

Impact of Vitamin D Replacement on Fibrosis Score in Chronic Liver Disease Patients

*Dhanusorn Wanichagool, M.D.**

Abstract

Vitamin D insufficiency and deficiency are prevalent in almost half the healthy population of developed countries, remains a major health concern in the Thai population. According to the 2018 national health database, the prevalence of vitamin D deficiency is approximately 45.2% of total population while the population from middle part of Thailand can be as high as 48.1%. Typically, Vitamin D synthesized from skin and from dietary sources may be stored in the adipocytes, or it may undergo hepatic 25 - hydroxylation, which produce 25 - hydroxyvitamin D [25(OH)D] or calcidiol. 25 (OH)D is hydroxylated in the kidney by 1 α - hydroxylase that form active metabolite of vitamin D. Several studies have reported that vitamin D deficiency is associated with multiple liver diseases including hepatic steatosis, hepatitis, liver fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Thus far, there is no definitive evidence indicating that vitamin D deficiency is associated with chronic liver disease. This study aims to investigate the impact of vitamin D deficiency on liver fibrosis score in patients with chronic liver disease in Phra Nakhon Si Ayutthaya Hospital.

Methods: Patients with chronic liver disease from 2019 to 2021, who had vitamin D deficiency (36 cases) were recruited from the outpatient clinic. Supplemental vitamin D in the form of vitamin D₂ (calciferol) 2 tablets/weeks for 12 weeks (20,000 IU/tablet) were given to all patients. Liver fibrosis score i.e. aspartate aminotransferase (AST) to Platelet ratio index (APRI), AST/ALT ratio, the FIB - 4 score, model for end-stage liver disease (MELD) score were evaluated before and after vitamin D supplement. Mortality rate and liver-related complication was also observed.

Results: The common cause of chronic liver disease in our patient was due to chronic hepatitis B virus. Mean vitamin D levels were 22.78 ± 4.64 nanograms per milliliter, AST and ALT were mildly elevated (39.79 ± 20.82 U/L and 32.62 ± 21.98 U/L, respectively), Liver fibrosis score in term of APRI, AST/ALT ratio, FIB-4 score, and MELD score in most of the patients showed absent to mild fibrosis. Eleven patients (31.43%) had shown cirrhotic liver by fibrosis scoring system. After vitamin D supplement, fibrotic score evaluate by mean APRI score increase 0.15 ± 0.97 U/L (P-value = 0.361), The mean

FIB-4 score increase 0.51 ± 3.08 (P-value = 0.340) and MELD score decrease 7.30 ± 1.64 (P-value = 0.268). In group of hepatitis B liver disease patient, APRI, AST /ALT ratio, and FIB-4 score show no significant difference before or after vitamin D supplement. No clinical complication from chronic liver disease, such as portal hypertension, esophageal varices, ascites, cirrhosis, renal failure, or adverse effects from vitamin D supplements were observed.

Summary: Our study shown that vitamin D supplement in chronic liver disease patient with vitamin d insufficient is not associated with improvement of liver fibrosis score. The benefit of vitamin D supplement in patients with chronic liver disease remains unclear.

Keywords: Chronic liver disease; vitamin D deficiency; Liver fibrosis score

*Department of medicine, Phra Nakhon Si Ayutthaya Hospital

Received: July 18, 2022; Revised: November 1, 2022; Accepted: November 24, 2022

การชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่พร่องวิตามินดีต่อการลดระดับพังผืดในตับ

دنسرณ์ วานิชกุล, พ.บ.*

บทคัดย่อ

ภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดี เป็นปัญหาที่สำคัญและพบมากในประเทศไทย จากข้อมูลสำรวจสุขภาพประชากรไทยปี พ.ศ. 2561 พบอุบัติการณ์สูงถึงร้อยละ 45.2 ของประชากรทั้งประเทศ ในขณะที่ประชากรเขตภาคกลาง พบผู้ป่วยถึงร้อยละ 48.1 วิตามินดีสร้างจากผิวหนังและจากสารอาหารจำพวกนม อาศัยเอนไซม์จากเซลล์ตับเป็นตัวเปลี่ยนวิตามินให้ได้อยู่ในรูป 25-hydroxyvitamin D หรือ calcidiol ก่อนที่จะเปลี่ยนเป็นวิตามินดีที่อยู่ในรูปแบบพร้อมใช้งานในไต มีข้อมูลในต่างประเทศหลายการศึกษาที่พบว่าภาวะพร่องวิตามินดีส่งผลกับโรคตับมากมาย ทั้งโรคตับคั่งไขมัน ภาวะตับอักเสบ พังผืดในตับ ตับแข็ง และมะเร็งตับ แต่ยังไม่มียืนยันที่ชัดเจนว่าการชดเชยวิตามินดีจะส่งผลเช่นไรกับผู้ป่วยโรคตับเรื้อรัง จึงเป็นที่มาของงานวิจัยในครั้งนี้โดยทำการเก็บข้อมูลของผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังในโรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา เพื่อศึกษาผลของการการชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่พร่องวิตามินดีต่อระดับคะแนนพังผืดในตับ

ศึกษาโดยรวบรวมผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังในช่วงปี พ.ศ. 2562 - พ.ศ. 2564 ที่มีภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดีจำนวน 36 ราย ชดเชยโดยให้ผู้ป่วยได้รับวิตามินดีเสริมในรูปแบบของวิตามินดี 2 (vitamin D2; Calciferol) ขนาด 20,000 IU ต่อ 1 เม็ด จำนวนสองเม็ดต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ และทำการประเมินระดับคะแนนพังผืดในตับโดยใช้ aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI), the AST/alanine aminotransferase (ALT) ratio, the FIB-4 score ประเมินระดับความรุนแรงของตับโดยใช้คะแนน MELD score เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้วิตามินดี รวมทั้งประเมินอัตราการเสียชีวิตทั้งที่เกี่ยวกับโรคตับและไม่เกี่ยวข้องรวมทั้งประเมินผลแทรกซ้อนจากโรคตับเรื้อรัง

จากการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังส่วนใหญ่ในงานวิจัยเกิดจากสาเหตุติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีระดับวิตามินดีเฉลี่ยอยู่ที่ 22.78 ± 4.64 นาโนกรัม/มิลลิลิตรมีระดับการอักเสบของตับจากการประเมินด้วยค่า AST, ALT พบว่าโดยเฉลี่ยอยู่ในระดับที่สูงเล็กน้อย คือ AST เฉลี่ยอยู่ที่ 39.79 ± 20.82 U/L และ ALT เฉลี่ยอยู่ที่ 32.62 ± 21.98 U/L เมื่อคำนวณค่าพังผืดในตับด้วยวิธี APRI, AST/ALT ratio, FIB-4 score และประเมินระดับคะแนนความรุนแรงของตับ ด้วยวิธี MELD score พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ในระดับที่ไม่มี หรือมีพังผืดในตับเพียงเล็กน้อย ผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งจากการคำนวณอยู่ 11 ราย (ร้อยละ 31.43) เมื่อได้รับการชดเชยวิตามินดีจนมีระดับปกติ พบว่าระดับคะแนนที่บ่งชี้ถึงภาวะพังผืดในตับ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับก่อนการชดเชยด้วยวิตามินดี โดยค่า APRI มีค่าเฉลี่ย 0.91 ± 1.21 (เพิ่มขึ้น 0.15 ± 0.97 ; P-value = 0.361), ค่า AST/ALT ratio มีค่าเฉลี่ย 1.41 ± 0.69 (เพิ่มขึ้น 0.6 ± 0.38 ; P-value = 0.355) ค่า FIB - 4

score มีค่าเฉลี่ย 3.25 ± 4.30 (เพิ่มขึ้น 0.51 ± 3.08 ; P-value = 0.340) และระดับ MELD score มีค่าเฉลี่ยระดับคะแนนอยู่ที่ 7.30 ± 1.64 (ลดลง 0.27 ± 1.41 ; P-value = 0.268) และเมื่อแยกศึกษาเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่าระดับคะแนน APRI, AST/ALT ratio, และ FIB-4 score ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับก่อนชดเชยด้วยวิตามินดี แม้ว่าอาจจะพบว่าระดับคะแนน MELD score มีแนวโน้มลดลง แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจากการศึกษาในผู้ป่วยทุกรายไม่พบผลแทรกซ้อนที่เกิดจากภาวะโรคตับเรื้อรัง เช่น ภาวะความดันหลอดเลือดพอร์ทัลสูง ภาวะเลือดออกจากเส้นเลือดดำโป่งพองในหลอดอาหาร ภาวะท้องมาน ภาวะตับแข็ง และภาวะไตวาย รวมถึงไม่พบภาวะแทรกซ้อนจากการได้รับวิตามินดีชดเชย

โดยสรุปการชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่มีภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดี ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแง่ลดการอักเสบของตับหรือการเปลี่ยนแปลงระดับคะแนนพังผืดในตับ

