

# Utjecaj vitamina D na nutritivni i funkcionalni status bolesnika s kroničnom reakcijom davatelja protiv primatelja (cGVHD) nakon transplantacije alogeničnih krvotvornih matičnih stanica

---

Ljubas Kelečić, Dina

Doctoral thesis / Disertacija

2022

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:713314>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

DINA LJUBAS KELEČIĆ

**UTJECAJ VITAMINA D NA NUTRITIVNI  
I FUNKCIONALNI STATUS BOLESNIKA S  
KRONIČNOM REAKCIJOM DAVATELJA  
PROTIV PRIMATELJA (cGVHD) NAKON  
TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH  
KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF PHARMACY  
AND BIOCHEMISTRY

DINA LJUBAS KELEČIĆ

**EFFECT OF VITAMIN D ON NUTRITIONAL  
AND FUNCTIONAL STATUS IN PATIENTS  
WITH CHRONIC GRAFT VERSUS HOST  
DISEASE (cGVHD) AFTER ALLOGENEIC  
STEM CELL TRANSPLANTATION**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2022



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

DINA LJUBAS KELEČIĆ

**UTJECAJ VITAMINA D NA NUTRITIVNI I  
FUNKCIONALNI STATUS BOLESNIKA S  
KRONIČNOM REAKCIJOM DAVATELJA  
PROTIV PRIMATELJA (cGVHD) NAKON  
TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH  
KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Prof. dr. sc. Željko Krznarić  
Prof. dr. sc. Dubravka Vitali Čepo

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

UNIVERSITY OF ZAGREB  
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

DINA LJUBAS KELEČIĆ

**EFFECT OF VITAMIN D ON NUTRITIONAL  
AND FUNCTIONAL STATUS IN PATIENTS  
WITH CHRONIC GRAFT VERSUS HOST  
DISEASE (cGVHD) AFTER ALLOGENEIC  
STEM CELL TRANSPLANTATION**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:  
Prof.dr.sc. Željko Krznarić  
Prof.dr.sc. Dubravka Vitali Čepo

Zagreb, 2022

Rad je izrađen u suradnji s kolegama sa Zavoda za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb koji vode multidisciplinarni tim stručnjaka za cGVHD od 2013. godine tijekom provedbe projekata „Klinički i biološki čimbenici koji određuju težinu i aktivnost kronične reakcije davatelja protiv primatelja nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica“ (Unity through Knowledge Fund) i „Novi biomarkeri kronične bolesti presatka protiv primatelja“ (IP-2016-06-8046, Hrvatska zaklada za znanost).

*Zahvaljujem prije svega svojim mentorima, profesoru Željku Krznariću na podršci, vremenu i konstruktivnim raspravama tijekom ovog istraživanja i profesorici Dubravki Vitali Čepo na velikom strpljenju i korisnim savjetima.*

*Veliko hvala svim hematolozima cGVHD tima, a posebno Lani, Antoneli i Ivanu za prikupljanje i analizu podataka te sestrama Luciji i Marijani koje su skrbile o pregledima bolesnika, kao i svim bolesnicima koji su ostali do kraja u istraživanju.*

*Osobito zahvaljujem svojoj kolegici i prijateljici Ireni koja mi je puno pomogla u vezi s pregledima i edukacijom bolesnika, zatim Dariji i Maji na dobrim savjetima kada je bilo najpotrebnije te Ani, Andreji i Zrinki na podršci u svakodnevnom radu.*

*I na kraju veliko hvala mojim roditeljima, oni će znati zašto.*

## SAŽETAK

Kronična reakcija davatelja protiv primatelja (cGVHD) osnovni je uzrok kasnog morbiditeta i mortaliteta nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica (alo-TKMS). Režim kondicioniranja, imunosupresivna terapija te komplikacije cGVHD-a mogu negativno utjecati na status vitamina D, kao i na nutritivni i funkcionalni status bolesnika. Ovo je prvo prospektivno istraživanje utjecaja nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status alo-TKMS ispitanika, kao i na karakteristike cGVHD-a.

U istraživanje su bila uključena ukupno 102 alo-TKMS bolesnika (spol: 54 M i 48 Ž; dob 50 (39-59)), od kojih je bilo 65 cGVHD i 37 kontrolnih bolesnika koji nisu razvili cGVHD. Svim ispitanicima je na prvom i kontrolnom pregledu određen nutritivni i funkcionalni status, status vitamina D i ostali laboratorijski parametri te im je, ovisno o inicijalnim serumskim vrijednostima, propisana nadomjesna terapija vitaminom D.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je malnutricija, prema subjektivnoj globalnoj procjeni bolesnika (PG-SGA), prisutna u oko 40 %, narušenost funkcionalnog statusa prema snazi stiska šake (HGS) i PG-SGA procjeni u oko 50 %, a nedostatak (<50 nmol/L) i manjak vitamina D (<75 nmol/L) kod oko 50 i 30 % ispitanika bez obzira na prisutnost cGVHD-a. U istraživanju je nađena snažna povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa ( $P < 0,0005$ ). Niski HGS (30,2 % cGVHD, 10,8 % kontrole) i blagi gubitak mišićne mase kod ispitanika ukazuju na povišen rizik za razvoj sarkopenije. Zahvaćenost probavnog sustava cGVHD-om bio je čimbenik rizika umjerene i teške malnutricije prema PG-SGA-u (B+C), a malnutricija, prisutnost cGVHD-a, zahvaćenost probavnog sustava, jetre i pluća cGVHD-om čimbenici rizika niskog HGS-a. Nije pronađena povezanost serumskih vrijednosti vitamina D s nutritivnim i funkcionalnim statusom, kao ni s njihovom promjenom nakon nadomjesne terapije vitaminom D. Ispitanici koji su primali najvišu dozu nadomjesne terapije vitaminom D (2000 IU) imali su i najveću promjenu njegovih serumskih vrijednosti. Niske vrijednosti vitamina D bile su povezane s cGVHD-om jetre ( $P < 0,05$ ). Čimbenik rizika nedostatka vitamina D kod svih ispitanika bilo je mijeloablativno kondicioniranje, a kod cGVHD bolesnika aktivnost bolesti. Rezultati pokazuju da alo-TKMS bolesnici, neovisno o prisutnosti cGVHD-a, imaju narušen nutritivni i funkcionalni status, kao i nedostatak vitamina D, ne samo u prvim mjesecima nakon alo-TKMS-a nego i godinama nakon toga. Nadomjesna terapija vitaminom D utjecala je na oporavak serumskih vrijednosti, ali ne i na promjenu mišićne mase i snage.

**Ključne riječi:** vitamin D, cGVHD, mišićna snaga, nutritivni status, funkcionalni status

## SUMMARY

**Introduction.** Chronic graft versus host disease (cGVHD) is the underlying cause of late morbidity and mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). It is presented as a chronic inflammatory and sclerotic autoimmune disorder with symptoms often resembling other autoimmune diseases such as systemic sclerosis, Sjögren's syndrome, or systemic lupus erythematosus. Most commonly it affects the skin, oral mucosa, liver, eyes, and digestive system, and results in irreversible damage caused by fibrosis, which is a characteristic feature of this disease. Conditioning regimen, immunosuppressive therapy, and complications of cGVHD may affect vitamin D status, as well as nutritional and functional status of patients several months to several years after transplantation. This is the first prospective study of the impact of vitamin D replacement therapy on the nutritional and functional status of allo-HSCT subjects, as well as on the characteristics of cGVHD.

