

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktorin: Prof. Dr. med. Julia Mayerle

**Assoziation des Vitamin D-Status mit
Serum-Parametern des Eisenmangels bei Patienten
mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen**

DISSERTATION

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Lisa Katharina Veith

aus Heilbronn

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. Florian Beigel

Mitberichterstatter: PD. Dr. Fabian Schnitzler

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Johannes Stallhofer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 22.07.2021

Meiner Familie

I. Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen.....	1
1.1.1	Epidemiologie und Klinik.....	1
1.1.2	Diagnostik und Therapie.....	1
1.1.3	Ätiologie und Pathogenese.....	3
1.2	Vitamin D bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen	3
1.2.1	Vitamin D-Physiologie.....	3
1.2.2	Vitamin D-Defizienz	6
1.2.3	Vitamin D-Funktionen	6
1.2.4	Vitamin D und chronisch entzündliche Darmerkrankungen.....	8
1.3	Eisen bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.....	10
1.3.1	Eisenstoffwechsel	10
1.3.2	Eisenmangel bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.....	12
1.3.3	Eisen und Vitamin D - die Rolle von Hepcidin	13
2.	Zielsetzung	15
3.	Material und Methoden.....	16
3.1	Material	16
3.1.1	Verbrauchsmaterial.....	16
3.1.2	Geräte	16
3.2	Methoden	16
3.2.1	Rekrutierung des Patienten- und Kontrollkollektivs	16
3.2.2	Gewinnung des Untersuchungsmaterials und Klinische Chemie	18
3.2.3	Vitamin D-Messungen	19
3.2.4	Hepcidin-Messung	19
3.2.5	Statistische Analysen.....	20
3.2.6	Definitionen	20
4.	Studienpopulation	22
5.	Ergebnisse	25
5.1	Vitamin D-Serumspiegel in der Studienpopulation	25
5.2	Serumparameter zu Eisenstoffwechsel, Entzündung und Anämie in der Studienpopulation	27
5.3	Causa versus Consecutio.....	29
5.4	Multivariate Analysen.....	30
5.5	Korrelation zwischen Vitamin D- und Eisenparametern	34
6.	Diskussion.....	38
6.1	Neue Erkenntnisse über Vitamin D-Parameter bei CED-Patienten.....	38

Inhaltsverzeichnis

6.2	Assoziation von Vitamin D-Parameter und Parameter des Eisenmangels bei CED-Patienten.....	39
6.2.1	Eisenmangel und Anämie.....	39
6.2.2	Assoziation des Vitamin D-Status mit Ferritin, Eisen, Transferrin und Transferrinsättigung.....	40
6.2.3	Hepcidin.....	41
6.3	Stärken, Schwächen und Synthese.....	43
7.	Klinischer Ausblick	45
8.	Zusammenfassung	48
9.	Abkürzungsverzeichnis	49
10.	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	51
10.1	Tabellen	51
10.2	Abbildungen.....	51
11.	Literatur	52
12.	Anhang	67
12.1	Eidesstattliche Erklärung	67
12.2	Danksagungen.....	68

1. Einleitung

1.1 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

1.1.1 Epidemiologie und Klinik

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) werden unterteilt in die zwei Hauptentitäten Morbus Crohn (MC) und Colitis ulcerosa (CU) und betreffen etwa 3 Millionen Menschen in Europa. Weltweit steigen Prävalenz sowie Inzidenz in den letzten Jahren konstant an [1, 2]. Deutschland liegt mit einer Inzidenz von 6,6/100 000 für MC im europäischen Mittel. Bei der CU liegt die Inzidenz von 3,9/100 000 eher unter dem europäischen Durchschnitt [3]. Insgesamt lassen sich in Nord-Europa höhere Inzidenzraten (MC: 6,3/100 000; CU: 11,4/100 000) verzeichnen als in Süd-Europa (MC: 3,6 /100 000; CU: 8,0/100 000). Es ist also von einem Nord-Süd-Gefälle zu sprechen [4].

Die Krankheitsbilder MC und CU sind geprägt von einer chronischen, in Schüben verlaufenden, intestinalen Inflammation, unterscheiden sich jedoch in Hauptlokalisation, Ausprägung und Klinik.

Der MC zeigt einen diskontinuierlichen, segmentalen Befall mit transmuraler Inflammation im gesamten Gastrointestinaltrakt (GIT). Die häufigste Lokalisation ist das terminale Ileum, weshalb das Krankheitsbild von seinem Entdecker B. Crohn zuerst als *Ileitis regionalis* beschrieben wurde [5]. Klinisch stehen abdominelle Schmerzen, nicht-blutige Diarrhoen und Meteorismus im Vordergrund. Typisch sind außerdem Fistelbildung und das Auftreten von Strikturen und Stenosen [6].

Bei der CU ist das Entzündungsgeschehen auf das Kolon begrenzt. Es breitet sich von distal nach proximal kontinuierlich aus und beschränkt sich auf die Mukosa. Leitsymptome sind blutig-schleimige Diarrhöen, Bauchschmerzen und Tenesmen. Das Kolonkarzinom-Risiko ist bei CU deutlich erhöht.

Beide Erkrankungen weisen häufig auch extraintestinale Manifestationen wie Arthritis, Primär sklerosierende Cholangitis oder Formen der Uveitis auf, die CU etwas seltener als der MC [7].

1.1.2 Diagnostik und Therapie

Um die Diagnose MC oder CU zu stellen, müssen Klinik, Labor und Bildgebung betrachtet werden. Besteht anamnestisch oder klinisch der Verdacht auf eine CED, werden zunächst systemische Entzündungsparameter wie CRP und Leukozyten sowie Calprotectin im Stuhl

bestimmt. Häufig können diese Werte jedoch unauffällig sein. Bildgebende Verfahren, wie die Abdomen-Sonografie können eine entzündliche Darmwandverdickung anzeigen und graduieren [8]. Letztendlich muss in jedem Fall eine Ileokoloskopie mit Entnahme von Stufenbiopsien erfolgen. Bei Erstdiagnose eines Morbus Crohn ist immer auch eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie zum Ausschluss eines Befalles des oberen Gastrointestinaltraktes erforderlich. Initial ist die histologische Abgrenzung zur infektiösen Colitis oder NSAR-Enteritis oft schwierig. Hier bringt oftmals erst eine Verlaufskontrolle nach einigen Monaten mit erneuten Biopsie-Entnahmen Klarheit. Stets muss der histologische Befund bei Erstdiagnose in Zusammenschau mit Anamnese und Klinik interpretiert werden. Mikrobiologische Untersuchungen dienen dem Ausschluss wichtiger infektiöser Differenzialdiagnosen [9].

Von besonderer Bedeutung sind regelmäßige klinische und laborchemische Verlaufskontrollen bei MC und CU. Die oben genannten Entzündungswerte sowie die klinischen Symptome müssen regelmäßig überwacht werden, um das medikamentöse Therapieregime frühzeitig anpassen zu können. Oft geht ein Anstieg des Calprotectins im Stuhl einem klinischen Rezidiv um etwa 3 Monate voraus. Das Minimalziel ist die dauerhafte klinische Remission der Erkrankung. Neuerdings wird vielfach auch das Erreichen einer vollständigen endoskopischen Remission im Sinne einer mukosalen Heilung als Therapieziel angestrebt, da dies mit neuen Therapeutika erreichbar und prognostisch günstig ist [10].

Die Therapieschemata beider Krankheitsbilder unterscheiden sich nur gering, da im Wesentlichen die gleichen Wirkstoffe eingesetzt werden: Mesalazin-Präparate bilden das Standbein der CU-Therapie und werden isoliert oder kombiniert, sowohl topisch in Form von rektalen Klysmen, Schäumen oder Suppositorien, als auch systemisch bevorzugt, in Colon-Retardformulierungen eingesetzt. Beim Morbus Crohn sind Mesalazin-Präparate weniger wirksam. Im akuten Schub müssen oft systemische Steroide zum Einsatz kommen, die bei beiden Erkrankungen sehr gut wirksam sind. Problematisch bei beiden Erkrankungen ist ein Steroid-refraktärer oder Steroid-abhängiger Verlauf. Bei letzterem können die Steroide nicht ausgeschlichen werden, ohne dass ab einer gewissen Tagesdosis die Symptome rekurren. Als Alternativen stehen für diesen Fall diverse Biologika zur Remissionsinduktion und zum langfristigen Remissionserhalt zur Verfügung: verschiedene Anti-TNF-Antikörper (Infliximab, Adalimumab, Golimumab), der Integrin-Antagonist Vedolizumab, der Interleukin 12/23-Antikörper Ustekinumab und der JAK1/3-Inhibitor Tofacitinib (nur für CU zugelassen) [9]. Daneben helfen klassische Immunsuppressiva wie Azathioprin, Ciclosporin oder Methotrexat, den langfristigen Einsatz von Steroiden aufgrund des ungünstigen Nebenwirkungsprofils zu vermeiden, beziehungsweise mit Ciclosporin beim Steroid-refraktären Verlauf eine Remission einzuleiten. Weitere Medikamente aus diesen und anderen Substanzklassen werden aktuell in Phase 2- und 3-Studien für die Zulassung bei CED untersucht [10, 11].

Bei komplizierten Verläufen können auch chirurgische Maßnahmen notwendig werden, zum Beispiel eine Ileozökalresektion (ICR) beim MC oder eine Kolektomie bei der CU.

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese

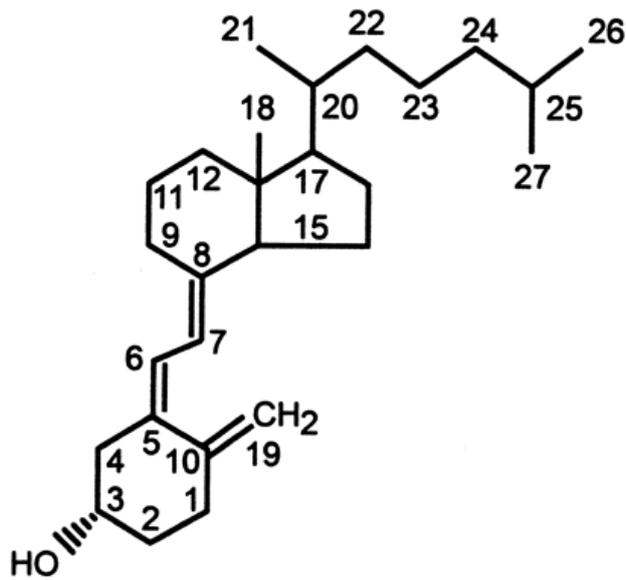
Die Ätiologie der CED ist bis heute nicht abschließend geklärt, jedoch spielen sowohl Umwelteinflüsse als auch genetische Suszeptibilität bei der Entstehung eine Rolle. Der zugrundeliegende Pathomechanismus lässt sich nach heutigem Verständnis am ehesten als überschießende Immunreaktion gegen Bestandteile der Darmflora in genetisch prädisponierten Individuen beschreiben [11].

Durch genomweite Assoziationsstudien konnte eine Vielzahl von Suszeptibilitätsloci für die CED identifiziert werden [12]. Dabei zeigt sich die genetische Suszeptibilität für den MC stärker ausgeprägt als für die CU [13]. Dennoch lassen sich nur etwa 20% des Erkrankungsrisikos von MC oder CU durch genetische Faktoren erklären [11]. Im Umkehrschluss kommt Umwelteinflüssen eine große Bedeutung in der Pathogenese von CED zu. Verschiedene Faktoren wurden als mögliche Ursachen identifiziert: u. a. Ernährungsfaktoren, infektiöse Agenzien, Medikamente und Toxine [14]. Das Rauchverhalten zeigt konträre Effekte auf die Hauptentitäten der CED: Beim MC wurde eine stark aggravierende Wirkung auf den Krankheitsverlauf beschrieben, während bei der CU ein protektiver Effekt beobachtet werden konnte [15]. Eine Auswertung der prospektiven *Nurses' Health Study*, in der zwischen 1986 und 2008 72.719 US-amerikanische Frauen beobachtet wurden, konnte zeigen, dass ein Lebensstil, der mit einer Vitamin D-Defizienz (25(OH)Vitamin-D Serumspiegel < 20 ng/ml) einhergeht, das Risiko, an einem MC zu erkranken, signifikant erhöht [16]. Umgekehrt konnte gezeigt werden, dass hohe Vitamin D-Serumspiegel vor der Entwicklung eines MC schützen [17]. Auch ein kürzlich vorgelegter *Umbrella-Review*, der systematisch 53 Metaanalysen zu 71 möglichen Umweltrisikofaktoren für die Entwicklung einer CED zusammenfasst, konnte die Vitamin D-Defizienz als einen von 9 Risikofaktoren mit starker epidemiologischer Evidenz bestätigen [18].

1.2 Vitamin D bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

1.2.1 Vitamin D-Physiologie

Der Begriff Vitamin D bezeichnet eine Gruppe fettlöslicher Hormone, deren wichtigster Vertreter im menschlichen Organismus Cholecalciferol (Vitamin D₃) ist. Die chemische Struktur ist in Abbildung 1 dargestellt.



Vitamin D₃

Abbildung 1: Chemische Strukturformel von Vitamin D₃ (Cholecalciferol), übernommen aus [19]

Die in dieser Arbeit untersuchten Vitamin D-Metabolite entstehen durch Hydroxylierung von Vitamin D₃, dargestellt in Abbildung 2.

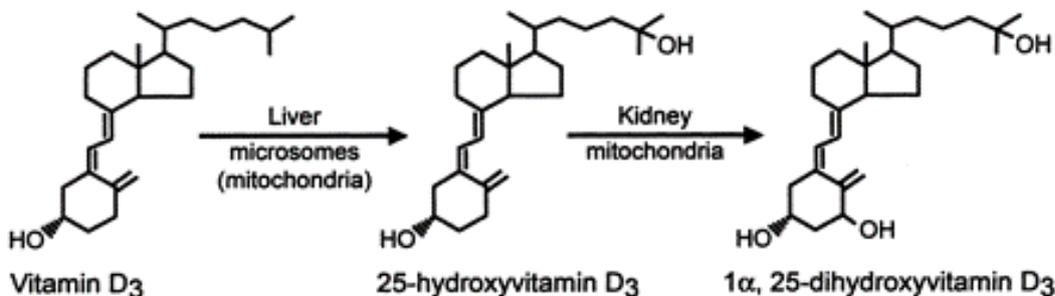


Abbildung 2: Strukturformeln von Vitamin D₃, 25(OH)-Vitamin D₃ und 1,25(OH)₂-Vitamin D₃, übernommen aus [19]

Per definitionem gehört Vitamin D nicht zu den Vitaminen, da es vom Körper selbst aus der Vorstufe Provitamin D₃ (7-Dehydrocholesterol), einem Derivat des Cholesterols, unter dem Einfluss von UV-B-Strahlung in einem photochemischen Prozess in der Haut synthetisiert werden kann. Neben der tierischen Variante des Cholecalciferols gibt es ebenfalls das pflanzliche Ergocalciferol (Vitamin D₂), welches hauptsächlich in Pilzen zu finden ist. Beide Formen können über die Nahrung zugeführt werden, jedoch handelt es sich hierbei nur um einen geringen Anteil im Organismus verglichen zum Anteil der UV-B-abhängigen Cholecalciferol-Synthese [20].

Cholecalciferol oder Ergocalciferol werden in der Leber zu Calcidiol (25(OH)-Vitamin D) hydroxyliert. Calcidiol stellt den größten Anteil des zirkulierenden Vitamin D im menschlichen Organismus und ist physiologisch inaktiv. Es zirkuliert an das Vitamin D-bindende Protein (VDBP) gebunden im Blut und wird daher auch als „Speicher-Vitamin D“ bezeichnet. Durch eine weitere Hydroxylierung entsteht in der Niere Calcitriol (1,25(OH)₂-Vitamin D), der hormonell aktive Vitamin D-Metabolit. Dieser Prozess der zweiten Hydroxylierung wird durch Parathormon stimuliert und durch FGF23 (*Fibroblast-like growth factor-23*) inhibiert [21].

Calcitriol bindet an den nukleären Vitamin D-Rezeptor (VDR) und initiiert damit die Transkription bestimmter Vitamin D-abhängiger Gene. Über 900 durch Vitamin D regulierte Gene sind bekannt, deren Funktionen weit über die im Calcium- und Knochenstoffwechsel hinaus reichen [22].

Bemerkenswert ist, dass der VDR in über 30 verschiedenen Geweben im Körper exprimiert wird, u. a. im Gastrointestinaltrakt. Ebenso wurde er auf aktiven B- und T-Lymphozyten, sowie auf Monozyten, Makrophagen und auf intestinalen Epithelzellen nachgewiesen [23, 24]. Es konnte zudem gezeigt werden, dass viele extraskellettale Gewebe ebenso die 1 α -Hydroxylase exprimieren und zusätzlich, zu den Epithelzellen der Niere, 25(OH)D mittels Hydroxylierung in das aktive 1,25(OH)₂D überführen können [20, 25].

Eine schematische Übersicht des Vitamin D-Stoffwechsels ist in Abbildung 3 dargestellt.

Vitamin-D-Stoffwechsel

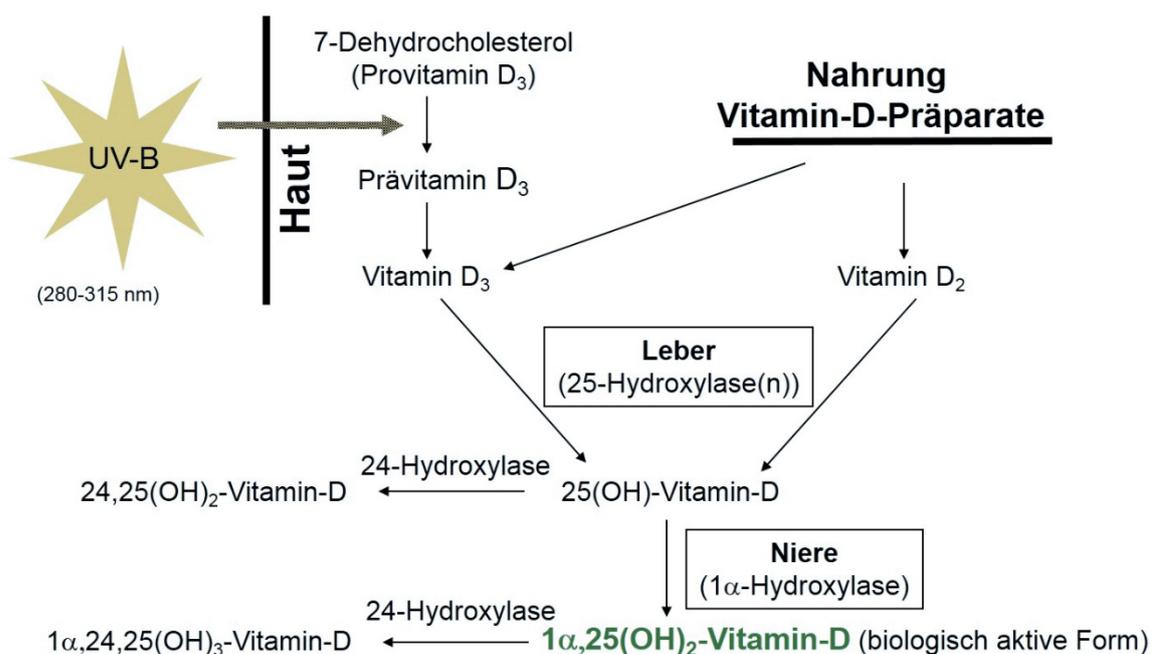


Abbildung 3: Vitamin D-Stoffwechsel aus [26]

1.2.2 Vitamin D-Defizienz

Die Vitamin D-Defizienz ist ein globales Phänomen mit einer weltweiten Prävalenz von etwa 30-50% [27]. Typische durch die Vitamin D-Defizienz ausgelöste Komplikationen sind unter anderem eine verminderte Calcium-Resorption und daraus resultierend Osteoporose, Rachitis, Muskelschwäche sowie ein erhöhtes Fraktur- und Sturzrisiko [23].

Für die Definition der Vitamin D-Defizienz werden in der Regel Messwerte des 25(OH)-Vitamin D-Serumspiegels zugrunde gelegt. Diese bilden sowohl das vom Körper gebildete als auch das über die Nahrung aufgenommene Vitamin D ab. Darüber hinaus ist 25(OH)-Vitamin D durch seine längere Halbwertszeit und Proteinbindung besonders stabil [21, 28].

In der Literatur werden verschiedene Grenzwerte diskutiert. Nach der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) und dem Amerikanischen *Institute of Medicine* (IOM) wird Vitamin D-Defizienz als 25(OH)D-Serumspiegel $< 20 \text{ ng/ml}$ ($< 50 \text{ nmol/L}$) definiert. Vitamin D-Insuffizienz liegt vor bei einem 25(OH)D-Serumspiegel $\geq 20 \text{ ng/ml}$ ($\geq 50 \text{ nmol/L}$) $< 30 \text{ ng/ml}$ ($\geq 50 \text{ nmol/L}$ $< 75 \text{ nmol/L}$) [21, 29].

Verschiedene Faktoren wie zum Beispiel Jahres- und Tageszeit, Ethnizität bzw. Hautfarbe, Sonnenschutzverhalten, BMI oder Alter beeinflussen die körpereigene Vitamin D-Produktion signifikant und wirken sich daher auch auf den gemessenen 25(OH)D-Serumspiegel aus [30].

1.2.3 Vitamin D-Funktionen

Vitamin D wurde im Jahr 1922 im Rahmen der Rachitis-Forschung als viertes „Vitamin“ überhaupt entdeckt [31]. Lange stand daher seine Funktion für den Calcium- und Knochenstoffwechsel im Vordergrund. Zusammen mit Parathormon und Calcitonin ist Vitamin D an der Regulation des Calcium-Spiegels maßgeblich beteiligt.

In den letzten Jahren wurden wichtige Zusammenhänge von Vitamin D außerhalb des Calcium-Stoffwechsels entdeckt. Unter anderem konnte eine Assoziation zwischen einer Vitamin D-Defizienz und einem erhöhten Risiko für das Auftreten bestimmter Krankheitsbilder wie Malignome, kardiovaskuläre Erkrankung und verschiedene Immun-vermittelte Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ I (DM-I), Multiple Sklerose (MS) und CED gezeigt werden [30]. Umgekehrt konnte gezeigt werden, dass eine Therapie mit Vitamin D auch das Krankheitsrisiko bestimmter Immunerkrankungen wie MS und DM-I senkt [32–34].