คำสำคัญ : โรคตับเรื้อรัง; ภาวะพร่องวิตามินดี; ระดับคะแนนพังผืดในตับ

*กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา

ได้รับต้นฉบับ: 18 กรกฎาคม 2565; แก้ไขบทความ: 1 พฤศจิกายน 2565; รับลงตีพิมพ์: 24 พฤศจิกายน 2565

บทนำ

วิตามินดีเป็นวิตามินที่ร่างกายสังเคราะห์ได้เองที่ผิวหนังถึงร้อยละ 90⁽¹⁾ ของวิตามินดีในร่างกาย ซึ่งอาศัยรังสี ultraviolet B (UVB) จากแสงแดดอาทิตย์มากระทบที่ผิวหนัง สาร 7-dehydrocholesterol ในผิวหนัง จะถูกเปลี่ยนไปเป็น precholecalciferol (previtamin D3) ในเวลาอันรวดเร็ว⁽²⁾ ต่อจากนั้นจะถูก isomerize ต่อที่อุณหภูมิของร่างกายได้เป็น vitamin D3 (cholecalciferol) และถูกกล้ำเลี้ยงออกจากผิวหนังไปยังตับ จากนั้นอาศัยเอนไซม์ 25-hydroxylase ซึ่งสร้างจากเซลล์ตับเปลี่ยนให้เป็น 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] หรือ calcidiol เข้าสู่ระบบไหลเวียนและไปที่ไต และทำหน้าที่เปลี่ยน calcidiol เป็น 1, 25 dihydroxyvitamin D [1, 25(OH)2D] หรือ calcitriol ซึ่งเป็นรูปแบบที่พร้อมใช้งาน (active form) ของวิตามินดี เข้าสู่ระบบไหลเวียนและเข้าสู่เนื้อเยื่อเป้าหมาย ไปยังกระบวนการเมตาบอลิซึมของแคลเซียมและกระดูก หากขาดวิตามินดีในผู้ใหญ่จะก่อให้เกิดโรคกระดูกนุ่ม (osteomalacia) แต่หากขาดวิตามินดีไม่มาก อาจเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคกระดูกพรุน ในปัจจุบันมีข้อมูลเพิ่มมากขึ้นว่าวิตามินดียังมีบทบาทในการตอบสนองต่อภาวะการอักเสบของร่างกาย (inflammatory response) การแบ่งตัวและการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation) การซ่อมแซมเซลล์ที่สึกหรอ และมีบทบาทต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ในร่างกาย ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางในแง่ความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีที่ลดลงหรือภาวะ

ขาดวิตามินดีกับกลไกการเกิดโรคต่าง ๆ นอกเหนือจากโรคทางด้านกระดูกและข้อ ยกตัวอย่าง เช่น โรคกระดูกพรุน โรคหัวใจและหลอดเลือดและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นต้น⁽³⁾

แม้ว่าประเทศไทยตั้งอยู่ใกล้เส้นศูนย์สูตรและมีแสงแดดจ้าเกือบตลอดทั้งปีและเกือบเท่ากันทั้งประเทศ แต่ข้อมูลจากการสำรวจสุขภาพประชากรไทยปี พ.ศ. 2561⁽⁴⁾ กลับพบว่าคนไทยมีระดับวิตามินดีเฉลี่ยอยู่ที่ 31.8 + 8.5 (SD) ng/mL และมีความชุกของประชากรทั่วประเทศที่มีภาวะพร่องวิตามินดี (ระดับเซรัม 25(OH)D ต่ำกว่า 30 ng/mL) สูงถึงร้อยละ 45.2 โดยในเฉพาะเขตภาคกลางพบว่ามีประชากรถึงร้อยละ 48.1 ที่มีภาวะพร่องวิตามินดี

จากกระบวนการสังเคราะห์วิตามินดี ดังข้างต้น เซลล์ตับมีบทบาทสำคัญในการสร้างวิตามินดีในรูป active form และมีข้อมูลในงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าโรคตับเองก็มีความสัมพันธ์กับภาวะขาดวิตามินดี โดยพบภาวะขาดวิตามินดีได้บ่อยในคนไข้โรคตับเรื้อรัง แต่ข้อมูลในงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงระดับวิตามินดีกับความรุนแรงของโรคตับยังไม่สอดคล้องกัน โดยบางงานวิจัยพบว่าระดับวิตามินดีจะช่วยลดการดำเนินโรคของโรคตับเรื้อรัง ในขณะที่บางงานวิจัยไม่พบความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีระหว่างผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งกับผู้ป่วยที่ไม่ได้มีภาวะตับแข็ง และการศึกษาส่วนมากมักมีข้อมูลความสัมพันธ์ของภาวะขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับที่มีภาวะคั่งของน้ำดีและโรคตับจากแอลกอฮอล์เป็นส่วนใหญ่⁽⁵⁾

ปัจจุบันมีข้อมูลการศึกษาภาวะพร่องวิตามินดีที่ส่งผลกับโรคตับมากมาย ทั้งโรคตับคั่ง

ไขมัน ภาวะภาวะตับอักเสบ พังผืดในตับ ตับแข็ง และมะเร็งตับ⁽⁶⁻⁹⁾ ซึ่งเชื่อว่าวิตามินดีมีฤทธิ์ด้านการแบ่งตัวของเซลล์ การเกิดพังผืดและ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix, ECM) ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของยีนที่ควบคุมการเกิดพังผืด ยับยั้งการสร้างพังผืดด้วยการยับยั้งการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1⁽¹⁰⁾ จึงเป็นที่คาดว่าวิตามินดีน่าจะส่งผลต่อการป้องกันการเกิดพังผืดในตับ⁽¹¹⁾

อย่างไรก็ดีแล้วแต่ ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่า ภาวะขาดวิตามินดีมีผลต่อโรคตับเรื้อรัง ทั้งภาวะตับแข็งไขมัน ภาวะพังผืดในตับ ภาวะไวรัสตับอักเสบและมะเร็งตับหรือไม่ รวมถึงยังมีข้อมูลเกี่ยวกับภาวะพร่องวิตามินดีในประชากรโรคตับในประเทศไทยเพียงเล็กน้อย รวมถึงยังไม่มีข้อมูลภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับ ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา มีเพียงการศึกษาข้อมูลผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องวิตามินดีในภาคกลางดังที่กล่าวไว้ข้างต้น สำหรับภายในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา มีงานศึกษาภาวะพร่องวิตามินดีในผู้ป่วยโรคไตภายในจังหวัด ซึ่งมีสูงถึงร้อยละ 72.7 – 94.6 และหากได้รับการค้นหาผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวและขาดวิตามินดี น่าจะส่งผลที่ดีต่อการดำเนินโรคตับเรื้อรัง

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์หลัก : เพื่อศึกษาผลของการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่พร่องวิตามินดีต่อระดับคะแนนประเมินพังผืดในตับ (liver fibrosis score)

วัตถุประสงค์รอง : เพื่อศึกษาถึงผลของการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่พร่องวิตามินดีต่อระดับค่าเอนไซม์ตับ และการดำเนินโรคของโรคตับเรื้อรัง

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีการศึกษา

เป็นการวิจัยแบบกึ่งทดลอง (Quasi - experimental research design) โดยการคัดเลือกผู้ป่วยโรคตับเรื้อรัง ที่คลินิกอายุรกรรมและคลินิกทางเดินอาหาร โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา ในช่วงวันที่ 1 เมษายน พ.ศ.2562 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ.2564

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังโรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยาที่ตรวจรักษาในคลินิกอายุรกรรมและคลินิกทางเดินอาหาร โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา

กำหนดเกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยอายุ 18-70 ปี ที่ได้รับการวินิจฉัยโรคตับเรื้อรังอย่างใดอย่างหนึ่ง ได้แก่

1.1 ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง วินิจฉัยจากการตรวจพบผลบวกของ HBsAg นานมากกว่า 6 เดือน โดยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสหรือไม่ตามข้อบ่งชี้

1.2 ไวรัสตับอักเสบบี วินิจฉัยจากการตรวจพบผลบวกของ Anti-HCV และระดับไวรัสซีมากกว่า 20 IU/ml (HCV RNA viral load > 20 IU/ml) และกำลังได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสอยู่

1.3 โรคตับคั่งไขมัน วินิจฉัยจากการตรวจรังสีวินิจฉัย

1.4 โรคตับเรื้อรังจากแอลกอฮอล์ วินิจฉัยจากประวัติการดื่มสุราโดยเฉลี่ยมากกว่า 60 กรัมต่อวันในผู้ชาย หรือ มากกว่า 20 กรัมต่อวันในผู้หญิงเป็นระยะเวลามากกว่า 10 ปีร่วมกับการตรวจร่างกายที่มีภาวะเข้าได้กับโรคตับเรื้อรังจากแอลกอฮอล์ ได้แก่ ตับโต ภาวะคั่งสารเหลือง ภาวะท้องมาน ภาวะโรคสมองจากตับ ม้ามโต