**Methods.** In the period from November 2016 to March 2021, a total of 102 allo-HSCT patients (gender: 54 M and 48 F; age 50 (39-59)) were included in the study, of whom 65 were cGVHD and 37 were control patients (control patients did not have current acute GVHD at the time of evaluation, did not meet the criteria for a cGVHD diagnosis, and were examined at least 100 days after allo-HSCT). A total of 67 patients completed the study, 43 cGVHD patients, and 24 control patients. The diagnosis of cGVHD was made based on the established NIH Consensus Recommendations which are based on generally accepted clinical, laboratory, radiological, endoscopic, and histological criteria evaluated by competent hematologists. In all participants, nutritional and functional status, vitamin D levels, and other laboratory parameters were assessed at the first and control examinations (follow-up examination after 8 months  $\pm$  4 weeks) and depending on the initial serum values, they were prescribed vitamin D replacement therapy. The following methods were used to assess the nutritional status of all subjects: anthropometric methods (body height, body weight, BMI, triceps skinfold, TSF) and upper arm circumference (MUAC), patient-generated subjective global assessment PG-SGA and bioelectrical impedance analysis (BIA). According to the PG-SGA, patients were classified as well-nourished (SGA A), moderately malnourished (SGA B), or severely malnourished (SGA C), with a calculation of the total PG-SGA score. Body composition was assessed with single-frequency BIA (Tanita BC-420MA with an operating frequency of 50 kHz at 90  $\mu$ A) and skeletal muscle mass index (SMI) and fat mass index (FMI) were calculated. Functional status was assessed with handgrip strength (HGS) measured with a hydraulic hand dynamometer (Jamar, Sammons Preston Rolyan) and functional capacity by PG-SGA in all subjects and a two-minute gait test (2MWT) and the Karnofsky index (KPI) of performance status in subjects with cGVHD. Laboratory tests



from patient serum samples included a standardized measurement of leukocytes, platelets, C-reactive protein (CRP), albumin, total protein, lipidogram (total cholesterol, triglycerides, LDL, HDL) and creatinine. Serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentration was estimated by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS). Blood vitamin D levels above 75 nmol / L were considered normal, below 75 nmol / L vitamin D deficiency or insufficiency, and serum levels below 50 nmol / L were considered vitamin D deficiency. Dosage of colecalciferol was determined in each patient based on initial serum values of 25(OH)D. Adherence to vitamin D was monitored by an indirect method of interviewing patients by telephone during the study and at follow-up. Patients also completed a vitamin D questionnaire and a three-day diet diary. The effect of currently prescribed immunosuppressive therapy, primarily prednisone and methylprednisolone was monitored during the study. All patients signed an informed consent form and the study protocol was approved by the Ethical Committee of the University Hospital Centre Zagreb, and the University of Zagreb School of Medicine, Zagreb, Croatia. Medcalc v11.4 software package (Medcalc Software, Belgium) was used for statistical data analysis. We used a chi-square test, t-test, t-test for paired samples, and the analysis of variance (ANOVA) and their non-parametric versions. Risk factors for low muscle strength, low vitamin D levels and malnutrition were determined by univariate and multivariate logistic regression.

**Results.** The demographic characteristics of all participants did not differ significantly except for the time from allo-HSCT to enrollment in the study and the primary disease. In the cGVHD group 21.5% had mild, moderate 41.5%, and severe 36.9% cGVHD according to the NIH criteria. More than 60% of patients had 3 or more organs affected by cGVHD. The results of this study showed an incidence of malnutrition assessed with PG-SGA in 40% of patients with cGVHD and 27% of control patients (categories B and C). Gastrointestinal cGVHD was a risk factor for moderate and severe malnutrition as assessed by PG-SGA (B + C). According to the BMI, malnutrition was present in 13,9% of patients with cGVHD and 13,7% of control patients. Body composition analysis according to BIA found a higher fat mass index (FMI) in subjects with cGVHD ( $P = 0.0131$ ) but no difference between the groups fat-free mass index (FFMI) and skeletal muscle index (SMI). Impaired functional status assessed with hand grip strength (HGS) and PG-SGA was found in about 50% of all participants with no difference between the groups. We also found a statistically significant association of HGS with functional capacity according to PG-SGA ( $p < 0.0001$ ). KPI lower than 90 was found in 50% of cGVHD patients. A strong correlation between nutritional and functional status was found in the study ( $P < 0.0005$ ). Malnutrition correlated with lower HGS in all patients and with KPI in cGVHD patients. Low HGS (30.2% cGVHD, 10.8% control) defined by the European Working Group

on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) criteria and mild loss of muscle mass in our patients indicate an increased risk of sarcopenia. Risk factors for low HGS were malnutrition, cGVHD diagnosis and cGVHD of the digestive system, liver, and lungs. In cGVHD patients, impaired functional status according to PG-SGA and Karnofsky index was statistically significantly associated with the assessment of cGVHD activity and the severity of cGVHD according to NIH criteria. Vitamin D deficiency ( $<50\text{nmol / L}$ ) was found in about 50% and insufficiency ( $<75\text{nmol / L}$ ) in about 30% of all subjects regardless of the presence of cGVHD. Vitamin D replacement therapy of 2000IU was prescribed in 62.7%, of 1600 IU in 17.9% and of 800 - 1200 IU in 19.4% of patients. Adherence to vitamin D replacement therapy was 86.1% in cGVHD and 66.7% in control patients. A significant increase in vitamin D status was found in subjects with lower initial status who were prescribed vitamin D replacement therapy at a dose of 1600 to 2000 IU per day. The average daily intake of vitamin D in  $\mu\text{g}$  through the vitamin D questionnaire was  $2.08 \pm 1.12$  without a statistically significant difference between cGVHD patients and the control patients. There was no significant correlation between the serum vitamin D concentration in nutritional and functional status. Vitamin D replacement therapy did not significantly improve nutritional or functional status of the participants. In cGVHD patients, low vitamin D levels were associated with liver cGVHD ( $P < 0.05$ ). Risk factors for vitamin D deficiency in all subjects was myeloablative conditioning, and in cGVHD patients disease activity. There was no statistical difference in the change in serum 25 (OH) D values between subjects who received glucocorticoid therapy during the study and those who did not.

**Discussion.** Higher incidence of malnutrition according to PG-SGA versus BMI in this study, similar to previous studies, especially in the oncology population, showed that BMI is not a good independent indicator of nutritional status because it does not take into account changes in muscle mass. The difference in the incidence of malnutrition between groups, although statistically not significant, can be explained with the presence of cGVHD symptoms (especially gastrointestinal involvement with cGVHD) that affect PG-SGA scores and thus the change in the PG-SGA category. Functional status was impaired in both groups although cGVHD patients initially had lower HGS values compared to the control group, which was expected given the presence of chronic disease. Patients after allo-TKMS are often accompanied by temporary impairment of functional status and, although most recover well in the first year after transplantation, in patients with comorbidities, especially cGVHD, it may worsen further and may progress to disability. Univariate regression analysis showed that cGVHD of the digestive system, liver and lungs are predictors of low muscle strength, which is understandable given that patients with severe cGVHD of these three organs have a 6.5 times

higher incidence of mortality than patients with severe cGVHD of other organs with an 2.8-fold higher incidence compared with patients without cGVHD. Strong association of nutritional and functional status in our participants is explained by the fact that malnutrition and sarcopenia accompany many chronic and severe diseases and often occur at the same time. Therefore, the recovery of the patient cannot be adequate if the rehabilitation intervention does not include a rehabilitation plan, i.e. physical activity in order to try to change the course of malnutrition and sarcopenia. High frequency of vitamin D deficiency our study indicates that vitamin D hypovitaminosis is a common problem in patients after allo-TKMS regardless of the presence of cGVHD. Risk factors for low serum 25 (OH) D in allo-TKMS patients include glucocorticoid therapy, insufficient sun exposure and, in some patients, impaired absorption from food due to drug side effects, GVHD of the digestive system and bacterial overgrowth. Lower vitamin D in cGVHD patients with liver cGVHD is expected given the role of the liver in the biological activation (first hydroxylation) of vitamin D that occurs in the liver. Disease activity as a risk factor for vitamin D deficiency in cGVHD patients is explained by the fact that patients with active disease have a higher intensity of systemic immunosuppression, and thus an additional risk of vitamin D deficiency. The lack of association between corticosteroid therapy and low vitamin D levels could be explained by the length and dose of prednisone, which varied in a small number of patients. The limitations of this study are primarily the small number of patients due to the heterogeneity of the study groups in terms of demographic characteristics, and cGVHD subjects and cGVHD characteristics, insufficient data on vitamin D, previous lines of immunosuppressive therapy status, and nutritional and functional status of patients prior to allo-TKMS.