Die durch diese epidemiologischen Daten und klinischen Studien nahegelegte Bedeutung von Vitamin D für die Regulation des Immunsystems konnte in verschiedenen in vitro-Studien bestätigt werden: 1,25(OH)₂-Vitamin D steuert die Proliferation und Differenzierung von T-Helferzellen. Die Sekretion von proinflammatorischen Effektor-Zytokinen wie TNF α , IL-17 und IFN γ und die Differenzierung von Th17-Zellen wird gehemmt [35–40], wohingegen regulatorische

T-Zellen wie CD25FoxP3+Treg-Zellen und die Sekretion antiinflammatorischer Zytokine (IL-10, TGF- β) induziert werden [41–44]. So fördert Vitamin D u. a. die Balance zwischen proinflammatorischen und regulatorischen T-Zellen im Rahmen einer Immunreaktion. Daneben werden auch andere Immunzellen wie Makrophagen, Monozyten und dendritische Zellen von Vitamin D in ihrer Funktion beeinflusst [45].

Vitamin D spielt zudem eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Barrierefunktion des intestinalen Epithels. Es konnte gezeigt werden, dass 1,25(OH)₂-Vitamin D die Translation von Membranproteinen wie Occludin für *tight junctions* und E-Cadherin für *adherens junctions* hochreguliert und damit zur Integrität der Schleimhautbarriere beiträgt [46–48]. Analog wurde im Tiermodell demonstriert, dass Mäuse mit Vitamin D-Defizienz oder VDR-knockout-Mäuse eine erhöhte intestinale Permeabilität gegenüber dem Wildtyp aufweisen. Ebenfalls konnte bei diesen Mäusen leichter eine experimentelle Colitis provoziert werden [49].

Aus früheren Untersuchungen ist bereits bekannt, dass eine Störung in der intestinalen Barrierefunktion mit folglich erhöhter Permeabilität zu den wichtigsten Faktoren in der Pathogenese von CED zählt [50]. Entsprechend lässt sich für Vitamin D und seine Funktionen in Darm und Immunsystem eine enge Beziehung zur Pathophysiologie von CED ableiten.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Expression des VDR auf intestinalen Epithelzellen höher ist als auf anderen Zellpopulationen [51]. Zudem wurde auf fast allen intestinalen Zellen die Expression des Enzyms CYP27B1 (1 α -Hydroxylase) nachgewiesen, dessen Aktivität eine Aktivierung von 25(OH)D zu 1,25(OH)₂D bewirkt. Diese Konstellation erlaubt neben der endokrinen Wirkung von 1,25(OH)₂-Vitamin D über das Blut auch eine lokale Stimulation des VDR durch para- und autokrine Vitamin D-Sekretion. Die Aktivierung des VDR führt darauf u. a. zur Stärkung der epithelialen Barriere, zur Regulation der intestinalen Immunzellen und der Fibroblasten.

Die beschriebenen Funktionen sind schematisch in Abbildung 4 zusammengefasst.

Einleitung

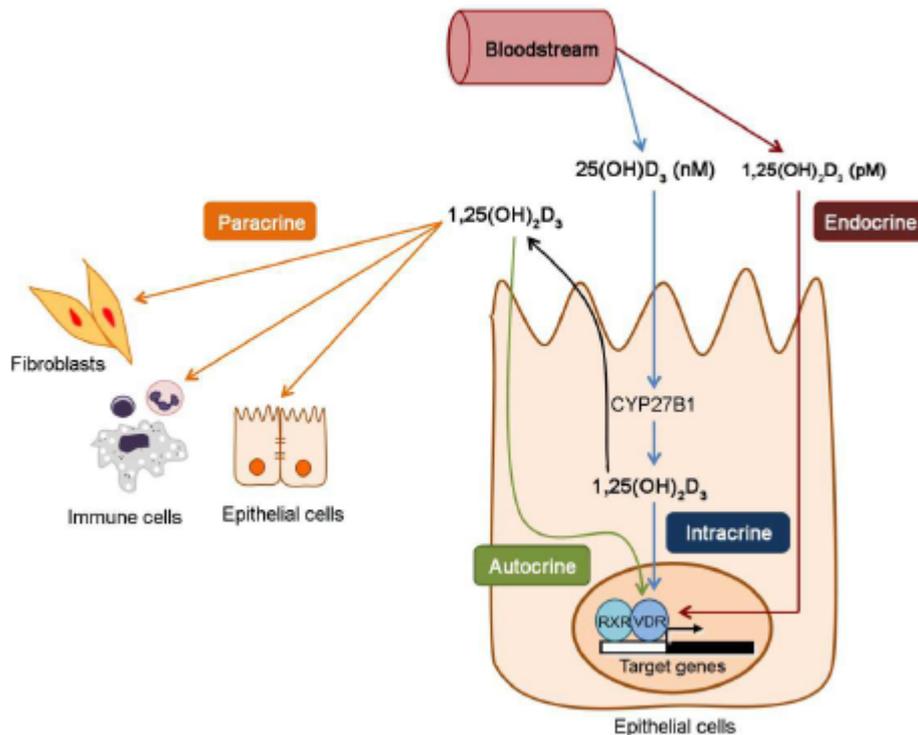


Abbildung 4: Schematische Übersicht über die Effekte von Vitamin D auf das intestinale Epithel aus [52]

1.2.4 Vitamin D und chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Wie in verschiedene Studien gezeigt werden konnte, steigen die Inzidenzraten der CED mit zunehmendem Abstand zum Äquator an, [53–55]. Als Ursache hierfür wird die verminderte UV-B-Strahlung diskutiert, die für ca. 95% der Vitamin D-Produktion im menschlichen Organismus zuständig ist [56].

Die Prävalenz für eine Vitamin D-Defizienz bei CED-Patienten liegt mit ca. 70% deutlich über dem Durchschnitt der Allgemeinbevölkerung [57]. Einerseits könnte dies durch CED-spezifische Komplikationen wie Malabsorption, Malassimilation und Kurzdarmsyndrom oder eine Sterol-komplexierende Cholestyramin-Therapie bedingt sein [58]. Andererseits weisen die prospektiv erhobenen Daten der *Nurses' Health Study* und weitere kontrollierte epidemiologische Studien darauf hin, dass Vitamin D-Defizienz eine Rolle in der Pathogenese von CED spielen könnte [16, 17, 59].

Die klinische Bedeutung zeigt sich u. a. in der Entwicklung von Komorbiditäten. Denn neben einem hohen Gebrauch an Steroiden und allgemeiner Mangelernährung zählt die Vitamin D-Defizienz zu den wichtigsten Risikofaktoren in der Genese der Osteoporose bei CED-Patienten trotz ihres meist noch jungen Alters [60, 61].

Bereits Burrill Bernard Crohn, der Erstbeschreiber des MC, lieferte Hinweise, die auf eine Bedeutung von UV-B-induziertem Vitamin D für das Krankheitsbild hindeuten könnten. In seinem Werk „Ileitis regionalis“ von 1932 nannte er „*fresh air and sunshine*“ als wichtige Bestandteile der Therapie [5]. Jedoch sprach er in diesem Zusammenhang nicht explizit von Vitamin D.

Einen wichtigen Beitrag lieferten Ananthakrishnan et al. mit ihrer Arbeit aus dem Jahr 2008. Sie ermittelten aus dem Datensatz der sogenannten *Nurses' Health Study* ein signifikant erhöhtes MC-Risiko für Frauen mit erniedrigtem Vitamin D-Serumspiegel (Hazard Ratio 0,38) sowie eine signifikante negative Assoziation der CU-Inzidenz mit der oralen Vitamin D-Zufuhr [17]. Die selbe Arbeitsgruppe beschrieb zudem einen signifikanten Zusammenhang zwischen niedrigem Vitamin D-Spiegel und erhöhtem Risiko für Operationen, Krankenhausaufenthalte sowie Krebserkrankungen bei Patienten mit CED [62, 63]. In einer 2016 veröffentlichten prospektiven 5-Jahres-Studie wurde bei CED-Patienten mit niedrigen 25(OH)D-Spiegeln eine signifikante Verschlechterung der Krankheitsaktivität und Lebensqualität mit höherem Gebrauch an Steroiden, Biologika und Narkosemittel festgestellt, wie auch eine höhere Anzahl an Krankenhauseinweisungen, Notfallbehandlungen und Operationen im Vergleich zu Patienten mit normwertigen Vitamin D-Spiegeln. Diese Studie zeigte zudem eine signifikante Reduktion der Inanspruchnahme gesundheitlicher Einrichtungen durch Vitamin D-Substitution [64].

Inzwischen belegt eine Vielzahl an Studien den signifikanten Zusammenhang einer Vitamin D-Defizienz mit CED [64–69]. Hinsichtlich der Rolle von 25-OH-Vitamin D als Krankheitsaktivitätsmarker divergieren die Ergebnisse und zeigen für MC teilweise eine positive Assoziation [70, 71], während andere Studien sowohl für CU als auch für MC keinerlei Assoziation beobachteten [72, 73].

Mithilfe interventioneller Studien wurde der Einfluss einer Vitamin D-Supplementationstherapie bei CED-Patienten, und damit der kausale Zusammenhang von Vitamin D und CED, untersucht. Yang et al. fanden für 18 MC-Patienten mit einer Supplementationsdosis zwischen 1000 und 5000 IE Cholecalciferol täglich für 24 Wochen eine signifikante Verbesserung der Krankheitsaktivität (Reduktion des CDAI von 230 auf 118) und der Lebensqualität mit einem 25(OH)D₃- Zielspiegel von über 40 ng/ml. Jedoch war dies eine rein explorative Studie ohne Kontrollgruppe [74]. In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie von Jørgensen et al. konnte trotz eines deutlichen entsprechenden Trends keine signifikant geringere Rezidivrate bei mit Vitamin D-therapierten Crohn-Patienten in Remission im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Vitamin D-Therapie gezeigt werden [75]. Allerdings wurde die Supplementationsdosis mit 1200 IE/d sehr niedrig gewählt, sodass neben der geringen Fallzahl (n=108) hier der Grund für die grenzwertige Signifikanz von p=0,056 liegen könnte. Vor Kurzem fassten Li et al. die Ergebnisse von 18 interventionellen Studien (randomisiert und Placebo-kontrolliert) mit insgesamt 908 CED-Patienten in einer Metaanalyse zusammen und fanden

eine signifikante Reduktion der Rezidivrate von CED-Patienten in Remission durch eine Vitamin D-Supplementation [76].

Neben Inzidenz und Krankheitsaktivität wurden weitere Charakteristika von CED hinsichtlich eines Zusammenhangs mit den Spiegeln verschiedener Vitamin-D-Metaboliten im Serum untersucht. Für pädiatrische CED-Patienten konnte zuletzt ein Zusammenhang von 25(OH)D-Serumspiegeln ≥ 30 ng/mL mit niedrigen Hepcidin- und erhöhten Hämoglobin-Spiegeln beschrieben werden. Für andere chronische Erkrankungen, wie die Koronare Herzerkrankung, die chronische Nieren- oder Herzinsuffizienz, fand man in epidemiologischen Studien eine positive Korrelation von Vitamin D-Defizienz zu Anämie und eine negative zum Hämoglobinspiegel [77–79]. Für erwachsene CED-Patienten fehlen entsprechende Daten bisher.

1.3 Eisen bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

1.3.1 Eisenstoffwechsel

Eisen ist aufgrund seiner Funktionen in Sauerstofftransport, DNA-Synthese und Zellatmung ein essenzielles Element für alle lebenden Organismen. Im Körper eines gesunden Erwachsenen sind etwa 3-5 g Eisen zu finden, der Großteil davon als Bestandteil von Hämoglobin in Erythrozyten, gefolgt von Speichereisen wie Ferritin und Myoglobin in Muskelzellen. Der tägliche Eisenverlust liegt bei 1-2 g. Dabei wird Eisen nicht aktiv ausgeschieden, sondern verbraucht und geht über Schweiß, Galle, Urin und Menstruation verloren. Im Regelfall wird dieser Verlust durch Eisenaufnahme über die Nahrung ausgeglichen. Nicht selten jedoch führen verschiedene Ursachen zu einer ungenügenden Eisenresorption und letztendlich zu einem Eisenmangel. Aufgrund der großen Bedeutung von Eisen für den Organismus gibt es eine Vielzahl von Mechanismen, die der Regulation und letztendlich der Konstanthaltung des Eisenhaushalts dienen, denn sowohl zu viel als auch zu wenig Eisen können dem Organismus schaden [80].

Folgende Proteine spielen für den Eisenstoffwechsel unter anderen eine wichtige Rolle: Transferrin ist das Transportprotein, welches Eisen zur Zirkulation im Blut bindet. Es hat zwei Bindungsstellen und wird in der Leber gebildet. Normalerweise ist Transferrin nur zu einem gewissen Anteil mit Eisen gesättigt. Diese sogenannte Transferrinsättigung liegt beim gesunden Erwachsenen zwischen 16 und 45% [81].

Ferritin ist ein Speicherprotein, das bis zu 4500 Eisenatome aufnehmen kann. Es kommt in vielen Körpergeweben vor, jedoch sind vorrangig Leber und Milz Speicherorte für Eisen. Der im Blut messbare Ferritin-Serumspiegel gilt als repräsentatives Maß für den Gesamt-Eisen-

speicher, da beide Größen in einem konstanten Verhältnis von etwa 10 mg Gesamt-Eisen-speicher pro 1 µg/ml Ferritin-Serumspiegel zueinanderstehen [82].

Ferroportin ist ein Membran-Transportprotein, welches in der basolateralen Membran bestimmter eisenhaltiger Gewebe wie Darm, Milz und Leber zu finden ist. Es transportiert Eisen vom Zellinneren in den Kreislauf und ist damit bedeutend für die Bereitstellung von Eisen [83].

Hepcidin ist ein Peptidhormon, dessen Name sich von seinem Syntheseort Leber ableitet und welches den Eisenstoffwechsel reguliert. Hepcidin bindet an Ferroportin und inaktiviert dieses. Dadurch werden die enterale Eisenresorption sowie Eisenfreisetzung aus Speicherzellen inhibiert, was zu einer Senkung des Serumeisenspiegels führt. Verschiedene Faktoren beeinflussen die Hepcidin-Funktion: hohes Serum-Eisen, Entzündung und Infektion haben eine stimulierende Wirkung, Eisenmangel und Hypoxie dagegen eine hemmende [84].

Da es im menschlichen Organismus keine Möglichkeit gibt, überschüssiges Eisen kontrolliert auszuscheiden, spielt die regulierende Funktion von Hepcidin eine entscheidende Rolle für den Eisenstoffwechsel. Bei erhöhtem Eisenvorkommen wird Hepcidin vermehrt sezerniert und bewirkt über die Bindung an Ferroportin eine verminderte Eisenresorption und Eisenfreisetzung. Bei Eisenmangel wird kein Hepcidin sezerniert, wodurch Eisenresorption und Eisenfreisetzung nicht gehemmt werden. So wird der Eisenspiegel reguliert und konstant gehalten.

Die molekularbiologischen Mechanismen bei Eisenüberschuss oder Eisenmangel sind in Abbildung 5 schematisch dargestellt.

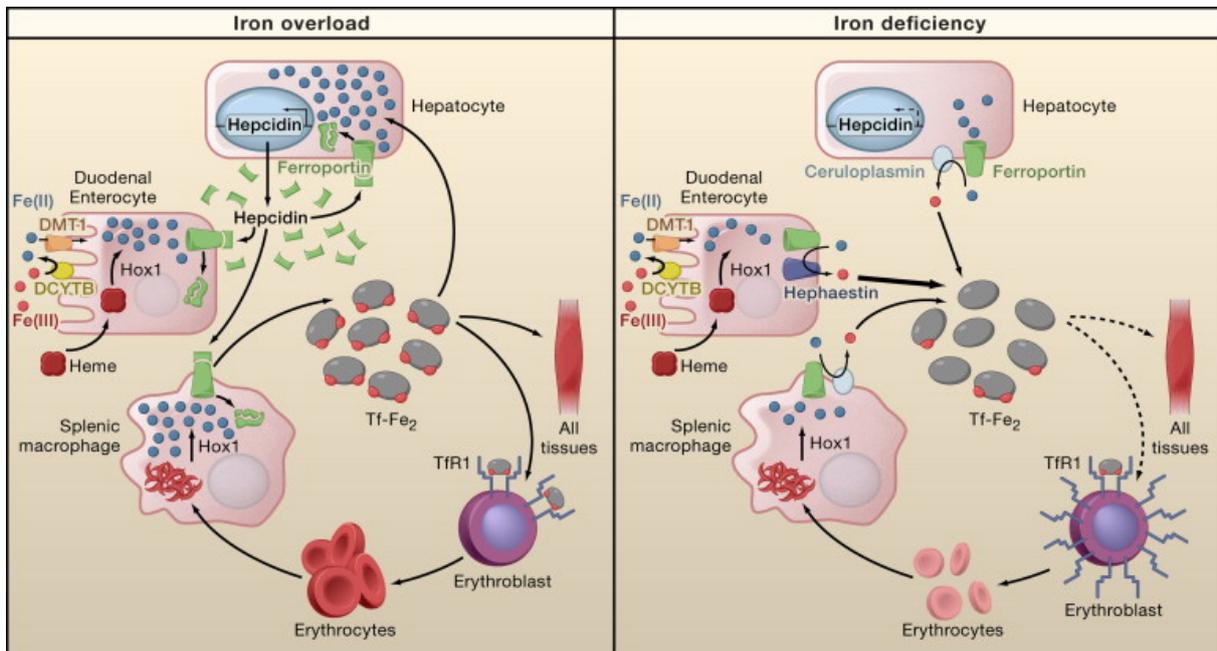


Abbildung 5: Molekularbiologische Mechanismen bei Eisenüberschuss (links) und Eisenmangel (rechts), nach Hentze et al. aus [81].

1.3.2 Eisenmangel bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Analog zur Vitamin D-Defizienz hat auch Eisenmangel eine weltweit hohe Prävalenz [85]. Jeder Vierte leidet laut WHO-Angaben unter Eisenmangel [86]. Klassischerweise sind vor allem Individuen mit hohem Eisenbedarf betroffen wie Schwangere und Heranwachsende. Andere häufige Ursachen umfassen Mangelernährung oder chronisch erhöhten Blutverlust [87]. Darüber hinaus ist für Populationen mit chronischen Entzündungszuständen eine erhöhte Eisenmangel-Prävalenz dokumentiert, so auch für Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen [88]. Zu den Gründen hierfür zählen einerseits durch die Grunderkrankung bedingte Blutverluste und Resorptionsstörungen im Darm, andererseits erhöhte Hepsidin-Spiegel hervorgerufen durch inflammatorische Zytokine wie IL-6 [89].

Etwa 50% der Patienten mit CED weisen einen Eisenmangel auf [90]. Oft bleibt diese Tatsache unerkannt, da die Diagnosestellung durch die Grunderkrankung erschwert wird. Typische Eisenmangel-Symptome wie Fatigue, Appetitverlust oder Infektanfälligkeit lassen sich nur schwer von Allgemeinbeschwerden bei CED abgrenzen [91]. Auch laborchemisch kann ein Eisenmangel bei CED maskiert sein, da das Eisenspeicherprotein Ferritin als Akute-Phase-Protein agiert und durch das Entzündungsgeschehen im Rahmen der CED beeinflusst wird [92].

Nach den Leitlinien der *European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO)* gelten folgende laborchemische Grenzwerte für die Diagnose eines Eisenmangels. Mindestens ein Kriterium muss für die Definition erfüllt sein.

- 1) Serum-Ferritin < 30 ng/ml
- 2) Transferrinsättigung < 20%
- 3) Ferritin zwischen 30 -100 ng/ml bei gleichzeitigem klinischen Hinweis auf Entzündung (CRP \geq 0,5 mg/dl, CDAI > 150, CAI > 3, Leukozyten > 9 G/l, segmentkernige Granulozyten > 70%) [93]

Die diagnostischen Kriterien unter 1) und 2) spiegeln den Zustand eines absoluten Eisenmangels wider, wohingegen 3) einen funktionellen Eisenmangels beschreibt, bei dem Eisen trotz vorhandener Eisenreserven dem Organismus nicht ausreichend zur Verfügung steht [92].

Der Serumeisenspiegel selbst wird für die Definition des Eisenmangels nicht verwendet, da er starken Schwankungen im Tagesverlauf unterliegt. Das Referenzintervall des Serum-Eisenspiegels liegt für Männer bei 70-180 μ g/dl und für Frauen bei 60-180 μ g/dl [94].

Eine Komplikation des Eisenmangels ist die Eisenmangel-Anämie. Sie ist die häufigste Anämieform und daher sowohl für Gesunde als auch für Vorerkrankte von großer klinischer Bedeutung. Dennoch dürfen die Begriffe „Eisenmangel“ und „Eisenmangelanämie“ nicht synonym verwendet werden [95]. Nach Cappellini et al. kann Eisenmangel als Zustand definiert

werden, bei dem die Eisenverfügbarkeit nicht ausreicht, um die Bedürfnisse des Körpers zu befriedigen, und der mit oder ohne Anämie vorliegen kann [96].

Diese Differenzierung ist wichtig, da gezeigt werden konnte, dass schon Eisenmangel allein, in Abwesenheit von Anämie, negative Effekte auf die Lebensqualität von Patienten haben kann [92]. Es wird daher zu einer frühzeitigen Diagnose und Therapie des Eisenmangels, besonders bei Patienten mit chronisch entzündlichen Grunderkrankungen, geraten [93, 97, 98]. Man sollte dabei besonders auf Frühsymptome eines Eisenmangels wie Fatigue, Kopf- oder Gelenkschmerzen, Polyneuropathien und Veränderungen von Haut oder Haaren achten, die zum Teil auch vor Entwicklung einer manifesten Anämie auftreten [99, 100].

Die Therapieempfehlungen hinsichtlich des Eisenmangels bei CED müssen die Aktivität der Grunderkrankung berücksichtigen. Aufgrund häufiger gastrointestinaler Nebenwirkungen, wegen der Gefahr der Exazerbation eines Schubes durch intestinalen oxidativen Stress und wegen der durch den Entzündungszustand verminderten Resorption, ist die orale Eisensubstitution bei CED-Patienten mit Krankheitsaktivität nicht empfohlen [101]. In Remission hingegen kann die Substitution oral versucht werden [8]. Zwar wurde kürzlich ein neues Präparat zur oralen Eisensubstitution mit guter Wirkung und besserer Verträglichkeit zugelassen (Fercru®, Eisen(III)-Maltol), welches einen Komplex aus dreiwertigem, anstatt des üblichen zweiwertigen, Eisens beinhaltet [102]. Jedoch ist gemäß aktueller ECCO-Leitlinien die intravenöse Eisensupplementation bei CED-Patienten mit hoher Krankheitsaktivität oder schwerer Anämie die Methode der Wahl [93]. Durch Umgehung der Hepsidin-vermittelten enteralen Resorptionsblockade erreicht die intravenöse Eisenapplikation einen größeren Effekt bei geringeren Nebenwirkungen.