1.5 โรคตับจากภูมิคุ้มกันอักเสบ (Autoimmune hepatitis) วินิจฉัยตามเกณฑ์การวินิจฉัยมาตรฐานแบบง่าย

1.6 โรคตับอักเสบเรื้อรังจากภาวะทองแดงคั่ง หรือ ภาวะเหล็กคั่ง วินิจฉัยตามเกณฑ์การวินิจฉัยมาตรฐาน

2. มีภาวะพร่องวิตามินดี (ระดับเซรัม 25(OH)D ต่ำกว่า 30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือ ขาดวิตามินดี (ระดับเซรัม 25(OH)D ต่ำกว่า 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

กำหนดเกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

1. อาสาสมัครหญิงที่กำลังตั้งครรภ์หรือกำลังให้นมบุตร

2. อาสาสมัครที่มีประวัติการผ่าตัดกระเพาะหรือลำไส้เล็ก

3. อาสาสมัครที่มีประวัติการให้สารอาหารทางหลอดเลือดดำมาในช่วงเวลา 6 เดือน

4. อาสาสมัครที่มีภาวะตับอักเสบเรื้อรังจากการทานยา หรือได้รับยาที่ส่งผลต่อดัชนี ได้แก่ ยากลุ่ม calcium channel blocker, ฮอโมนเอสโตรเจนขนาดสูง, ยา methotrexate,

ยา amiodarone, ยา chloroquine

5. อาสาสมัครที่มีภาวะโรคไทรอยด์ต่ำ ภาวะกลุ่มอาการคุชชิง (cushing's syndrome) ภาวะไตวายระยะ 3 ปี – 5, นิ้วในไต

6. อาสาสมัครที่มีระดับแคลเซียมในเลือดมากกว่า 10.6 มิลลิกรัม ต่อเดซิลิตร

7. อาสาสมัครที่มีประวัติรับประทานวิตามินดีหรือวิตามินอีหรือแคลเซียมเสริมในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา

8. อาสาสมัครที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซี ซึ่งไม่สามารถให้การรักษาด้วยยาต้านไวรัสตามข้อบ่งชี้ได้

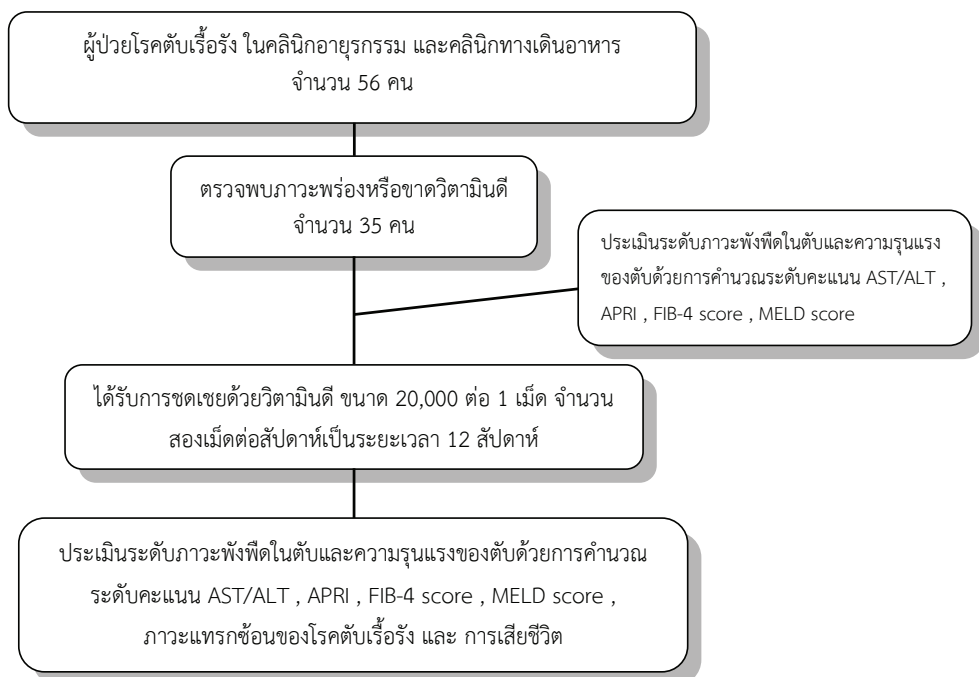
9. อาสาสมัครที่มีภาวะตับอักเสบเรื้อรังโดยมีค่าเอนไซม์ในตับสูง (ระดับ Alanine transaminase; ALT สูงมากกว่า 2 เท่าของค่าปกติ) อย่างน้อย 2 ครั้งห่างกันนานเกิน 6 เดือน โดยไม่พบสาเหตุชัดเจน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ผู้ป่วยโรคตับเรื้อรัง ที่ไม่อยู่ในเกณฑ์คัดออกรวมทั้งสิ้นจำนวน 56 รายจะได้รับการซักประวัติและตรวจร่างกายโดยละเอียดโดยแพทย์ รวมถึงการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานและส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับวิตามินดี [Vitamin D level; 25(OH)D] โดยพบผู้ป่วยที่ตรวจพบภาวะพร่องวิตามินดี (ระดับเซรัม 25(OH)D ต่ำกว่า 30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือ ขาดวิตามินดี (ระดับเซรัม 25(OH)D ต่ำกว่า 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยในการศึกษาวิจัยนี้วัดโดยวิธี chemiluminescence ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการ

วัดระดับวิตามินดี โดยมีจำนวนผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์ 36 ราย ซึ่งจะได้รับการเสนอให้เข้าร่วมงานวิจัย โดยให้อาสาสมัครอ่านคำชี้แจง เปิดโอกาสให้อาสาสมัครซักถามจนเข้าใจแล้วจึงลงนามในใบยินยอม โดยอิสระ และทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมได้แก่ ค่าทำงานของตับ (Liver biochemical Test) ระดับวิตามินดี [Vitamin D level; 25(OH)D] ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count) การแข็งตัวของเลือด (PT, aPTT, INR) ระดับเกลือแร่ในร่างกาย (Electrolytes, calcium) ระดับการทำงานของไต (Blood urea nitrogen, Creatinine) เพื่อนำมาคำนวณประเมินภาวะพังผืดในตับด้วยวิธี aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI), the AST/alanine aminotransferase (ALT) ratio, the FIB-4 score, MELD score และได้รับวิตามิน

ดีเสริมในรูปแบบของวิตามินดี 2 (vitamin D₂ ; Calciferol) ขนาด 20,000 IU ต่อ 1 เม็ด จำนวนสองเม็ดต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ตามข้อแนะนำเกี่ยวกับภาวะขาดวิตามินดีในคนไทย โดยสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย ที่แนะนำให้ชดเชยด้วย vitamin D₂ 40,000-60,000 IU/สัปดาห์)⁽¹²⁾ ผู้ป่วยที่ติดตามการรักษาครบระยะเวลาการวิจัยจะได้รับการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินภาวะพังผืดในตับซ้ำ และประเมินอัตราการเสียชีวิตทั้งที่เกี่ยวกับโรคตับและไม่เกี่ยวข้อง (All-cause mortality and Liver-related mortality) การเกิดผลแทรกซ้อนของโรคตับเรื้อรังเช่น ภาวะความดันพอร์ทัลสูง การเกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) (ผังงานที่ 1)



ผังงานที่ 1 แสดงขั้นตอนการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการวิจัยครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา คือ การแจกแจงค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variances) การวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลจาก ข้อมูลในกลุ่มเดียวกันเชิงปริมาณที่มีการจับคู่กันโดยใช้สถิติ paired t-test เปรียบเทียบข้อมูลเชิงคุณภาพก่อนและหลังการชดเชยด้วยวิตามินดีโดยใช้สถิติ McNemar's test โดยบันทึกในรูปแบบแฟ้มข้อมูลด้วย โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS และทำการทดสอบ ความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

การพิทักษ์สิทธิและจริยธรรมการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ผ่านการพิจารณาและได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมเกี่ยวกับการวิจัยในมนุษย์ของโรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา เลขที่ 007/2562 ลงวันที่ 31 มีนาคม 2564