**Conclusion.** Our results showed that allo-HSCT patients, regardless of the presence of cGVHD, have impaired nutritional and functional status as well as vitamin D deficiency, not only in the first months but also in the years after allo-HSCT. Disease-related malnutrition accompanies a number of chronic diseases, and its consequences are reflected in changes in muscle function with an emphasis on loss of muscle mass and strength, especially in the geriatric population. Therefore, it is important to introduce clearly defined protocols for monitoring the nutritional and functional status of patients, as well as physical therapy, not only after, but also before allo-TKMS in order to prevent malnutrition and loss of muscle mass and strength, and thus the risk of sarcopenia. Vitamin D supplementation affected the recovery of vitamin D serum values, but not the change in muscle mass and strength. The results of our research show that a higher intake of vitamin D is needed, not only to correct vitamin D deficiency, but also to maintain an adequate nutritional status. Individual approach to prescribing vitamin D supplementation

(according to disease activity and other organ involvement with cGVHD, glucocorticoid therapy, malabsorption syndrome, obesity, osteoporosis, infections, etc.) would be more effective than routinely prescribing according to a glucocorticoid dosing regime. Moreover, impaired nutritional and functional status of allo-TKMS patients point to the need to implement protocols for monitoring nutritional and functional status with the emphasis on muscle mass and strength and timely intervention.

**Keywords:** vitamin D, cGVHD, muscle strength, nutritional status, functional status

## Popis upotrijebljenih kratica

AA	aplastična anemija
ALL	akutna limfoblastična leukemija
alo-TKMS	alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica
AML	akutna mijeloična leukemija
BIA	bioelektrična impedancija (engl. <i>bioelectrical impedance analysis</i> )
cGVHD	kronična reakcija davatelja protiv primatelja (engl. <i>chronic graft versus host disease</i> )
CRP	C reaktivni protein
2MWT	dvominutni test hoda (engl. <i>two minute walk test</i> )
25(OH)D	25-hidroksi vitamin D
FM	masna masa (engl. <i>fat mass</i> )
FFM	nemasna masa (engl. <i>fat free mass</i> )
FMI	indeks masne mase (engl. <i>fat mass index</i> )
FFMI	indeks nemasne mase (engl. <i>fat free mass index</i> )
HCP	kliničar (engl. <i>health care provider</i> )
HDL	lipoprotein velike gustoće (engl. <i>high-density lipoprotein</i> )
HGS	snaga stiska šake (engl. <i>hand grip strength</i> )
HL	Hodgkinov limfom
IKR	interkvartilni raspon
ITM	indeks tjelesne mase
KML	kronična mijeloična leukemija
KMS	krvotvorne matične stanice
KPI	Karnofskyjev indeks – (engl. <i>Karnofsky Performance Index</i> )
LDL	lipoprotein male gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i> )
MDS	mijelodisplastični sindrom
MF	mijelofibroza
MM	multipli mijelom
MPN	mijeloproliferativna neoplazma

MUAC	obujam nadlaktice (engl. <i>middle upper arm circumference</i> )
NIH	National Institutes of Health
ONS	oralni nutritivni suplement
PG-SGA	subjektivna globalna procjena bolesnika (engl. <i>patient generated subjective global assessment</i> )
PG-SGA f.k.	PG-SGA funkcionalni kapacitet
PNH	paroksizmalna noćna hemoglobinurija
RIC	kondicioniranje smanjenog intenziteta (engl. <i>reduced intensity conditioning</i> )
SMM	skeletna mišićna masa (engl. <i>skeletal muscle mass</i> )
SMI	indeks skeletne mišićne mase (engl. <i>skeletal muscle index</i> )
TBI	zračenje (engl. <i>total body irradiation</i> );
TSF	debljina kožnog nabora tricepsa (engl. <i>triceps skinfold</i> )
T <sub>1/2</sub>	vrijeme poluraspada
TV	tjelesna visina
Tx	transplantacija
VF	visceralne masnoće (engl. <i>visceral fat</i> )
VDR	receptor za vitamin D (engl. <i>Vitamin D Receptor</i> )

# SADRŽAJ

<b>1</b>	<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1	Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica .....	1
1.2	cGVHD .....	2
1.2.1	Patofiziologija cGVHD-a .....	3
1.2.2	Liječenje cGVHD-a.....	5
1.3	Vitamin D.....	5
1.3.1	Metabolizam vitamina D.....	7
1.3.2	Biološka uloga vitamina D.....	8
1.3.3	Povezanost statusa vitamina D i nutritivnog statusa .....	9
1.3.4	Povezanost vitamina D s mišićnom masom i snagom .....	10
1.3.5	Svrha istraživanja utjecaja vitamina D na nutritivni i funkcionalni status cGVHD bolesnika .....	11
<b>2</b>	<b>HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>13</b>
2.1	Hipoteza istraživanja .....	13
2.2	Opći ciljevi istraživanja .....	13
2.3	Specifični ciljevi .....	13
<b>3</b>	<b>METODE .....</b>	<b>14</b>
3.1	Dizajn istraživanja.....	14
3.2	Ispitanici .....	14
3.3	Opis i tijek istraživanja.....	15
3.4	Određivanje nutritivnog statusa .....	16
3.4.1	Antropometrijske metode .....	16
3.4.1.1	Određivanje tjelesne mase, visine i ITM-a .....	16
3.4.1.2	Određivanje MUAC-a .....	17
3.4.1.3	Određivanje TSF-a .....	17
3.4.2	Subjektivna globalna procjena bolesnika (PG-SGA).....	17
3.4.3	Bioelektrična impedancija .....	19
3.5	Određivanje funkcionalnog statusa (mišićne funkcije) .....	20
3.5.1	Dinamometrija šake.....	20
3.5.2	Dvominutni test hodanja (2MWT) .....	20
3.5.3	Funkcionalni kapacitet prema PG-SGA-u .....	20
3.5.4	Karnofskyjeva ljestvica izvedbenog statusa kod cGVHD-a.....	20
3.6	Uzorci krvi.....	21
3.6.1	Određivanje 25(OH)D u krvi.....	21
3.6.2	Određivanje ostalih standardnih biokemijskih biljega.....	21
3.7	Propisivanje nadomjesne terapije vitamina D i praćenje adherencije .....	22
3.7.1	Procjena unosa vitamina D putem prehrane .....	22
3.8	Praćenje imunosupresivne terapije tijekom istraživanja .....	23
3.9	Statistička obrada podataka .....	23
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>24</b>
4.1	Karakteristike svih ispitanika na početku istraživanja .....	24
4.2	Demografske karakteristike ispitanika s cGVHD-om na prvom i kontrolnom pregledu .....	26
4.3	Nutritivni status ispitanika .....	28
4.4	Funkcionalni status ispitanika .....	32
4.4.1	Povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa ispitanika.....	34
4.5	Koncentracija 25(OH)D u krvi i ostali biokemijski markeri .....	37
4.5.1	Nadomjesna terapija vitaminom D.....	39
4.5.2	Adherencija nadomjesnoj terapiji vitaminom D .....	40
4.5.3	Razlike u promjeni statusa vitamina D ovisno o adherenciji .....	40
4.5.4	Procjena unosa vitamina D prehranom .....	43
4.6	Utjecaj promjene statusa vitamina D na promjene nutritivnog statusa .....	44
4.7	Utjecaj promjene statusa vitamina D na funkcionalni status.....	46
4.8	Utjecaj težine cGVHD-a na nutritivni i funkcionalni status bolesnika .....	50

