



НАРУШЕНИЕ ВСАСЫВАНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ ПРИ БОЛЕЗНЯХ ПЕЧЕНИ

Хавкин А.И., Комарова О.Н.

Научно-исследовательский клинический институт педиатрии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова

MALABSORPTION FAT-SOLUBLE VITAMINS AND PROSPECTS OF THEIR USE IN LIVER DISEASES

Khavkin A.I., Komarova O.N.

Pirogov Russian National Research Medical University

Хавкин Анатолий Ильич

Khavkin Anatoly I.

akhavkin@pedklin.ru

Хавкин Анатолий Ильич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом гастроэнтерологии НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова».

Комарова Оксана Николаевна — кандидат медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник отдела гастроэнтерологии НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова».

Резюме

В обзорной статье рассматриваются вопросы эффективности и тактики назначения жирорастворимых витаминов, как при холестатических, так и нехолестатических болезнях печени, а также водорастворимых витаминов, в частности, витамина С при желчнокаменной болезни. Окислительный стресс, в результате хронического воспаления является одним из основных механизмов преобразования фиброза печени в цирроз. Дисбаланс между продукцией реактивных форм кислорода и антиоксидантной защитой вызывает ряд патофизиологических изменений в печени, в том числе активацию печеночных звездчатых клеток. У носителей I148M мутации в PNPLA3 не наблюдалось уменьшения концентрации в печени витамина А с увеличением тяжести заболевания, но отмечалось снижение уровня циркулирующего ретинил пальмитата и ретинол-связывающего белка. К назначению витамина А при болезнях печени следует подходить с осторожностью. Гипервитаминоз А приводит к ускоренному фиброзу печени и стимулирует канцерогенез. В настоящее время активно изучается возможность использования витамина Е, как антиоксиданта, у больных с неалкогольной жировой болезнью печени. Его присутствие в мембранах фосфолипидного бислоя клеток позволяет предотвратить окисление неферментативных компонентов клеток свободными радикалами. Витамин Е может подавлять профибротические процессы. У пациентов с хроническими холестатическими заболеваниями печени распространена недостаточность витамина К, даже при его назначении, и связана со степенью холестаза и тяжестью заболевания. Гиповитаминоз D при болезнях печени также связан с тяжестью заболевания: коррелирует с выраженностью печеночной недостаточности и инфекционными осложнениями. Витамин D является независимым прогностическим параметром риска смертности у пациентов с циррозом печени.

Ключевые слова: жирорастворимые витамины; витамины А, D, E, K, C; болезни печени; холестаз; фиброз; желчнокаменная болезнь.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2016; 131 (7): 86–94

Summary

In a review article considers issues of efficiency and tactics of the purpose of fat-soluble vitamins, as in cholestatic and noncholestatic liver disease, as well as water-soluble vitamins, particularly vitamin C cholelithiasis. Oxidative stress due to chronic inflammation is one of the major conversion mechanisms of liver fibrosis in cirrhosis. The imbalance between production of reactive oxygen species and antioxidant defense causes a number of pathophysiological changes in the liver, including activation of hepatic stellate cells. The carriers of the I148M PNPLA3 mutation was not observed concentration reduction in liver vitamin A with increasing severity of the disease, but the observed decrease in the level of circulating retinyl palmitate and retinol-binding protein. To the appointment of vitamin A in liver disease should be approached with caution.

Hypervitaminosis A leads to accelerated liver fibrosis and stimulates carcinogenesis. Currently actively studied the possibility of using vitamin E as an antioxidant, in patients with non-alcoholic fatty liver disease. His presence in the membranes phospholipid bilayer allows cells to prevent non-enzymatic oxidation of cell components by free radicals. Vitamin E can suppress the profibrotic processes. In patients with chronic cholestatic liver disease is common, vitamin K deficiency, even when administered, and is associated with the degree of cholestasis and severity of disease. The vitamin D deficiency, liver disease is also associated with the severity of disease correlated with the severity of liver failure and infectious complications. Vitamin D is an independent prognostic parameter for mortality risk in patients with liver cirrhosis.

Keywords: fat-soluble vitamins; vitamins A, D, E, K, C; liver disease; cholestasis; fibrosis; cholelithiasis.

Experimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2016; 131 (7): 86–94

Витамины — низкомолекулярные органические соединения, которые подразделяются на два класса в зависимости от растворимости: жир- и водорастворимые. Свойство витаминов растворяться в разных средах является важным фактором для понимания механизма их всасывания в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ).

В отличие от водорастворимых, основная проблема жирорастворимых витаминов (ЖРВ) состоит в их транспортировке к мембране энтероцита в полости ЖКТ. Выделяясь из пищевых продуктов, эти витамины попадают в водную среду химуса, где раствориться не могут. Для этого, так же как и все остальные жиры, ЖРВ проходят процесс эмульгирования желчью. В качестве транспортных систем, доставляющих ЖРВ к эпителиальной выстилке тонкой кишки, выступают образования, получившие название мицелл, образующиеся из солей желчных кислот. В этом случае ЖРВ входят в состав смешанных мицелл вместе с другими жирами: фосфолипидами, холестерином, жирными кислотами и т. д. Подходя к поверхности энтероцитов, ЖРВ совместно с другими жирами освобождаются из мицелл и диффундируют через их мембрану внутрь клетки. В энтероцитах ЖРВ входят в состав хиломикронов (гликопротеины), которые транспортируют их в лимфу. Всасываются в основном в проксимальном отделе тонкой кишки путем пассивной диффузии.

Преобразование витамина А в активную форму происходит в печени человека или животных, где он может накапливаться. Всасыванию β-каротина в небольших количествах способствует витамин Е, тогда как в больших концентрациях витамин Е блокирует всасывание и витамина А, и его предшественника.

Действие биологически активных форм витамина А является дозозависимым, распространяется на многие органы и проявляется на молекулярном, субклеточном, клеточном, популяционно-клеточном и органном уровнях.