1.3.3 Eisen und Vitamin D - die Rolle von Hepsidin

Eine der wichtigsten Komplikationen bei CED ist die Entwicklung einer Anämie [103]. Pathogenetisch stehen dabei zwei Mechanismen im Vordergrund: Eisenmangel und chronische Erkrankungen (sog. „*Anemia of Chronic Disease*“, kurz: ACD). Eine genaue Zuteilung der Anämie-Ursache ist bei CED-Patienten meist nicht möglich. Für beide Mechanismen spielt Hepsidin eine Schlüsselrolle. Es wird sowohl bei Eisenmangel, als auch bei chronischer oder akuter Entzündung vermehrt in der Leber gebildet und sezerniert. Dies führt, wie oben beschrieben, zu einer reduzierten körpereigenen Eisenverfügbarkeit [104].

In zahlreichen Studien konnte eine Assoziation der Vitamin D-Defizienz mit einem Eisenmangel oder einer Anämie sowohl bei Gesunden, als auch bei Erkrankten beschrieben werden [77, 78, 105–109]. Es ist nicht letztgültig geklärt, wie diese Assoziation zu interpretieren ist, da entweder Vitamin D einen Einfluss auf den Eisenstoffwechsel haben könnte oder umgekehrt, Eisen einen wichtigen Kofaktor in für den Vitamin D-Haushalt relevanten Enzymen darstellen

könnte. Mithilfe von in-vitro-Studien konnte ein direkter Effekt von Vitamin D auf den Eisenstoffwechsel nachgewiesen werden: Zughaiet et al. beschrieben zunächst eine Erhöhung der Ferroportin-Expression mit gleichzeitiger Verminderung der Hepcidin-Expression bei mit $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ behandelten Monozyten [110]. Bacchetta et al. zeigten sowohl für $25(\text{OH})\text{D}$, als auch für $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ einen hemmenden Effekt auf die Hepcidin-Transkription bei kultivierten Hepatozyten und Monozyten. Sie fanden, dass durch die in-vitro-Behandlung mit den Vitamin D-Metaboliten eine direkte Unterdrückung der Expression von Hepcidin-Genen (*HAMP*) stattfindet [111]. Gleichzeitig wird die *mRNA* für das antibakterielle Protein Cathelicidin induziert [112]. Ferner hat Vitamin D auch einen indirekt hemmenden Effekt auf Hepcidin, denn proinflammatorische Zytokine, die Hepcidin stimulieren, werden von Vitamin D unterdrückt.

Eine schematische Übersicht der Beziehung von Vitamin D und Hepcidin ist in Abbildung 6 dargestellt.

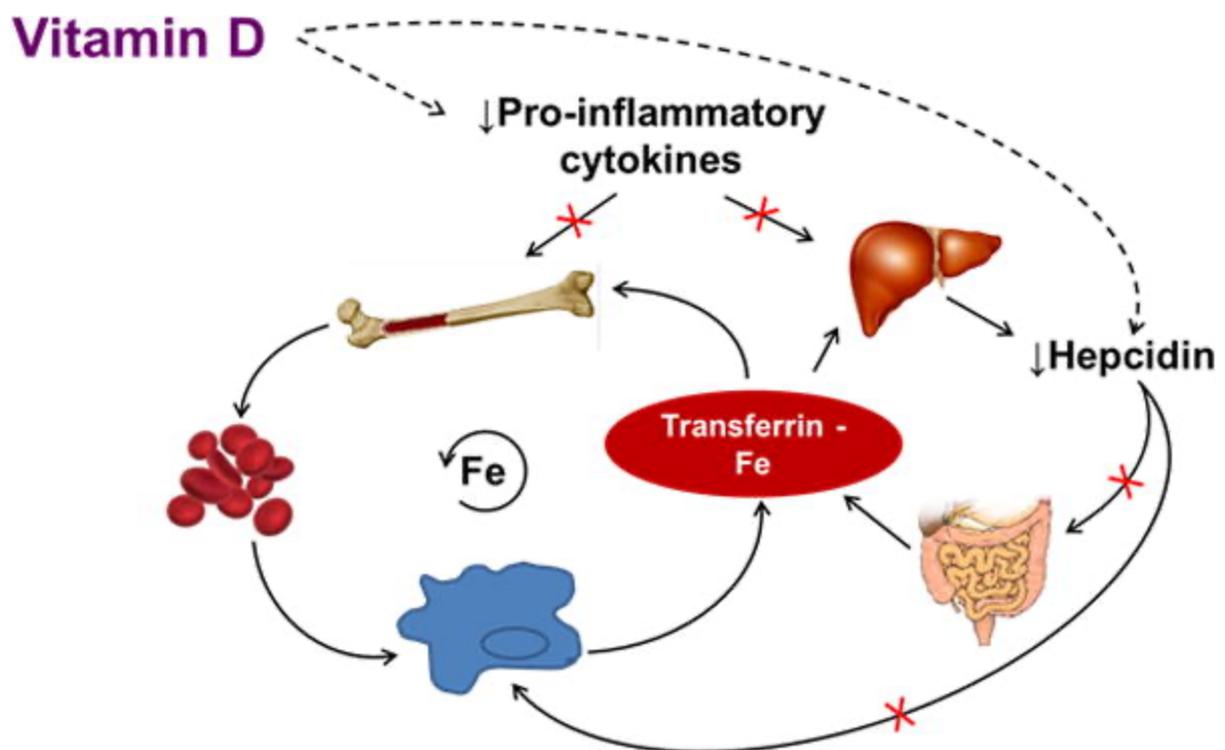


Abbildung 6: Effekt von Vitamin D auf den Eisenstoffwechsel nach Smith et al. aus [113]

2. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, einen möglichen Zusammenhang des Vitamin D-Status mit Parametern des Eisenmangels bei erwachsenen Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zu untersuchen, da es bislang noch wenige Erkenntnisse in diesem Bereich gibt.

Es wurden bereits in verschiedenen Arbeiten die Auswirkungen von Vitamin D auf Eisen- oder Anämieparameter für Patienten mit chronischen Erkrankungen wie z.B. chronische Niereninsuffizienz oder Herzerkrankungen beschrieben [78, 79]. Für CED konnte ein Zusammenhang zwischen Vitamin D-Status und Heparidin- bzw. Hämoglobin-Spiegel oder Anämie bei erkrankten Kindern gezeigt werden [114–116]. Bis heute fehlen jedoch entsprechende Daten für erwachsene CED-Patienten, die Aufschlüsse über die Bedeutung von Vitamin D für den Eisenstoffwechsel liefern. Durch in-vitro-Studien konnte ein direkter Effekt von Vitamin D auf die Heparidin-*mRNA*-Expression gezeigt werden [111], sodass sich hieraus vielversprechende therapeutische Ansätze ableiten lassen. Eine genaue Erforschung von Vitamin D- und Eisenparametern bei erwachsenen CED-Patienten ist daher ein wichtiger Schritt zur Erweiterung und Optimierung gebräuchlicher Diagnostik- und Therapieleitlinien.

In dieser Arbeit werden hierzu folgende Aspekte untersucht:

1. Klinische Daten der CED-Studienpopulation mit Ausarbeitung von Krankheitsphänotyp und Epidemiologie aufgeschlüsselt nach Vitamin D-Status
2. Serumspiegel von 25(OH)-Vitamin D und 1,25(OH)₂-Vitamin D sowie die Ratio 1,25(OH)₂D : 25(OH)D bei Patienten mit M. Crohn oder Colitis ulcerosa und gesunden Kontrollen
3. Serumspiegel von Heparidin, Ferritin, Eisen, Transferrin und Transferrinsättigung als Parameter des Eisenstoffwechsels, neben Entzündungsparametern (CRP) und Hämoglobinspiegel bei CED-Patienten
4. Assoziation des Vitamin D-Status bzw. der verschiedenen Vitamin D-Metabolite mit Eisenparametern unter Eliminierung der Störgrößen Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Entzündungsaktivität und CRP mittels multivariater Analysen
5. Direkte Korrelation zwischen Vitamin D- und Eisenparametern bei CED-Patienten

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Verbrauchsmaterial

Reaktionsgefäße	Eppendorf Safe-Lock Tubes, 2,0 mL, Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Biozym Scientific GmbH, Oldendorf
Blutentnahmeröhrchen	S-Monovette, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht - K3 EDTA - Serum mit Gerinnungsaktivator - Citrat 3,2%
Hepcidin ELISA Kit	Human Hepcidin Immunoassay Quantikine®ELISA, Catalog Number DHP250, R&D Systems Inc, Minneapolis, USA

3.1.2 Geräte

Tiefkühlschrank (-80°C)	Thermo Scientific Heraeus Tiefkühlschrank HFU 586 Basic, 793l, 230V, Arbeitstemperatur: -50 bis -86 °C
Zentrifuge	Rotofix 32 A, Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen
Pipetten	Eppendorf, Hamburg
ELISA-Reader	Tecan Austria GmbH, Grödig/Salzburg, Österreich

3.2 Methoden

3.2.1 Rekrutierung des Patienten- und Kontrollkollektivs

Die Rekrutierung des Patientenkollektivs fand in der Ambulanz für chronisch entzündliche Darmerkrankungen des Klinikums der Universität München statt. Die Patienten wurden ausführlich über den Ablauf, das Ziel und die Bedeutung der Studienteilnahme aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Ethikkommission der Universität München bestätigte die ethisch-rechtliche Unbedenklichkeit unter der Projekt-Nummer 343-09.

Es wurden insgesamt 255 Patienten mit einer nach DGVS-Leitlinien gesicherten Diagnose eines MC oder CU in die Studie eingeschlossen. Von 114 dieser Patienten wurden am Tag

der Studienteilnahme die Eisenwerte im Blut bestimmt, sodass nur sie in diese Arbeit aufgenommen werden konnten. Bei einer Probe konnte kein 25(OH)D und bei vier Proben kein Hepcidin bestimmt werden, woraufhin diese Probanden ausgeschlossen wurden. Bei fünf Studienteilnehmern war die orale Vitamin D – Supplementation weit oberhalb der üblichen Empfehlung von 2000 IE am Tag oder die genaue Dosis war nicht mehr nachzuvollziehen, sodass auch diese Beobachtungen ausgeschlossen werden mussten. Es wurden keine Patienten berücksichtigt, die innerhalb der letzten 30 Tage vor Blutentnahme eine Eisensubstitution – oral oder intravenös – erhalten hatten.

Insgesamt konnten 104 Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen im Untersuchungskollektiv verbleiben. Der Auswahlprozesses ist in Abbildung 7 dargestellt.

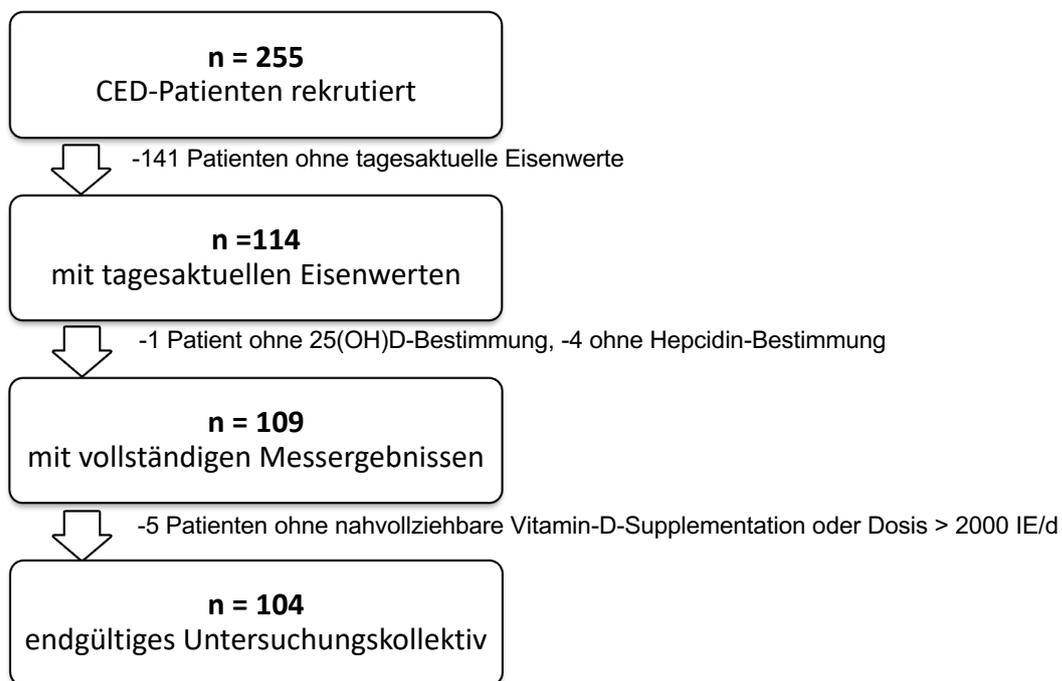


Abbildung 7: Anzahl der Patienten von Rekrutierung bis zum endgültigen Kollektiv.

Das Kontrollkollektiv wurde innerhalb einer zufälligen Gruppe von Klinik-Mitarbeitern und Krankenhausbesuchern rekrutiert. Hierbei wurden ausschließlich anamnestisch gesunde Personen ohne akute oder chronische Erkrankung eingeschlossen. Insgesamt fanden sich 57 gesunde Kontrollen, die in die Studienteilnahme einwilligten. Von den in Frage kommenden befragten Personen lehnte niemand die Teilnahme ab.

3.2.2 Gewinnung des Untersuchungsmaterials und Klinische Chemie

Von allen Probanden wurde am selben Tag der klinischen Vorstellung peripher venöses Blut entnommen. Ein Teil dieser Probe wurde direkt im Labor der CED-Ambulanz bearbeitet, so dass das durch Zentrifugieren und Abpipettieren gewonnene Serum innerhalb von 30 Minuten in den -80 °C -Schrank gegeben werden konnten. Durch die schnelle Verarbeitung wurde ein möglicher Verfall labiler Metabolite minimiert, um bestmögliche Messergebnisse zu gewährleisten.

Der andere Teil der Proben ging in das Zentrallabor der Universitätsklinik München am Campus Großhadern zur routinemäßigen Bestimmung der jeweiligen Parameter für Blutbild oder klinische Chemie. Für die in unserer Studie verwendeten Parameter sind in Tabelle 1 die jeweiligen Messmethoden und Gerätebezeichnung zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht der Laborparameter mit zugehöriger Messmethoden

Parameter	Einheit	Messmethode / Assay	Messgerät (Hersteller)
Leukozyten	G/l	Durchflusszytometrie	XN 9000 (Sysmex)
Erythrozyten	T/l	Impedanzmessung mit hydrodynamischer Fokussierung	XN 9000 (Sysmex)
Hämoglobin	g/dl	SLS-Hämoglobinmethode	XN 9000 (Sysmex)
Hämatokrit	l/l	Kumulative Impulshöhensummierung	XN 9000 (Sysmex)
Segmentierte Granulozyten	%	Fluoreszenz-Durchflusszytometrie	XN 9000 (Sysmex)
CRP	mg/dl	Partikelverstärkter immunologischer Trübungstest (Hoffmann-La Roche AG Basel, Schweiz)	AU 5800/ AU680 Beckman-Coulter
Eisen	µg/dl	TPTZ (Photometrischer Farbtest)	AU 5800 Beckman-Coulter
Transferrin	g/l	Immunturbidimetrischer Test (Hoffman-La Roche AG Basel, Schweiz)	AU 5800 Beckman-Coulter
Ferritin	Ng/ml	Immunturbidimetrischer Farbtest	AU 5800 Beckman-Coulter

Die Messverfahren des Zentrallabors unterliegen regelmäßigen Qualitätskontrollen, sowohl intern (1-2x täglich) als auch extern (4x jährlich).

3.2.3 Vitamin D-Messungen

Die quantitative Bestimmung des Gesamtgehalts an 25(OH)D in Humanserum wurde mittels *Elecsys Vitamin D total II*-Tests für das *cobas e 801* System in der Zentralen Einrichtung für Klinische Chemie der Universität Ulm durchgeführt. Dieser Test funktioniert nach dem Kompetitionssprinzip und verwendet dabei ein mit einem Ruthenium-Komplex markiertes Vitamin D-Bindeprotein als Fängerkomponente, welche 25(OH)D bindet. Die Kreuzreaktivität mit 24,25(OH)₂D wird durch einen spezifischen monoklonalen Antikörper blockiert. Der Messbereich dieses Tests liegt zwischen 3 und 100 ng/ml, wobei Proben mit Werten oberhalb des Messbereichs mit Universal Puffer verdünnt wurden. Eine Studie zur analytischen Spezifität wurde durchgeführt. Dabei war keine mittlere Kreuzreaktivität zu 1,25(OH)₂D-Metaboliten nachweisbar [117].

Die quantitative Bestimmung von 1,25(OH)₂-Vitamin D in Humanserum wurde mittels IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Assay für IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System in der Zentralen Einrichtung für Klinische Chemie der Universität Ulm durchgeführt. Dieser Assay basiert auf einer Immunextraktion des 1,25(OH)₂D aus Humanserum mittels magnetischer Partikel, die mit spezifischen Anti-1,25(OH)₂D-Antikörper beschichtet sind. Nach diesem Schritt folgt die quantitative Bestimmung des 1,25(OH)₂D mittels des auf Chemilumineszenz-Technologie basierenden Immunoassay-Verfahrens. Dabei wird die extrahierte, aufgereinigte Probe zuerst mit biotinylierten Anti-1,25(OH)₂D-Schafantikörpern, dann mit Acridinium-markiertem 1,25(OH)₂D-Konjugat inkubiert. Nun werden mit Streptavidin-markierte magnetische Partikel zugefügt, die nach Inkubation mithilfe eines Magneten eingefangen werden. Ungebundenes 1,25(OH)₂-Vitamin D wird in einem Waschschrift entfernt, bevor die Trigger-Reagenzien hinzugegeben werden. Nun gibt das aktivierte Acridinium Licht ab, dessen Intensität umgekehrt proportional zu der 1,25(OH)₂D-Konzentration der ursprünglichen Probe ist. Der Messbereich des Assays liegt zwischen 7,5 und 150 pg/ml [118].

3.2.4 Hepcidin-Messung

Die quantitative Bestimmung des Serum-Hepcidinspiegels wurde mittels Human Hepcidin Immunoassay Quantikine® ELISA Kit der Firma R&D Systems Inc (Minneapolis, USA) nach Gebrauchsanweisung im hauseigenen Labor durchgeführt. Dieser ELISA nutzt die sogenannte Sandwich-Technik, bei der zwei monoklonale Antikörper (in diesem Fall spezifisch für Hepcidin) verwendet werden. Einer der Antikörper ist an die Mikrotiterplatte fixiert und bindet das Hepcidin der hinzugegebenen Probe. Nach einem Waschschrift wird der andere Hepcidinspezifische Antikörper (Detektionsantikörper) hinzugegeben und bindet sozusagen von der anderen Seite an Hepcidin, sodass man es bildlich mit einem Sandwich vergleichen könnte. Nach einem weiteren Waschschrift wird ein sekundärer Antikörper hinzugefügt, der an den

Detektionsantikörper bindet und eine enzymatische Farbreaktion bewirkt. Diese Farbreaktion ist proportional zu der Hepcidinkonzentration, sodass sie mittels eines Photometers quantifiziert werden kann. Laut Hersteller liegt der Messbereich zwischen 15.6 und 1000 pg/mL, die Sensitivität bei 3,81 pg/mL („*minimal detectable dose*“) und die Kreuzreaktivität unter 0,5% [119].

Unsere Proben wurden standardisiert in Dubletten gemessen und bei Werten außerhalb der Standardkurve erneut in verdünnter beziehungsweise erhöhter Konzentration nachgemessen. Es wurden jeweils die Mittelwerte der Messungen einer Probe bestimmt und in unseren Analysen verwendet. Dabei war die durchschnittliche Standardabweichung der Hepcidin-Dubletten 5% (Standardabweichung: 4,1%, Range: 0,1%-17%).

3.2.5 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe der XLSTAT Statistik-Analyse Software (Addinsoft, Paris, Frankreich) durchgeführt. Allen Analysen wurde das Signifikanzniveau $p < 0,05$ zugrunde gelegt.

Beim Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde für quantitative Variablen in Normalverteilung der T-Test und ohne Normalverteilung der Mann-Whitney-U-Test herangezogen. Für qualitative Variablen wurde der exakte Fisher-Test angewandt.

Beim Vergleich mehrerer unabhängiger Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

Für die multivariaten Analysen wurde das ANCOVA-Modell eingesetzt. Dieses ermöglicht es, eine abhängige quantitative Variable unter Benutzung von quantitativen und qualitativen Variablen im Rahmen eines linearen Modells darzustellen.

3.2.6 Definitionen

Anämie, Eisenmangel, Eisenmangelanämie, Krankheitsaktivität, und Vitamin D-Status wurden in dieser Arbeit wie folgt definiert:

Begriff	Definition
Anämie (nach ECCO-Guidelines[9])	Männer: $Hb \leq 13$ g/dl oder $Hkt \leq 39\%$ Frauen: $Hb \leq 12$ g/dl oder $Hkt \leq 36\%$
Eisenmangel (nach ECCO-Guidelines [9, 93])	Ferritin < 30 ng/ml ODER Transferrinsättigung $< 20\%$ ODER Ferritin $> 30, < 100$ ng/ml bei klinischem Hinweis auf Entzündung (CRP $\geq 0,5$ mg/dl, CDAI > 150 , CAI > 3 , Leukozyten > 9 G/l, segmentkernige Granulozyten $> 70\%$)

Material und Methoden

Eisenmangelanämie	Bei Vorliegen eines Eisenmangels und einer Anämie
Krankheitsaktivität (nach ECCO-Guidelines[9])	Aktiver Morbus Crohn: CDAI > 150 nach Best [120] Aktive Colitis ulcerosa: CAI > 3 nach Rachmilewitz[121]
Vitamin D -Status (nach IOM [21])	Unterteilung in Defiziente (s. Vitamin D-Mangel) und Nicht-Defiziente
Vitamin D-Defizienz	25(OH)D < 20 ng/ml (< 50nmol/L)
Vitamin D-Insuffizienz	25(OH)D ≥ 20 ng/ml < 30 ng/ml (≥ 50 nmol/L < 75 nmol/L)
Vitamin D-Ratio	1,25(OH) ₂ D : 25(OH)D x 10 ⁻³

4. Studienpopulation

Die Studienpopulation umfasst 104 CED-Patienten und 57 gesunde Kontrollen.

Die demographischen und klinischen Eigenschaften der CED-Patienten als Kollektiv, sowie stratifiziert nach Vitamin D-Status sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Dabei zeigte die Gruppe der Vitamin D-Defizienten und die der Nicht-Defizienten keinen signifikanten Unterschied in ihren Eigenschaften. Insofern konnte man von gleichmäßig verteilten Stichproben ausgehen.