4.9	Utjecaj imunosupresivne terapije na nutritivni i funkcionalni status te serumske vrijednosti 25(OH)D	54
4.10	Čimbenici rizika malnutricije prema PG-SGA kategoriji.....	56
4.11	Čimbenici rizika za nisku mišićnu snagu .....	58
4.12	Čimbenici rizika za nedostatak vitamina D.....	59
<b>5</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>62</b>
5.1	Nutritivni status ispitanika .....	62
5.2	Funkcionalni status – mišićna snaga ispitanika .....	63
5.3	Povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa .....	65
5.4	Status vitamina D kod alo-TKMS ispitanika .....	66
5.5	Utjecaj nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status ispitanika.....	68
5.6	Povezanost statusa vitamina D s ozbiljnosti, aktivnosti i organima zahvaćenim cGVHD-om .....	69
5.7	Povezanost statusa vitamina D s terapijom glukokortikoidima .....	69
5.8	Ograničenja istraživanja .....	70
<b>6</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>74</b>
	<b>PRILOZI:.....</b>	<b>86</b>
	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>89</b>
	<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA .....</b>	<b>92</b>



# 1 UVOD

## 1.1 Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) jedinstvena je metoda u liječenju, prije svega različitih malignih i nemalignih hematoloških bolesti, a u posljednja dva desetljeća i nekih nasljednih i autoimunih metaboličkih poremećaja (1). Uspješno liječenje ovom metodom započelo je prije više od 50 godina otkrićem antileukemijskog učinka transplantiranih stanica (engl. *graft-versus-leukemia effect*, *GVL*) i uloge glavnih antigena tkivne podudarnosti - HLA sustav (engl. *human leukocyte antigen*) koji imunski sustav koristi kako bi razlikovao vlastite stanice od stranih (2). TKMS se temelji na transplantaciji, odnosno presadbi zdravih krvotvornih matičnih stanica (KMS) iz koštane srži, periferne ili umbilikalne krvi, bolesniku koji je prethodno kondicioniran visokim dozama kemoterapije i/ili zračenja. KMS su pluripotentne stanice koje omogućuju samoobnavljanje cijelog hematopoetskog sustava. Sve diferencirane krvne stanice iz limfoidnog i mijeloidnog sustava potječu iz KMS-a (3).

Razlikujemo tri osnovne vrste TKMS-a: autolognu (darivatelj je sam bolesnik), alogeničnu (darivatelj i primatelj su različite osobe; srodnu (najčešće brat ili sestra) i nesrodnu) i singenu (darivatelj i primatelj su jednojajčani blizanci) transplantaciju. Prvi alo-TKMS od srodnog podudarnog davatelja u Hrvatskoj u Kliničkom bolničkom centru Zagreb 1983. godine izveli su prof. dr. sc. Labar i prim. dr. Bogdanić, a danas ih se u prosjeku izvodi do 100 godišnje.

Uspjeh alo-TKMS-a kod bolesnika sa zloćudnim bolestima proizlazi iz sposobnosti liječenja intenzivnom kemoradioterapijom i antileukemijskog učinka transplantata. Primjenom visokih doza citotoksičnih lijekova i zračenja ili mijeloablativnim kondicioniranjem uništava se zloćudna bolest i imunski sustav primatelja. Transplantacijom davateljevih matičnih stanica nadomješta se oštećeni imunski i krvotvorni sustav primatelja. Rekonstitucija imunološkog sustava, nastanak reakcije davatelja protiv primatelja (engl. *graft-versus-host disease*, *GVHD*) i preživljenje bolesnika ovisit će o razlikama u tkivnoj snošljivost HLA sustava darivatelja i primatelja (4).

Komplikacije alo-TKMS-a uključuju: odbacivanje presatka, relaps bolesti, pojavu infekcija (u razdoblju pancitopenije i ranog oporavka te kasnog oporavka poslije 120. dana od transplantacije), GVHD (aGVHD, akutni oblik ili cGVHD, kronični oblik) te rane i kasne toksične komplikacije najčešće vezane za kondicioniranje (5).

Napredak tehnologije i liječenja na području alo-TKMS-a rezultirali su porastom stopa preživljenja bolesnika, a time i povećanom potrebom za dugotrajnu skrb, osobito kod bolesnika s različitim dugotrajnim komplikacijama kao što su cGVHD, disfunkcija organa ili sekundarne

maligne bolesti (6). Upravo zbog toga u KBC-u Zagreb 2013. godine započinje projekt pod vodstvom prof. dr. Nemeta i u suradnji s prof. dr. Pavletićem „Klinički i biološki čimbenici koji određuju težinu i aktivnost kronične reakcije davatelja protiv primatelja nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica“ uz projektnu potporu fonda „Jedinstvo uz pomoć znanja“ (eng. *Unity Through Knowledge Fund, UKF*) s primarnim ciljem formiranja multidisciplinarnog tima stručnjaka za cGVHD po uzoru na tim Center for Cancer Research National Institutes of Health (NIH, Bethesda, SAD). Drugi četverogodišnji projekt, „Novi biomarkeri kronične bolesti presatka protiv primatelja“ pod vodstvom doc. dr. sc. Dražena Pulanića, započeo je u ožujku 2017. godine. Kroz oba projekta multidisciplinarni tim, koji danas broji više od 40 članova različitih specijalnosti, nastavlja s praćenjem bolesnika s cGVHD-om te sa znanstvenim i stručnim uspjesima. Tema ovog doktorata proizlazi iz višegodišnjeg rada s hematološkim bolesnicima koji su prošli alo-TKMS te razvili cGVHD jednog ili više organskih sustava.

## 1.2 cGVHD

Reakcija davatelja protiv primatelja (GVHD) ili, prema recentno usvojenoj terminologiji, reakcija presatka protiv primatelja komplikacija je alo-TKMS-a gdje T i B limfociti presatka prepoznaju i napadaju antigene primatelja. Ovisno o vremenu nastanka razlikujemo akutni i kronični oblik GVHD-a. Akutni GVHD (aGVHD) nastaje najčešće u manje od 100 dana nakon alo-TKMS-a, a karakteriziraju ga upalne reakcije koje najčešće zahvaćaju kožu, gastrointestinalni trakt, usta, genitalni trakt ili jetru (7).

Kronična reakcija davatelja protiv primatelja (cGVHD) najznačajnija je kasna komplikacija alo-TKMS-a koja negativno utječe na kvalitetu života te je vodeći razlog morbiditeta i mortaliteta u oko 25 % bolesnika (8). Prezentira se kao kronični upalni i sklerotični autoimuni poremećaj sa simptomima koji često nalikuju drugim autoimunim bolestima poput sistemske skleroze, Sjögrenova sindroma ili sistemskog eritemskog lupusa. Iako može zahvatiti bilo koji organski sustav ili više njih, najčešće zahvaća kožu, sluznicu usne šupljine, jetru, oči i probavni sustav (9), a rezultira ireverzibilnim oštećenjima uzrokovanim fibrozom, koja je karakteristično obilježje ove bolesti. Nastaje u 30 - 70 % bolesnika, najčešće nakon 100 dana poslije alo-TKMS-a (10) iako vremenska granica nije glavni čimbenik razlikovanja akutnog od kroničnog GVHD-a nego se dijagnoza postavlja isključivo na temelju kliničkih manifestacija, a prema kriterijima dogovorenim NIH konsenzusom 2005. godine (11). Najznačajniji čimbenici rizika za nastanak cGVHD-a su: prethodni aGVHD, krvotvorne matične stanice iz periferne krvi, korištenje ženskih

donora za muške primatelje, HLA nepodudarnost, nesrodna transplantacija i dob (8, 12). U posljednjih nekoliko godina dijagnoza cGVHD-a postavlja se prema NIH konsenzusu iz 2015. koji je osobito revidirao područja vezana uz preklapajući GVHD, razlike između aktivne bolesti i prethodnih oštećenja tkiva te kriterije za dijagnostiku cGVHD-a usta, očiju, genitalija i pluća (13). Prema nastanku cGVHD može biti preklapajući (kada se nadovezuje na aGVHD, odnosno kod bolesnika su prisutni jedan ili više znakova i simptoma aGVHD-a); može nastati nakon aGVHD-a ili se manifestirati *de novo* (oko 30 % bolesnika (10)). Prema ozbiljnosti simptoma razlikujemo blagi, umjereni i teški oblik cGVHD-a (13).