Риск дефицита и дефицит витамина А развивается вследствие мальабсорбции жиров любого генеза. Наиболее часто при экзокринной недостаточности поджелудочной железы, целиакии, болезни Крона. Характерен дефицит витамина А при расстройстве транспорта (абеталипопротеинемии) и заболеваниях печени. Характерными клиническими проявлениями дефицита витамина А являются ухудшения ночного зрения, сухость кожи и волос. Описаны пятна Битот (Bitot, поверхностные, неправильной формы, белые поражения на конъюнктиве обоих

глаз), как проявления дефицита витамина А у пациентов с целиакией [1].

При гиповитаминозе А изменяются пролиферация, дифференцировка и продолжительность жизненных циклов клеток. Эпидермис реагирует на недостаток витамина А истончением рогового слоя. Для многослойного плоского неороговевающего и мягкокератинизирующегося видов эпителия при дефиците витамина А характерны кератинизация и гиперкератоз, что отмечено для эпителия полости рта, гортани, пищевода, влагалища. Описан также случай эзофагита вследствие гиперкератоза как результат дефицита витамина А [2].

На ранних стадиях гиповитаминоза А в эпителии тонкой кишки наблюдается увеличение продолжительности S- и укорочение G2-периодов, задерживается дифференцировка клеток в зрелые бокаловидные и падает их функциональная активность. По мере нарастания гиповитаминоза А на фоне общего снижения пролиферативной активности в некоторых видах эпителия развиваются очаги его базальноклеточной гиперплазии и плоскоклеточной метаплазии. Максимальной чувствительностью к изменению содержания в пище витамина А обладают быстро пролиферирующие ткани, такие, например, как эпителий крипт кишечника. Умеренно повышенные дозы витамина А стимулируют подъем митотической активности клеток, это происходит параллельно с повышением способности популяции синтезировать ДНК. Отмеченный эффект не связан с усилением репарации ДНК, и определяется дозозависимым ростом численности клеток, начинающих репликацию ДНК. Субклинический дефицит витамина А часто определяется по концентрации в сыворотке ретинола ниже, чем 0.70 мкмоль/л (20 мкг/дл). При тяжелой недостаточности витамина А — ниже 0.35 мкмоль/л (10 мкг/дл) [3].

Витамин D (холекальциферол) всасывается в проксимальном отделе тонкой кишки. Образование активной формы витамина, кальцитриола, происходит в два этапа: в печени и почках.

Гиповитаминоз D является преобладающим среди лиц с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и печени. Низкое потребление витамина D, мальабсорбция жиров, дефицит желчных кислот, уменьшение поверхности всасывания, повышенная проницаемость кишечника и потеря функции печени — условия, часто связанные с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Поэтому пациенты с заболеваниями ЖКТ и печени могут

особенно подвержены дефициту жирорастворимых витаминов, и в частности, витамина D.

Дефицит витамина D распространен среди пациентов с муковисцидозом и, как при холестатических, так и не холестатических заболеваниях печени. Это объясняется уменьшением потребления витамина D и нарушением превращения витамина D в 25-гидроксивитамин D (25-OHD), которое происходит в печени. 25-OHD — самый распространенный метаболит в человеческом организме и свидетельствует в целом о статусе витамин D организма [4].

Для поддержания должествующих уровней витамина D в крови (уровень в крови 25-OHD не менее 32 нг/мл) дозы витамина D должны быть больше рекомендуемых в настоящее время, особенно у лиц с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и печени [5].

Активная форма витамин D $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, играет важную роль в гомеостазе кальция, костного метаболизма и регулировании иммунной системы. 1,25-гидроксивитамин D повышает усвоение кальция в тонкой кишке, взаимодействуя с рецептором витамина D-ретиновой кислоты и рецепторного комплекса, усиливая экспрессию эпителиальных кальциевых каналов и кальций-связывающего белка, расположенного в энтероците [6].

В последнее время появились основания предположить, что уровень, по крайней мере, 30 нг/мл (75 нмоль/л) необходим для уменьшения гиперпаратиреоза и максимального кишечного транспорта кальция. Heaney RP и соавт. обнаружили увеличение кишечного транспорта кальция на 45–65% у здоровых женщин, когда уровни 25OHD были увеличены в среднем от 20 до 32 нг/мл (от 50 до 80 нмоль/л) [7].

Было точно установлено, что витамин D_3 (холекальциферол) — это более мощная форма витамина D, чем витамин D_2 (эргокальциферол) [8]. Доза 400 МЕ витамина D_2 /сутки недостаточна для поддержания оптимальных запасов витамина D (25OHD ≥ 32 нг/мл), особенно зимой у здоровых взрослых и детей в северном полушарии. Некоторые исследователи предположили, что суточная доза витамина D3 от 1 000 до 4000 МЕ/сутки необходима для того, чтобы достичь и поддерживать в сыворотке крови 25OHD концентрации ≥ 30 нг/мл, начиная с обеспеченности витамином D здоровыми взрослыми [9]. Взрослые и дети с заболеваниями желудочно-кишечного тракта могут иметь еще большую потребность в витамине D при мальабсорбции, снижении воздействия солнечных лучей и потери питательных веществ через воспаленный кишечник. Национальная Академия Наук США отметила, что не наблюдается вредного воздействия витамина D_3 в дозе 2000 МЕ/сут [10]. При изучении уровня витамина D у пациентов с аутоиммунным гастритом (АИГ), было выявлено его значительное снижение, по сравнению с пациентами с неспецифическим гастритом или населения в целом. Это поддерживает гипотезу о том, что гиповитаминоз D может быть фактором риска развития аутоиммунных заболеваний.

Активный витамин E (α -токоферол) образуется в двенадцатиперстной кишке под действием эстераз поджелудочной железы. Транспортируется в тонкой кишке с помощью мицелл, для чего проходит

стадию эмульгирования желчью. Адсорбируется в проксимальной части тонкой кишки с помощью пассивной диффузии и, возможно, специфического транспортера. При высокой концентрации всасывается около 80%, при низкой — 20% общего количества поступившего в кишечник витамина. Всасывание витамина E возрастает при уменьшении потребления витамина D, ионов цинка, магния, меди и селена. Высокие концентрации витамина E блокируют потребление витамина D. Возможно, это связано с использованием одних и тех же мест для диффузии через мембрану энтероцитов или переносчиков.