Tabelle 2: Charakteristika der CED-Patienten

Eigenschaften	CED-Kollektiv	25(OH)D < 20 ng/ml	25(OH)D ≥ 20 ng/ml	p ^a
	n = 104	n = 40	n = 64	
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	
	oder n (%)	oder n (%)	oder n (%)	
Demographie				
- Alter (Jahre)	41 ± 12	39 ± 11	43 ± 13	0,06
- Geschlecht (w)	45 (43)	13 (33)	32 (50)	0,08
- BMI (kg/m ²)	24 ± 3	24 ± 4	24 ± 3	0,61
- Gewicht (kg)	73 ± 14	75 ± 14	71 ± 14	0,35
- Größe (cm)	173 ± 10	175 ± 9	173 ± 10	0,35
Raucher ^b	23 (25)	9 (26)	14 (25)	0,42
- Nichtraucher	54 (59)	22 (63)	32 (56)	
- Exraucher	15 (16)	4 (11)	11 (19)	
Positive CED-Familienanamnese ^c	17 (21)	8 (25)	9 (18)	0,51
Diagnose				0,74
- Morbus Crohn	67 (64)	25 (63)	42 (66)	
- Colitis ulcerosa	37 (36)	15 (37)	22 (34)	
Krankheitsdauer (Jahre)	15 ± 10	15 ± 8	15 ± 11	0,43
Krankheitsaktivität				
- aktiv	42 (40)	15 (37)	27 (42)	0,64
- in Remission	62 (60)	25 (63)	37 (58)	
- CDAI	110 ± 101	92 ± 82	120 ± 111	0,38
- CAI	5 ± 4	5 ± 4	5 ± 3	0,70

^a Vergleich zweier unabhängiger Stichproben mittels T-Test für normalverteilte oder U-Test für nicht-normalverteilte metrische Variablen, und mithilfe des Exakten Fisher-Tests für qualitative Variablen

^b Genauer Raucherstatus bekannt bei 92 von 104 Patienten

^c Genaue Familienanamnese bekannt bei 80 von 104 Patienten

Studienpopulation

M. Crohn Lokalisation ^a				0,13
- nur Ileum	8 (8)	2 (5)	6 (9)	
- nur Jejunum	0	0	0	
- nur Kolon	4 (4)	1 (3)	3 (5)	
- Ileokolon	29 (28)	14 (35)	15 (23)	
- Ileokolon + Jejunum	5 (5)	2 (5)	3 (5)	
- Ileokolon + oberer GIT	16 (15)	8 (20)	8 (13)	
CU-Ausdehnung ^b				0,13
- Proktitis	3 (3)	0	3 (5)	
- Linksseiten-Kolitis	15 (14)	5 (13)	10 (16)	
- Pankolitis	17 (16)	6 (15)	11 (17)	
Extraintestinale Manifestationen	30 (29)	15 (38)	15 (23)	0,88
Fisteln	29 (28)	16 (40)	13 (20)	0,93
Stenosen	36 (35)	14 (35)	22 (34)	0,46
Abszesse	15 (14)	8 (20)	7 (11)	0,24
Operation	35 (24)	15 (38)	20 (31)	0,45
Aktuelle CED-Therapie ^c				0,89
- Keine CED-Therapie	7 (7)	4 (10)	3 (5)	
- Orale Steroid-Monotherapie	3 (3)	1 (3)	2 (3)	
- Orale Steroide + Mesalazin	5 (5)	1 (3)	4 (6)	
- Immunsuppressiva ^d -Monotherapie	3 (3)	1 (3)	2 (3)	
- Immunsuppressiva mit Steroiden	2 (2)	1 (3)	1 (2)	
- Immunsuppressiva + andere ^e	1 (1)	0	1 (2)	
- Anti-TNF ^f -Monotherapie	43 (41)	20 (50)	23 (36)	
- Anti-TNF+ Steroide	6 (6)	2 (5)	4 (6)	
- Anti-TNF+ Steroid + andere ^e	5 (5)	3 (3)	2 (3)	
- Anti-TNF+ Immunsuppressiva	1 (1)	0	1 (2)	
- Anti-TNF+ Steroid + Immunsuppressiva	4 (4)	2 (5)	2 (3)	
- Anti-TNF+ andere	17 (16)	5 (13)	12 (18)	
- andere Medikamente ^e	7 (7)	0	7 (11)	
Vitamin D – Einnahme: ja	51 (49)	17 (44)	36 (56)	0,17
-wenn ja: durchschnittliche Dosis (IE)	1019 ± 229	1088 ± 364	986 ± 117	0,28

^a Genaue Angaben zur Krankheitslokalisation bei 62 von 67 Patienten mit M. Crohn

^b Genaue Angaben zur Krankheitsausbreitung bei 35 von 37 Patienten mit Colitis ulcerosa

^c Zum Zeitpunkt der Blutentnahme

^d Immunsuppressiva umfassen Azathioprin und Methotrexat

^e Andere Medikamente umfassen Mesalazin-Präparate, Antibiotika, sowie Loperamid

^f Anti-TNF-Medikamente umfassen Infliximab, Adalimumab, Vedolizumab, Golimumab und Certolizumab

Studienpopulation

Die Charakteristika der gesunden Kontrollen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Charakteristika der gesunden Kontrollen

Eigenschaften	Gesunde Kontrollen n = 57 Mittelwert \pm SD oder n (%)
Demographie	
- Alter ^a (Jahre)	37 \pm 12
- Geschlecht (w)	33 (59)
Raucher	3 (5)
- Nichtraucher	54 (95)
Positive CED-Familienanamnese	2 (4)

^a Genaues Alter bekannt bei 56 von 57 Probanden

5. Ergebnisse

5.1 Vitamin D-Serumspiegel in der Studienpopulation

Zu Beginn wurden die Serumspiegel von 25(OH)D und von 1,25(OH)₂D sowohl bei den gesunden Probanden, als auch bei den Patienten mit CED bestimmt. Aus diesen Werten wurden für alle Personen die Ratio aus 1,25(OH)₂D zu 25(OH)D ermittelt. Alle Daten wurden zunächst mittels Shapiro-Wilk-, Jarque-Bera- und Lilliefors-Test auf Normalverteilung geprüft. Da sich keine Normalverteilung zeigte, wurden die Gruppen mittels nicht-parametrischen Testverfahren (Kruskal-Wallis-Test) untereinander verglichen. Zur Veranschaulichung wurden die Daten als Boxplots aufgetragen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 bis Abbildung 10 graphisch dargestellt.

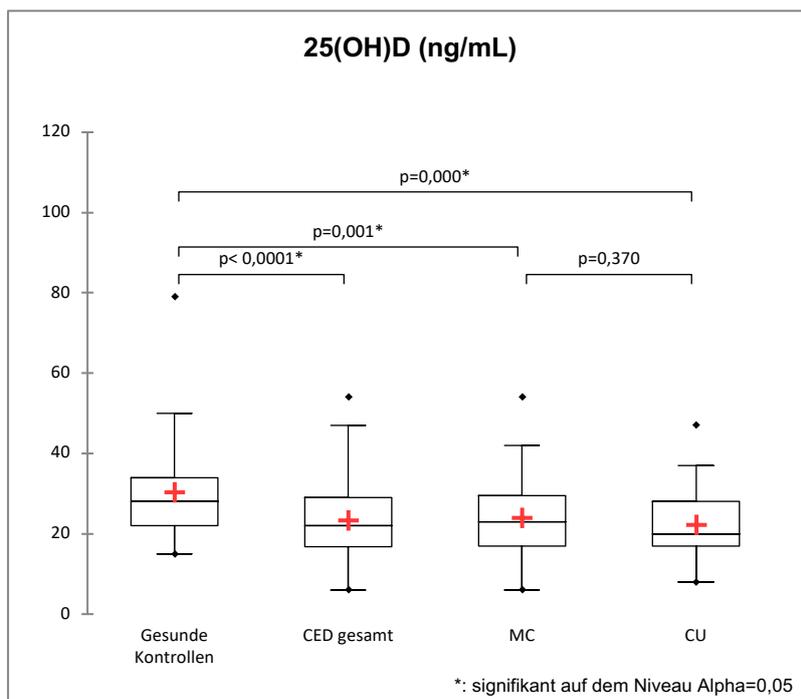


Abbildung 8: Serumspiegel 25(OH)-Vitamin D

Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel (in ng/mL) von gesunden Kontrollen (n=57) mit dem CED-Gesamtkollektiv (n=104), sowie den Subgruppen MC (n=67) und CU (n=37) mittels Boxplots (rotes Kreuz=Mittelwert, Punkte=Ausreißer) auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Aus Abbildung 8 ist abzulesen, dass Patienten mit CED signifikant niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel im Vergleich zu gesunden Probanden aufwiesen ($p < 0,0001$). Dabei lag der Median für erkrankte Studienteilnehmer bei 22 ng/mL und für gesunde Kontrollprobanden bei

Ergebnisse

25 ng/mL. Auch bei Unterteilung der CED-Patienten in MC und CU blieb der 25(OH)D-Serumspiegel signifikant niedriger gegenüber den Gesunden ($p=0,00$).

Zwischen MC und CU bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,37$).

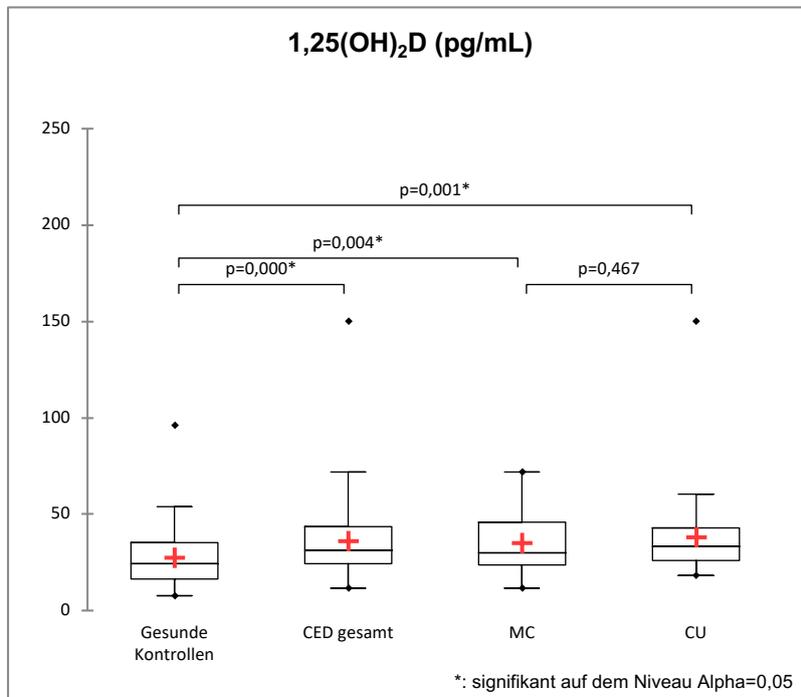


Abbildung 9: Serumspiegel 1,25(OH)₂-Vitamin D

Vergleich der 1,25(OH)₂D-Serumspiegel (in pg/ml) von gesunden Kontrollen ($n=57$) mit dem CED-Gesamtkollektiv ($n=104$), sowie den Subgruppen MC ($n=67$) und CU ($n=37$) mittels Boxplots (rotes Kreuz=Mittelwert, Punkte=Ausreißer) auf dem Signifikanzniveau $p<0,05$.

Abbildung 9 zeigt die Serumspiegel des aktiven 1,25(OH)₂-Vitamin D. Hier ist zu erkennen, dass CED-Patienten signifikant höhere Serumspiegel gegenüber Gesunden aufwiesen ($p=0,00$). Der Median der Gesunden (24 pg/ml) lag deutlich unter dem der CED-Patienten (31 pg/ml). Dies galt ebenso für den Vergleich zwischen Gesunden und den Patienten-Untergruppen mit MC oder CU. Der Median für MC lag mit 30 pg/ml signifikant über dem der Gesunden ($p=0,004$). Ebenso verhielt es sich für Patienten mit Colitis ulcerosa (Median = 33 pg/ml, $p=0,001$).

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in 1,25-(OH)₂-Vitamin D-Serumspiegeln zwischen den Patientengruppen mit M. Crohn und Colitis ulcerosa ($p=0,47$).

Ergebnisse

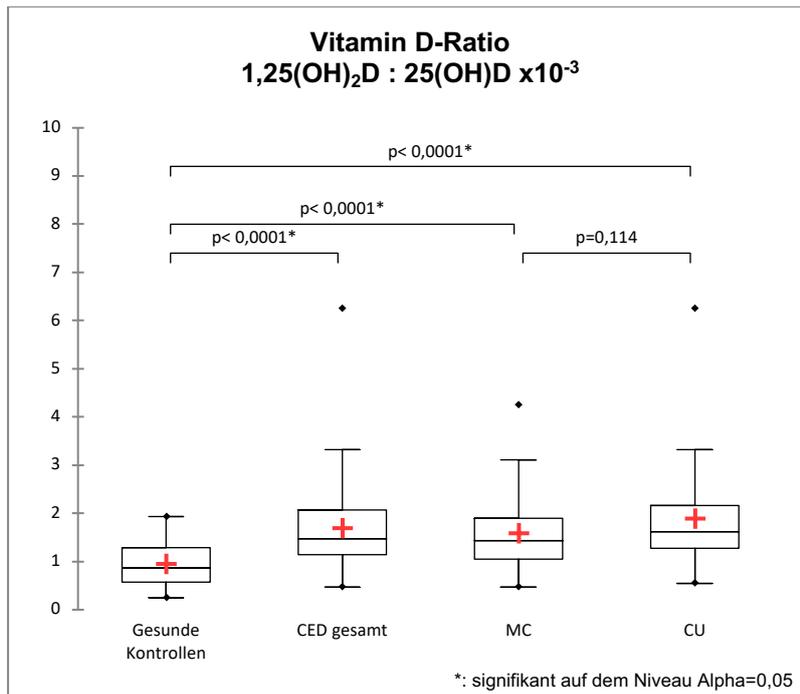


Abbildung 10: Ratio 1,25(OH)₂D : 25(OH)D Vitamin D

Vergleich der Ratio aus 1,25(OH)₂D : 25(OH)D- Vitamin D -Serumspiegeln (Einheit x10⁻³, aus Gründen der Übersichtlichkeit) von gesunden Kontrollen (n=57) mit dem CED-Gesamtkollektiv (n=104), sowie den Subgruppen MC (n=67) und CU (n=37) mittels Boxplots (rotes Kreuz=Mittelwert, Punkte=Ausreißer) auf dem Signifikanzniveau p<0,05.

Hier wurde die Ratio 1,25(OH)₂D : 25(OH)D gebildet. Für Patienten mit CED waren signifikant höhere Werte der Ratio gegenüber Gesunden festzustellen (p<0,001). Der Median der 1,25(OH)₂D : 25(OH)D-Ratio von CED-Patienten lag bei 1,48 x10⁻³, von gesunden Probanden bei 0,87 x10⁻³. CED-Patienten wiesen also einen größeren Anteil der aktiven Form im Verhältnis zur Speicherform auf als Gesunde. Ebenso galt dies für den Vergleich von MC (p<0,001) oder CU (p<0,001) jeweils mit Gesunden.

Es war kein signifikanter Unterschied zwischen MC und CU festzustellen (p=0,114).

5.2 Serumparameter zu Eisenstoffwechsel, Entzündung und Anämie in der Studienpopulation

Bei allen Patienten unserer Studienpopulation wurden die wichtigsten Serummarker zu Eisenstoffwechsel, Entzündung und Anämie gemessen. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Es wurden hierbei alle relevanten Werte für das gesamte CED-Kollektiv, sowie für die Untergruppen unterteilt nach Vitamin D-Status aufgetragen.

Ergebnisse

Tabelle 4: Eisen- und Entzündungsparameter sowie Anämiestatus von Vitamin-D-Defizienten und Nicht-Defizienten CED-Patienten.

Serumparameter (quantitativ) Entzündungs-, Anämieparameter (qualitativ)	CED-Kollektiv (n = 104) Mittelwert ± SD oder n (%)	25(OH)D < 20 ng/ml (n = 40) Mittelwert ± SD oder n (%)	25(OH)D ≥ 20 ng/ml (n = 64) Mittelwert ± SD oder n (%)	p ^a
Hepcidin (pg/ml)	53175 ± 63185	37078 ± 42604	63236 ± 71667	0,041
- nur Morbus Crohn	61477 ± 69878	40358 ± 46010	74048 ± 78659	0,033
Ferritin (ng/ml)	141 ± 178	115 ± 173	158 ± 181	0,019
- nur Morbus Crohn	162 ± 205	125 ± 203	184 ± 204	0,011
Eisen (µg/dl)	78 ± 40	69 ± 40	84 ± 40	0,036
Transferrin ^b (g/l)	2,7 ± 0,6	2,8 ± 0,6	2,6 ± 0,5)	0,222
Transferrinsättigung ^c (%)	25 ± 16	20 ± 14	28 ± 16	0,023
- nur Morbus Crohn	26 ± 17	21 ± 15	30 ± 17	0,030
CRP (mg/dl)	0,9 ± 1,4	1,0 ± 1,1	0,9 ± 1,6	0,290
CRP > 0,5mg/dl	49 (47)	23 (58)	26 (41)	0,093
Hämoglobin (g/dl)	13,9 ± 1,7	13,9 ± 1,7	13,8 ± 1,6	0,602
Eisenmangel	68 (65)	29 (73)	39 (61)	0,841
Anämie	17 (16)	7 (18)	10 (15)	1,000
Eisenmangelanämie	16 (15)	7 (18)	9 (14)	0,993

Es zeigte sich, dass Patienten mit Vitamin D-Defizienz im Vergleich zu Patienten mit 25(OH)D-Spiegeln >20ng/ml signifikant niedrigere Hepcidin- (p=0,041), Ferritin- (p=0,019) und Eisenpiegel (p=0,036), ebenso wie eine signifikant niedrigere Transferrinsättigung (p=0,023) aufwiesen.

Zusätzlich wurden die Werte nach Diagnose getrennt untersucht und die signifikanten Ergebnisse in der Tabelle ergänzt. Dabei ist zu erkennen, dass die Unterschiede bei Morbus Crohn ausgeprägter auftraten als bei Colitis ulcerosa. Für Morbus Crohn-Patienten ließen sich ebenfalls signifikant niedrigere Hepcidin- (p=0,03) und Ferritinspiegel (p=0,01) feststellen.

^a Vergleich zweier unabhängiger Stichproben mittels T-Test für normalverteilte oder U-Test für nicht-normalverteilte metrische Variablen, und mithilfe des Exakten Fisher-Tests für qualitative Variablen

^b Nur bei 77 CED-Patienten verfügbar, 27 mit Vitamin D-Defizienz, 50 ohne Vitamin D-Defizienz

^c Nur bei 70 CED-Patienten verfügbar, 25 mit Vitamin D-Defizienz, 45 ohne Vitamin D-Defizienz

Ergebnisse

Die Entzündungsaktivität gemessen am CRP-Serumspiegel zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Subgruppen ($p=0,093$) und lag sowohl bei Defizienten als auch bei Nicht-Defizienten bei ca. 50%.

Insgesamt bestand bei 68 CED-Patienten aus unserem Untersuchungskollektiv ein Eisenmangel. Patienten mit Vitamin D-Mangel zeigten dabei einen prozentual höheren Anteil an Eisenmangel (73%) als Patienten ohne Vitamin D-Mangel (61%), jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant ($p=0,8$).

Eine Anämie fand sich insgesamt nur bei 17 unserer Patienten ohne erkennbaren Unterschied zwischen den Subgruppen. Bei 16 der Anämie-Patienten lag ein Eisenmangel zugrunde.

5.3 Causa versus Consecutio

Analog zu der oben beschriebenen Signifikanz erhöhter Ferritin-Werte bei Vitamin D-suffizienten gegenüber defizienten Patienten, ließ sich für den MC auch die umgekehrte Assoziation erkennen: Patienten mit einem Eisenmangel wiesen signifikant geringere 25(OH)D-Spiegel auf als Eisen-suffiziente Patienten.

Die entsprechenden Daten sind in Abbildung 11 und Abbildung 12 als Boxplots dargestellt.

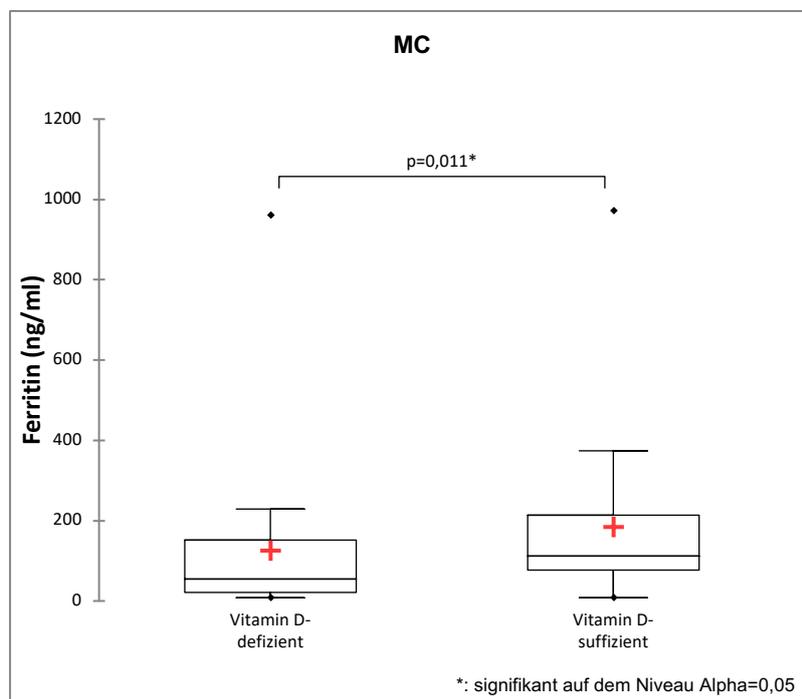


Abbildung 11: Ferritin-Spiegel bei MC-Patienten mit und ohne Vitamin D-Defizienz

Vergleich der Ferritin-Serumspiegel (in ng/ml) von Vitamin D-defizienten ($n=25$) und Vitamin D-suffizienten ($n=42$) MC-Patienten (Gesamt MC $n=67$) mittels Boxplots (rotes Kreuz=Mittelwert, Punkte=Ausreißer) auf dem Signifikanzniveau $p<0,05$.

Ergebnisse

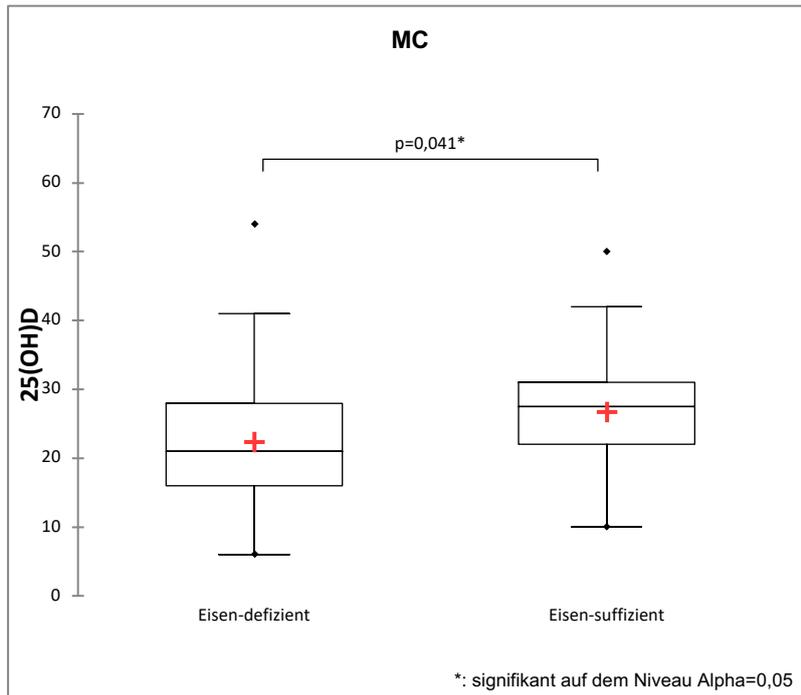


Abbildung 12: 25(OH)D-Serumspiegel von MC-Patienten mit oder ohne Eisen-Defizienz.