### 1.2.1 Patofiziologija cGVHD-a

Za razliku od aGVHD-a za koji znamo da nastaje aktivacijom donorovih T stanica i oslobađanjem proupalnih citokina, imunopatofiziologija cGVHD-a još nije u potpunosti razjašnjena, zbog čega nam i nedostaju učinkovite terapije. cGVHD je složen proces koji uključuje višestruke interakcije između aloreakativnih i disreguliranih T i B limfocita te stanica urođene imunosti (makrofaga, dendritičkih stanica i neutrofila) koje su važne u procesu nastajanja fibroze (14).

Patofiziologija cGVHD-a može se opisati kroz tri faze (15): rana faza upale uzrokovana oštećenjem tkiva (faza 1) koja zatim prelazi u kroničnu upalu, disfunkciju timusa i promjene u regulaciji imunološkog sustava posredovanog B i T stanicama (faza 2) do obnavljanja tkiva nastajanjem fibroze koja može zahvatiti bilo koji organ (faza 3).

Rana ili prva faza uključuje brzu aktivaciju stanica urođene imunosti, endotelnih stanica i fibroblasta. Prije alo-TKMS-a tkivo primatelja je oštećeno zbog osnovne bolesti, prisutnosti infekcije te kondicioniranja, zbog čega se iz oštećenih stanica otpuštaju metaboliti purina, ATP, mokraćna kiselina, protein visoke pokretljivosti iz skupine 1 (HMGB1) i druge molekule koje se u normalnim uvjetima ne nalaze u visokim koncentracijama u ekstracelularnom prostoru i cirkulaciji. Također dolazi do translokacije mikroba, a time i stimulacije imunološkog odgovora. Posljedično otpuštanje proupalnih citokina, kao što su čimbenik tumorske nekroze alfa (TNF $\alpha$  prema engl. *tumor necrosis factor alpha*) i interleukina 1 (IL-1), dovodi do aktivacije antigen-prezentirajućih stanica (APC prema engl. *antigen presenting cells*) domaćina, a tako na kraju i aktivacije donorskih T limfocita koji prepoznaju aloantigene primatelja (16).

Tijekom druge faze bolesti oslobođeni upalni medijatori pojačavaju interakciju između APC i T limfocita iz donorskih stanica i stvaranje efektorskih i regulatornih stanica te uzrokuju njihov

konačni prelazak iz krvi u sekundarne limfoidne organe, uključujući slezenu i limfne čvorove, a time i u ciljna tkiva GVHD-a. Ekspanzija efektorskih stanica imunološkog sustava, osobito B i T limfocita, te polarizacija T limfocita prema tipu 1, tipu 2 i tipu 17 pomoćnih T limfocita (Th1, Th2, Th17) dalje dovodi do produkcije citokina i citolitičkih enzima koji pridonose nastanku GVHD-a. Za induciranje aGVHD-a najvažnija je podskupina CD4+ T limfocita, Th1 limfociti, koju ostvaruju putem upalnih citokina uključujući interferon gama (IFN $\gamma$ ) i TNF $\alpha$ . Glavni pokretači cGVHD-a su Th2 limfociti i producirani citokini (14,15). Važan korak u patogenezi cGVHD-a je oštećenje timusa tijekom prve i druge faze te disregulacija uobičajene negativne selekcije T limfocita koja vodi gubitku centralne tolerancije. Nadalje, smanjenje aktivnosti regulatornih T stanica (Treg) (inhibicijom kalcineurina) narušava indukciju tolerancije perifernih mehanizama (17). Uloga B stanica u nastanku cGVHD-a pokazuje se povećanom ekspresijom aktivirajućeg faktora za B-limfocite (eng. *B-lymphocyte Activating Factor, BAFF*) koji je ključni čimbenik u regulaciji homeostaze B stanica jer blokira njihove receptore (eng. B-cell receptor BCR) odgovorene za apoptozu. Posljedično se selektivno potiče preživljavanje autoreaktivnih i aloreaktivnih B stanica, čime je povećana produkcija antitijela reaktivnih na autoantigene i aloantigene (18).

U trećoj fazi dolazi do obnavljanja tkiva aktivacijom fibroblasta i proizvodnjom ekstracelularnog matriksa koji povećava neelastičnost tkiva. Stanje kronične upale održava se aktivnošću Th17 stanica koje su izbjegle imunološku regulaciju u drugoj fazi. Daljnja oštećenja tkiva disreguliranom populacijom limfocita donora uz neprirodne mehanizme obnove tkiva dovode do aktivacije fibroblasta, taloženje kolagena, fibroze i nepovratne disfunkcije krajnjih organa (15).

### 1.2.2 Liječenje cGVHD-a

Liječenje cGVHD-a, unatoč ograničenoj učinkovitosti i dugotrajnoj toksičnosti, još se temelji na imunosupresivnoj terapiji, poglavito glukokortikoidima (monoterapija prednizonom ili metilprednizolonom) koji se mogu koristiti kao monoterapija ili uz druge imunosupresivne lijekove (19). Dugotrajno liječenje cGVHD-a glukokortikoidima dodatno povećava mortalitet i morbiditet s obzirom na to da dovodi do brojnih komplikacija kao što su veća pojavnost oportunističkih infekcija (zbog narušavanja imunološke funkcije), avaskularna nekroza, intolerancija glukoze, hipertenzija, promjene tjelesnog sastava i osteoporoza. Uvođenje inhibitora kalcineurina uz glukokortikoide ne poboljšava odgovor na terapiju, ali omogućuje smanjenje doze glukokortikoida, a time i negativne učinke dugotrajne terapije (20). cGVHD rezistentan na steroide liječi se takrolimusom i inhibitorima kalcineurina (kao što je ciklosporin), no gotovo 50 % bolesnika ne reagira na terapiju te im je potrebna druga linija liječenja (21). Prvi lijek za liječenje cGVHD-a, koji je 2017. godine odobrio FDA, jest ibrutinib, inhibitor Brutonove tirozin kinaze, koji dovodi do proliferacije, preživljavanja i sazrijevanja B stanica (22).

### 1.3 Vitamin D

Vitamin D ima mnogostruke uloge u organizmu, od regulacije metabolizma kalcija i koštanog sustava, preko širokog spektra imunomodulatornih učinaka do djelovanja na mišićnu masu i funkciju. Otkriće receptora za vitamin D (eng. *Vitamin D Receptor, VDR*) u tkivima izvan kostiju i bubrega dovelo je do ekspanzije istraživanja protektivne uloge vitamina D u različitim bolestima kao što su tumori, hipertenzija, dijabetes, autoimune, kardiovaskularne i dermatološke bolesti (23).