ผลการศึกษา

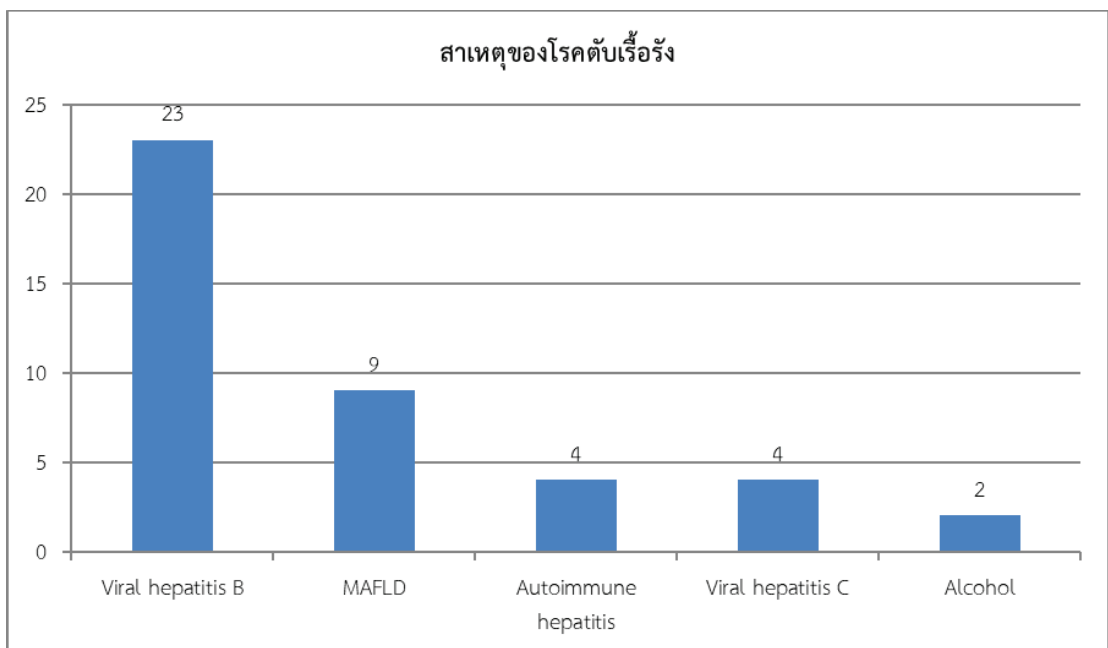
จากการสุ่มตัวอย่างผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่ผ่านเข้าเกณฑ์การคัดเข้าในคลินิกอายุรกรรมและคลินิกทางเดินอาหารในโรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยาในช่วงปี พ.ศ.2562 – พ.ศ.2564 จำนวน 56 ราย ตรวจพบระดับวิตามินดีบกพร่องหรือขาดวิตามินดี จำนวน 35 ราย ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง จำนวน 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 57.14 โดยเฉลี่ยอายุ 56.71 ปี มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 66.09 ± 14.26 กิโลกรัม และมีดัชนีมวลกายเฉลี่ย 25.28 ± 4.56 กิโลกรัม/เมตร² โดยส่วนใหญ่พบโรค

ประจำตัวร่วมด้วย ซึ่งโรคประจำตัวที่พบร่วมด้วยมากที่สุดคือภาวะความดันโลหิตสูง 18 ราย (ร้อยละ 51.43) รองลงมาเป็นภาวะเบาหวาน จำนวน 8 ราย (ร้อยละ 22.86) ในจำนวนนี้มีภาวะตับแข็งร่วมด้วย 16 ราย (ร้อยละ 45.71) (ตาราง 1) โดยสาเหตุของภาวะโรคตับเรื้อรังในผู้ป่วยในงานวิจัยนี้ส่วนมากเกิดจากภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 23 ราย (ร้อยละ 65.71) รองลงมาเกิดจากภาวะไขมันคั่งตับ จำนวน 9 ราย (ร้อยละ 25.71) (กราฟที่ 1) โดยมีภาวะมะเร็งตับร่วมด้วย 1 ราย สำหรับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีได้รับการรักษาด้วยการทานยาต้านไวรัสจำนวน 16 ราย (ร้อยละ 69.57) ส่วนมากได้รับยาต้านไวรัสชนิด Lamivudine ร้อยละ 39.13 ระดับภาวะอักเสบของตับจากการประเมินด้วยค่า AST, ALT โดยเฉลี่ยอยู่ในระดับที่สูงเล็กน้อย คือ AST เฉลี่ยอยู่ที่ 39.79 ± 20.82 U/L และ ALT เฉลี่ยอยู่ที่ 32.62 ± 21.98 U/L ในขณะที่ระดับ albumin และ Na อยู่ในเกณฑ์ปกติ คือ 4.32 ± 0.46 g/dl และ 139.44 ± 2.84 mmol/L ตามลำดับ เมื่อประเมินระดับความรุนแรงของภาวะพังผืดในตับด้วยระบบคะแนน พบว่าผู้ป่วยมีค่าเฉลี่ยเมื่อคำนวณด้วยวิธี aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI) อยู่ที่ 0.76 ± 0.62 เมื่อคำนวณด้วยวิธี the AST/alanine aminotransferase (ALT) ratio อยู่ที่ 1.35 ± 0.52 และเมื่อคำนวณด้วยวิธี the FIB-4 score มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2.74 ± 2.19 (ตาราง 2) และเมื่อนำมาแปลผลโดยใช้เกณฑ์ระดับ APRI > 1.5 หมายถึงภาวะตับแข็ง APRI = 0.5-1.5 หมายถึง มีภาวะพังผืดในตับชัดเจน และ APRI <

0.5 หมายถึงไม่มี หรือ มีพังผืดในตับเพียงเล็กน้อย โดยประเมินร่วมกับ FIB-4 score ที่มากกว่า 3.25 ถือว่ามีภาวะตับแข็ง จะพบผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็ง จากการคำนวณอยู่ 11 ราย (ร้อยละ 31.43) ในขณะที่ผู้ป่วยส่วนมาก ร้อยละ 57.14 ไม่มีภาวะตับแข็งหรือมีเพียงเล็กน้อย ซึ่งใกล้เคียงกับการประเมินตับแข็งจากการตรวจทางรังสีวินิจฉัย (ultrasound abdomen หรือ Computerized

Tomography abdomen) ที่พบภาวะตับแข็งอยู่ 15 ราย (ร้อยละ 42.86) และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งทุกราย มีระดับความรุนแรงของตับแข็ง (ประเมินด้วยระดับ Child-Pugh score) ส่วนใหญ่อยู่ในระดับ A มีเพียง 2 รายที่อยู่ในระดับ B (ร้อยละ 18) และไม่มีผู้ป่วยรายใดในการศึกษานี้ ที่มีภาวะตับแข็งระดับ C โดยมีค่าเฉลี่ยระดับคะแนนอยู่ที่ 5.64 ± 1.03

กราฟที่ 1 แสดงสาเหตุของโรคตับเรื้อรัง



ตาราง 1 แสดงปัจจัยข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน		ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยระหว่างควอร์ไทล์)
ข้อมูลเบื้องต้น		
อายุ (ปี)	56.71 $\pm$ 10.39	
เพศ (จำนวน ; ร้อยละ)		
ชาย	15 (42.86)	
หญิง	20 (57.14)	
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	65.92 $\pm$ 14.08	
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	161.26 $\pm$ 9.58	
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/เมตร ²)	25.28 $\pm$ 4.56	
ระดับ Cortisol (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)		6.5 (5 - 9.5)
ระดับ ESR (มิลลิเมตร/ชั่วโมง)		24 (17 - 41)
โรคประจำตัวร่วม		จำนวน (ร้อยละ)
โรคเบาหวาน	8 (22.86%)	
โรคความดันโลหิตสูง	18 (51.43%)	
ภาวะไขมันในเลือดสูง	13 (37.14%)	
โรคหลอดเลือดสมอง	1 (2.86%)	
โรคหลอดเลือดหัวใจ	1 (2.86%)	
ภาวะตับแข็ง (วินิจฉัยจากรังสีวินิจฉัย)	16 (45.71%)	

ในผู้ป่วยโรคตับ ที่ตรวจพบภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดีในการศึกษานี้ มีระดับวิตามินดีตั้งต้นเฉลี่ย 22.78 $\pm$ 4.64 ng/ml และเมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี จะมีระดับวิตามินดีตั้งต้นเฉลี่ย 22.62 $\pm$ 4.09 ng/ml ผู้ป่วยทุกรายได้รับการให้วิตามินดี 2 (vitamin D₂; Calciferol) ขนาด 20,000 IU ต่อ 1 เม็ด จำนวนสองเม็ดต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ หลังจากได้รับวิตามินดีครบ ผู้ป่วยทุกรายมีระดับวิตามินดีในเลือดอยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยมีระดับวิตามินดีเฉลี่ย 36.87 $\pm$ 7.86 ng/ml (เพิ่มขึ้นจากเดิมเฉลี่ย 14.09 $\pm$ 8.41 ng/ml; p-value < 0.01) เมื่อประเมินค่าเฉลี่ยผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับความสมบูรณ์