Vergleich der 25(OH)D-Serumspiegel von Eisen-defizienten (n=41) und Eisen-suffizienten (n=26) MC-Patienten (Gesamt MC n=67) mittels Boxplots (rotes Kreuz=Mittelwert, Punkte=Ausreißer) auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Diese Ergebnisse veranschaulichen die Problematik der Assoziation ohne möglichen Rückschluss auf Kausalität.

5.4 Multivariate Analysen

Um mögliche Störgrößen aus unserem Model zu eliminieren, wurden die oben aufgeführten Werte mittels Kovarianzanalyse untersucht. Durch multivariate lineare Regression wurde der Zusammenhang zwischen verschiedenen abhängigen Zielvariablen und dem Vitamin D-Status als unabhängige Variable berechnet unter Berücksichtigung der Einflussgrößen Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Entzündungsaktivität und CRP. Aufgrund fehlender Angaben zum Raucherstatus mussten 12 Beobachtungen in den multivariaten Analysen entfernt werden (6 MC, 6 CU).

Die Substitution von Vitamin D wurde in diesem Zusammenhang auch als Einflussgröße untersucht. Wie jedoch in Tabelle 2 ersichtlich wird, zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Vitamin D-Substitution zwischen Vitamin D-Defizienten und Nicht-Defizienten. Auch in direkter Analyse konnte kein signifikanter Zusammenhang von Vitamin D-Supplementation und

Ergebnisse

den Vitamin D-Parametern festgestellt werden. Daher konnte Vitamin D-Supplementation als Störgröße in diesem Modell vernachlässigt werden.

Ein analoges Model wurde für kategorische Zielvariablen in Form einer multivariaten logistischen Regression, unter Berücksichtigung derselben unabhängigen Variablen, erstellt.

Auch hier wurden für das gesamte CED-Kollektiv, sowie für Morbus Crohn und Colitis ulcerosa getrennt, die Analysen durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Multivariate Analysen mit Vitamin D-Status als unabhängige Variable für das CED-Kollektiv (n=92) sowie aufgeteilt in MC (n=61) und CU (n=31).

	CED-Kollektiv ^a (n=92)			Morbus Crohn ^a (n=61)			Colitis ulcerosa ^a (n=31)		
	Wert	SD	p	Wert	SD	p	Wert	SD	p
25(OH)D ≥20ng/ml									
Lineare Regression, abhängige Zielvariable:									
Hepcidin ^b	6,646	2,978	0,028	7,943	3,698	0,036	5,092	6,027	0,407
Ferritin ^c	0,252	0,109	0,024	0,277	0,133	0,043	0,187	0,236	0,438
Eisen	14,788	7,906	0,065	7,929	9,510	0,408	24,260	17,767	0,186
Transferrin	-0,188	0,154	0,227	-0,159	0,192	0,415	-0,157	0,355	0,666
Transferrinsättigung	8,411	4,071	0,044	9,318	5,339	0,091	5,173	8,381	0,550
Hämoglobin ^d	8,824	7,705	0,255	9,581	8,785	0,280	8,578	19,395	0,663
Logistische Regression, abhängige Zielvariable:									
Eisenmangel	-0,991	0,525	0,059	-1,239	3,362	0,067	-0,424	1,007	0,674
Anämie	-0,507	0,693	0,464	-0,081	0,804	0,920	-0,086	1,342	0,949
Eisenmangelanämie	-0,662	0,680	0,330	-0,212	0,795	0,790	-0,086	1,342	0,949

Kovariablen: Geschlecht, Alter, BMI, Raucherstatus, Krankheitsaktivität, CRP

Bei Patienten mit 25(OH)D ≥ 20ng/ml waren signifikant höhere Serumspiegel von Hepcidin (Wert=6,7, SD=3, p=0,028) und von Ferritin (Wert=0,3, SD=0,1, p=0,024) zu finden. Auch wiesen Patienten ohne Vitamin D-Defizienz eine signifikant höhere Transferrinsättigung auf (Wert=8,4, SD=4, p=0,044). Diese Zusammenhänge zeigten sich erneut bei Morbus Crohn ausgeprägter als bei Colitis ulcerosa.

Der direkte Zusammenhang zwischen nicht-defizientem Vitamin D-Status und Eisenmangel blieb auch unter der Berücksichtigung von Kovariablen knapp außerhalb des statistischen Signifikanzniveaus (Wert=-1, SD=0,5, p=0,059).

^a Aufgrund fehlender Angaben zum Raucherstatus mussten insgesamt 12 Beobachtungen entfernt werden (6 MC, 6 CU)

^b Hepcidin-Messwerte wurden mittels 3. Wurzel in Normalverteilung gebracht

^c Ferritin-Messwerte wurden mittels Logarithmierung in Normalverteilung gebracht

^d Hämoglobin-Messwerte wurden mittels Quadratbildung in Normalverteilung gebracht

Ergebnisse

Insgesamt ließ sich feststellen, dass der Vitamin D-Status bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen in signifikantem Zusammenhang mit Parametern des Eisenmangels stand und dass dieser Zusammenhang unabhängig von möglichen Störgrößen bestand.

Im nächsten Schritt wurden anstelle der kategorischen Variablen die quantitativen Serummesswerte von Vitamin D in Verbindung mit den Parametern des Eisenstoffwechsels betrachtet. Analog zu Tabelle 5 wurden für die verschiedenen Vitamin D-Serummesswerte ebenfalls Kovarianzanalysen durchgeführt. Dabei wurden als unabhängige Variablen jeweils 25(OH)D, 1,25(OH)₂D und die Ratio aus beiden Formen eingesetzt. Die abhängigen Zielvariablen sowie die Kovariablen wurden belassen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 6: Multivariate Analysen mit Vitamin D-Serummesswerten als unabhängige Variable

	CED-Kollektiv (n=92)			Morbus Crohn (n=61)			Colitis ulcerosa (n=31)		
25(OH)D	Wert	SD	p	Wert	SD	p	Wert	SD	p
Lineare Regression, abhängige Zielvariable:									
Hepcidin ^a	0,421	0,159	0,010	0,417	0,198	0,040	0,360	0,331	0,290
Ferritin ^b	0,013	0,006	0,037	0,011	0,007	0,120	0,010	0,013	0,473
Eisen	0,940	0,424	0,029	0,771	0,501	0,130	1,105	1,001	0,281
Transferrin	-0,002	0,008	0,772	0,004	0,010	0,708	-0,007	0,020	0,743
Transferrinsättigung	0,385	0,223	0,090	0,405	0,290	0,173	0,178	0,471	0,713
Hämoglobin ^c	0,597	0,414	0,154	0,508	0,470	0,285	1,046	1,059	0,334
Logistische Regression, abhängige Zielvariable:									
Eisenmangel	-0,064	0,030	0,029	-0,068	0,039	0,078	-0,024	0,056	0,670
Anämie	-0,075	0,041	0,069	-0,023	0,047	0,630	-0,081	0,073	0,266
Eisenmangelanämie	-0,079	0,041	0,054	-0,022	0,047	0,634	-0,081	0,073	0,266
1,25(OH)₂D	Wert	SD	p	Wert	SD	p	Wert	SD	p
Lineare Regression, abhängige Zielvariable:									
Hepcidin ^a	-0,003	0,085	0,975	0,082	0,137	0,550	-0,059	0,124	0,638
Ferritin ^b	0,002	0,003	0,540	0,005	0,005	0,332	-0,001	0,005	0,882
Eisen	0,266	0,221	0,232	0,348	0,337	0,308	0,104	0,376	0,784
Transferrin	-0,004	0,004	0,413	-0,007	0,007	0,336	0,001	0,007	0,898
Transferrinsättigung	0,221	0,113	0,055	0,426	0,184	0,027	0,101	0,171	0,565
Hämoglobin ^c	0,137	0,214	0,525	-0,121	0,316	0,703	0,284	0,392	0,477
Logistische Regression, abhängige Zielvariable:									
Eisenmangel	-0,013	0,013	0,344	-0,038	0,022	0,082	-0,009	0,020	0,667
Anämie	-0,007	0,019	0,696	0,014	0,027	0,603	0,000	0,025	0,994
Eisenmangelanämie	-0,020	0,022	0,350	0,003	0,027	0,917	0,000	0,025	0,994
Ratio 1,25(OH)₂D : 25(OH)Dx10⁻³	Wert	SD	p	Wert	SD	p	Wert	SD	p
Lineare Regression, abhängige Zielvariable:									
Hepcidin ^a	-4,313	1,672	0,012	-3,757	2,467	0,134	-3,955	2,562	0,137
Ferritin ^b	-0,129	0,062	0,042	-0,117	0,089	0,194	-0,262	0,229	0,266
Eisen	-4,658	4,546	0,309	-5,707	6,205	0,362	-3,869	8,106	0,638
Transferrin	0,053	0,088	0,553	-0,052	0,127	0,682	0,145	0,152	0,358
Transferrinsättigung	0,431	2,401	0,858	1,669	3,644	0,650	0,526	3,750	0,891
Hämoglobin ^c	-4,410	4,375	0,316	-8,551	5,683	0,138	-1,874	8,569	0,829
Logistische Regression, abhängige Zielvariable:									
Eisenmangel	0,366	0,317	0,248	0,138	0,418	0,742	0,079	0,510	0,878
Anämie	0,284	0,320	0,375	0,326	0,482	0,499	0,295	0,485	0,543
Eisenmangelanämie	0,241	0,318	0,449	0,190	0,480	0,693	0,295	0,485	0,543

Kovariablen: Geschlecht, Alter, BMI, Raucherstatus, Krankheitsaktivität, CRP

^a Hepcidin-Messwerte wurden mittels 3. Wurzel in Normalverteilung gebracht

^b Ferritin-Messwerte wurden mittels Logarithmierung in Normalverteilung gebracht

^c Hämoglobin-Messwerte wurden mittels Quadratbildung in Normalverteilung gebracht

Ergebnisse

Es zeigte sich, dass hohe Serumspiegel von 25(OH)D mit signifikant höheren Spiegeln von Heparidin (Wert= 0,4, SD= 0,2, $p=0,01$), Ferritin (Wert= 0,01, SD= 0,006, $p=0,04$) und Eisen (Wert=0,9, SD=0,4, $p=0,03$) einhergingen. Auch ließ sich eine direkte signifikante negative Assoziation zwischen 25(OH)D und Eisenmangel feststellen (Wert=-0,06, SD=0,03, $p=0,029$). Daraus konnte man schließen, dass bei höheren 25(OH)D-Serumspiegeln signifikant weniger CED-Patienten einen Eisenmangel aufwiesen.

Die Analysen zur aktiven Vitamin D-Form 1,25(OH)₂D zeigten isoliert für MC einen positiven signifikanten Zusammenhang zur Transferrinsättigung (Wert=0,43, SD=0,18, $p=0,027$). Die restlichen Eisenparameter blieben ohne Signifikanz.

Durch Verwendung der Ratio 1,25(OH)₂D : 25(OH)D im multivariaten Modell ergab sich ein negativer Zusammenhang mit Heparidin und Ferritin. Eine große Ratio war signifikant mit niedrigen Heparidin- (Wert=-4, SD=2, $p=0,01$) und Ferritin-Spiegeln assoziiert (Wert=-0,1, SD=0,06, $p=0,04$).

5.5 Korrelation zwischen Vitamin D- und Eisenparametern

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse aus den Multivariaten Analysen wurden zusätzlich die verschiedenen Vitamin D-Parameter jeweils mit Eisenparametern in Korrelation gebracht.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 13 bis Abbildung 17 dargestellt.

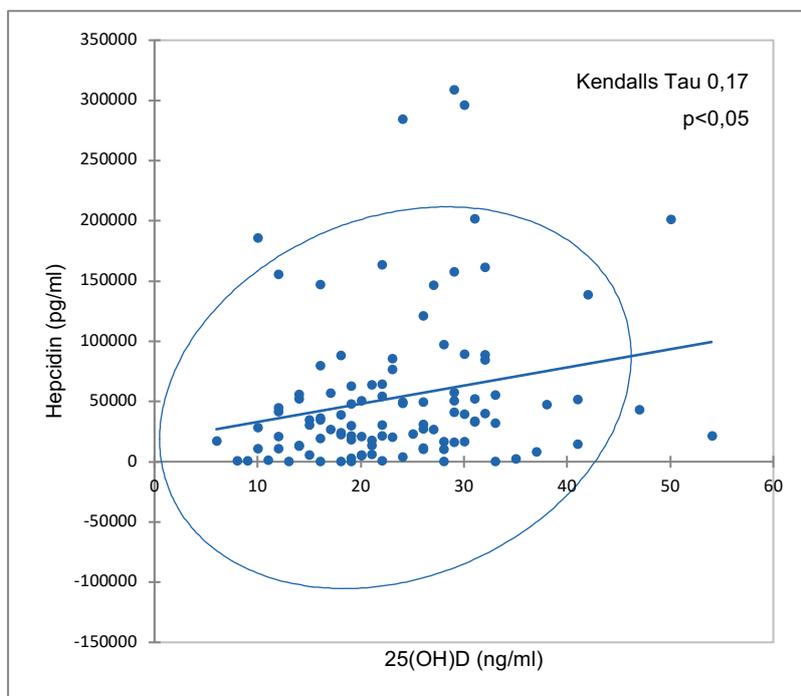


Abbildung 13: Korrelation von 25(OH)D mit Heparidin bei CED-Patienten

Korrelation der Serumspiegel von 25(OH)D (ng/ml) und Heparidin (pg/ml) für das CED-Gesamtkollektiv (n=104) mit Kendalls Tau von 0,17 auf dem Signifikanzniveau $p<0,05$.

Ergebnisse

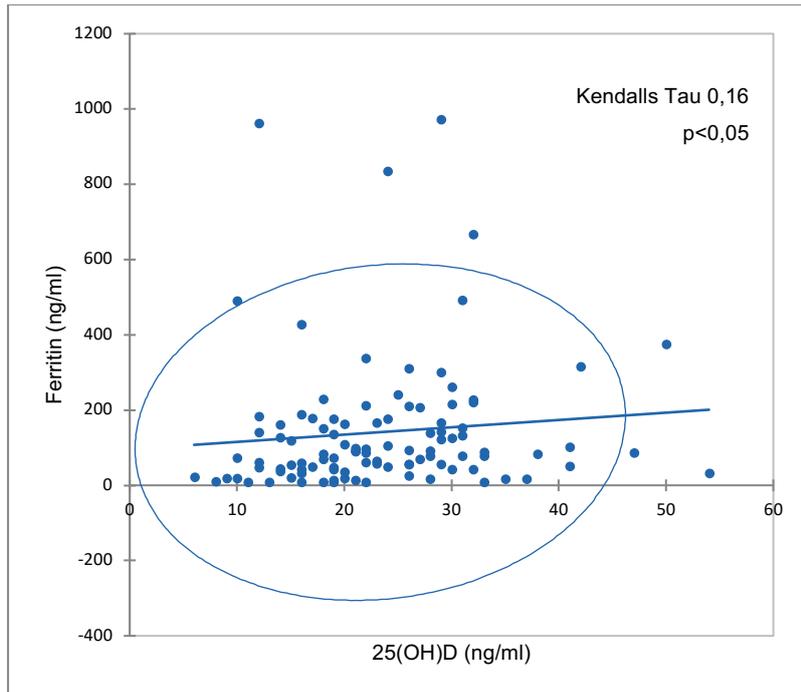


Abbildung 14: Korrelation von 25(OH)D mit Ferritin bei CED-Patienten.

Korrelation der Serumspiegel von 25(OH)D (ng/ml) mit Ferritin (ng/ml) für das CED-Gesamtkollektiv (n=104) mit Kendalls Tau von 0,16 auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

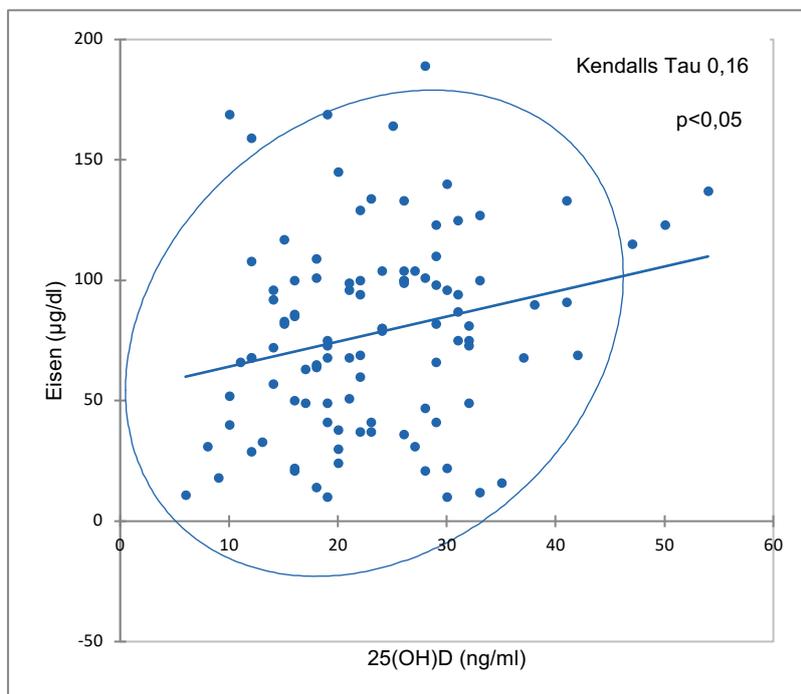


Abbildung 15: Korrelation von 25(OH)D mit Eisen ...

Korrelation der Serumspiegel von 25(OH)D (ng/ml) und der Eisen ($\mu\text{g/dl}$) für das CED-Gesamtkollektiv (n=104) mit Kendalls Tau von 0,16 auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Ergebnisse

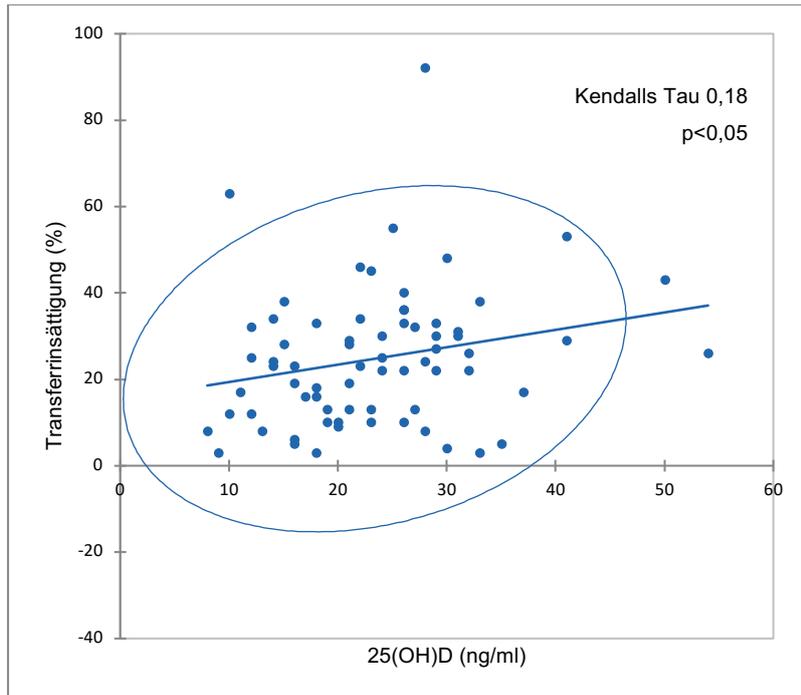


Abbildung 16: Korrelation von 25(OH)D mit Transferrinsättigung bei CED-Patienten

Korrelation der Serumspiegel von 25(OH)D (ng/ml) und der Transferrinsättigung (%) für das CED-Gesamtkollektiv (n=70; 34 Beobachtungen mussten aufgrund fehlender Transferrinsättigungswerte entfernt werden) mit Kendalls Tau von 0,18 auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

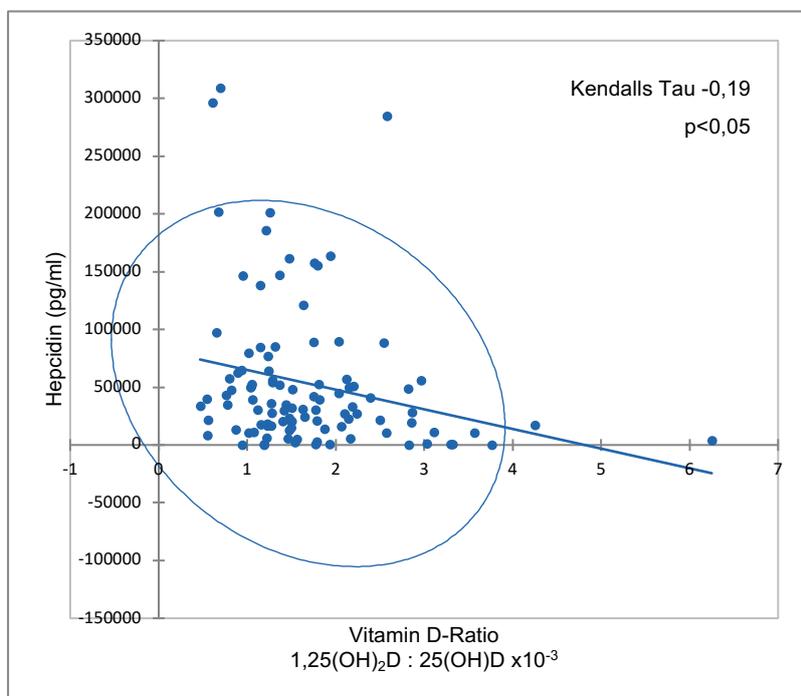


Abbildung 17: Korrelation von Vitamin D-Ratio mit Hepcidin bei CED-Patienten

Korrelation der Vitamin D-Ratio aus 1,25(OH)₂D zu 25(OH)D (ng/ml) und Hepcidin (pg/ml) für das CED-Gesamtkollektiv (n=104) mit Kendalls Tau von 0,19 auf dem Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Ergebnisse

Es zeigte sich bei den Patienten des CED-Kollektivs eine direkte positive Korrelation des 25(OH)D-Serumspiegel mit Hepcidin (Kendalls Tau=0,17, $p<0,05$).