Nedostatak vitamina D velik je javnozdravstveni problem u cijelom svijetu. Prema recentnom preglednom radu utvrđeno je da godišnje u prosjeku 13 % od 55.844 Europljana ima koncentracije 25(OH)D u krvi <30 nmol/L, dok je prevalencija vrijednosti <50 nmol/L čak 40,4 % (24). Prema podacima NHANES 2011-2012 nedostatak vitamina D jednako je prisutan i u Sjedinjenim Američkim Državama s prevalencijom od oko 40 % (25(OH)D <50 nmol/L) (25). Glavni cirkulirajući oblik vitamina D i najbolji pokazatelj razine vitamina D u organizmu je 25(OH)D. Njegovo vrijeme poluraspada ( $T_{1/2}$ ) iznosi dva do tri tjedna, za razliku od biološki aktivnog oblika vitamina D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) čiji je  $T_{1/2}$  samo dva do tri dana (26). Koncentracija 25(OH)D od 50 nmol/L smatra se graničnom vrijednosti prilikom liječenja hipovitaminoze vitamina D s obzirom na to da su niže vrijednosti povezane s većom prevalencijom padova i

prijeloma te gubitkom mineralne gustoće kosti, dok su koncentracije niže od 30 nmol/L dodatno povezane s povećanim mortalitetom, pojavnošću infekcija i drugih bolesti (27). Prema smjernicama za prevenciju, prepoznavanje i liječenje nedostatka vitamina D u odraslih (28) preporučena koncentracija vitamina D u serumu je  $\geq 75$  nmol/L s obzirom na to da je pri toj koncentraciji manji rizik nastanka bolesti nego pri nižim vrijednostima (29).

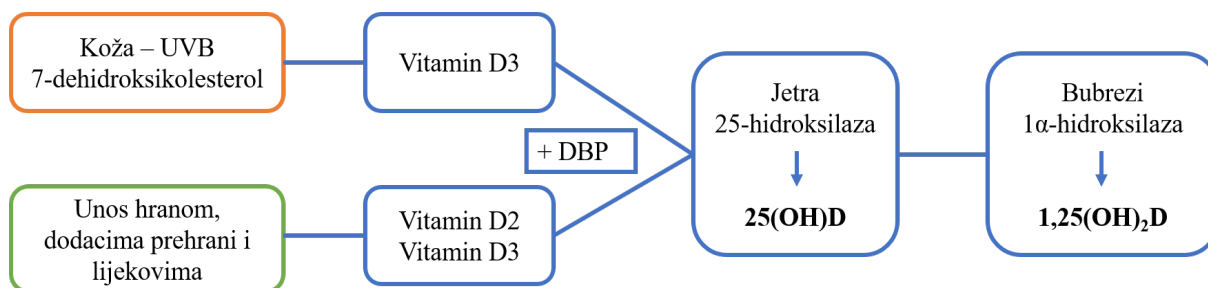
Čimbenici rizika hipovitaminoze vitamina D uključuju: rijetko izlaganje suncu, nošenje zaštitne odjeće i sredstva za zaštitu od sunca, tamniju put, pretilost, stariju dob i uzimanje lijekova koji utječu na metabolizam vitamina D kao što su glukokortikoidi (30). Hospitalizirani bolesnici pod većim su rizikom za pojavu hipovitaminoze vitamina D (31), a osobito su rizični bolesnici u jedinicama intenzivne skrbi. Brojni epidemiološki i klinički dokazi ukazuju na to da je nedostatak vitamina D povezan s nastankom i napredovanjem različitih kroničnih bolesti poput kardiovaskularnih bolesti, metaboličkog sindroma, šećerne bolesti tip 2, malignih bolesti, depresije, smanjenja kognitivnih sposobnosti te s povećanom smrtnošću (32).

### 1.3.1 Metabolizam vitamina D

Vitamin D može se sintetizirati djelovanjem sunčeva UVB zračenja na 7-dehidrokolesterol u koži. Iako se u organizam unosi i prehranom, obično je riječ o nedostatnom dnevnom unosu jer se nalazi u malom broju namirnica (ulja masnih riba, losos, bakalar, tuna, srdele, žumanjak jajeta, gljive i mliječni proizvodi dodatno obogaćeni vitaminom D). Endogenom sintezom, ovisno o intenzitetu UVB zračenja (290 - 300 nm), odnosno godišnjem dobu i geografskoj širini, dobiva se 80 - 90 % vitamina D u organizmu, dok je unos putem hrane samo 10 - 20 %. Veći egzogeni unos može se ostvariti obogaćivanjem namirnica s vitaminom D ili putem nadomjesne terapije vitaminom D (33). Razlikujemo dva osnovna oblika vitamina D: vitamin D<sub>2</sub> ili ergokalciferol iz biljnih izvora i vitamin D<sub>3</sub> ili kolekalciferol iz životinjskih izvora. Oba oblika se nakon unosa u organizam hranom ili transporta iz kože u cirkulaciji vežu na vitamin D vezujući protein (DBP, od engl. vitamin D binding protein) te prolaze dvije hidroksilacije kako bi nastao aktivan oblik D vitamina.

Prvi korak u aktivaciji vitamina D događa se u jetri gdje dolazi do hidroksilacije vitamina D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> na 25-C atomu u kalcidiol ili 25(OH)D pod djelovanjem enzima 25-hidroksilaze (**Slika 1**). CYP2R1 25-hidroksilaza, protein iz porodice citokroma P-450, identificiran je kao ključni enzim u hidroksilaciji vitamina D s obzirom na to da bolesnici s mutacijom CYP2R1 imaju nedostatak 25(OH)D (34).

DBP transportira 25(OH)D u bubrege vežući se na megalin, transmembranski protein koji djeluje kao receptor za DBP na staničnoj površini epitelnih stanica bubrežnih tubula, što je drugi korak u sintezi aktivnog oblika vitamina D. U proksimalnom bubrežnom tubulu dolazi do hidroksilacije 25(OH)D na 1-C atomu prstena A putem enzima 1 $\alpha$ -hidroksilaze u aktivni oblik vitamina D, odnosno 1,25(OH)<sub>2</sub>D (kalcitriol) koji je odgovoran za sve biološke učinke vitamina D (35). Moguća je i ekstrarenalna sinteza 1,25(OH)<sub>2</sub>D s obzirom na to da i druga tkiva, primjerice epitelne stanice epiderme, prostate, kolona, makrofagi, osteoblasti, stanice gušterače, placente i stanice mozga, sadrže 1 $\alpha$ -hidroksilazu (36). Regulacija metabolizma 1,25(OH)<sub>2</sub>D ovisi o aktivnosti 1 $\alpha$ -hidroksilaze i 24-hidroksilaze (enzim 24-hidroksilaza odgovoran je za inaktivaciju i izlučivanje 1,25(OH)<sub>2</sub>D), odnosno serumskim vrijednostima kalcija, fosfora i kalcitriola. Niske vrijednosti kalcija i vitamina D stimuliraju lučenje paratiroidnog hormona (PTH) koji stimulira sintezu 1 $\alpha$ -hidroksilaze i inhibira 24-hidroksilazu te povećava aktivnost 1,25(OH)<sub>2</sub>D (37). Suprotno tome, kod visokih vrijednosti kalcija u serumu smanjuje se lučenje PTH, aktivacija kalcitriola te mobilizacija kalcija iz kosti, a povećava se bubrežno izlučivanje kalcija i fosfora.



Slika 1. Metabolizam vitamina D.