Эффективность всасывания витамина E повышается с увеличением количества жира в съедаемой пище [11]. Все липопротеины участвуют в транспорте и тканевом распределении α -токоферола. При повышении концентрации липидов (холестерина и триглицеридов) в крови определяются высокие концентрации в сыворотке крови и α -токоферола [12]. Однако при высокой концентрации в крови липидов распределение α -токоферола в тканях может быть существенно измененным.

Тяжелая недостаточность витамина E встречается редко и связана с определенными генетическими дефектами белков-переносчиков α -токоферола и липопротеинов. Дефицит витамина E наблюдается у лиц с жировой мальабсорбцией, при которой ухудшается всасывание пищевых жиров и, следовательно, жирорастворимых витаминов, таких как витамин E. Клинические проявления дефицита витамина E включают мышечную слабость, атаксию и гемолиз [13].

Суточная потребность в витамине E 20 мг (30 МЕ). Назначение взрослым витамина E в дозе от 200 до 800 мг/сутки обычно переносится без побочных эффектов, за исключением желудочно-кишечных расстройств. При дозах от 800 до 1200 мг/сутки могут возникнуть кровотечения. Дозы, превышающие 1200 мг/сутки, могут привести к головной боли, усталости, тошноте, жидкому стулу, судорогам, затуманенному зрению и гонадной дисфункции.

Витамин K участвует в карбоксилировании остатков глутаминовой кислоты в полипептидных цепях некоторых белков. Он всасывается в тонкой кишке путем пассивной и активной диффузии. Избыток витаминов A и E блокирует всасывание витамина K, возможно, в результате конкуренции за одно и то же место диффузии в проксимальном отделе тонкой кишки. В результате такого ферментативного процесса происходит превращение остатков глутаминовой кислоты в остатки гамма-карбоксилглутаминовой кислоты (сокращенно Gla-радикалы). Gla-радикалы, благодаря двум свободным карбоксильным группам, участвуют в связывании кальция и играют важную роль в биологической активности всех известных Gla-белков [14]. Gla-белки участвуют в регулировании свертывания крови (протромбин (фактор II), факторы VII, IX, X, белок C, белок S и белок Z), метаболизме костной ткани (остеокальцин — Gla-белок кости, или матрица gla белка (MGP)).

Организм накапливает витамин K в очень небольших количествах, которые быстро истощаются

без его регулярного присутствия в рационе. Незначительно снижаются потребности в витамине К за счет витамина К-эпоксидного цикла, который позволяет многократно использовать витамин для карбоксилирования белка. Кроме того, витамин К, точнее витамин К₂, может синтезироваться бактериями, колонизирующими толстую кишку. Изначально считалось, что до 50% потребности человека в витамине К может быть достигнуто путем бактериального синтеза. Однако, все формы витамина К всасываются в тонкой кишке с помощью механизма, требующего наличие солей желчных кислот, в то время как синтез витамина К₂ происходит в толстой кишке. Современные исследования показали, что вклад бактериального синтеза витамина К намного меньше, чем считалось ранее [15]. Дефицит витамина К возникает при неадекватном потреблении, а также нарушении его синтеза бактериями в кишечнике, особенно при назначении антибиотикотерапии. Другими факторами риска дефицита витамина К являются болезни почек и печени, а также заболевания, сопровождающиеся мальабсорбцией жира (воспалительные заболевания кишечника, муковисцидоз), нарушения всасывания в кишечнике. Высокий риск дефицита у пациентов, получающих антагонисты витамина К. Дефицит витамина К приводит к нарушению свертывания крови или кровотечениям. Симптомами недостаточности являются легко появляющиеся синяки и кровотечения из носа, кровоточивость десен, кровь в моче, кровь в кале, мелена или чрезвычайно обильные менструальные кровотечения. Дефицит витамина К может привести к угрожающим жизни внутричерепным кровоизлияниям, особенно у детей раннего возраста. Важно клиническое значение витамина К для пациентов, принимающих варфарин, который подавляет витамин К-зависимое γ-карбоксилирование коагуляционных факторов II, VII, IX и X. Помимо диеты, пациентам назначается витамин К перорально или парентерально. Сейчас эксперты советуют достаточно постоянное диетическое потребление витамина К, что отвечает современным диетическим рекомендациям (от 90 до 120 мкг/сут) для пациентов, принимающих антагонисты витамина К, такие как варфарин. Из-за высокой вариабельности ответа пациентов на терапию антагонистами витамина К, было высказано предположение о ежедневном приеме низких доз филлохинона, который может улучшить стабильность антикоагулянтной терапии. Вместе с тем в ряде мета-анализов недавно указано на отсутствие достаточных доказательств для пациентов, принимающих варфарин [16–18].

В литературе рассматриваются вопросы эффективности и тактики назначения жирорастворимых витаминов, как при холестатических, так и нехолестатических болезнях печени, а также водорастворимых витаминов, в частности, витамина С при желчнокаменной болезни.

Окислительный стресс, в результате хронического воспаления является одним из основных механизмов преобразования фиброза печени в цирроз [19]. Дисбаланс между продукцией реактивных форм кислорода и антиоксидантной защитой

вызывает ряд патофизиологических изменений в печени, в том числе активацию печеночных звездчатых клеток, окислительного повреждения липидов, нуклеотидов и белков, и инициацию пролиферативных процессов, связанных с регенерацией. Витамин А и его предшественники, каротиноиды, являются важным элементом антиоксидантной защиты организма в связи с их способностью нейтрализовать свободные радикалы в тканях.

В нормальной печени, в состоянии покоя до 70–90% витамина А запасается в гепатоцитах, звездчатых и купферовских клетках в комплексе с липопротеином. При хронических повреждениях печени звездчатые клетки активируются, приобретая пролиферативные и провоспалительные свойства, играющие важную роль в фиброгенезе. Таким образом, депо для витамина А будет истощаться [20].