Ebenso korrelierte der 25(OH)D-Serumspiegel signifikant mit Ferritin (Kendalls Tau=0,16, $p<0,05$), Eisen (Kendalls Tau=0,16, $p<0,05$) und der Transferrinsättigung (Kendalls Tau=0,18, $p<0,05$).

Für 1,25(OH)₂D war keine signifikante Korrelation zu den verschiedenen Eisenparametern erkennbar.

Die Ratio aus 1,25(OH)₂D zu 25(OH)D zeigte für CED-Patienten eine negative Korrelation mit den Hepcidin-Serumspiegeln (Kendalls Tau=-0,19, $p<0,05$).

6. Diskussion

6.1 Neue Erkenntnisse über Vitamin D-Parameter bei CED-Patienten

Die Daten dieser Arbeit zeigen für CED-Patienten niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel als für Gesunde. Somit stimmen sie mit Ergebnissen zahlreicher Studien überein, die chronisch entzündliche Erkrankungen inklusive CED mit Vitamin D-Mangel in Verbindung bringen [17, 30, 32, 33]. Bisher kaum untersucht sind dagegen 1,25(OH)₂D-Serumspiegel bei Patienten mit CED. Unsere Daten weisen signifikant höhere Spiegel des aktiven Vitamin D-Metaboliten 1,25(OH)₂D für MC- sowie für CU-Patienten im Vergleich zu Gesunden nach. Es gibt bisher erst eine Studie, in der die Serumspiegel beider Vitamin D-Metabolite bei MC-Patienten untersucht wurden. Abreu et al fanden hierbei erhöhte Messwerte für 1,25(OH)₂D, die mit der Krankheitsaktivität korrelierten. Ebenso zeigte sich eine erhöhte Expression von 1 α -Hydroxylase im Darm, die als reaktive Erhöhung ausgelöst durch die chronische Entzündungsreaktion bei CED interpretiert wird [122]. In dieser Arbeit wurde nun auch für die CU signifikant erhöhte 1,25(OH)₂D-Serumspiegel nachgewiesen.

In der Literatur wird diskutiert, dass erhöhte 1,25(OH)₂D-Serumspiegel durch sekundären Hyperparathyreodismus bei Hypocalciämie bedingt sein könnten [122]. Allerdings wurde in derselben Arbeit erhöhte 1,25(OH)₂D-Serumspiegel und normwertige Parathormonspiegel bei CED-Patienten gemessen. Zudem beschreiben die Autoren den immunohistochemischen Nachweis einer entzündungsbedingten Erhöhung der Hydroxylaseaktivität als mögliche Ursache für die Erhöhung des 1,25(OH)₂D-Serumspiegels. So scheint der Mechanismus bei CED ähnlich dem bei Sarkoidose zu sein, bei dem eine 1,25(OH)₂D-Produktion ausgehend von Makrophagen gezeigt werden konnte [123, 124]. Auch findet sich nach ausführlicher Literaturrecherche keine Untersuchung, die einen relevanten Anteil an Hypocalciämie bei CED-Patienten belegen kann, wohingegen verschiedenen Arbeiten normwertige Parathormon-Spiegel bei CED-Patienten beschreiben [65, 122]. Für weitere Untersuchungen wäre der Calcium- und Parathormonspiegel dennoch interessant.

Auch gibt es Einflussfaktoren auf den Vitamin D-Serumspiegel, die in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden: Erfasst wurden Daten zur Krankheitsaktivität, Entzündungsreaktion, Ernährungs-, Raucher- und Supplementationsstatus. Dagegen wurden keine Informationen zur Sonnen-Exposition, Ethnizität oder Hautpigmentation, Jahres- oder Tageszeit der Blutentnahme erhoben. Retrospektiv kann zwar von einem einheitlich kaukasischen Patientenstamm ausgegangen werden, dennoch kann man argumentieren, dass unser Modell zur Darstellung des Vitamin D-Spiegels anhand verschiedener Einflussfaktoren nicht vollständig ist.

Aus diesem Grund ermittelten wir die $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ -Ratio, die den Anteil des aktiven Vitamin D-Metaboliten am Speicher-Vitamin D darstellt, sodass sich der Einfluss oben genannter Faktoren minimieren lässt. Unsere Daten zeigen für CED-Patienten eine deutlich höhere Ratio gegenüber Gesunden, also ein erhöhtes Verhältnis des aktiven Vitamin D-Metaboliten $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zur Speicherform $25(\text{OH})\text{D}$.

Erklärend hierfür könnte ein entzündungsbedingter Shift durch vermehrte intestinale Hydroxylierung von $25(\text{OH})\text{D}$ zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ am Ort der Entzündung sein. Auch wenn der zugrundeliegende Mechanismus aktuell noch unbekannt ist, passen sowohl unsere Ergebnisse als auch die Daten anderer Studien zu dieser These. Bedeutende Hinweise lieferten Abreu et al., die in ihrer Arbeit erhöhte Serumspiegel von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ in signifikanter Korrelation zur Krankheitsaktivität fanden. Darüber hinaus konnte eine entzündungsbedingte Erhöhung der intestinalen 1α -Hydroxylase-Expression gezeigt werden, die auf eine vermehrte Hydroxylase-Aktivität bei Entzündung schließen lässt [122]. Dieser Mechanismus könnte die Grundlage des oben beschriebenen Shifts darstellen. Weitere Daten zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Serumspiegeln bei CED-Patienten gibt es bisher nicht.

In einer Studie von Royal et al. wurde die Vitamin D-Ratio bei Patienten mit Multipler Sklerose in Verbindung zu T-Helferzellzahlen untersucht. Sie fanden eine signifikante Korrelation von Vitamin D-Ratio zum prozentualen Anteil regulatorischer $\text{CD4}+\text{CD25}+\text{FoxP3}^{\text{high}}$ -T-Helferzellen im peripheren Blut [125]. Ein größeres Verhältnis von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zu $25(\text{OH})\text{D}$ geht folglich mit einem erhöhten Anteil regulatorischer T-Zellen einher. Die Autoren schließen daher auf eine supprimierende Wirkung von Vitamin D auf die Krankheitsaktivität bei MS. Diese Untersuchung unterstützt ebenfalls unsere These eines entzündungsbedingten Shifts von der Speicherform hin zu aktivem Vitamin D.

6.2 Assoziation von Vitamin D-Parameter und Parameter des Eisenmangels bei CED-Patienten

6.2.1 Eisenmangel und Anämie

In dieser Arbeit wurde zudem die Assoziation von Vitamin D-Parametern und Biomarkern des Eisenmangels bei CED-Patienten untersucht. Dabei konnten in multivariaten Regressionsanalysen gezeigt werden, dass hohe $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel signifikant invers mit Eisenmangel korrelieren. Folglich weisen CED-Patienten mit hohem $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel signifikant weniger Eisenmangel gegenüber Patienten mit niedrigem $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel auf. Nach heutigem Kenntnisstand ist unsere Arbeit die erste, die diesen Zusammenhang für CED-Patienten

nachweisen konnte. Aus verschiedenen Veröffentlichungen bereits bekannt ist der Zusammenhang zwischen Vitamin D und Anämie, der sowohl für gesunde als auch für erkrankte Populationen beschrieben wurde [77, 78, 105, 109]. Auch wenn Eisenmangel einen entscheidenden Risikofaktor für Anämie darstellt, konnte in dieser Arbeit keine signifikante Korrelation der Vitamin D-Metabolite (25(OH)D, 1,25(OH)₂D oder Ratio) mit Anämie oder dem Hämoglobinwert gefunden werden. Verantwortlich hierfür ist mit hoher Wahrscheinlichkeit die geringe Fallzahl von Patienten mit Anämie in unserem Kollektiv. Insgesamt lag nur bei 16% unserer CED-Patienten eine Anämie vor, sodass die statistische Analyse hieraus keine signifikanten Ergebnisse erbringen konnte.

Bei 65% unseres Patientenkollektivs konnte dagegen ein Eisenmangel beschrieben werden. Auch ohne Vorliegen einer Anämie kann Eisenmangel schwere Störungen wie Schlafstörungen, Restless-Legs-Syndrom, Agitation oder sogar Unfruchtbarkeit bei Frauen hervorrufen. Die Leitlinien der ECCO betonen deshalb auch die Bedeutung der frühzeitigen Diagnose und Therapie von Eisenmangel bei CED [93].

6.2.2 Assoziation des Vitamin D-Status mit Ferritin, Eisen, Transferrin und Transferrinsättigung

Mittels direkter Korrelation und multivariater Regressionsanalyse fanden wir einen signifikanten Zusammenhang von 25(OH)D mit Ferritin im Serum und dem Serum-Eisenspiegel für das CED-Gesamtkollektiv. Auch die Transferrinsättigung korrelierte signifikant mit dem Vitamin D-Status bei unseren CED-Patienten. Diese Ergebnisse sind nach unserem Wissensstand ebenfalls die ersten auf dem Gebiet der CED. Eine kausale Beziehung kann aus den Daten allerdings nicht abgeleitet werden, wie das Kapitel „Causa versus Consecutio“ verdeutlicht. Es ist daher von großem Interesse, die zugrundeliegenden Mechanismen weiter zu erforschen.

Zahlreiche Studien, die die Beziehung von Vitamin D und Eisenparametern bei verschiedenen Populationen untersucht haben, wiesen auf einen positiven Zusammenhang beider Parameter hin [106–108]. Constantini et al. veröffentlichten die erste Arbeit, die eine Korrelation von 25(OH)D und dem Serum-Ferritinspiegel zeigte [126]. Malczewska-Lenczowska et al. analysierten die Assoziation von Eisenparametern und Vitamin D-Status im Rahmen einer Querschnittstudie bei gesunden Athletinnen. Sie fanden eine signifikante Korrelation zwischen Eisenmangel und erniedrigten 25(OH)D-Spiegeln sowie zwischen Vitamin D-Defizienz und erniedrigten Ferritin- oder Eisenspiegeln. Allerdings konnte man anhand der Daten nur auf eine reziproke Beziehung von Vitamin D und Eisen schließen ohne quantifizieren zu können, von welcher Substanz der größere Einfluss ausging [127].

Azizi-Soleiman et al. untersuchten in einer Metaanalyse die Hypothese, dass Eisenparameter den Vitamin D-Stoffwechsel beeinflussen. Diese Hypothese stützt sich auf Hinweise, dass Eisenmangel zu Störungen in der Synthese und Aktivierung von Vitamin D führt, da die verantwortlichen Enzyme das eisenreiche Protein Häm beinhalten [128, 129]. Es wurden 10 Studien eingeschlossen von denen nur eine für einen therapeutischen Effekt einer Eisensupplementation auf Vitamin D-Mangelzustände sprach [130]. Daraus lässt sich schließen, dass anhand der Studienlage kein vorteilhafter Effekt einer Eisensupplementation auf Vitamin D-Defizienz nachgewiesen werden konnte [131].

Eine bessere Datenlage gibt es zu der Gegenhypothese, dass Vitamin D-Metabolite einen Einfluss auf den Eisenstoffwechsel haben. Zahlreiche Arbeiten konnten zeigen, dass eine Vitamin D-Defizienz zu einem erhöhten Anämie- bzw. Eisenmangelrisiko führt [132–134].

Die verantwortlichen Mechanismen hierfür sind noch nicht vollständig geklärt, doch stellt Hepcidin ein Schlüsselfaktor in diesem Zusammenhang dar.

6.2.3 Hepcidin

Hepcidin ist das zentrale Steuerelement in der Regulation des Eisen-Serumspiegels. Bei Eisenmangel und Hypoxie wird die Hepcidin-Sekretion gehemmt, sodass mehr Eisen dem Organismus zur Verfügung steht. Bei Eisenüberschuss, Entzündung und Infektion dagegen wird vermehrt Hepcidin sezerniert, wodurch der Serum-Eisenspiegel sinkt. Für Erkrankungen mit chronisch entzündlicher Komponente, wie zum Beispiel CED, spielt Hepcidin daher eine wesentliche Rolle in der Entstehung von Eisenmangel und Anämie.

In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang von Hepcidin und Vitamin D bei Patienten mit CED untersucht. Sowohl in direkter Korrelation als auch mittels multivariater Analyse unter Berücksichtigung der Einflussgrößen Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Entzündungsaktivität und CRP ermittelten wir einen signifikanten positiven Zusammenhang von 25(OH)D und Hepcidin.

Diese Ergebnisse lassen sich anhand bereits bekannter Zusammenhänge herleiten: Im vorigen Kapitel wurde die breite Studienlage zur Korrelation von 25(OH)D und Ferritin sowie Eisen beschrieben, die sich auch in unseren Daten wiederfindet. Daneben konnte in mehreren Studien eine positive signifikante Korrelation von Ferritin- und Hepcidin-Serumspiegeln sowohl für gesunde als auch erkrankte Populationen beschrieben werden [116, 135–138]. Karaskova et al. analysierten die Hepcidin-Serumspiegel bei neu diagnostizierten pädiatrischen CED-Patienten und fanden wiederum eine signifikante positive Assoziation von Hepcidin- und Ferritin-Serumspiegeln [139]. Entsprechend lässt sich auf einen positiven Zusammenhang von 25(OH)D und Hepcidin schließen, der sich in unseren Daten abbildet.

In anderen Studien wurde eine scheinbar gegenteilige Assoziation von Vitamin D und Hepcidin beschreiben. Syed et al. stellten einen signifikanten Zusammenhang von 25(OH)D-Serumspiegel $\geq 30\text{ng/ml}$ mit niedrigeren Hepcidinspiegel bei Kindern mit CED fest [114]. In einer prospektiven Studie von Moran-Lev et al. konnte für Kinder mit CED gezeigt werden, dass eine Therapie mit Vitamin D die Hepcidinspiegel senkt [115]. Smith et al. veröffentlichten zuletzt eine randomisierte und placebokontrollierte Doppelblindstudie mit Hochdosis-Vitamin D-Therapie bei gesunden Erwachsenen. Es konnte dabei eine signifikante Senkung der Hepcidinkonzentrationen im Serum nach einer Woche beobachtet werden [113].

Insgesamt ist die Datenlage zu Hepcidin-Spiegeln bei CED-Patienten widersprüchlich. Im Vergleich zu gesunden Kontrollen wurden einerseits erhöhte [140] aber andererseits auch erniedrigte [141] Hepcidin-Serumspiegel gemessen. Mögliche Ursachen für diese Differenz könnten in den unterschiedlichen Messverfahren bei der Bestimmung des Hepcidin-Serumspiegels, oder in den unterschiedlichen Eigenschaften des Probandenkollektivs wie Alter, Diagnose und Krankheitsaktivität liegen [135, 136].

Interessanterweise konnte jedoch in der Studie von Moran-Lev et al. nicht die erwartete negative Korrelation von 25(OH)D- und Hepcidin-Serumspiegeln gefunden werden [116]. Ebenso konnten Adams et al., die die stimulierende Wirkung von 1,25(OH)₂D auf die Expression von Cathelicidin untersuchten, keine Korrelation zwischen Vitamin D- und Cathelicidin-Serumspiegeln feststellen [142]. Als mögliche Gründe hierfür wurde eine eventuelle lokale Wirkung von Vitamin D im Sinne intrakriner Mechanismen diskutiert, die sich nicht im Serum abbilden lassen. Eine andere mögliche Erklärung könnte im komplexen Vorgang der Aktivierung von Vitamin D liegen. Es sind hierbei mehrere Enzyme mit Hydroxylase-Aktivität involviert, die wiederum von verschiedenen Zytokinen und Toll-like-Rezeptoren beeinflusst werden [143]. Auch die Synthese und Sekretion von Hepcidin sind komplex gestaltet. Es wurden mindestens acht unterschiedliche Proteine gefunden, die daran beteiligt sind [144].

Eine mögliche Erklärung für den scheinbaren Widerspruch bietet die oben ausgeführten These eines entzündungsbedingten Shifts von 25(OH)D hin zu aktivem 1,25(OH)₂D. Im Fall einer Entzündung bewirkt die Änderung im Verhältnis von 1,25(OH)₂D zu 25(OH)D eine Veränderung bzw. Verstärkung der Vitamin D-Funktionen.

Passend dazu zeigen unsere Daten eine signifikante negative Korrelation von Hepcidin und der Vitamin D-Ratio aus 1,25(OH)₂D zu 25(OH)D. Es konnte also ein inverser Zusammenhang von Hepcidin und dem Verhältnis von aktivem Vitamin D zur Speicherform nachgewiesen werden.

Die These lässt sich durch weitere Studien stützen: Royal et al. fanden eine Assoziation von Vitamin D-Ratio und dem Prozentsatz regulatorischer T-Zellen [125]. Die Ausgewogenheit im

Verhältnis der Vitamin D-Metaboliten zueinander spielt folglich eine wichtige Rolle in der Funktionsweise von Vitamin D. Auch kann für $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ als hormonell aktive Form von Vitamin D eine größere Potenz in der Suppression von Heparin gegenüber der Speicherform $25(\text{OH})\text{D}$ vermutet werden. Carvalho et al. fanden eine inverse Korrelation der Serumkonzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ und Heparin, jedoch keine Assoziation zu $25(\text{OH})\text{D}$ [138].

Interessant ist, dass die in-vitro-Studie von Bacchetta et al. sowohl für $25(\text{OH})\text{D}$ als auch für $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ einen hemmenden Effekt auf das Heparin-Gen (HAMP) nachweisen konnte [111]. Hieraus lassen sich also keine Schlüsse auf die unterschiedlichen Funktionen der Vitamin D-Metabolite ziehen. Dennoch diskutierten bereits andere Autoren über eine mögliche Maskierung des wahren Unterschieds durch eine lokale Hydroxylase-Aktivität der verwendeten Hepatozyten und entsprechender Umwandlung von $25(\text{OH})\text{D}$ hin zu aktivem $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [122]. Bis heute fehlen weitere Untersuchungen, die Aufschluss über das genaue Zusammenspiel der Vitamin D-Metabolite und Eisen bei CED-Patienten geben.

6.3 Stärken, Schwächen und Synthese

Die größte Stärke dieser Arbeit ist aus meiner Sicht, dass erstmals ein Zusammenhang zwischen Vitamin D-Defizienz und Eisenmangel bei Patienten mit CED hergestellt werden konnte und sich hieraus therapeutische Überlegungen ergeben. Als weitere Stärke dieser Arbeit können die multivariaten Regressionsanalysen genannt werden, durch die sich Störgrößen aus dem Korrelationsmodell von Vitamin D- und Eisenparametern herausrechnen ließen. Darüber hinaus sind das eingeschlossene Probandenkollektiv mit einem breiten und repräsentativen Spektrum an CED-Phänotypen und unterschiedlicher Krankheitsaktivität zu nennen. Auch wurden 57 gesunde Kontrollen in die Studie eingeschlossen. Es wurde außerdem eine große Menge klinischer Daten zu über 50 Parametern erhoben und auf ihre Relevanz für den Eisen- oder Vitamin D-Stoffwechsel analysiert.

Ebenfalls als Stärke genannt werden kann die Messung der nur wenig untersuchten aktiven Vitamin D-Form $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ und die Berechnung der Ratio $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ als neue Parameter, zu denen es bisher noch wenig Erkenntnisse gibt.

Eine mögliche Schwäche dieser Arbeit ist in der limitierten Zahl der untersuchten CED-Patienten zu sehen. Von ursprünglich 255 rekrutierten Patienten, wurden nur 67 Crohn- und 37 Colitis ulcerosa-Patienten in die endgültigen Auswertungen eingeschlossen. Entsprechend gering ist die Zahl an anämischen Patienten, die in der Studienpopulation zu finden waren. Darüber hinaus wurden die Vitamin D-Parameter zwar bei CED-Patienten und gesunden Kontrollprobanden gemessen, jedoch fehlen die Kontroll-Messwerte für Heparin sowie für die ande-

ren Eisenparameter. Des Weiteren wurde aus ethischen Gründen auf die Knochenmarksbiopsie als Goldstandard in der Bestimmung des Eisenstatus verzichtet.

Ferner muss der Querschnittscharakter dieser Studie als Schwäche benannt werden. Die Ergebnisse können folglich nur als Assoziation oder Korrelation ohne kausale Deutung interpretiert werden.

Aus diesem Grund müssen weitere Untersuchungen von experimentellem und prospektivem Design durchgeführt werden, die Aufschluss über den kausalen Zusammenhang der Vitamin D-Metabolite und Eisenstoffwechsel geben können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch Messung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Serumspiegeln und Berechnen der Ratio $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ neue Erkenntnisse über den Vitamin D-Status von CED-Patienten gewonnen werden konnten. Die daraus abgeleitete Theorie schlägt vor, dass durch akute oder chronische Entzündung ein Shift von $25(\text{OH})\text{D}$ zu aktivem $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ausgelöst wird. Die signifikante negative Korrelation der $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ -Ratio mit Hepcidin-Serumspiegeln lässt sich gut mit dieser Idee vereinbaren. Jedoch fehlen bislang weitere Daten, durch die sich die Theorie bestätigen oder widerlegen ließe. Für die Zukunft wären daher Untersuchungen der erweiterten Vitamin D-Metabolite und -Ratio in Kombination mit Eisenparametern bei mehr CED-Patienten zu wünschen.

Sowohl in direkter Korrelation als auch in multivariaten Regressionsanalysen konnte eine signifikante Assoziation des Vitamin D-Status bzw. des Vitamin D-Serumspiegels zu Hepcidin, Ferritin, Eisen und Transferrinsättigung bei CED-Patienten gezeigt werden. Zudem wurde in dieser Arbeit erstmals eine signifikante negative Assoziation von $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegeln mit der Diagnose eines Eisenmangels bei CED-Patienten beschrieben. Daraus ergeben sich interessante therapeutische Ansätze, die im Folgenden diskutiert werden.

7. Klinischer Ausblick

Eisenmangel spielt im klinischen Alltag von CED-Patienten eine große Rolle, denn statistisch gesehen ist jeder Zweite betroffen [145]. Die Folgen von Eisenmangel sind vielfältig und können in vielen Fällen zu einer Anämie führen. Aber auch unabhängig von Anämie kann Eisenmangel die Lebensqualität von Patienten stark beeinträchtigen [92].

Eisenmangel bleibt bei CED-Patienten oft lange unerkannt und ist insgesamt untertherapiert [146]. Gründe hierfür sind u. a. die erhöhten Entzündungsparameter, die einen reinen Eisenmangel maskieren können, und die unspezifische Symptomatik, die schwer von CED-Symptomen abgegrenzt werden kann.

Auch Vitamin D-Mangel ist ein häufiges Problem bei CED-Patienten. In den letzten Jahren konnten immer mehr Belege für eine Rolle von Vitamin D-Mangel in der Pathogenese der CED gefunden werden, sodass eine Empfehlung zum Screening auf einen Vitamin D-Mangel bei CED-Patienten ausgesprochen wurde [147].