เม็ดเลือด ระดับค่าการทำงานของตับ ระดับเกลือแร่ โซเดียม และค่าครีเอตินิน อยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากภาวะก่อนที่ผู้ป่วยจะได้รับวิตามินดีชัดเจน คือ มีระดับเม็ดเลือดขาว (white blood cell count) 6,555.59 $\pm$ 1,993.88 cell/mm³ (ลดลง 95.00 $\pm$ 1,212.79 cell/mm³; p-value =0.651) ระดับเกล็ดเลือด 186,911.76 $\pm$ 76,504.06 cell/mm³ (ลดลง 4,617.65 $\pm$ 20,802.12 ; p-value =0.205) ระดับ AST 41.00 $\pm$ 25.17 U/L (เพิ่มขึ้น 1.21 $\pm$ 20.03 U/L ; p-value =0.728), ระดับ ALT 32.26 $\pm$ 21.4 U/L (ลดลง 0.35 $\pm$ 8.98 U/L ; P-value =0.820) ระดับ Albumin 4.35 $\pm$ 0.48 g/dl (เพิ่มขึ้น 0.03 $\pm$ 0.31; p-value =0.545) และเมื่อประเมินความรุนแรงของตับในแง่ภาวะพังผืด

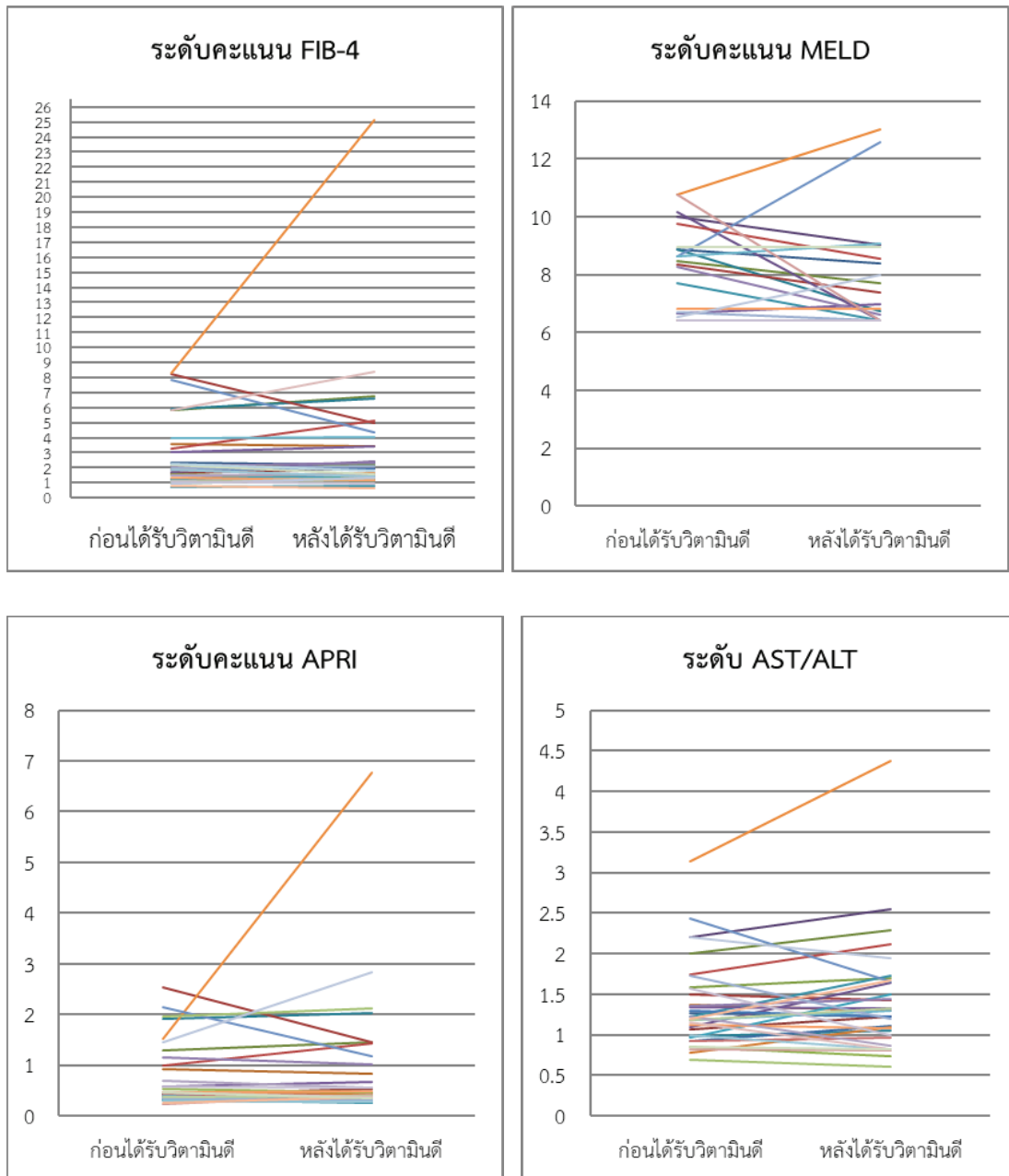
ในตับ โดยใช้ระดับคะแนน APRI, AST/ALT ratio และ FIB-4 score พบว่า หลังได้รับการชดเชยวิตามินดีจนมีระดับปกติ ระดับคะแนนที่บ่งชี้ถึงภาวะพังผืดในตับ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับก่อนการชดเชยด้วยวิตามินดี โดยค่า APRI มีค่าเฉลี่ย 0.91 ± 1.21 (เพิ่มขึ้น 0.15 ± 0.97 ; p-value = 0.361) ค่า AST/ALT ratio มีค่าเฉลี่ย 1.41 ± 0.69 (เพิ่มขึ้น 0.6 ± 0.38 ; p-value = 0.355) และค่า FIB-4 score มีค่าเฉลี่ย 3.25 ± 4.30 (เพิ่มขึ้น 0.51 ± 3.08 ; p-value = 0.340) (กราฟที่ 2) และเมื่อทำการจัดกลุ่มแบ่งแยกระดับความรุนแรงของภาวะพังผืดในตับ พบว่ามีผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งจำนวน 11 ราย (ร้อยละ 32.35) กลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะพังผืดในตับชัดเจน 3 ราย (ร้อยละ 8.82) และกลุ่มที่มีภาวะพังผืดเล็กน้อย หรือไม่มีพังผืดจำนวน 11 ราย (ร้อยละ 32.35) โดยมีการเปลี่ยนแปลงเชิงเพิ่มขึ้นจากมีภาวะพังผืดเล็กน้อยหรือไม่มีพังผืด กลายเป็นมีภาวะพังผืดในตับชัดเจน 1 ราย และจากกลุ่มที่มีภาวะพังผืดในตับชัดเจน เป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งจำนวน 1 ราย มีการเปลี่ยนแปลงเชิงลดลงจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะพังผืดในตับชัดเจน เป็น

กลุ่มมีภาวะพังผืดเล็กน้อย หรือไม่มีพังผืดจำนวน 1 ราย เมื่อทำการประเมินความรุนแรงของตับด้วยระดับคะแนน MELD score (Model For End-Stage Liver Disease) พบว่าโดยเฉลี่ยผู้ป่วยก่อนการรักษา มีระดับคะแนนเฉลี่ย 7.58 ± 1.46 และเมื่อได้รับการชดเชยวิตามินดีจนเป็นปกติ มีค่าเฉลี่ยระดับคะแนนอยู่ที่ 7.30 ± 1.64 (ลดลง 0.27 ± 1.41 ; p-value = 0.268) (ตาราง 2) เมื่อศึกษาการตรวจทางรังสีวินิจฉัยด้วยการตรวจอัลตราซาวด์ช่องท้อง (ultrasonography abdomen) หรือเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ช่องท้อง (CT abdomen) เทียบก่อนและหลังการได้รับวิตามินดี พบว่ามีผู้ป่วยที่มีลักษณะของตับแข็งจากทางรังสีไม่แตกต่างไปจากเดิม มีการพบก้อนในตับ (liver nodule) เพิ่มขึ้น 2 ราย มีการรายงานผลตรวจพบลักษณะที่เข้าได้กับภาวะตับคั่งไขมันลดลงไป 4 ราย ในขณะที่มีผู้ป่วย 1 รายตรวจพบมะเร็งตับก่อนการได้รับวิตามินดีชดเชย และหลังได้รับวิตามินดีชดเชยพบว่าขนาดของมะเร็งตับลดลง (จากขนาดก้อนมะเร็งตับเฉลี่ย 5.7 เซนติเมตร ลดลงเหลือ 4.3 เซนติเมตร)

ตาราง 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงก่อน-หลังการชดเชยวิตามินดี