Вместе с тем, ряд исследователей не наблюдали определенного уменьшения концентрации в печени ретинил пальмитата с увеличением тяжести заболевания на ранних стадиях хронических заболеваний печени. Эта особенность может быть у носителей P148M мутации в PNPLA3, что способствует удержанию ретинил пальмитата внутри печеночной клетки [21]. Так, Mondul A. и соавт. обнаружили у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), являющихся носителями PNPLA3 P148M мутации, снижение уровня циркулирующего ретинил пальмитата и ретинол-связывающего белка [22]. Вместе с тем не было обнаружено никакой ассоциации между уровнями ретинол-связывающего белка и альбумином, если предполагать снижение белковосинтетической функции печени. При циррозе печени также отмечено снижение синтеза ретинол-связывающего белка, что препятствует мобилизации эндогенного витамина А. Назначение пациентам с циррозом печени ретинола не повлияло на уровень в сыворотке крови ретинол-связывающего белка, показало его низкие значения по отношению к концентрации ретинола независимо от дозы препарата. На сегодняшний день, не исключено, что внутриклеточное удержание витамина А способствует прогрессии фиброза и гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК). А PNPLA3 является фактором развития ГЦК [23].

Таким образом, разумно предположить, что дополнение витамином А может оказывать вредные воздействия у пациентов с хроническими заболеваниями печени [24]. А наблюдающееся снижение в сыворотке крови витамина А отражает его псевдодефицит. Поэтому к назначению витамина А следует подходить с осторожностью у лиц с заболеваниями печени, так как гипервитаминоз А приводит к ускоренному фиброзу печени и может также стимулировать канцерогенез [25].

Однако снижение в сыворотке ретиноидов происходит раньше, чем уменьшение их содержания в депо. По-видимому, истощение антиоксидантов сыворотки может быть связано с системным окислительным стрессом из-за перекисного окисления липидов. В этой связи, дефицит пищевых антиоксидантов, таких как ретиноиды и каротиноиды, могли бы стать важным модифицируемым фактором риска прогрессии хронических заболеваний печени. Например, истощение запасов витамина А, ликопина

и β -каротина широко распространена среди пациентов с хронической HCV-инфекцией. Это явление, как представляется, возникают в самом начале болезни, еще до развития фиброза. Таким образом, разрушение антиоксидантов, в частности, ретиноидов и каротиноидов, происходит в самом начале заболевания и это разрушение параллельно увеличению окислительного стресса и является признаком печеночной активации звездчатых клеток [26].

По данным других исследователей, дефицит витамина А в сыворотке крови отмечается при хронических заболеваниях печени, причем наблюдается усугубление дефицита по мере прогрессирования заболевания [27]. Кроме того, наиболее низкие уровни ретинола отмечаются у пациентов с циррозом печени и являются предиктором ГЦК [28].

Применение антиоксидантов у больных с неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП) оправдано наличием окислительного стресса, что подтверждается повышением в плазме у больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) маркера окислительного стресса — тиоредоксина и снижением концентрации антиоксидантных факторов. В настоящее время активно изучается возможность использования витамина Е, эффективность которого была продемонстрирована в ряде исследований. Витамин Е состоит из восьми токоферолов; среди которых α -токоферол является наиболее активным. Его присутствие в мембранах фосфолипидного бислоя клеток позволяет предотвратить окисление неферментативных компонентов клеток свободными радикалами. Витамин Е может также подавлять профибротические процессы [29, 30]. и ядерный фактор-каппа В в печени [31]. Доклинические *in-vitro* и *in-vivo* исследования на двух моделях поврежденной фиброзом печени показали, что витамин Е может уменьшать повреждение печени, блокируя оба пути реализации апоптоза и митохондриальной токсичности [32–34].

В исследовании Sanyal A. J. и соавт. сообщалось, что при обследовании пациентов с НАСГ, получающих витамин Е, наблюдалось улучшение всех данных гистологического исследования в сравнении с плацебо за исключением фиброза [35]. Однако результаты, полученные у взрослых пациентов, нельзя экстраполировать на детей, поскольку могут быть несомненные различия в этиопатогенезе заболевания у детей и взрослых.

Крупнейшее рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование применения витамина Е при НАЖБП у детей было проведено Lavine J. E. и соавт., включающее 10 университетских клинических исследовательских центров, где обследовано 173 пациента (в возрасте 8–17 лет) с морфологически подтвержденным НАЖБП. В течение 96 недель одна группа пациентов получала 800 МЕ витамина Е/сутки (58 пациентов), другая — 1000 мг метформина (57 пациентов), группа плацебо — 58 пациентов. Полученные результаты показывают, что ни витамин Е, ни метформин не превосходили плацебо в достижении основного результата устойчивого снижения уровня АЛТ у детей с НАЖБП. При гистологическом анализе отмечалось уменьшение выраженности баллонной дистрофии у пациентов, получающих

витамин Е, однако в отношении лобулярного воспаления, жировой дистрофии и фиброза изменений получено не было. [36]. Баллонная дистрофия является главной отличительной особенностью НАСГ, придает больший риск прогрессирования заболеванию и, следовательно, значительное уменьшение выраженности баллонной дистрофии имеет клинически важное значение. Эта особенность отражает повреждение цитоскелета и связывает с другими признаками клеточного повреждения, в том числе повышенной продукцией телец Мэллори и увеличением фрагментов цитокератина. Показатели АЛТ в сыворотке крови переменны, поэтому и не могут полностью отражать изменения на гистологическом уровне.

При назначении терапии витамином Е следует учитывать возможность развития побочных эффектов. Так, данные метаанализа показывают повышение риска развития геморрагического инсульта при приеме витамина Е на 20% [37]. Назначение высоких доз (равных или более 400 МЕ/день) повышает риск смертности [38]. Учитывая указанные риски, американской ассоциацией по изучению заболеваний печени рекомендуется использовать витамин Е у взрослых пациентов с НАСГ, но не больных сахарным диабетом, а также детей [39].

Для пациентов с НАСГ фармакотерапия витамином Е и пиоглитазоном дает некоторые преимущества в отдельных случаях. Однако наличие побочных эффектов ограничивает их широкое применение.

Таким образом, на сегодняшний день диета и здоровый образ жизни остаются основой лечения [40].

