler, C: Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol*, 11: 344-349, 2010.
180. Lemire, JM, Archer, DC, Beck, L, Spiegelberg, HL: Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3: preferential inhibition of Th1 functions. *J Nutr*, 125: 1704s-1708s, 1995.
181. Boonstra, A, Barrat, FJ, Crain, C, Heath, VL, Savelkoul, HF, O'Garra, A: 1 α ,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol*, 167: 4974-4980, 2001.
182. Daniel, C, Sartory, NA, Zahn, N, Radeke, HH, Stein, JM: Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a Th helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 324: 23-33, 2008.
183. Zittermann, A, Iodice, S, Pilz, S, Grant, WB, Bagnardi, V, Gandini, S: Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *The American journal of clinical nutrition*, 95: 91-100, 2012.
184. Stokes, CS, Krawczyk, M, Reichel, C, Lammert, F, Grunhage, F: Vitamin D deficiency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis. *European journal of clinical investigation*, 44: 176-183, 2014.
185. Anty, R, Tonohouan, M, Ferrari-Panaia, P, Piche, T, Pariente, A, Anstee, QM, Gual, P, Tran, A: Low Levels of 25-Hydroxy Vitamin D are Independently Associated with the Risk of Bacterial Infection in Cirrhotic Patients. *Clin Transl Gastroenterol*, 5: e56, 2014.
186. Castera, L, Forns, X, Alberti, A: Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *Journal of hepatology*, 48: 835-847, 2008.
187. Tapper, EB, Castera, L, Afdhal, NH: FibroScan (vibration-controlled transient elastography): where does it stand in the United States practice. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 13: 27-36, 2015.
188. 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: Effects of Vitamin D Supplementation on Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Cirrhotic Patients: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*, 8, 2016.

189. Beilfuss, A, Sowa, JP, Sydor, S, Beste, M, Bechmann, LP, Schlattjan, M, Syn, WK, Wedemeyer, I, Mathe, Z, Jochum, C, Gerken, G, Gieseler, RK, Canbay, A: Vitamin D counteracts fibrogenic TGF-beta signalling in human hepatic stellate cells both receptor-dependently and independently. *Gut*, 64: 791-799, 2015.
190. de Almeida, JP, Liberatti, LS, Barros, FE, Kallaur, AP, Lozovoy, MA, Scavuzzi, BM, Panis, C, Reiche, EM, Dichi, I, Simao, AN: Profile of oxidative stress markers is dependent on vitamin D levels in patients with chronic hepatitis C. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*, 32: 362-367, 2016.
191. Fernandez Fernandez, N, Linares Torres, P, Joao Matias, D, Jorquera Plaza, F, Olcoz Goni, JL: [Vitamin D deficiency in chronic liver disease, clinical-epidemiological analysis and report after vitamin d supplementation]. *Gastroenterologia y hepatologia*, 39: 305-310, 2016.
192. Verdoia, M, Schaffer, A, Sartori, C, Barbieri, L, Casseti, E, Marino, P, Galasso, G, De Luca, G: Vitamin D deficiency is independently associated with the extent of coronary artery disease. *European journal of clinical investigation*, 44: 634-642, 2014.
193. Silvagno, F, De Vivo, E, Attanasio, A, Gallo, V, Mazzucco, G, Pescarmona, G: Mitochondrial localization of vitamin D receptor in human platelets and differentiated megakaryocytes. *PLoS one*, 5: e8670, 2010.
194. Potter, JJ, Liu, X, Koteish, A, Mezey, E: 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor repress human alpha1 (I) collagen expression and type I collagen formation. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 33: 677-686, 2013.
195. Papapostoli, I, Lammert, F, Stokes, CS: Effect of Short-Term Vitamin D Correction on Hepatic Steatosis as Quantified by Controlled Attenuation Parameter (CAP). *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD*, 25: 175-181, 2016.
196. Ko, BJ, Kim, YS, Kim, SG, Park, JH, Lee, SH, Jeong, SW, Jang, JY, Kim, HS, Kim, BS, Kim, SM, Kim, YD, Cheon, GJ, Lee, BR: Relationship between 25-Hydroxyvitamin D Levels and Liver Fibrosis as Assessed by Transient Elastography in Patients with Chronic Liver Disease. *Gut and liver*, 10: 818-825, 2016.
197. Lorvand Amiri, H, Agah, S, Tolouei Azar, J, Hosseini, S, Shidfar, F, Mousavi, SN: Effect of daily calcitriol supplementation with and without calcium on disease regression in non-alcoholic fatty liver patients following an energy-restricted diet: Randomized, controlled, double-blind trial. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 2016.
198. Barchetta, I, Del Ben, M, Angelico, F, Di Martino, M, Fraioli, A, La Torre, G, Saulle, R, Perri, L, Morini, S, Tiberti, C, Bertocchini, L, Cimini, FA, Panimolle, F, Catalano, C, Baroni, MG, Cavallo, MG: No effects of oral vitamin D supplementation on non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC medicine*, 14: 92, 2016.
199. Kitson, MT, Pham, A, Gordon, A, Kemp, W, Roberts, SK: High-dose vitamin D supplementation and liver histology in NASH. *Gut*, 65: 717-718, 2016.
200. Sharifi, N, Amani, R, Hajiani, E, Cheraghian, B: Does vitamin D improve liver enzymes, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in adults with non-alcoholic fatty liver disease? A randomized clinical trial. *Endocrine*, 47: 70-80, 2014.
201. Foroughi, M, Maghsoudi, Z, Ghiasvand, R, Iraj, B, Askari, G: Effect of Vitamin D Supplementation on C-reactive Protein in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver. *International journal of preventive medicine*, 5: 969-975, 2014.
202. Poynard, T, Mathurin, P, Lai, CL, Guyader, D, Poupon, R, Tainturier, MH, Myers, RP, Muntenau, M, Ratziu, V, Manns, M, Vogel, A, Capron, F, Chedid, A, Bedossa, P: A

- comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *Journal of hepatology*, 38: 257-265, 2003.
203. Drincic, A, Fuller, E, Heaney, RP, Armas, LA: 25-Hydroxyvitamin D response to graded vitamin D(3) supplementation among obese adults. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 98: 4845-4851, 2013.
204. Heaney, RP: Vitamin D--baseline status and effective dose. *The New England journal of medicine*, 367: 77-78, 2012.
205. Sollid, ST, Hutchinson, MY, Fuskevåg, OM, Joakimsen, RM, Jorde, R: Large Individual Differences in Serum 25-Hydroxyvitamin D Response to Vitamin D Supplementation: Effects of Genetic Factors, Body Mass Index, and Baseline Concentration. Results from a Randomized Controlled Trial. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, 48: 27-34, 2016.
206. Gianni, E, Forte, P, Galli, V, Razzolini, G, Bardazzi, G, Annese, V: Prospective Evaluation of Liver Stiffness Using Transient Elastography in Alcoholic Patients Following Abstinence. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 52: 42-47, 2017.
207. Wang, JH, Changchien, CS, Hung, CH, Tung, WC, Kee, KM, Chen, CH, Hu, TH, Lee, CM, Lu, SN: Liver stiffness decrease after effective antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C: Longitudinal study using FibroScan. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 25: 964-969, 2010.
208. Chen, EQ, Shi, Y, Tang, H: New insight of vitamin D in chronic liver diseases. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT*, 13: 580-585, 2014.