In dieser Arbeit konnte nun erstmals ein signifikanter Zusammenhang von niedrigen Vitamin D-Spiegeln und einem Eisenmangel bei CED-Patienten belegt werden. Daraus können sowohl diagnostische wie therapeutische Konsequenzen für das Management von Eisenmangel gezogen werden, etwa hinsichtlich einer zu untersuchenden Komedikation mit oralen Eisenpräparaten und Vitamin D.

Vor allem jedoch für die Therapie des Eisenmangels könnte Vitamin D als interessante Option gesehen werden. Zwar gibt es für die chronische Fatigue oder die Herzinsuffizienz einzelne Studien zur Therapie eines nicht-anämischen Eisenmangels mit intravenöser Eisengabe [148–150], für CED-Patienten fehlt jedoch diese Evidenz. So bleibt ein isolierter Eisenmangel bei CED-Patienten im klinischen Alltag oft ohne Konsequenz. In den Ausnahmefällen, in denen es zu einer therapeutischen Maßnahme kommt, stehen die orale oder intravenöse Eisengabe als einzige Optionen zur Verfügung. Beide Verfahren bringen Nachteile mit sich:

Die orale Eisentherapie war lange Mittel der Wahl bei leicht-anämischen Zuständen mit einem Hämoglobinspiegel größer 10g/dl [151]. Die Anwendung ist einfach und kostengünstig, jedoch überwiegen die Nachteile wie Intoleranz und Non-Compliance aufgrund starker Nebenwirkungen vor allem im gastrointestinalen Bereich. Vor allem bei florider CED ist die enterale Aufnahme reduziert und die Effektivität der Eisentherapie dadurch sehr gering. Heute wird die orale Eisentherapie für CED-Patienten mit hoher Krankheitsaktivität nicht mehr empfohlen [93].

Die intravenöse Eisengabe konnte in verschiedenen Studien einen effektiveren Anstieg des Serum-Ferritins im Vergleich zur oralen Therapie bewirken, u. a. auch unter entzündlichen

Bedingungen [152–154]. Die Nachteile liegen jedoch in höheren Kosten und erhöhtem Aufwand, da die Therapie mit einem Arztbesuch verbunden ist. Außerdem besteht das potentielle Risiko lebensbedrohlicher anaphylaktischer Reaktionen [95].

Eine Vitamin D-Substitution könnte die begrenzten Therapiemöglichkeiten von CED-Patienten mit Eisenmangel ohne Anämie sinnvoll ergänzen. Denn durch die orale Anwendung ist die Vitamin D-Substitution einfach und kostengünstig bei gleichzeitig geringem Nebenwirkungsprofil. Darüber hinaus zeigt Vitamin D eine Vielzahl an weiteren positiven Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf von CED und die Lebensqualität betroffener Patienten [155].

Ananthakrishnan et al. fanden bei CED-Patienten mit erniedrigtem 25(OH)D-Spiegel ein erhöhtes Risiko für CED-assoziierte Operationen. Ferner zeigten sie, dass MC-Patienten, deren 25(OH)D-Spiegel wieder angestiegen war, eine signifikant niedrigere Operationswahrscheinlichkeit hatten [62]. Zator et al. fanden Hinweise, dass erniedrigte Vitamin D-Spiegel das Ansprechen auf anti-TNF-Therapien negativ beeinflussen, sodass sie Vitamin D-Supplementation als Unterstützung bei anti-TNF-Therapie empfehlen [156]. Zuletzt beschrieben Li et al. in einer großen Metaanalyse von 18 interventionellen Studien eine signifikant niedrigere Rezidivrate für CED-Patienten unter Vitamin D-Therapie [24].

Diese Arbeiten stehen exemplarisch für die breite Evidenz zu dieser Thematik. Es lässt sich daraus eine Empfehlung für Vitamin D-Supplementation bei CED-Patienten ableiten.

Uneinig ist man sich jedoch über die Höhe der empfohlenen Vitamin D-Supplementationsdosis. Bis heute gibt es keinen Konsens über einen optimalen Vitamin D-Spiegel. Viele Autoren nennen 25-(OH)-Vitamin D-Serumspiegel > 30 ng/ml als unteren Zielbereich, verweisen aber gleichzeitig darauf, dass für extra-skelettale Funktionen wahrscheinlich höhere Spiegel notwendig sind [20, 58, 147]. Um 25(OH)D Serumspiegel > 30 ng/ml zu erreichen, sind, je nach Studie, tägliche Supplementationsdosen von 1200, 2000 oder sogar 5000 IE notwendig [74, 75, 157]. Die offiziellen Empfehlungen der DGE oder des IOM liegen aktuell bei 600-800 IE/d zur Prävention für gesunden Erwachsenen oder maximal 2000 IE/d zur Therapie für Vitamin D-Defiziente [21, 29]. Um einen Effekt auf den Krankheitsverlauf von CED zu erzielen, werden entsprechend höhere Dosierungen diskutiert [147].

Zuletzt wurden zwei interventionelle Studien mit hochdosierter Vitamin D-Gabe umgesetzt. Smith et al. führten eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie an Intensivpatienten unter mechanischer Beatmung durch. Dabei fanden sie signifikante Erhöhung des Hämoglobin-Spiegels unter Hochdosis-Vitamin D-Therapie von 500 000 IE/d Cholecalciferol über 5 Tage [158]. Zuvor konnte in einer anderen randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie an gesunden Erwachsenen eine signifikante Reduktion der Hepcidin-Spiegel nach einmaliger Gabe von 250.000 IE Vitamin D gezeigt werden [113]. Bei Dosierungen in dieser Höhe

stellt sich die Frage nach Nebenwirkungen durch Überdosierungen, hierzu wurden in beiden Arbeiten jedoch keine Angaben gemacht.

Zu hohe Vitamin D-Spiegel können nicht physiologisch entstehen, sondern sind immer einer zu hohen Supplementationsdosis geschuldet. Symptome einer sogenannten Hypervitaminose D sind Übelkeit, Erbrechen, Dehydration, Muskelschwäche, Müdigkeit und Desorientierung [159]. Jedoch müssen dafür 25(OH)D-Serumspiegel von 100 ng/ml oder sogar noch höher erreicht werden, die nur ab Dosierungen von mindestens 40.000 IE/d möglich sind [160]. Aktuell gilt allgemein die Empfehlung, 2000 IE als Tagesdosis ohne labormedizinische Kontrolle nicht zu überschreiten um die Gefahr einer Hypervitaminose D auszuschließen [161]. Jedoch kann unter Umständen auch eine höhere Dosierung unter klinischer Kontrolle gerechtfertigt sein.

Um den Effekt einer oralen Vitamin D-Substitution auf den nicht-anämischen Eisenmangel bei CED-Patienten genauer zu analysieren, bedarf es weiterer Untersuchungen. Primär fehlt es an Interventionsstudien zu dieser Fragestellung, die im besten Fall als prospektive randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudien durchgeführt werden müssten.

8. Zusammenfassung

Sowohl Vitamin D-Mangel als auch Eisenmangel sind häufige Komorbiditäten bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, die mit einer Verschlechterung der Lebensqualität und des Krankheitsverlaufs einhergehen. In zahlreichen Studien konnte eine Assoziation der Vitamin D-Defizienz mit einem Eisenmangel oder einer Anämie, sowohl bei Gesunden, als auch bei Erkrankten beschrieben werden [77, 78, 105–109]. Für CED fehlen entsprechende Daten bisher. In dieser Arbeit wurde daher ein möglicher Zusammenhang von Vitamin D-Parametern und Parametern des Eisenmangels bei erwachsenen Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen untersucht.

Es wurde dafür ein Probandenkollektiv aus 67 Morbus Crohn-Patienten, 37 Colitis ulcerosa-Patienten und 57 gesunden Kontrollen rekrutiert, von denen einerseits klinische Daten erhoben und andererseits laborchemische Parameter des Vitamin D- und Eisenstoffwechsels untersucht wurden. Die Studienpopulation wurde nach Vitamin D-Status in „Defizient“ und „Suffizient“ aufgeteilt und die Untergruppen mittels nicht-parametrischer Tests verglichen. In einem multivariaten Regressionsmodell wurde der Zusammenhang der Vitamin D-Parameter mit verschiedenen Messwerten des Eisenmangels untersucht – unter Berücksichtigung folgender relevanter Kovariablen: Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Entzündungsaktivität und CRP. Die Vitamin D-Supplementation der Probanden stellte sich als nicht-signifikante Kovariable heraus.

In den durchgeführten Analysen konnte für CED-Patienten erstmals eine signifikante Erhöhung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Serumspiegel ($p=0,00$), zusammen mit einer ebenfalls signifikanten Erhöhung der Ratio $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ ($p<0,0001$) im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen werden. In direkter Korrelation zeigte sich für $25(\text{OH})\text{D}$ eine signifikante positive Assoziation zu Hepsidin, Ferritin, Eisen und Transferrinsättigung ($p<0,05$), während die Ratio $1,25(\text{OH})_2\text{D} : 25(\text{OH})\text{D}$ signifikant invers mit Hepsidin korrelierte. Erklärend hierfür könnte ein entzündungsbedingter Shift durch vermehrte Hydroxylierung von $25(\text{OH})\text{D}$ zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sein. Darüber hinaus ließ sich erstmals für CED-Patienten eine signifikante negative Assoziation von erniedrigten $25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegeln mit Eisenmangel belegen ($p=0,029$).

Die hier vorgestellten Ergebnisse sprechen in Anbetracht der aktuellen Studienlage für eine positive Wirkung von Vitamin D auf den Eisenstoffwechsel bei CED-Patienten. In-vitro-Studien konnten bereits eine direkte supprimierende Wirkung von Vitamin D auf Hepsidin zeigen. Zusammen mit Daten anderer Arbeiten könnten die hier vorgelegten Ergebnisse eine Vitamin D-Supplementation auch als Therapie bei leichtem Eisenmangel für CED-Patienten rechtfertigen. Es fehlen bisher jedoch prospektive Studien, die den Effekt einer Vitamin D-Supplementation in der Therapie des Eisenmangels bei CED quantifizieren.

9. Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
1,25(OH)D	1,25-Dihydroxyvitamin D / Calcitriol
25(OH)D	25-Hydroxyvitamin D / Calcidiol
ATG16L1	Autophagy related 16-like 1
CAI	<i>Colitis Activity Index</i> nach dem Rachmilewitz Index
CD	<i>Crohn's Disease</i> / Morbus Crohn
CDAI	<i>Crohn's Disease Activity Index</i>
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CRP	C-reaktives Protein
CU	Colitis ulcerosa
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
dl	Deziliter
DM-I	Diabetes mellitus Typ 1
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECCO	<i>European Crohn's and Colitis Organisation</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
Fe (II)	zweiwertiges Eisen
Fe (III)	dreiwertiges Eisen
g	Gramm
GIT	Gastrointestinaltrakt
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
IE	internationale Einheiten
IFN	Interferon

Abkürzungsverzeichnis

IL	Interleukin
IOM	<i>Institute of Medicine, USA</i>
JAK	Janus-Kinase
L	Liter
MC	Morbus Crohn
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> (Boten-Ribonukleinsäure)
MS	Multiple Sklerose
ng	Nanogramm
NOD2	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2</i>
pl	Picoliter
pg	Picogramm
RNA	Ribonukleinsäure
Th-Zellen	T-Helferzellen
TNF	Tumornekrosefaktor
UC	<i>Ulcerative Colitis / Colitis ulcerosa</i>
VDBP	Vitamin D-bindendes Protein
VDR	Vitamin D-Rezeptor

10. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

10.1 Tabellen

Tabelle 1: Übersicht der Laborparameter mit zugehöriger Messmethoden	18
Tabelle 2: Charakteristika der CED-Patienten	22
Tabelle 3: Charakteristika der gesunden Kontrollen	24
Tabelle 4: Eisen- und Entzündungsparameter sowie Anämiestatus von Vitamin-D-Defizienten und Nicht-Defizienten CED-Patienten.	28
Tabelle 5: Multivariate Analysen mit Vitamin D-Status als unabhängige Variable für das CED-Kollektiv (n=92) sowie aufgeteilt in MC (n=61) und CU (n=31).....	31
Tabelle 6: Multivariate Analysen mit Vitamin D-Serummesswerten als unabhängige Variable.....	33

10.2 Abbildungen

Abbildung 1: Chemische Strukturformel von Vitamin D ₃ (Cholecalciferol), übernommen aus [19].....	4
Abbildung 2: Strukturformeln von Vitamin D ₃ , 25(OH)-Vitamin D ₃ und 1,25(OH) ₂ -Vitamin D ₃ , übernommen aus [19].....	4
Abbildung 3: Vitamin D-Stoffwechsel aus [26]	5
Abbildung 4: Schematische Übersicht über die Effekte von Vitamin D auf das intestinale Epithel aus [52]	8
Abbildung 5: Molekularbiologische Mechanismen bei Eisenüberschuss (links) und Eisenmangel (rechts), nach Hentze et al. aus [81].	11
Abbildung 6: Effekt von Vitamin D auf den Eisenstoffwechsel nach Smith et al. aus [113]	14
Abbildung 7: Anzahl der Patienten von Rekrutierung bis zum endgültigen Kollektiv. ...	17
Abbildung 8: Serumspiegel 25(OH)-Vitamin D.....	25
Abbildung 9: Serumspiegel 1,25(OH) ₂ -Vitamin D	26
Abbildung 10: Ratio 1,25(OH) ₂ D : 25(OH)D Vitamin D	27
Abbildung 11: Ferritin-Spiegel bei MC-Patienten mit und ohne Vitamin D-Defizienz....	29
Abbildung 12: 25(OH)D-Serumspiegel von MC-Patienten mit oder ohne Eisen-Defizienz.	30
Abbildung 13: Korrelation von 25(OH)D mit Hcpidin bei CED-Patienten	34
Abbildung 14: Korrelation von 25(OH)D mit Ferritin bei CED-Patienten.	35
Abbildung 15: Korrelation von 25(OH)D mit Eisen	35
Abbildung 16: Korrelation von 25(OH)D mit Transferrinsättigung bei CED-Patienten ..	36
Abbildung 17: Korrelation von Vitamin D-Ratio mit Hcpidin bei CED-Patienten	36

11. Literatur

1. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL (2013) The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis* 7:322–337.
<https://doi.org/10.1016/j.crohns.2013.01.010>
2. Ng SC, Shi HY, Hamidi N et al. (2017) Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet* 390:2769–2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)
3. Ott C, Obermeier F, Thielers S et al. (2008) The incidence of inflammatory bowel disease in a rural region of Southern Germany: a prospective population-based study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 20:917–923. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3282f97b33>
4. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R et al. (1996) Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 39(5):690–697
5. CROHN BB (1932) REGIONAL ILEITIS. *JAMA* 99:1323.
<https://doi.org/10.1001/jama.1932.02740680019005>
6. Baumgart DC, Sandborn WJ (2012) Crohn's disease. *The Lancet* 380:1590–1605.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60026-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60026-9)
7. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ (2012) Ulcerative colitis. *The Lancet* 380:1606–1619. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60150-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60150-0)
8. Preiß JC, Bokemeyer B, Buhr HJ et al. (2014) Aktualisierte S3-Leitlinie--"Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn" 2014 (Updated German clinical practice guideline on "Diagnosis and treatment of Crohn's disease" 2014). *Z Gastroenterol* 52:1431–1484.
<https://doi.org/10.1055/s-0034-1385199>
9. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR et al. (2019) ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis* 13:144–164. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy113>
10. Sulz MC, Duetschler J, Seibold F (2020) Therapiealgorithmen für die Behandlung des Morbus Crohn im klinischen Alltag. *Schweiz. Gastroenterol.* 1:51–64.
<https://doi.org/10.1007/s43472-020-00009-9>
11. Abraham C, Cho JH (2009) Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 361:2066–2078.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra0804647>

12. Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J (2011) New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut* 60:1739–1753.
<https://doi.org/10.1136/gut.2009.199679>
13. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P et al. (2007) A genome-wide association scan of non-synonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 39:207–211. <https://doi.org/10.1038/ng1954>
14. Lakatos PL (2009) Environmental factors affecting inflammatory bowel disease: have we made progress? *Dig Dis* 27:215–225. <https://doi.org/10.1159/000228553>
15. Thomas GA, Rhodes J, Green JT, Richardson C (2000) Role of smoking in inflammatory bowel disease: implications for therapy. *Postgrad Med J* 76:273–279.
<https://doi.org/10.1136/pmj.76.895.273>
16. Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Khalili H et al. (2011) A Prospective Study of Vitamin D Status and Risk of Incident Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* 140:S-113. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(11\)60457-5](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(11)60457-5)
17. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Higuchi LM et al. (2012) Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. *Gastroenterology* 142:482–489.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.11.040>
18. Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, Nikolopoulos GK, Lytras T, Bonovas S (2019) Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology* 157:647-659.e4.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.04.016>
19. DeLuca HF (2004) Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 80:1689S-96S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1689S>
20. Raftery T, O'Sullivan M (2015) Optimal vitamin D levels in Crohn's disease: a review. *Proc Nutr Soc* 74:56–66. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001591>
21. Ross A C, Taylor C L, Yaktine A L, Del Valle H B (Hrsg) (2011) *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*, Washington (DC)
22. Albert PJ, Proal AD, Marshall TG (2009) Vitamin D: the alternative hypothesis. *Autoimmun Rev* 8:639–644. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.02.011>
23. Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357:266–281.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra070553>

24. Li YC, Chen Y, Du J (2015) Critical roles of intestinal epithelial vitamin D receptor signaling in controlling gut mucosal inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 148:179–183. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.01.011>
25. Holick MF (2003) Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem* 88:296–307. <https://doi.org/10.1002/jcb.10338>
26. Bundesamt für Strahlenschutz (2018) Bildung des körpereigenen Vitamin D. http://www.bfs.de/SharedDocs/Bilder/BfS/DE/opt/uv/vitamin-d-stoffwechsel.jpg?__blob=poster&v=3. Zugegriffen: 27. November 2018
27. Palacios C, Gonzalez L (2014) Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol* 144 Pt A:138–145. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.11.003>
28. Rosen CJ (2011) Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med* 364:248–254. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1009570>
29. Gahl A (2012) Neue Referenzwerte für Vitamin D
30. Holick MF (2004) Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 80:1678S–88S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1678S>
31. McCollum E.V., Simmonds N., Becker J.E. (1922) Studies on Experimental Rickets. An Experimental Demonstration of the Existence on a Vitamin which promotes Calcium Deposition. *Journal of Biological Chemistry*(53):293–8
32. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E et al. (2004) Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 62:60–65. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000101723.79681.38>
33. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM (2001) Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 358:1500–1503. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06580-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06580-1)
34. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1996) 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:7861–7864. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.15.7861>
35. Rigby WF, Denome S, Fanger MW (1987) Regulation of lymphokine production and human T lymphocyte activation by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Specific inhibition at the level of messenger RNA. *J Clin Invest* 79:1659–1664. <https://doi.org/10.1172/JCI113004>

36. Lemire JM (1992) Immunomodulatory role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Cell Biochem* 49:26–31. <https://doi.org/10.1002/jcb.240490106>
37. Mahon BD, Wittke A, Weaver V, Cantorna MT (2003) The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. *J Cell Biochem* 89:922–932. <https://doi.org/10.1002/jcb.10580>
38. Tang J, Zhou R, Luger D et al. (2009) Calcitriol suppresses antiretinal autoimmunity through inhibitory effects on the Th17 effector response. *J Immunol* 182:4624–4632. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0801543>
39. Tsoukas CD, Provedini DM, Manolagas SC (1984) 1,25-dihydroxyvitamin D₃: a novel immunoregulatory hormone. *Science* 224:1438–1440. <https://doi.org/10.1126/science.6427926>
40. Palmer MT, Lee YK, Maynard CL et al. (2011) Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem* 286:997–1004. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.163790>
41. Korf H, Wenes M, Stijlemans B et al. (2012) 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ curtails the inflammatory and T cell stimulatory capacity of macrophages through an IL-10-dependent mechanism. *Immunobiology* 217:1292–1300. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.07.018>
42. Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A et al. (2002) In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med* 195:603–616. <https://doi.org/10.1084/jem.20011629>
43. Gregori S, Giarratana N, Smiroldo S, Uskokovic M, Adorini L (2002) A 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3) analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 51:1367–1374. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.5.1367>
44. Cantorna MT, Woodward WD, Hayes CE, DeLuca HF (1998) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGF- β 1 and IL-4. *J Immunol* 160(11):5314–5319
45. Mora JR, Iwata M, Andrian UH von (2008) Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol* 8:685–698. <https://doi.org/10.1038/nri2378>
46. Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J et al. (2001) Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 154:369–387. <https://doi.org/10.1083/jcb.200102028>

47. Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S et al. (2008) Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Mol Biol Cell* 19:1912–1921. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-09-0973>
48. Zhao H, Zhang H, Wu H et al. (2012) Protective role of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ in the mucosal injury and epithelial barrier disruption in DSS-induced acute colitis in mice. *BMC Gastroenterol* 12:57. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-12-57>
49. Froicu M, Cantorna MT (2007) Vitamin D and the vitamin D receptor are critical for control of the innate immune response to colonic injury. *BMC Immunol* 8:5. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-8-5>
50. Marchiando AM, Graham WV, Turner JR (2010) Epithelial barriers in homeostasis and disease. *Annu Rev Pathol* 5:119–144. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092135>
51. Yamamoto H, Miyamoto K, Li B et al. (1999) The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. *J Bone Miner Res* 14:240–247. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.2.240>
52. Barbáchano A, Fernández-Barral A, Ferrer-Mayorga G, Costales-Carrera A, Larriba MJ, Muñoz A (2017) The endocrine vitamin D system in the gut. *Mol Cell Endocrinol* 453:79–87. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.11.028>
53. Wacker M, Holick MF (2013) Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol* 5:51–108. <https://doi.org/10.4161/derm.24494>
54. Khalili H, Huang ES, Ananthakrishnan AN et al. (2012) Geographical variation and incidence of inflammatory bowel disease among US women. *Gut* 61:1686–1692. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301574>
55. Economou M, Pappas G (2008) New global map of Crohn's disease: Genetic, environmental, and socioeconomic correlations. *Inflamm Bowel Dis* 14:709–720. <https://doi.org/10.1002/ibd.20352>
56. Nowson CA, McGrath JJ, Ebeling PR et al. (2012) Vitamin D and health in adults in Australia and New Zealand: a position statement. *Med J Aust* 196(11):686–687
57. Mezquita Raya P, Muñoz Torres M, López Rodríguez F et al. (2002) Elevada prevalencia de déficit de vitamina D en poblaciones con riesgo de osteoporosis: un factor relevante en la integridad ósea (Prevalence of vitamin D deficiency in populations at risk for osteoporosis: impact on bone integrity). *Med Clin (Barc)* 119(3):85–89