При холестатических заболеваниях печени существуют риски недооценки распространенности дефицита витамина К. Так, при исследовании недостаточности витамина К у 31 ребенка и взрослых (средний возраст 5,7 лет), при холестатических заболеваниях печени путем определения в плазме крови PIVKA-II (protein induced in vitamin K absence II), маркеров холестаза, протромбинового времени (ПВ), международного нормализованного отношения (МНО), витаминов А, Е и 25-гидроксивитамина D (25ОНD), у 29% пациентов определялись высокие значения МНО, из них у 68% — повышенные плазменные уровни PIVKA-II, которые положительно коррелировали с конъюгированным билирубином, желчными кислотами, аспартатами-нотрансферазой, аланинаминотрансферазой, ПВ и отрицательно — с уровнем 25-гидроксивитамина D. При этом большинство пациентов получали терапию витамином К. Также 71% пациентов имел дефицит витамина D, 29% — дефицит витамина А, и 6% — витамина Е. Таким образом, несмотря на терапию витамином К, высокие значения PIVKA-II показывают существующий дефицит витамина. Этот факт является необходимостью пересмотра рекомендаций по дозированию витамина К при холестатических заболеваниях печени [41]. Статус витамина К был изучен Mager D. R. и соавт. у 43 детей (0,25–15,9 лет) с легкими и умеренными хроническими холестатическими и нехолестатическими болезнями печени. 44 здоровых ребенка (1–18 лет) составили группу контроля. Статус витамина К

оценивался по содержанию в плазме PIVKA-II: значения более 3 нг/мл свидетельствовали о дефиците витамина К. У 54% детей, принимавших витамин К, PIVKA-II превышал 3 нг/мл. Уровень плазменного билирубина, желчных кислот, а также тяжесть заболевания печени положительно коррелировали с PIVKA-II ($p < 0,05$).

Таким образом, недостаточность витамина К распространена у детей при хронических холестатических заболеваниях печени, даже при его назначении. При этом дефицит витамина К был связан со степенью холестаза и тяжестью заболевания печени у детей. Важно, что повышенные значения PIVKA-II отмечались у детей с нормальными значениями протромбина, что указывает на необходимость применения более чувствительных маркеров для характеристики статуса витамина К у детей с хронической болезнью печени [42].

В соответствии с вышедшими в России рекомендациями, в комплекс лечебных мероприятий при алкогольной болезни печени, неалкогольной жировой болезни печени, лекарственном гепатите, поражении печени, вызванном употреблением наркотических веществ, хронических вирусных заболеваниях печени с целью уменьшения оксидативного стресса и эндотоксин-опосредованного освождения цитокинов целесообразно использование комплекса экзогенных антиоксидантов (витамины, микроэлементы, биофлавоноиды) [43]. С учетом этого мнения разработан препарат в капсулах, содержащих 300 мг эссенциальных фосфолипидов, 6 мг витамина B₁, 6 мг витамина B₂, 6 мг витамина B₆, 6 мкг витамина B₁₂, 6 мг токоферола ацетата, 30 мг никотиамида. Эссенциальные фосфолипиды восстанавливают клеточную структуру в печени, улучшают регенерацию и тормозят формирование в ней соединительной ткани. Дополнительное включение витаминов группы В устраняет их дефицит при поражении печени, и способствует общему улучшению метаболических процессов. Добавление токоферола усиливает антиоксидантные свойства фосфолипидов [44]. Препарат оказывает гепатопротективное, гипополипидемическое и гипогликемическое действие, регулирует проницаемость биомембран, активность мембраностабилизирующих ферментов, обеспечивая физиологическую норму процессов окислительного фосфорилирования в клеточном метаболизме. Восстанавливает мембраны гепатоцитов путем структурной регенерации и методом конкурентного ингибирования перекисных процессов [45].

Опубликованы результаты открытого пилотного исследования, в котором оценена эффективность комплексного приема антиоксидантов на клинические проявления у больных первичным билиарным циррозом печени. В течение 3 мес. пациенты получали антиоксидантный комплекс № 1, содержащий селен, метионин, β-каротин, витамины С, Е и комплекс № 2, содержащий коэнзим Q10 и α-токоферол. Больные из группы 1 ($n = 11$) получали 4 табл. в день комплекс № 1, в группе 2 ($n = 13$) — комбинацию № 1 (4 табл. в день) и № 2 (1 табл. в день). На фоне лечения отмечена отчетливая положительная динамика в группе 2. У 10 из 13 пациентов отмечено значительное уменьшение выраженности кожного

зуда и астенизации с достоверным снижением серьезности данных проявлений, определенной по шкале «Fisk Fatigue Severity Score». Существенные изменения в группе 1 отсутствовали, что свидетельствует о высокой эффективности исследуемой комбинации этих двух комплексов у больных первичным билиарным циррозом печени [46].

При болезнях печени отмечено формирование недостаточности витамина D из-за нарушения превращения холекальциферола в биоактивный 25ОНD₃, происходящее в печени. Выявлено, что степень недостаточности 25ОНD₃ у больных коррелирует с тяжестью печеночной дисфункции [45]. Так, недостаточность витамина D присутствует у 96% пациентов до трансплантации печени [47]. После трансплантации печени у детей уровень 25ОНD₃ нормализовался в течение 1 года [48].

Следствием недостаточности витамина D и потребления кальция могут быть метаболические заболевания костей, такие как остеопения и остеопороз, которые довольно часто сопутствуют пациентам с заболеваниями печени, особенно холестатическими. Однако, в развитии данных состояний важны и другие факторы, не связанные с витамином D: гипогонадизм, дефицит витамина К, терапия, а также прием алкоголя у взрослых. Взаимосвязь между состоянием костей и витамином D при болезни печени является не совсем ясной. Так, Floreani A. и соавт. не нашли никакой взаимосвязи между содержанием минеральных веществ в костях и уровнями 25ОНD в сыворотке крови у пациентов с холестатической болезнью [49].

Как известно, витамин D участвует в регуляции пролиферации, апоптоза, дифференциации и воспаления. Заболевания печени сопровождаются активацией системы врожденного иммунитета и уровни витамина D обратно пропорционально коррелируют с экспрессией toll like-рецепторов (TLRs) и моноцитов, что указывает на обратную корреляцию между уровнем витамина D и системным воспалением [50]. Показатели воспалительных процессов — высокие уровни С-реактивного белка (СРБ) или растворимые CD163 (sCD163) связаны с неблагоприятным прогнозом у пациентов с циррозом печени [45]. При наблюдении за пациентами с циррозом печени показан плохой прогноз у лиц с низким уровнем 25ОНD₃ [51]. Учитывая тот факт, что у пациентов с циррозом печени и с симптомами инфекции или воспалительными заболеваниями отмечаются высокие уровни СРБ или sCD163, они имеют неблагоприятный прогноз [52, 53], экспрессия TLRs обратно коррелирует с уровнем витамина D [30]. Таким образом, можно предположить, что низкий уровень витамина D может быть связан с воспалительной реакцией и инфекционными осложнениями у больных циррозом печени.