### 1.3.2 Biološka uloga vitamina D

Biološki aktivni oblik vitamina D ili  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  ponaša se kao steroidni hormon koji regulira ekspresiju ciljnih gena uglavnom putem VDR-a (vezanje za VDR u jezgri stanice), ali ostvaruje i niz drugih učinaka negenomskim mehanizmima (vezanje za membranski VDR ili VDR u citoplazmi). Većina učinaka pripisuje se genomskom djelovanju  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  posredovanom VDR-om, transkripcijskim faktorom koji regulira ekspresiju gena čiji promotori sadrže specifične sekvence DNA poznate kao elementi odgovora na vitamin D (engl. *vitamin D response elements, VDRE*). Vezanjem na VDR vitamin D ostvaruje raznolike fiziološke učinke, od središnje uloge u regulaciji metabolizma Ca i fosfata do regulacije stanične diobe, proliferacije i diferencijacije tkiva, regulacije fibroze i imunomodulatornih učinaka. VDR je član obitelji nuklearnih hormonskih receptora koji uključuju receptore za steroidne hormone, hormone štitnjače, retinoide, kolesterol, žučne i masne kiseline, eikozanoide itd. Nalazimo ga u gotovo svim tkivima, što iznova naglašava širinu bioloških učinaka vitamina D. Genomsko djelovanje započinje vezanjem  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  za VDR u jezgri stanice, nakon čega dolazi do heterodimerizacije s retinoidnim X-receptorom (RXR), što povećava afinitet VDR/RXR kompleksa za VDRE. Vezanjem na VDRE nastaje transkripcijski faktor  $1,25\text{D-VDR-RXR}$  i dolazi do daljnje aktivacije kompleksa, čime se inicira transkripcija gena kako bi se proizveo odgovarajući mRNA i translacija u svrhu sinteze odgovarajućeg proteina pod utjecajem vitamina D (38). Sve se više istražuju i negenomski učinci vitamina D koji ne uključuje sintezu proteina (utjecaj na lučenje inzulina i migracija glatkih mišićnih stanica (39)).

I drugi hormoni, kao što su estrogen, progesteron, testosteron, glukokortikoidi i hormon štitnjače, koji su ligandi za nuklearne receptore, pokazuju i biološke učinke djelovanjem putem membranskih, a ne nuklearnih receptora. Negenomsko djelovanje  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  putem VDR-a na membrani stanice i/ili citoplazmi ispoljava se kao brzo aktiviranje različitih unutarstaničnih



signalnih molekula (raspon tih molekula ovisi o njihovoj povezanosti s tipom stanice i statusom sazrijevanja stanice) koje dovode do aktivacije sekundarnih glasnika, a potom aktivacije protein kinaza te intracelularnih enzima ili  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Cl}^-$  ionskih kanala (40). Negenomski učinci prvi su put zabilježeni kod brzog povećanja apsorpcije kalcija u crijevima nakon primjene  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , a zatim i u drugim stanicama kao hondrocitima, osteoblastima, keratinocitima i fibroblastima (41).

### **1.3.3 Povezanost statusa vitamina D i nutritivnog statusa**

Indeks tjelesne mase (ITM) najjednostavnija je antropometrijska mjera, korištena u brojnim znanstvenim studijama u svrhu procjene nutritivnog statusa. Podaci studija vezanih uz debljinu i vitamin D ukazuju na to da je visoki ITM (kategorije prekomjerne tjelesne mase i pretilosti 1., 2. i 3. stupnja) povezan s niskim serumskim vrijednosti vitamina D (42–44).

Slično je i kod bolesnika oboljelih od kroničnih bolesti kao što su kronična bubrežna insuficijencija (45), nealkoholna masna bolest jetre (46), upalne bolesti crijeva (47), dijabetes i metabolički sindrom (48) i drugo, gdje su studije pokazale povezanost niskih vrijednosti vitamina D u krvi s debljinom, ali ne i s malnutricijom ili normalnom tjelesnom masom. Ipak, zbog čimbenika kao što su osnovna bolest, malapsorpcija ili farmakoterapija, mnogi pothranjeni bolesnici, kao i oni s normalnom tjelesnom masom mogu imati niske koncentracije vitamina D u krvi (28). Osobito je ranjiva bolnička populacija pothranjenih bolesnika gdje je nedostatak vitamina D, poglavito u onih bolesnika koji ne primaju vitamin D, povezan s povećanom smrtnošću (49). Nadalje, nedostatak vitamina D vrlo je čest i u onkoloških bolesnika (87,3 % ima vrijednosti  $< 50 \text{ nmol/L}$ ) koji, u usporedbi s kontrolnom skupinom, imaju niže vrijednosti vitamina D (50). Međutim, prema istraživanju Trukove i suradnika (51), koje je uključivalo 737 onkoloških bolesnika, nutritivni status procijenjen putem SGA upitnika i albumina, suprotno očekivanjima, nije bio povezan s nedostatkom vitamina D.

#### 1.3.4 Povezanost vitamina D s mišićnom masom i snagom

Prvi pokušaji identifikacije i određivanja aktivnosti receptora  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  u mišićnim stanicama započinj u 80-ih godina prošlog stoljeća (52). Od tada su razvijeni različiti mišićni modeli i metode u svrhu identifikacije VDR-a u skeletnim mišićima. Razine ekspresije VDR-a u mišićima podložne su promjenama ovisno o fazama razvoja mišića. Više su razine prisutne u nezrelim mišićnim stanicama, mioblastima i prekursorima mišićnih stanica, a puno niže kod potpuno diferenciranih mišićnih vlakana. Studije na animalnim modelima pokazuju da mlađe životinje (miševi) imaju više razine VDR-a od starijih (53). Međutim, pri povredi mišića kod starijih miševa tijekom regeneracije može se primijetiti znatan porast razine VDR-a (54). Danas više nije upitno nalazi li se VDR u mišićima, nego utječe li i u kojoj mjeri njegova razina ekspresije u mišićima na biološki učinak vitamina D. Dosadašnje studije razjasnile su ulogu VDR-a u oporavku nakon ozljede i održavanju mitohondrijske funkcije, ali ne i jasne mehanizme djelovanja kao ni utjecaj doze vitamina D, duljine primjene te optimalnog statusa vitamina D na zdravlje mišića (55). Nizak status vitamina D ( $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$ ) povezuje se s promjenama mišićne fiziologije i funkcije, odnosno mišićne snage kod ljudi i kod životinja (56,57).

Istraživanja koja pokazuju povezanost nedostataka vitamina D sa smanjenom mišićnom masom, mišićnom slabošću (59, 60) i padovima (60) kod starije populacije uglavnom su opservacijska. Eksperimentalna istraživanja učinaka nadomjesne terapije vitaminom D na mišićnu masu i funkciju pokazuju različite rezultate s obzirom na režim doziranja, ispitanike i primijenjene metode određivanja mišićne funkcije (57). Recentna metaanaliza koja je obuhvatila 54 studije i istraživala utjecaj nadomjesne terapije vitaminom D na zdravlje mišića ne podupire opravdanost terapije i ne pokazuje značajne učinke na mišićnu masu, snagu i funkciju, odnosno tjelesnu izvedbu (61). Prema istoj metaanalizi nadomjesna terapija vitaminom D nije mnogo utjecala ni na tjelesnu izvedbu prema SPPB (engl. *Short Physical Performance Battery*), 6MWT (engl. *6 minute walk test*), testu ustajanja sa stolca, kao ni na mišićnu masu i snagu prema ekstenziji i fleksiji lakta i koljena te snazi stiska šake (engl. *hand-grip strength, HGS*). Štoviše, čini se da postoji i negativan učinak na tjelesnu izvedbu prema TUG testu (dulje vrijeme izvedbe) i mišićne snage prema fleksiji koljena.

### 1.3.5 Svrha istraživanja utjecaja vitamina D na nutritivni i funkcionalni status cGVHD bolesnika

Istraživanje uloge vitamina D u razvoju GVHD-a kod bolesnika nakon alo-TKMS-a zanimljivo je upravo zbog njegova potencijalnog učinka na imunski sustav, a u kontekstu usmjeravanja diferencijacije, aktivacije i proliferacije T i B limfocita (62). Prema retrospektivnim studijama (64, 65), nedostatak vitamina D ( $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$ ) prije alo-TKMS smatrao se neovisnim čimbenikom rizika za razvoj cGVHD-a.