	ก่อนการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)	หลังการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ผลต่างการชดเชย วิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	P- value
ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ				
Complete blood count				
Hemoglobin (ก./ดล.)	13.12 $\pm$ 1.56	13.34 $\pm$ 1.64	0.22 $\pm$ 0.76	0.101
Hematocrit (%)	39.37 $\pm$ 4.52	40.2 $\pm$ 4.59	0.83 $\pm$ 2.35	0.047
White blood cell (เซลล์/มม ³)	6,650.59 $\pm$ 1,973.04	6,555.59 $\pm$ 1,993.88	-95.00 $\pm$ 1,212.79	0.651
Neutrophil (%)	57.13 $\pm$ 8.78	55.38 $\pm$ 9.90	-1.75 $\pm$ 9.08	0.268
Lymphocyte (%)	31.14 $\pm$ 8.38	32.78 $\pm$ 9.04	1.63 $\pm$ 7.57	0.218
Platelet (เซลล์/มล.)	191,529.41 $\pm$ 71,777.53	186,911.76 $\pm$ 76,504.06	-4,617.65 $\pm$ 20,802.12	0.205
Liver function test				
AST (U/L)	39.79 $\pm$ 20.82	41.00 $\pm$ 25.17	1.21 $\pm$ 20.03	0.728
ALT (U/L)	32.62 $\pm$ 21.98	32.26 $\pm$ 21.4	-0.35 $\pm$ 8.98	0.820
Albumin (ก./ดล.)	4.32 $\pm$ 0.46	4.35 $\pm$ 0.48	0.03 $\pm$ 0.31	0.545
Globulin (ก./ดล.)	3.76 $\pm$ 0.73	3.76 $\pm$ 0.66	0 $\pm$ 0.37	0.964
Total bilirubin (มก./ดล.)	0.78 $\pm$ 0.50	0.91 $\pm$ 0.86	0.13 $\pm$ 0.53	0.156
Direct bilirubin (มก./ดล.)	0.22 $\pm$ 0.54	0.22 $\pm$ 0.51	0 $\pm$ 0.56	0.993
INR	0.96 $\pm$ 0.13	0.94 $\pm$ 0.09	-0.02 $\pm$ 0.12	0.323
Biochemistry				
Na (U/L)	139.44 $\pm$ 2.84	138.88 $\pm$ 1.92	-0.56 $\pm$ 3.40	0.344
Ca (มก./ดล.)	9.35 $\pm$ 0.53	9.45 $\pm$ 0.55	0.10 $\pm$ 0.54	0.270
BUN (มก./ดล.)	14.15 $\pm$ 3.63	13.91 $\pm$ 3.99	-0.24 $\pm$ 3.82	0.722
Cr (มก./ดล.)	0.84 $\pm$ 0.28	0.81 $\pm$ 0.23	-0.03 $\pm$ 0.11	0.103
ระดับวิตามินดีในเลือด (นก./มล.)	22.78 $\pm$ 4.64	36.87 $\pm$ 7.86	14.09 $\pm$ 8.41	<0.001
AFP (IU/ml)	6.39 $\pm$ 17.65	6.26 $\pm$ 18.38	-0.13 $\pm$ 1.46	0.601
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	66.09 $\pm$ 14.26	66.51 $\pm$ 14.02	0.42 $\pm$ 3.44	0.477
ระบบคะแนนพังผืด				
MELD	7.58 $\pm$ 1.46	7.30 $\pm$ 1.64	-0.27 $\pm$ 1.41	0.268
FIB-4	2.74 $\pm$ 2.19	3.25 $\pm$ 4.30	0.51 $\pm$ 3.08	0.340
APRI	0.76 $\pm$ 0.62	0.91 $\pm$ 1.21	0.15 $\pm$ 0.97	0.361
AST/ALT	1.35 $\pm$ 0.52	1.41 $\pm$ 0.69	0.6 $\pm$ 0.38	0.355
ระดับพังผืด	จำนวน (ร้อยละ)			
ไม่มีพังผืดระดับน้อย	20 (57.14)	20 (58.82)		
พังผืดระดับชัดเจน	4 (11.43)	3 (8.82)		
ตับแข็ง	11 (31.43)	11 (32.35)		

กราฟที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับคะแนนพังผืดในตับก่อน-หลัง ชดเชยด้วยวิตามินดี



เมื่อศึกษาเฉพาะผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่เกิดจากสาเหตุไวรัสตับอักเสบบีทั้งหมดจำนวน 23 รายพบว่า มีระดับความเข้มข้นของเลือด (hematocrit) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มจากก่อนได้รับ

วิตามินดีชดเชย ที่ระดับเฉลี่ยร้อยละ 40.30 ± 4.55 เพิ่มขึ้นร้อยละ 41.11 ± 4.47 (เพิ่มขึ้นร้อยละ 0.81 ± 1.76 ; p-value = 0.037) ระดับเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) ลดลงอย่างมี

นัยสำคัญ โดยลดจากก่อนได้รับวิตามินดีชดเชย ที่ระดับเฉลี่ยร้อยละ 56.26 ± 7.10 เป็นร้อยละ 52.74 ± 9.12 (ลดลงร้อยละ 0.81 ± 1.76 ; p -value = 0.037) และระดับแคลเซียมสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉลี่ยเพิ่มเป็น 9.60 ± 0.41 mg/dL จากเดิมที่มีภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดี มีระดับแคลเซียมเฉลี่ยที่ 9.37 ± 0.38 mg/dL (p -value = 0.020) ระดับผลการทำงานของตับ และค่าการทำงานของไต ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งก่อนและหลังการชดเชยด้วย

วิตามินดี และเมื่อทำการประเมินภาวะพังผืดในตับ ด้วยระบบคะแนน ทั้ง APRI, AST/ALT ratio, และ FIB-4 score พบว่า ระดับพังผืดในตับมีแนวโน้มสูงขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่ความรุนแรงของตับ ในรูปแบบ MELD score มีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงระดับจำนวนเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV DNA viral load) ก็ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 3)

ตาราง 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงก่อน-หลังการชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

	ก่อนการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)	หลังการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)	ผลต่างการชดเชย วิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	P - value
ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ				
Complete blood count				
Hemoglobin (ก./ดล.)	13.42 ± 1.61	13.63 ± 1.62	0.21 ± 0.51	0.062
Hematocrit (%)	40.30 ± 4.55	41.11 ± 4.47	0.81 ± 1.76	0.037
White blood cell (เซลล์/มม ³)	$7,031.74 \pm 1,932.06$	$6,609.57 \pm 1,850.05$	$-422.17 \pm 1,094.15$	0.078
Neutrophil (%)	56.26 ± 7.10	52.74 ± 9.12	-3.52 ± 7.22	0.029
Lymphocyte (%)	31.83 ± 7.34	34.75 ± 8.08	2.93 ± 5.90	0.026
Platelet (เซลล์/มล.)	$208,000.00 \pm 65,788.92$	$206,217.39 \pm 65,046.81$	$-1,782.61 \pm 20,777.95$	0.685
Liver function test				
AST (U/L)	33.83 ± 9.53	31.83 ± 7.17	-2.00 ± 6.06	0.128
ALT (U/L)	30.39 ± 11.11	29.17 ± 11.02	-1.22 ± 8.42	0.495
Albumin (ก./ดล.)	4.47 ± 0.32	4.48 ± 0.35	0.01 ± 0.31	0.894
Globulin (ก./ดล.)	3.50 ± 0.45	3.57 ± 0.49	0.07 ± 0.33	0.357
Total bilirubin (มก./ดล.)	0.59 ± 0.30	0.62 ± 0.21	0.02 ± 0.26	0.648
Direct bilirubin (มก./ดล.)	0.07 ± 0.08	0.09 ± 0.07	0.02 ± 0.09	0.359
INR	0.94 ± 0.14	0.91 ± 0.06	-0.03 ± 0.14	0.295
Biochemistry				
Na (U/L)	139.74 ± 2.86	139.09 ± 2.13	-0.65 ± 3.30	0.353
Ca (มก./ดล.)	9.37 ± 0.38	9.60 ± 0.41	0.23 ± 0.44	0.020
BUN (มก./ดล.)	15.13 ± 3.43	15.26 ± 3.8	0.13 ± 3.72	0.868
Cr (มก./ดล.)	0.84 ± 0.27	0.82 ± 0.25	-0.01 ± 0.10	0.537

ตาราง 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงก่อน-หลังการชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (ต่อ)

	ก่อนการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)	หลังการชดเชยวิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)	ผลต่างการชดเชย วิตามินดี (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	P- value
ระดับวิตามินดีในเลือด (นก./มล.)	22.62 $\pm$ 4.09	36.16 $\pm$ 8.42	13.53 $\pm$ 8.41	<0.001
AFP (IU/ml)	7.51 $\pm$ 21.41	7.67 $\pm$ 22.34	0.16 $\pm$ 0.97	0.425
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	65.91 $\pm$ 13.53	66.66 $\pm$ 14.28	0.75 $\pm$ 3.27	0.284
ข้อมูลการรักษาไวรัสตับ อักเสบบี				
ยาที่ได้รับ				
ไม่ได้รับยาต้านไวรัส	7 (30.43)	7 (30.43)		
ได้รับยา Lamivudine	9 (39.13)	9 (39.13)		
ได้รับยา Tenofovir	4 (17.39)	4 (17.39)		
ได้รับยา Telbivudine	3 (13.04)	3 (13.04)		
ระดับเชื้อไวรัส (IU/ml)	1,585.89 $\pm$ 5,393.09	21,652,204.01 $\pm$ 103,840,171.64	21,650,618.12 $\pm$ 103,838,099.06	0.328
ระบบคะแนนพังผืด				
MELD	7.25 $\pm$ 1.32	6.84 $\pm$ 0.89	-0.41 $\pm$ 1.02	0.067
FIB-4	2.09 $\pm$ 1.73	1.96 $\pm$ 1.37	-0.13 $\pm$ 0.76	0.426
APRI	0.59 $\pm$ 0.54	0.54 $\pm$ 0.41	-0.06 $\pm$ 0.23	0.261
AST/ALT	1.19 $\pm$ 0.34	1.20 $\pm$ 0.40	-0.01 $\pm$ 0.29	0.884
ระดับพังผืด	จำนวน (ร้อยละ)			
ไม่มีพังผืดระดับน้อย	17 (73.91)	17 (73.91)		
พังผืดระดับชัดเจน	3 (13.04)	3 (13.04)		
ตับแข็ง	3 (13.04)	3 (13.04)		