В исследовании Finkelmeier F. и соавт. показано, что в сыворотке 25ОНD₃ коррелирует с выраженностью печеночной недостаточности и связан с инфекционными осложнениями. Кроме того, очень низкая концентрация в сыворотке крови 25ОНD₃ было независимым фактором риска смертности у пациентов с циррозом печени в дополнении к MELD, ГЦК и инфекциям [54]. Частой причиной печеночной декомпенсации у пациентов

с циррозом печени является возникновение бактериальных инфекций [54, 55]. 25ОНD₃ модулирует воспалительные реакции и сдерживает врожденный иммунный ответ [55], например, он ограничивает активацию моноцитов и тем самым уменьшает продукцию провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли α (TNF-α) [56]. TNF-α играет важную роль при воспалении. И это считается одним из основных факторов, приводящих к циррозу печени [57]. Экспериментальные исследования поддерживают идею подавляющего эффекта 25ОНD₃ на TNF-α [58].

Центральным патогенетическим фактором цирроза является транслокация бактерий из желудочно-кишечного тракта в портальную систему, приводя к устойчивой воспалительной реакции и прогрессированию заболеваний печени. Витамин D защищает кишечный барьер и препятствует бактериальной транслокации [59]. Кроме того, увеличение частоты портальной гипертензии связано со снижением уровня 25ОНD₃ у пациентов с алкогольной болезнью печени [60].

Таким образом, нарушение обмена витамина D связано, не только с тяжестью заболевания печени и инфекций, но и является независимым прогностическим параметром.

Дефицит ЖРВ распространен у пациентов детского возраста с хроническим холестазом. Нарушение оттока желчи приводит к недостаточной концентрации желчных кислот в просвете кишечника и дефициту ЖРВ. Поскольку, всасывание ЖРВ связано с формированием мицелл для облегчения их пассивной диффузии через энтероцит, уровни желчных кислот в просвете кишечника ниже критической мицеллярной концентрации приводят к нарушению всасывания жиров и ЖРВ при холестатических заболеваниях печени.

Так, у 23 детей с холестатическими заболеваниями печени (атрезия желчных путей, прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз, синдром Алажиля и др) уровни витаминов А, D, Е и К в сыворотке крови составили 73,9%, 81,8%, 91,3% и 20,0% соответственно. У пациентов с общим уровнем билирубина ≥ 3,0 мг/дл отмечался более выраженный дефицит — соответственно 78,6%, 100,0%, 100,0% и 21,4%. 10 пациентам назначены перорально рассасывающиеся жирорастворимые витамины в стандартной дозе на 3 месяца. Побочных явлений или последствий передозировки не отмечалось. Наблюдалось повышение уровня витаминов А, D, Е в крови и уменьшение дефицита витаминов до, соответственно, 70,0%, 60,0% и 60,0%.

Таким образом, рассасывающиеся пероральные формы ЖРВ безопасны и эффективны у детей с холестатическими заболеваниями печени [61].

По данным другого исследования у новорожденных детей с билиарной атрезией дефицит ЖРВ обратно коррелировал с содержанием в сыворотке крови общего билирубина и был более распространен у детей, чьи значения общего сывороточного билирубина составили более 2 мг/дл. Так как исследование уровня ЖРВ у детей с билиарной атрезией должно проводиться регулярно, но является дорогостоящим, авторы предлагают использовать значения общего билирубина 3–4 мг/дл в качестве

индикатора риска авитаминоза у детей с билиарной атрезией.

Для создания нужной концентрации ЖРВ необходимо введение препарата парентерально, или пероральное использование водорастворимых форм. Улучшение кишечной адсорбции по сравнению с традиционными составами отмечается у водорастворимых препаратов, дополненных токоферилполиэтиленгликоль-1000 сукцинатом и витамином К [62].

Ряд других исследований показывают участие витамина С в метаболизме холестерина и его влияния на уровень холестерина в крови и процессы образования камней при желчнокаменной болезни [63]. Отмечена обратная зависимость между уровнем аскорбиновой кислоты в сыворотке крови и болезнями желчного пузыря у человека на основании результатов экспериментов на животных. У морских свинок аскорбиновая кислота влияет на активность холестерин-7-α-гидроксилазы — фермента, который регулирует катаболизм холестерина в желчные кислоты [64]. Аскорбиновая кислота увеличивает активность холестерин-7-α-гидроксилазы в 15 раз. При дефиците аскорбиновой кислоты у морских свинок часто образуются холестериновые камни в желчном пузыре. Кроме того, гиперсекреция муцина, гликопротеина, который секретируется эпителием желчного пузыря, предшествует дестабилизации холестерина и образованию желчных камней. Поскольку гидроксиды и радикалы кислорода стимулируют гиперсекрецию муцина, аскорбиновая кислота также может уменьшить синтез мукопротеина и образование желчных камней путем подавления окислительных изменений в желчном пузыре. Таким образом, эксперименты на животных установили защитный эффект витамина С при образовании камней в желчном пузыре.

В исследовании Katsika D. и соавт. обнаружена выраженная корреляция с более низкой распространенностью желчнокаменной болезни у людей, регулярно употребляющих витамин С [65]. Как и в других работах, данное исследование подтверждает установленные факторы риска развития желчнокаменной болезни: женский пол, возраст, индекс массы тела, и положительный семейный анамнез. В исследовании получены данные о корреляции сывороточного уровня аскорбиновой кислоты с типичной и бессимптомной формами болезни желчного пузыря среди американских женщин. Также показана взаимосвязь между дефицитом витамина С и распространенностью болезней желчного пузыря, холецистэктомией у женщин с ишемической болезнью сердца [66]. Результаты другого исследования, проведенного в Германии, демонстрируют: регулярный прием витамина С связан с уменьшением распространенности желчнокаменной болезни. В дополнение к приему витамина С, регулярная физическая активность может играть важную роль в профилактике желчнокаменной болезни: регулярные занятия физкультурой снижают риск холецистэктомии у женщин [65].