58. Garg M, Lubel JS, Sparrow MP, Holt SG, Gibson PR (2012) Review article: vitamin D and inflammatory bowel disease--established concepts and future directions. *Aliment Pharmacol Ther* 36:324–344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2012.05181.x>
59. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Bigard M-A (2009) Crohn's disease: the hot hypothesis. *Med Hypotheses* 73:94–96. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.01.022>
60. Hidalgo DF, Boonpheng B, Phemister J, Hidalgo J, Young M (2019) Inflammatory Bowel Disease and Risk of Osteoporotic Fractures: A Meta-Analysis. *Cureus* 11:e5810. <https://doi.org/10.7759/cureus.5810>
61. Ali T, Lam D, Bronze MS, Humphrey MB (2009) Osteoporosis in inflammatory bowel disease. *Am J Med* 122:599–604. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2009.01.022>
62. Ananthakrishnan AN, Cagan A, Gainer VS et al. (2013) Normalization of plasma 25-hydroxy vitamin D is associated with reduced risk of surgery in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 19:1921–1927. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e3182902ad9>
63. Ananthakrishnan AN, Cheng S-C, Cai T et al. (2014) Association between reduced plasma 25-hydroxy vitamin D and increased risk of cancer in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 12:821–827. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.10.011>
64. Kabbani TA, Koutroubakis IE, Schoen RE et al. (2016) Association of Vitamin D Level With Clinical Status in Inflammatory Bowel Disease: A 5-Year Longitudinal Study. *Am J Gastroenterol* 111:712–719. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.53>
65. Silvennoinen J (1996) Relationships between vitamin D, parathyroid hormone and bone mineral density in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 239:131–137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1996.420765000.x>
66. Tajika M, Matsuura A, Nakamura T et al. (2004) Risk factors for vitamin D deficiency in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 39:527–533. <https://doi.org/10.1007/s00535-003-1338-x>
67. McCarthy D, Duggan P, O'Brien M et al. (2005) Seasonality of vitamin D status and bone turnover in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 21:1073–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02446.x>
68. Siffledeen JS, Siminoski K, Steinhart H, Greenberg G, Fedorak RN (2003) The frequency of vitamin D deficiency in adults with Crohn's disease. *Can J Gastroenterol* 17:473–478. <https://doi.org/10.1155/2003/391308>

69. Levin AD, Wadhwa V, Leach ST et al. (2011) Vitamin D deficiency in children with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 56:830–836. <https://doi.org/10.1007/s10620-010-1544-3>
70. Joseph AJ, George B, Pulimood AB, Seshadri MS, Chacko A (2009) 25 (OH) vitamin D level in Crohn's disease: association with sun exposure & disease activity. *Indian J Med Res* 130(2):133–137
71. Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A et al. (2011) Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 35:308–316. <https://doi.org/10.1177/01486071110381267>
72. Hassan V, Hassan S, Seyed-Javad P et al. (2013) Association between Serum 25 (OH) Vitamin D Concentrations and Inflammatory Bowel Diseases (IBDs) Activity. *Med J Malaysia* 68(1):34–38
73. El-Matary W, Sikora S, Spady D (2011) Bone mineral density, vitamin D, and disease activity in children newly diagnosed with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 56:825–829. <https://doi.org/10.1007/s10620-010-1380-5>
74. Yang L, Weaver V, Smith JP, Bingaman S, Hartman TJ, Cantorna MT (2013) Therapeutic effect of vitamin d supplementation in a pilot study of Crohn's patients. *Clin Transl Gastroenterol* 4:e33. <https://doi.org/10.1038/ctg.2013.1>
75. Jørgensen SP, Agnholt J, Glerup H et al. (2010) Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease - a randomized double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 32:377–383. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04355.x>
76. Li J, Chen N, Wang D, Zhang J, Gong X (2018) Efficacy of vitamin D in treatment of inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 97:e12662. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012662>
77. Patel NM, Gutiérrez OM, Andress DL, Coyne DW, Levin A, Wolf M (2010) Vitamin D deficiency and anemia in early chronic kidney disease. *Kidney Int* 77:715–720. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.551>
78. Zittermann A, Jungvogel A, Prokop S et al. (2011) Vitamin D deficiency is an independent predictor of anemia in end-stage heart failure. *Clin Res Cardiol* 100:781–788. <https://doi.org/10.1007/s00392-011-0312-5>
79. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M (2009) 25-Hydroxyvitamin D deficiency and inflammation and their association with hemoglobin levels in chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 30:64–72. <https://doi.org/10.1159/000202632>

80. J. Chifman, R. Laubenbacher, S.V. Torti (2014) A Systems Biology Approach to Iron Metabolism. *Advances in experimental medicine and biology* 844:201.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2095-2_10
81. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C (2010) Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. *Cell* 142:24–38.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.028>
82. Wang W, Knovich MA, Coffman LG, Torti FM, Torti SV (2010) Serum ferritin: Past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 1800:760–769.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.03.011>
83. Wessling-Resnick M (2006) Iron imports. III. Transfer of iron from the mucosa into circulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:G1-6.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00415.2005>
84. Ganz T (2006) Molecular pathogenesis of anemia of chronic disease. *Pediatr Blood Cancer* 46:554–557. <https://doi.org/10.1002/pbc.20656>
85. Kyu HH, Abate D, Abate KH et al. (2018) Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet* 392:1859–1922.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32335-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32335-3)
86. Stoltzfus RJ (2003) Iron deficiency: global prevalence and consequences. *Food Nutr Bull* 24:S99-103. <https://doi.org/10.1177/15648265030244S206>
87. Cantorna MT, Mahon BD (2005) D-hormone and the immune system. *J Rheumatol Suppl* 76:11–20
88. Franceschi L de, Iolascon A, Taher A, Cappellini MD (2017) Clinical management of iron deficiency anemia in adults: Systemic review on advances in diagnosis and treatment. *Eur J Intern Med* 42:16–23. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.04.018>
89. Ganz T (2013) Systemic iron homeostasis. *Physiol Rev* 93:1721–1741.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2013>
90. Lupu A, Diculescu M, Diaconescu R et al. (2015) Prevalence of anemia and iron deficiency in Romanian patients with inflammatory bowel disease: a prospective multicenter study. *J Gastrointest Liver Dis* 24:15–20. <https://doi.org/10.15403/jgld.2014.1121.lpu>
91. Wüthrich R, Gasche C, Dudler J et al. (2011) Eisenmangel bei chronischen Erkrankungen. *Swiss Med Forum* 11. <https://doi.org/10.4414/smf.2011.07656>

92. Dignass A, Farrag K, Stein J (2018) Limitations of Serum Ferritin in Diagnosing Iron Deficiency in Inflammatory Conditions. *Int J Chronic Dis* 2018:9394060.
<https://doi.org/10.1155/2018/9394060>
93. Dignass AU, Gasche C, Bettenworth D et al. (2015) European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 9:211–222. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jju009>
94. Beckman Coulter (2018) Gebrauchsanweisung Iron AU Test
95. Kaitha S, Bashir M, Ali T (2015) Iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *World J Gastrointest Pathophysiol* 6:62–72. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v6.i3.62>
96. Cappellini MD, Comin-Colet J, Francisco A de et al. (2017) Iron deficiency across chronic inflammatory conditions: International expert opinion on definition, diagnosis, and management. *Am J Hematol* 92:1068–1078. <https://doi.org/10.1002/ajh.24820>
97. Drüeke TB, Parfrey PS (2012) Summary of the KDIGO guideline on anemia and comment: reading between the (guide)line(s). *Kidney Int* 82:952–960.
<https://doi.org/10.1038/ki.2012.270>
98. Locatelli F, Bárány P, Covic A et al. (2013) Kidney Disease: Improving Global Outcomes guidelines on anaemia management in chronic kidney disease: a European Renal Best Practice position statement. *Nephrol Dial Transplant* 28:1346–1359.
<https://doi.org/10.1093/ndt/gft033>
99. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L (2016) Iron deficiency anaemia. *Lancet* 387:907–916. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60865-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60865-0)
100. Soppi ET (2018) Iron deficiency without anemia - a clinical challenge. *Clin Case Rep* 6(6):1082–1086
101. Dorothea Niepel, Thomas Klag, Nisar P. Malek, Jan Wehkamp (2018) Practical guidance for the management of iron deficiency in patients with inflammatory bowel disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 11.
<https://doi.org/10.1177/1756284818769074>
102. Gasche C, Ahmad T, Tulassay Z et al. (2015) Ferric maltol is effective in correcting iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease: results from a phase-3 clinical trial program. *Inflamm Bowel Dis* 21:579–588.
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000314>
103. Mücke V, Mücke MM, Raine T, Bettenworth D (2017) Diagnosis and treatment of anemia in patients with inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol* 30:15–22.
<https://doi.org/10.20524/aog.2016.0083>

104. Murawska N, Fabisiak A, Fichna J (2016) Anemia of Chronic Disease and Iron Deficiency Anemia in Inflammatory Bowel Diseases: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Inflamm Bowel Dis* 22:1198–1208.
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000648>
105. Sim JJ, Lac PT, Liu ILA et al. (2010) Vitamin D deficiency and anemia: a cross-sectional study. *Ann Hematol* 89:447–452. <https://doi.org/10.1007/s00277-009-0850-3>
106. Blanco-Rojo R, Pérez-Granados AM, Toxqui L, Zazo P, La Piedra C de, Vaquero MP (2013) Relationship between vitamin D deficiency, bone remodelling and iron status in iron-deficient young women consuming an iron-fortified food. *Eur J Nutr* 52:695–703.
<https://doi.org/10.1007/s00394-012-0375-8>
107. Liu T, Zhong S, Liu L et al. (2015) Vitamin D deficiency and the risk of anemia: a meta-analysis of observational studies. *Ren Fail* 37:929–934.
<https://doi.org/10.3109/0886022X.2015.1052979>
108. Lee JA, Hwang JS, Hwang IT, Kim DH, Seo J-H, Lim JS (2015) Low vitamin D levels are associated with both iron deficiency and anemia in children and adolescents. *Pediatr Hematol Oncol* 32:99–108. <https://doi.org/10.3109/08880018.2014.983623>
109. Nikooyeh B, Neyestani TR (2018) Poor vitamin D status increases the risk of anemia in school children: National Food and Nutrition Surveillance. *Nutrition* 47:69–74.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.09.008>
110. Zughailer SM, Alvarez JA, Sloan JH, Konrad RJ, Tangpricha V (2014) The role of vitamin D in regulating the iron-hepcidin-ferroportin axis in monocytes. *J Clin Transl Endocrinol* 1:19–25. <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2014.01.003>
111. Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL et al. (2014) Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 25:564–572. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013040355>
112. Bacchetta J, Chun RF, Gales B et al. (2014) Antibacterial responses by peritoneal macrophages are enhanced following vitamin D supplementation. *PLoS ONE* 9:e116530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116530>
113. Smith EM, Alvarez JA, Kearns MD et al. (2017) High-dose vitamin D3 reduces circulating hepcidin concentrations: A pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in healthy adults. *Clin Nutr* 36:980–985. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.06.015>
114. Syed S, Michalski ES, Tangpricha V et al. (2017) Vitamin D Status Is Associated with Heparin and Hemoglobin Concentrations in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 23:1650–1658. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001178>

115. Moran-Lev H, Galai T, Yerushalmy-Feler A et al. (2019) Vitamin D Decreases Hepcidin and Inflammatory Markers in Newly Diagnosed Inflammatory Bowel Disease Pediatric Patients- A Prospective Study. *J Crohns Colitis*. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjz056>
116. Moran-Lev H, Weisman Y, Cohen S et al. (2018) The interrelationship between hepcidin, vitamin D, and anemia in children with acute infectious disease. *Pediatr Res* 84:62–65. <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0005-0>
117. Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim Roche Diagnostics, Method Sheet Elecsys® Vitamin D total II, 2018. http://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/vit._d_total_ii_2017-11_v2.pdf
118. IDS Immunodiagnostic systems GmbH (2016) IDS-iSYS 1,25 VitDXp Instructions For Use. <https://www.abacusdx.com/media/IS-2000PLv04rebranded.pdf>
119. R&D Systems Inc Human Hepcidin Immunoassay Quantikine®ELISA Catalog Number DHP250
120. Best WR, Bechtel JM, Singleton JW, Kern F (1976) Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 70(3):439–444
121. Sturm A, Maaser C, Calabrese E et al. (2019) ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J Crohns Colitis* 13:273–284. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy114>
122. Abreu MT, Kantorovich V, Vasiliauskas EA et al. (2004) Measurement of vitamin D levels in inflammatory bowel disease patients reveals a subset of Crohn's disease patients with elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and low bone mineral density. *Gut* 53:1129–1136. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.036657>
123. Conron M, Young C, Beynon HL (2000) Calcium metabolism in sarcoidosis and its clinical implications. *Rheumatology (Oxford)* 39(7):707–713
124. Adams JS, Singer FR, Gacad MA et al. (1985) Isolation and structural identification of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ produced by cultured alveolar macrophages in sarcoidosis. *J Clin Endocrinol Metab* 60:960–966. <https://doi.org/10.1210/jcem-60-5-960>
125. Royal W, Mia Y, Li H, Naunton K (2009) Peripheral blood regulatory T cell measurements correlate with serum vitamin D levels in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 213:135–141. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.05.012>
126. Constantini NW, Arieli R, Chodick G, Dubnov-Raz G (2010) High prevalence of vitamin D insufficiency in athletes and dancers. *Clin J Sport Med* 20:368–371. <https://doi.org/10.1097/JSM.0b013e3181f207f2>

127. Malczewska-Lenczowska J, Sitkowski D, Surala O, Orysiak J, Szczepańska B, Witek K (2018) The Association between Iron and Vitamin D Status in Female Elite Athletes. *Nutrients* 10. <https://doi.org/10.3390/nu10020167>
128. Toxqui L, Vaquero MP (2015) Chronic iron deficiency as an emerging risk factor for osteoporosis: a hypothesis. *Nutrients* 7:2324–2344. <https://doi.org/10.3390/nu7042324>
129. Katsumata S, Katsumata R, Matsumoto N, Inoue H, Takahashi N, Uehara M (2016) Iron deficiency decreases renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase activity and bone formation in rats. *BMC Nutr* 2:3598. <https://doi.org/10.1186/s40795-016-0072-8>
130. Heldenberg D, Tenenbaum G, Weisman Y (1992) Effect of iron on serum 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D concentrations. *Am J Clin Nutr* 56:533–536. <https://doi.org/10.1093/ajcn/56.3.533>
131. Azizi-Soleiman F, Vafa M, Abiri B, Safavi M (2016) Effects of Iron on Vitamin D Metabolism: A Systematic Review. *Int J Prev Med* 7:126. <https://doi.org/10.4103/2008-7802.195212>
132. Sharma S, Jain R, Dabla PK (2015) The Role of 25-Hydroxy Vitamin D Deficiency in Iron Deficient Children of North India. *Indian J Clin Biochem* 30:313–317. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0449-x>
133. Shin JY, Shim JY (2013) Low vitamin D levels increase anemia risk in Korean women. *Clin Chim Acta* 421:177–180. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.025>
134. Monlezun DJ, Camargo CA, Mullen JT, Quraishi SA (2015) Vitamin D Status and the Risk of Anemia in Community-Dwelling Adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. *Medicine (Baltimore)* 94:e1799. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001799>
135. Bergamaschi G, Di Sabatino A, Albertini R et al. (2013) Serum hepcidin in inflammatory bowel diseases: biological and clinical significance. *Inflamm Bowel Dis* 19:2166–2172. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e31829a6e43>
136. Martinelli M, Strisciuglio C, Alessandrella A et al. (2016) Serum Hepcidin and Iron Absorption in Paediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis* 10:566–574. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjv242>
137. Mecklenburg I, Reznik D, Fasler-Kan E, Drewe J, Beglinger C, Hruz P (2014) Serum hepcidin concentrations correlate with ferritin in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 8:1392–1397. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.04.008>

138. Carvalho C, Isakova T, Collerone G et al. (2011) Hepcidin and disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. *Clin Nephrol* 76:90–98.
<https://doi.org/10.5414/cn107018>
139. Karaskova E, Volejnikova J, Holub D et al. (2018) Hepcidin in newly diagnosed inflammatory bowel disease in children. *J Paediatr Child Health*.
<https://doi.org/10.1111/jpc.14093>
140. Oustamanolakis P, Koutroubakis IE, Messaritakis I, Malliaraki N, Sfiridaki A, Kouroumalis EA (2011) Serum hepcidin and prohepcidin concentrations in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 23:262–268.
<https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e328343b885>
141. Arnold J, Sangwaiya A, Bhatkal B, Geoghegan F, Busbridge M (2009) Hepcidin and inflammatory bowel disease: dual role in host defence and iron homeostasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21:425–429. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e32830e2885>
142. Adams JS, Ren S, Liu PT et al. (2009) Vitamin d-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *J Immunol* 182:4289–4295. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803736>
143. Lagishetty V, Liu NQ, Hewison M (2011) Vitamin D metabolism and innate immunity. *Mol Cell Endocrinol* 347:97–105. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.04.015>
144. Zhao N, Zhang A-S, Enns CA (2013) Iron regulation by hepcidin. *J Clin Invest* 123:2337–2343. <https://doi.org/10.1172/JCI67225>
145. Herrera-deGuise C, Casellas F, Robles V, Navarro E, Borrueal N (2016) Iron Deficiency in the Absence of Anemia Impairs the Perception of Health-Related Quality of Life of Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 22:1450–1455.
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000768>
146. Auerbach M, Adamson JW (2016) How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *Am J Hematol* 91:31–38. <https://doi.org/10.1002/ajh.24201>
147. Narula N, Marshall JK (2012) Management of inflammatory bowel disease with vitamin D: beyond bone health. *J Crohns Colitis* 6:397–404.
<https://doi.org/10.1016/j.crohns.2011.10.015>
148. Krayenbuehl P-A, Battegay E, Breyman C, Furrer J, Schulthess G (2011) Intravenous iron for the treatment of fatigue in nonanemic, premenopausal women with low serum ferritin concentration. *Blood* 118:3222–3227. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-346304>

149. Anker SD, Comin Colet J, Filippatos G et al. (2009) Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *N Engl J Med* 361:2436–2448.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0908355>
150. Favrat B, Balck K, Breymann C et al. (2014) Evaluation of a single dose of ferric carboxymaltose in fatigued, iron-deficient women--PREFER a randomized, placebo-controlled study. *PLoS ONE* 9:e94217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094217>
151. Stein J, Dignass AU (2013) Management of iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease - a practical approach. *Ann Gastroenterol* 26(2):104–113
152. Reinisch W, Staun M, Tandon RK et al. (2013) A randomized, open-label, non-inferiority study of intravenous iron isomaltoside 1,000 (Monofer) compared with oral iron for treatment of anemia in IBD (PROCEED). *Am J Gastroenterol* 108:1877–1888.
<https://doi.org/10.1038/ajg.2013.335>
153. Qunibi WY, Martinez C, Smith M, Benjamin J, Mangione A, Roger SD (2011) A randomized controlled trial comparing intravenous ferric carboxymaltose with oral iron for treatment of iron deficiency anaemia of non-dialysis-dependent chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 26:1599–1607. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq613>
154. Kochhar PK, Kaundal A, Ghosh P (2013) Intravenous iron sucrose versus oral iron in treatment of iron deficiency anemia in pregnancy: a randomized clinical trial. *J Obstet Gynaecol Res* 39:504–510. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2012.01982.x>
155. Reich KM, Fedorak RN, Madsen K, Kroeker KI (2014) Vitamin D improves inflammatory bowel disease outcomes: basic science and clinical review. *World J Gastroenterol* 20:4934–4947. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i17.4934>
156. Zator ZA, Cantu SM, Konijeti GG et al. (2014) Pretreatment 25-hydroxyvitamin D levels and durability of anti-tumor necrosis factor- α therapy in inflammatory bowel diseases. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 38:385–391. <https://doi.org/10.1177/0148607113504002>
157. Raftery T, Lee CS, Cox G, McNamara D, Healy M, O'Sullivan M (2013) Supplemental vitamin D in quiescent Crohn's disease – effects on quality of life, fatigue and muscle strength: results from a double blind placebo controlled study. *Proc. Nutr. Soc.* 72.
<https://doi.org/10.1017/S0029665113002000>
158. Smith EM, Jones JL, Han JE et al. (2018) High-Dose Vitamin D3 Administration Is Associated With Increases in Hemoglobin Concentrations in Mechanically Ventilated Critically Ill Adults: A Pilot Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 42:87–94. <https://doi.org/10.1177/0148607116678197>

Literatur

159. Blank S, Scanlon KS, Sinks TH, Lett S, Falk H (1995) An outbreak of hypervitaminosis D associated with the overfortification of milk from a home-delivery dairy. *Am J Public Health* 85:656–659. <https://doi.org/10.2105/ajph.85.5.656>
160. Vieth R (1999) Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr* 69:842–856. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.5.842>
161. Hanley DA, Cranney A, Jones G et al. (2010) Vitamin D in adult health and disease: a review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ* 182:E610-8. <https://doi.org/10.1503/cmaj.080663>

12. Anhang

12.1 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit eidesstattlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität in München zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Assoziation des Vitamin D-Status mit Serum-Parametern des Eisenmangels bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen“

in der Arbeitsgruppe der Medizinischen Klinik und Poliklinik II – Großhadern (Direktorin: Prof. Dr. med. Julia Mayerle) selbstständig durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Zitierungen anderer wissenschaftlicher Arbeiten sind unter Angabe der Quelle als solche kenntlich gemacht. Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit in gleicher oder ähnlicher Form als Dissertation vorgelegt.

München, 23.7.2021

Lisa Veith

12.2 Danksagungen

Ich möchte mich bei allen bedanken, die direkt und indirekt an der Erstellung dieser Arbeit beteiligt waren.

Zuerst sind hierbei PD Dr. med. Florian Beigel und Dr. med. Johannes Stallhofer zu nennen, die mir die Möglichkeit gegeben haben, dieses Projekt in ihrer Arbeitsgruppe durchzuführen. Ich danke ihnen für die fortwährende Unterstützung und Begleitung sowie die ständige Gesprächsbereitschaft.

Mein Dank gilt ebenso Simone Breiteneicher für ihre fachliche Kompetenz, Organisation und praktische Hilfe bei allen Fragen und Problemen, die während des Projekts aufgekommen sind.

Ich möchte mich auch bei Frau Sandra Merz aus dem Labor für Immungenetik und Molekulare Diagnostik des Klinikums der LMU, Campus Grosshadern, unter der Leitung von Frau Dr. Andrea Dick bedanken für die Möglichkeit und Unterstützung bei der Durchführung der Luminex-Messungen in ihrem Labor.

Ich danke ebenso allen nicht namentlich aufgeführten Mitarbeitern der Arbeitsgruppe der Medizinischen Klinik II dafür, dass sie mich so selbstverständlich aufgenommen und sich immer hilfsbereit gezeigt haben.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die immer für mich da ist: meinen Eltern danke ich für ihre seelische, moralische und auch finanzielle Unterstützung. Meiner Schwester und ihrer Familie danke ich für ihre Zuflucht, ihre Perspektive und ehrliche Meinung. Ich danke meinem Freund Michael für seine langjährige Begleitung und bedingungslose Unterstützung bei diesem Projekt und allen Weiteren.