ในผู้ป่วยทุกรายไม่พบผลแทรกซ้อนที่เกิดจากภาวะโรคตับเรื้อรัง เช่นภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะเลือดออกจากเส้นเลือดดำโป่งพองในหลอดอาหาร ภาวะท้องมาน ภาวะตับแข็ง และภาวะไตวาย ในระหว่างที่เข้าร่วมการศึกษามีผู้ป่วย 1 ราย เสียชีวิตก่อนครบการศึกษา ซึ่งเป็นผู้ป่วยโรคตับจากภูมิคุ้มกันอักเสบ โดยเสียชีวิตจากภาวะปอดอักเสบและติดเชื้อในกระแสเลือด ผู้ป่วยในการศึกษานี้ทั้งหมดไม่พบภาวะแทรกซ้อนใด ๆ จากการได้รับวิตามินดีชดเชย

วิจารณ์

งานวิจัยเกี่ยวกับโรคตับเรื้อรังกับภาวะวิตามินดียังมีไม่มากนัก และผลการศึกษายังไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากความแตกต่างกันในแง่รูปแบบการวิจัย ลักษณะวิตามินดีที่ได้รับการชดเชย และการศึกษาทางพันธุกรรม (genetic polymorphisms) ของผู้ป่วยแต่ละรายที่ส่งผลต่อผลลัพธ์ของวิตามินดี⁽¹³⁾ และข้อมูลโดยส่วนมากมักจะเป็นการศึกษาผลของวิตามินดีต่อโรคตับเรื้อรังที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี หรือเกิด

จากภาวะดื้ออินซูลินเป็นหลักเนื่องจากพบอุบัติการณ์ของภาวะพร่องวิตามินดีในผู้ป่วยดื้ออินซูลินสูงถึงร้อยละ 20-30 และภาวะพร่องวิตามินดีจะส่งผลให้เกิดภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance) โดยกระตุ้นการเปลี่ยน โปรอินซูลิน (proinsulin) เป็นอินซูลิน (insulin) ทำให้เกิดภาวะโรคเบาหวานตามมา และวิตามินดียังเป็นตัวควบคุมหลักของเซลล์ไขมัน (adipocyte) ทำให้มีผลต่อกลไกการเกิดภาวะดื้ออินซูลิน

ในศึกษา¹¹ แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่มีภาวะบกพร่องหรือขาดวิตามินดี และได้รับการชดเชยวิตามินดีด้วยการรับประทานวิตามินดี 2 (calciferol) ขนาด 20,000 IU ต่อ 1 เม็ด จำนวนสองเม็ดต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ มีการตอบสนองต่อการให้วิตามินดีได้ดี ผู้ป่วยทุกรายมีระดับวิตามินดีกลับมาอยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งหมดโดยระดับวิตามินดีเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 14.09 ± 8.41 ng/ml และไม่มีผลข้างเคียงจากการรับประทานวิตามินดี ผู้ป่วยในการศึกษานี้มีสาเหตุจากโรคตับเรื้อรังหลากหลาย ส่วนใหญ่เกิดจากภาวะไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการในส่วนความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ผลตรวจทางเคมี ทั้งค่าเกลือแร่ในร่างกาย การทำงานของไต และผลการทำงานของตับหลังได้รับการชดเชยด้วยวิตามินดีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับการชดเชยด้วยวิตามินดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยส่วนใหญ่ก่อนหน้านี้ที่มีการชดเชยวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่เกิดจากสาเหตุดื้ออินซูลิน บกพร่องวิตามินดี โดยผลการศึกษาไม่ได้ลดความรุนแรงของโรคตับทั้งในแง่ความไวของ

อินซูลิน ปริมาณไขมันในตับ ความรุนแรงของการอักเสบของตับ หรือการเกิดพังผืดในตับ ประเมินจากการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ และตรวจ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่องท้อง (MRI liver) ประเมิน hepatic fat fraction ซึ่งผู้วิจัยได้ให้ข้อเสนอว่าหากเกิดการอักเสบของตับเรื้อรังแล้วการให้วิตามินดีภายหลังอาจจะไม่สามารถแก้ไขภาวะหรือลดการอักเสบได้ ดังนั้นการให้วิตามินดีตั้งแต่เนิ่น ๆ เพื่อป้องกันการพร่องหรือขาดวิตามินดีในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงที่จะเกิดภาวะดื้ออินซูลิน อาจจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการอักเสบของตับได้ดีกว่าการให้ชดเชยเมื่อเกิดภาวะดื้ออินซูลินไปแล้ว⁽¹⁴⁾ ในขณะที่บางการศึกษากลับพบว่าการชดเชยวิตามินดีทำให้ระดับของไขมันพอกตับและเอนไซม์ตับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ ซึ่งลักษณะรูปแบบการวิจัยที่แตกต่างกันคือจำนวนประชากรที่มีภาวะขาดวิตามินดี (ระดับวิตามินดี <15 ng/mL) มีมากกว่า ประกอบกับผู้เข้าร่วมงานวิจัยยังได้รับการควบคุมน้ำหนักตลอดช่วงที่ทำการวิจัย ผู้ป่วยทั้งหมดเกิดจากสาเหตุดื้ออินซูลิน รวมทั้งได้รับการชดเชยวิตามินดีเป็นระยะเวลานานมากกว่าคือ 20 สัปดาห์ ในขณะที่งานวิจัยฉบับนี้ ผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังส่วนมากเกิดจากภาวะไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง นอกจากปัจจัยข้างต้นแล้ว อาจเกิดจากรูปแบบวิตามินดีในร่างกายที่อยู่ในรูปแบบอิสระ (Free 25-(OH)D) ซึ่งมักไม่ได้ประเมินและส่งตรวจในทางเวชปฏิบัติทั่วไปซึ่งมีส่วนต่อการรักษาสมาดุลระดับแคลเซียมและฮอร์โมนพาราไทรอยด์ และวิตามินดีในรูปแบบอิสระนี้ อาจมีผลกระทบต่อระดับการอักเสบของตับเช่นกัน⁽¹⁷⁾

สำหรับข้อมูลภาวะขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าระดับวิตามินดีจะสัมพันธ์โดยตรงกับระดับ albumin และปริมาณเกล็ดเลือด และจะสัมพันธ์ผกผันกับระดับ ALT ซึ่งอธิบายจากการลดลงของตัวจับวิตามินดี (vitamin D binding protein) และการสร้าง albumin ในตับที่ลดลง และการสูญเสียประสิทธิภาพในการ Hydroxylation ของวิตามินดีภายในตับให้เป็นรูปแบบ calcidiol หรือ 25-(OH)D⁽⁷⁾ แม้ว่าในการศึกษานี้จะไม่พบถึงความแตกต่างของระดับ ALT, albumin และปริมาณเกล็ดเลือดก่อนและหลังการชดเชยด้วยวิตามินดี ซึ่งมีผลการศึกษาล้ำกับงานวิจัยบางฉบับ⁽¹⁸⁾ ซึ่งอธิบายจากการที่ภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดี เกิดจากหลายปัจจัย ระดับวิตามินดีมีการแปรผันระหว่างช่วงระยะเวลาและการเจาะตรวจ ประกอบกับผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีส่วนใหญ่ในการศึกษานี้อยู่ในระยะสงบ

จากผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ เมื่อนำระดับผลทางห้องปฏิบัติการมาคำนวณประเมินความรุนแรงในแง่ระดับพังผืดในตับ พบว่าทั้งก่อนและหลังการชดเชยด้วยวิตามินดี ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าข้อมูลงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาถึงกลไกของการชดเชยวิตามินดีต่อภาวะพังผืดของตับ มักเป็นงานวิจัยในหลอดทดลอง โดยแสดงผลของวิตามินดีต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (innate immunity) กระตุ้นโปรตีนที่ต่อต้านแบคทีเรีย และกระบวนการฟาโกไซโทซิสของเซลล์แมคโครฟาจ ลดการแสดงออกของ toll-like receptor (TLR) ชนิด TLR2, TLR4 และ TLR9 ในเซลล์โมโนไซต์ ซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการควบคุมภาวะอักเสบและการเกิดพังผืดในเซลล์ตับ