Таким образом, эффективность применения витаминов при заболеваниях печени обсуждается и требует дальнейшего изучения.

Литература

- Sharma A., Aggarwal S., Sharma V. Bitot's Spots: Look at the Gut. *Int J Prev Med.* 2014 Aug; 5(8):1058–1059.
- Herring W1, Nowicki MJ, Jones JK An uncommon cause of esophagitis. Answer to the clinical challenges and images in GI question: image 1: esophageal hyperkeratosis secondary to vitamin A deficiency. *Gastroenterology.* 2010 Aug;139(2):e6–7. doi: 10.1053/j.gastro.2009.09.074. Epub 2010 Jun 25.
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multi-functional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev.* 2008;88(1):125–72. doi: 10.1152/physrev.00013.2007.
- Pappa HM, Bern E, Kamin D, Grand RJ Curr Vitamin D status in gastrointestinal and liver disease. *Opin Gastroenterol.* 2008 Mar;24(2):176–83.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007; 357(3):266–81
- Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, et al. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(2):142–6.
- Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(11):5387–91.
- Vieth R, Kimball S, Hu A, et al. Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutr J.* 2004;3:8.
- Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes FaNB, Institute of Medicine. The National Academies Press; 1997.
- Bruno RS, Leonard SW, Park SI, Zhao Y, Traber MG. Human vitamin E requirements assessed with the use of apples fortified with deuterium-labeled α -tocopheryl acetate. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(2):299–304.
- Traber MG. Vitamin E. In: Erdman JWJ, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. *Present Knowledge in Nutrition.* 10th ed. Washington, D. C.: Wiley-Blackwell; 2012:214–229.
- Traber MG. Vitamin E. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease.* 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014:293–304.
- Furie B, Bouchard BA, Furie BC. Vitamin K-dependent biosynthesis of gamma-carboxyglutamic acid. *Blood.* 1999; 93(6):1798–808]
- Beulens JW, Booth SL, van den Heuvel EG, Stoecklin E, Baka A, Vermeer C. The role of menaquinones (vitamin K(2)) in human health. *Br J Nutr.* 2013; 110(8):1357–1368.
- Holmes MV, Hunt BJ, Shearer MJ. The role of dietary vitamin K in the management of oral vitamin K antagonists. *Blood Rev.* 2012;26(1):1–14.
- Kramps M, Flanagan A, Smaldone A. The use of vitamin K supplementation to achieve INR stability: a systematic review and meta-analysis. *J Am Assoc Nurse Pract.* 2013;25(10):535–544.
- Lam J, Schulman S, Witt DM, Vandvik PO, Qayyum F, Holbrook AM. Anticoagulation control with daily low-dose vitamin k to reduce clinically adverse outcomes and international normalized ratio variability: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacotherapy.* 2013;33(11):1184–1190.
- Mahtani KR, Heneghan CJ, Nunan D, Roberts NW. Vitamin K for improved anticoagulation control in patients receiving warfarin. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;5: CD009917.
- Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2010; 16(48):6035–43.
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multi-functional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev.* 2008; 88(1):125–72.
- Pirazzi C, Valenti L, Motta BM, Pingitore P, Hedfalk K, Mancina RM, et al. PNPLA3 has retinyl-palmitate lipase activity in human hepatic stellate cells. *Hum Mol Genet.* 2014; 23(15):4077–85.
- Mondul A, Mancina RM, Merlo A, Dongiovanni P, Rametta R, Montalcini T, et al. PNPLA3 I148M variant influences circulating retinol in adults with nonalcoholic fatty liver disease or obesity. *J Nutr.* 2015; 145(8):1687–91.
- Valenti L, Dongiovanni P, Ginanni Corradini S, Burza MA, Romeo S. PNPLA3 I148M variant and hepatocellular carcinoma: a common genetic variant for a rare disease. *Dig Liver Dis.* 2013;45(8):619–24.
- Chaves GV, Peres WA, Gonçalves JC, Ramalho A. Vitamin A and retinol-binding protein deficiency among chronic liver disease patients. *Nutrition.* 2015 May; 31(5):664–8. 2014.
- Nollevaux MC, Guiot Y, Horsmans Y, Leclercq I, Rahier J, Geubel AP, Sempoux C. Hypervitaminosis A-induced liver fibrosis: stellate cell activation and daily dose consumption. *Liver Int.* 2006 Mar; 26(2):182–6.
- Yachana Kataria, Ryan J. Deaton, Erika Enk, Ming Jin, Milita Petruskaite, Linlin Dong, Joseph R. Goldenberg, Scott J. Cotler, Donald M. Jensen, Richard B. van Breemen, and Peter H. Gann. Retinoid and carotenoid status in serum and liver among patients at high-risk for liver cancer. *BMC Gastroenterol.* 2016; 16:30.
- Arantes Ferreira Peres W, Villaça Chaves G, Saraiva Gonçalves JC, Ramalho A, Moraes Coelho HS. Assessment of the relative dose-response test as indicators of hepatic vitamin A stores in various stages of chronic liver disease. *Nutr Clin Pract.* 2013 Feb; 28(1):95–100.
- Newsome PN1, Beldoni I, Moussa Y, Delahooke TE, Pouloupoulos G, Hayes PC, Plevris JN. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000 Oct; 14(10):1295–301.
- Parola M, Muraca R, Dianzani I, et al. Vitamin E dietary supplementation inhibits transforming growth factor beta 1 gene expression in the rat liver. *FEBS Lett* 1992; 308:267–270.
- Houglum K, Venkataramani A, Lyche K, et al. A pilot study of the effects of d-alpha-tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1997; 113:1069–1073.
- Morante M, Sandoval J, Gomez-Cabrera MC, et al. Vitamin E deficiency induces liver nuclear factor-kappaB DNA-binding activity and changes in related genes. *Free Radic Res* 2005; 39:1127–1138.
- Soden JS, Devereaux MW, Haas JE, et al. Subcutaneous vitamin E ameliorates liver injury in an in vivo model of steatohepatitis. *Hepatology* 2007; 46:485–495.
- Sokol RJ, McKim JM, Jr, Goff MC, et al. Vitamin E reduces oxidant injury to mitochondria and the hepatotoxicity of taurochenodeoxycholic acid in the rat. *Gastroenterology* 1998; 114:164–174.
- Timothy Hardy, Quentin M. Anstee, and Christopher P. Day Nonalcoholic fatty liver disease: new treatments. *Curr Opin Gastroenterol.* 2015 May; 31(3): 175–183.
- Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362:1675–1685.

36. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2011; 305:1659–1668.
37. Schurks M, Glynn RJ, Rist PM, et al. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2010; 341: c5702.
38. Miller ER, 3rd, Pastor-Barriuso R, Dalal D, et al. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005; 142:37–46.
39. Sears IB, MacGinnitie MA, Kovacs LG, Graves RA. Differentiation-dependent expression of the brown adipocyte uncoupling protein gene: regulation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Mol Cell Biol*. 1996 Jul; 16(7):3410–9.
40. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in nonalcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut* 2011; 60:1278–1283.
41. Strole J, Lovell G, Heubi JJ. Prevalence of subclinical vitamin K deficiency in cholestatic liver disease. *Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009 Jul; 49(1):78–84.
42. Mager DR, McGee PL, Furuya KN, Roberts EA. Prevalence of vitamin K deficiency in children with mild to moderate chronic liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006 Jan; 42(1):71–6.
43. Применение гепатопротективной терапии при лечении хронических заболеваний и поражений печени (методические рекомендации). Под общей ред. А.Л. Ракова. М., 2006. 22 с.
44. Watson JP, Jones DE, James OF, Cann PA, Bramble MG. Case report: oral antioxidant therapy for the treatment of primary biliary cirrhosis: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999 Oct; 14(10):1034–40.
45. Trautwein C, Possienke M, Schlitt HJ, et al. Bone density and metabolism in patients with viral hepatitis and cholestatic liver diseases before and after liver transplantation. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95(9):2343–51.
46. Argao EA, Balistreri WF, Hollis BW, et al. Effect of orthotopic liver transplantation on bone mineral content and serum vitamin D metabolites in infants and children with chronic cholestasis. *Hepatology*. 1994; 20(3):598–603.
47. Floreani A, Carderi I, Ferrara F, et al. A 4-year treatment with clodronate plus calcium and vitamin D supplements does not improve bone mass in primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis*. 2007; 39(6):544–8.
48. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol* 2012; 57:897–909.
49. Stokes CS, Krawczyk M, Reichel C, Lammert F, Grünhage F. Vitamin D deficiency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis. *Eur J Clin Invest*. 2014 Feb; 44(2):176–83.
50. Fernández J, Acevedo J, Castro M, García O, de Lope CR, Roca D, et al. Prevalence and risk factors of infections by multiresistant bacteria in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology*. 2012; 55:1551–1561.
51. Finkelmeier F, Kronenberger B, Zeuzem S, Piiper A, Waidmann O. Low 25-Hydroxyvitamin D Levels Are Associated with Infections and Mortality in Patients with Cirrhosis *PLoS One*. 2015 Jun 29; 10(6): e0132119.
52. Alan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol*. 2014; 60:1310–1324.
53. Han YP, Kong M, Zheng S, Ren Y, Zhu L, Shi H, et al. Vitamin D in liver diseases: from mechanisms to clinical trials. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28:49–55.
54. Almerighi C, Sinistro A, Cavazza A, Ciaprin C, Rocchi G, Bergamini A. 1Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits CD40L-induced pro-inflammatory and immunomodulatory activity in human monocytes. *Cytokine* 2009; 45:190–197.
55. Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013; 59:583–594.
56. Zhu Y, Mahon BD, Froicu M, Cantorna MT. Calcium and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 target the TNF-alpha pathway to suppress experimental inflammatory bowel disease. *Eur J Immunol* 2005; 35:217–224.
57. Assa A, Vong L, Pinnell LJ, Avitzur N, Johnson-Henry KC, Sherman PM. Vitamin D Deficiency Promotes Epithelial Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation. *J Infect Dis*. 2014; 210:1296–1305.
58. Trépo E, Ouziel R, Pradat P, Momozawa Y, Quertinmont E, Gervy C, et al. Marked 25-hydroxyvitamin D deficiency is associated with poor prognosis in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2013; 59:344–350.
59. Shen YM, Wu JF, Hsu HY, Ni YH, Chang MH, Liu YW, Lai HS, Hsu WM, Weng HL, Chen HL. Oral absorbable fat-soluble vitamin formulation in pediatric patients with cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Nov; 55(5):587–91].
60. Veena L. Venkat, MD, Benjamin L. Shneider, MD et al. Total Serum Bilirubin Predicts Fat-Soluble Vitamin Deficiency Better Than Serum Bile Acids in Infants with Biliary Atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Dec; 59(6): 702–707.
61. Simon JA, Hudes ES. Serum ascorbic acid and gallbladder disease prevalence among US adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Arch Intern Med*. 2000; 160(7):931–936.
62. Duane WC, Hutton SW. Lack of effect of experimental ascorbic acid deficiency on bile acid metabolism, sterol balance, and biliary lipid composition in man. *J Lipid Res*. 1983; 24:1186–1195.
63. Katsika D, Grjibovski A, Einarsson C, Lammert F, Lichtenstein P, Marschall HU. Genetic and environmental influences on symptomatic gallstone disease: a Swedish study of 43,141 twin pairs. *Hepatology*. 2005; 41:1138–1143.
64. Simon JA, Grady D, Snabes MC, Fong J, Hunninghake DB. Ascorbic acid supplement use and the prevalence of gallbladder disease. *Heart & Estrogen-Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. J Clin Epidemiol*. 1998; 51:257–265.
65. Walcher T1, Haenle MM, Kron M, Hay B, Mason RA, Walcher D, Steinbach G, Kern P, Piechotowski I, Adler G, Boehm BO, Koenig W, Kratzer W. Vitamin C supplement use may protect against gallstones: an observational study on a randomly selected population. *BMC Gastroenterol*. 2009 Oct 8; 9:74.
66. Leitzmann MF, Rimm EB, Willett WC, Spiegelman D, Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Giovannucci E. Recreational physical activity and the risk of cholecystectomy in women. *N Engl J Med*. 1999; 341:777–784.