และจากการทดลองในหนูทดลอง พบว่าวิตามินดีมีคุณสมบัติในการยับยั้งพังผืดของตับด้วยหลายกลไก ได้แก่การยับยั้งการทำงานและแบ่งตัวของ hepatic stellate cells และลดการสะสมของเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix)⁽¹³⁾ แต่ในการทดลองล่าสุดกลับพบว่า วิตามินดีในรูปแบบแอสทีย 1 α , 25(OH)₂D กลับป้องกันพังผืดในตับได้เฉพาะในหลอดทดลองแต่ไม่สามารถยับยั้งภาวะตับแข็งได้ในหนูทดลอง⁽¹⁹⁾

งานวิจัยฉบับนี้มีข้อได้เปรียบที่เป็นการวิจัยแบบกึ่งทดลอง เป็นการศึกษาในผู้ป่วยในแผนกผู้ป่วยนอกที่มีการติดตามผู้ป่วยประเมินทั้งก่อน และหลังการให้วิตามินดีชดเชย และผู้ป่วยทุกรายให้ความร่วมมือและมาติดตามการรักษา แต่เนื่องจากโรงพยาบาลมีข้อจำกัดในการส่งตรวจและเข้าถึงการวินิจฉัยบางอย่าง ทำให้การประเมินพังผืดในตับไม่สามารถส่งตรวจด้วยวิธีที่แม่นยำ และตรวจพบการเปลี่ยนแปลงที่ไวมากกว่า เช่น transient elastography (TE) หรือการตรวจในทางพยาธิวิทยา (liver biopsy) และข้อมูลการใช้ FIB-4 หรือ APRI score มักมีข้อมูลที่กล่าวถึงประโยชน์ในการใช้เพื่อคัดกรองประเมินความเสี่ยงในการเกิดพังผืดมากกว่าการประเมินความรุนแรงของการเกิดพังผืดรวมถึงเกณฑ์ที่บ่งชี้ระดับความรุนแรงในการเกิดพังผืดในตับมีระดับคะแนนค่อนข้างกว้างรวมถึงมักนิยมใช้กับผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบบีหรือภาวะโรคตับคั่งไขมันมากกว่า ในขณะที่ข้อมูลการประเมินพังผืดในตับสำหรับโรคไวรัสตับอักเสบบีด้วยระดับ FIB-4 หรือ APRI score ยังมีไม่มากนัก และค่าที่เป็นเกณฑ์กำหนดระดับพังผืดสำหรับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบียังไม่มีเกณฑ์ที่เป็นมาตรฐาน อีกปัจจัยหนึ่งที่

ทำให้งานวิจัยฉบับนี้ไม่พบความแตกต่างหลังการชดเชยวิตามินดีไม่มาก แม้ว่าระดับ ALT จะลดลงเพียงเล็กน้อยและไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อาจจะเนื่องจากผู้ป่วยส่วนมากอยู่ในภาวะสงบและระดับความรุนแรงของตับประเมนจากภาวะพังผืดในตับ ระดับการอักเสบจากค่าผลทางห้องปฏิบัติการ (AST/ALT) และระดับคะแนน MELD score อยู่ในระดับที่ไม่รุนแรง สำหรับการศึกษาในอนาคตที่อาจพัฒนาต่อยอดคือการศึกษาในกลุ่มประชากรผู้ป่วยโรคตับแบบแยกสาเหตุโรคตับชัดเจน เนื่องจากผู้ป่วยโรคตับบางอย่างอาจมีผลต่อการตอบสนองจากการชดเชยวิตามินดีที่แตกต่างกัน การเพิ่มขนาดวิตามินดีที่ชดเชยให้มากขึ้น รวมถึงเพิ่มระยะเวลาที่ชดเชยวิตามินดีและเพิ่มระยะเวลาติดตามการศึกษาให้ยาวนานมากขึ้น เพื่อประเมินผลลัพธ์ในระยะยาวในระยะเวลา 3-5 ปี ปรับเปลี่ยนการประเมินพังผืดในตับโดยตรงด้วยการใช้เครื่องมือ Transient elastography แทนการใช้การคำนวณด้วย FIB-4 หรือ APRI score ซึ่งคาดว่าจะเห็นประโยชน์ของการให้วิตามินดีที่ชัดเจนมากกว่านี้ โดยปัจจุบันสมาคมต่อมไร้ท่อ

ของสหรัฐอเมริกาได้แนะนำให้ตรวจระดับวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรัง แต่ก็แนะนำให้ชดเชยวิตามินดีเฉพาะผู้ป่วยที่ตรวจพบภาวะขาดวิตามินดี (น้อยกว่า 20 ng/mL) เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหัก⁽²⁰⁾ สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับประโยชน์ทางด้านการอักเสบของตับหรือผลแทรกซ้อนที่เกิดจากตับโดยตรงอาจจะต้องรอการศึกษาที่มากกว่านี้

สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังในโรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา ที่ตรวจพบภาวะพร่องหรือขาดวิตามินดี เมื่อชดเชยด้วยการรับประทานวิตามินดีเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผู้ป่วยทั้งหมดมีระดับวิตามินดีกลับมาอยู่ในระดับปกติ โดยไม่มีผลข้างเคียง แต่ผลของการชดเชยวิตามินดีไม่พบถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับการอักเสบของตับ หรือ คะแนนประเมินพังผืดของตับจากการคำนวณ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังจากไวรัสตับอักเสบบีก็ให้ผลลัพธ์เช่นเดียวกัน

เอกสารอ้างอิง

1. MacLaughlin JA, Anderson RR, Holick MF. Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin. *Science* 1982;216(4549):1001-3.
2. Norman AW. Receptors for 1alpha, 25(OH)2D3: past, present, and future. *J Bone Miner Res* 1998;13(9):1360-9.
3. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357(3):266-81.
4. Chailurkit LO, Aekplakorn W, Ongphiphadhanakul B. Regional variation and determinants of vitamin D status in sunshine-abundant Thailand. *BMC public health* 2011;11:853.

5. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55(9):2624-8.
6. Liangpunsakul S, Chalasani N. Serum vitamin D concentrations and unexplained elevation in ALT among US adults. *Dig Dis Sci* 2011;56(7):2124-9.
7. Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, et al. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc* 2007;17(7):517-24.
8. Gascon-Barre M, Demers C, Mirshahi A, Neron S, Zalzal S, Nanci A. The normal liver harbors the vitamin D nuclear receptor in nonparenchymal and biliary epithelial cells. *Hepatology* 2003;37(5):1034-42.
9. Li Q, Gao Y, Jia Z, Mishra L, Guo K, Li Z, et al. Dysregulated Kruppel-like factor 4 and vitamin D receptor signaling contribute to progression of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012;143(3):799-810.e2.
10. Potter JJ, Liu X, Koteish A, Mezey E. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor repress human alpha1 (I) collagen expression and type I collagen formation. *Liver Int* 2013;33(5):677-86.
11. Beilfuss A, Sowa JP, Sydor S, Beste M, Bechmann LP, Schlattjan M, et al. Vitamin D counteracts fibrogenic TGF-beta signalling in human hepatic stellate cells both receptor-dependently and independently. *Gut* 2015;64(5):791-9.
12. สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย. ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับภาวะขาดวิตามินดีในคนไทย. กรุงเทพฯ : สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย; 2560.
13. Iruzubieta P, Terán Á, Crespo J, Fábrega E. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol* 2014;6(12):901-15.
14. Barchetta I, Del Ben M, Angelico F, Di Martino M, Fraioli A, La Torre G, et al. No effects of oral vitamin D supplementation on non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Med* 2016;14:92.
15. Lorvand Amiri H, Agah S, Tolouei Azar J, Hosseini S, Shidfar F, Mousavi SN. Effect of daily calcitriol supplementation with and without calcium on disease regression in non-alcoholic fatty liver patients following an energy-restricted diet: Randomized, controlled, double-blind trial. *Clin Nutr* 2017;36(6):1490-7.

16. Boonyagard S, Techathuvanan K. Impact of vitamin D replacement on liver enzymes in non-alcoholic fatty liver disease patients : a randomized, Double-blind, placebo-controlled trial. *J Med Assoc Thai* 2020;103(12):105-12.
17. Bikle DD, Halloran BP, Gee E, Ryzen E, Haddad JG. Free 25-hydroxyvitamin D levels are normal in subjects with liver disease and reduced total 25-hydroxyvitamin D levels. *J Clin Invest* 1986;78(3):748-52.
18. Hoan NX, Khuyen N, Binh MT, Giang DP, Van Tong H, Hoan PQ, et al. Association of vitamin D deficiency with hepatitis B virus - related liver diseases. *BMC Infect Dis* 2016;16(1):507.
19. Abramovitch S, Sharvit E, Weisman Y, Bentov A, Brazowski E, Cohen G, et al. Vitamin D inhibits development of liver fibrosis in an animal model but cannot ameliorate established cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015;308(2):G112-20.
20. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911-30.