Međutim, prema recentnoj metaanalizi (8 studija) nije nađena statistički značajna povezanost nedostataka vitamina D niti s cGVHD-om ( $\text{OR}=1,75$ , 95 %CI 0,72 - 4,26;  $P=0,2189$ ) niti s aGVHD-om ( $\text{OR}=1,06$ , 95 % CI 0,74 – 1,53;  $P=0,739$ ). Studije koje su bile uključene u metaanalizu uglavnom su definirale nedostatak vitamina D kao serumske koncentracije  $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$  (65). Nedostatak vitamina D čest je i u pedijatrijskoj i adultnoj populaciji bolesnika i nakon alo-TKMS-a, a učestalost suboptimalnog statusa uvelike ovisi i o praćenju serumskih vrijednosti te adekvatnom propisivanju nadomjesne terapije (63, 67, 68). Prema opservacijskoj studiji koja je obuhvatila 95 bolesnika s dugotrajnim preživljenjem nakon alo-TKMS-a, utvrđeno je da je većina ispitanika redovito uzimala nadomjesnu terapiju vitamina D, što je rezultiralo urednim statusom ( $25(\text{OH})\text{D} \geq 75 \text{ nmol/L}$ ) u 65 % bolesnika, naspram 10,5 % koji su imali neadekvatan status ( $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$ ). Ispitanici na terapiji prednizonom (u studiji nije navedeno u kojoj dozi) imali su niže vrijednosti  $25(\text{OH})\text{D}$  u usporedbi s ostalim bolesnicima (64 naspram 86,5 nmol/L,  $P=0,002$ ). Autori su zaključili da je doza od 400 do 600 IU vitamina D na dan optimalna za održavanje koncentracije  $25(\text{OH})\text{D}$  u krvi  $\geq 75 \text{ nmol/L}$  (68). Na problem praćenja koncentracije vitamina D u krvi bolesnika nakon alo-TKMS-a, ali i adekvatne nadomjesne primjene vitamina D ukazuje na rad prema kojemu je status vitamina D određen kod samo 58 bolesnika, što čini 20,1 %. Pri tome je kod čak 89,7 % bolesnika utvrđen nedostatak vitamina D, a 10,3 % imalo je normalan status. Samo 12 bolesnika uzimalo je nadomjesnu terapiju vitamina D. Većina bolesnika imala je GVHD i bili su na terapiji glukokortikoidima (69).

Promjene nutritivnog statusa, mišićne mase i snage mogu pratiti bolesnike nakon alo-TKMS-a nekoliko mjeseci do nekoliko godina nakon transplantacije (67, 71). Izrazit gubitak tjelesne mase  $\geq 10 \%$  i malnutricija nakon alo-TKMS-a povezuje se s lošijim kliničkim ishodom (71), dok se gubitak mišićne mase povezuje sa smanjenim funkcionalnim kapacitetom (72).

Potrebna su daljnja istraživanja kod alo-TKMS populacije, ne samo kako bi se jasno utvrdile uzročno-posljedične veze vitamina D, nutritivnog i funkcionalnog statusa pacijenata, nego i

kako bi se postavili jasni protokoli i smjernice za prevenciju i liječenje malnutricije i sarkopenije. Upravo zbog toga su glavni ciljevi ovog istraživanja bili utvrditi nutritivni i funkcionalni status ispitanika nakon alo-TKMS-a, poglavito kod cGVHD bolesnika, te istražiti utjecaj nadomjesne terapije vitamina D na njihov nutritivni i funkcionalni status.

## 2 HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### 2.1 Hipoteza istraživanja

Oboljeli od cGVHD-a imaju lošiji nutritivni i funkcionalni status, što uključuje gubitak mišićne mase i snage u usporedbi s bolesnicima koji nisu razvili cGVHD, odnosno kontrolnom skupinom. Gubitak mišićne mase i snage veći je u bolesnika koji imaju aktivnu bolest pa se u toj skupini bolesnika očekuju i niže koncentracije 25(OH)D u krvi. Nadomjesna terapija vitaminom D (kolekalciferol, vitamin D3) u bolesnika s niskim koncentracijama 25(OH)D u krvi (<50 nmol/L), dovodi do porasta mišićne snage.

### 2.2 Opći ciljevi istraživanja

1. Utvrditi nutritivni status bolesnika s cGVHD-om pomoću upitnika subjektivne općenite procjene nutritivnog statusa prilagođenog bolesniku (eng. *Patient Generated - Subjective Global Assessment, PG-SGA*), antropometrijskih mjerenja i bioimpedancije (BIA).
2. Utvrditi funkcionalni status bolesnika s cGVHD-om, osobito mišićnu snagu pomoću HGS-a, dvominutnog testa hoda (eng. *2 Minute Walk Test, 2MWT*), Karnofskyjeve ljestvice i PG-SGA.
3. Istražiti utjecaj težine i stupnja aktivnosti cGVHD-a te trenutne imunosupresivne terapije (glukokortikoidna terapija) na nutritivni i funkcionalni status bolesnika, osobito mišićnu masu i snagu.
4. Istražiti učinak nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status bolesnika, osobito mišićnu snagu.

### 2.3 Specifični ciljevi

1. Ispitati povezanost cGVHD-a određenog organa s nutritivnim i funkcionalnim statusom i koncentracijama 25(OH)D u krvi.
2. Utvrditi dosadašnji pristup propisivanja nadomjesne terapije vitaminom D te ukazati na važnost pravodobnog uvođenja terapije kod cGVHD bolesnika.
3. Razviti i implementirati protokole određivanja i praćenja nutritivnog statusa bolesnika s cGVHD-om.

## **3 METODE**

### **3.1 Dizajn istraživanja**

Ovo je istraživanje oblikovano kao prospektivno kohortno istraživanje s dvije paralelne skupine u svrhu usporedbe učinka nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status bolesnika nakon alo-TKMS-a ovisno o prisutnosti cGVHD-a. Bolesnici koji su bili uključeni u istraživanje liječe se na Zavodu za hematologiju KBC-a Zagreb te ih je pratio multidisciplinarni tim KBC-a Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U dnevnoj hematološkoj bolnici bolesnicima su uzeti uzorci krvi za određivanje laboratorijskih parametara, a hematolozi su procjenjivali težinu cGVHD-a na početku i kraju istraživanja. U ambulanti za kliničku prehranu KBC-a Zagreb provedeno je ispitivanje nutritivnog i funkcionalnog statusa, savjetovanje i propisivanje nutritivne te nadomjesne terapije vitaminom D.

### **3.2 Ispitanici**

U razdoblju od 3. studenoga 2016. do 26. ožujka 2021. godine iz dnevne hematološke bolnice uključena su ukupno 102 bolesnika koja su prošla alo-TKMS. Dijagnoza cGVHD-a postavljala se na temelju etabliranih preporuka NIH konsenzusa iz 2015. godine (13), a koji se temelji na općeprihvaćenim kliničkim, laboratorijskim, radiološkim, endoskopskim i histološkim kriterijima koje su evaluirali nadležni hematolozi. Bolesnici s cGVHD-om uključeni su u istraživanje nakon postavljanja konačne dijagnoze, a bolesnici koji nisu udovoljavali kriterijima za dijagnozu cGVHD-a, ako nisu imali aGVHD i ako je prošlo najmanje 100 dana nakon alo-TKMS-a, smatrani su kontrolnim ispitanicima. Svaki organ/organski sustav zahvaćen cGVHD-om bodovan je prema dijagnostičkim kriterijima NIH konsenzusa iz 2015. godine, a prema tome je određena ukupna NIH-ova ocjena ozbiljnosti na skali 0 - 3 (11). Procjena težine cGVHD-a također je provedena globalnom ocjenom koju je procijenio nadležni hematolog (eng. *Health Care Provider, HCP*) u skalama 0 - 3 i 0 - 10 (73). Na skali 0 - 3 nula bodova znači da simptomi nisu prisutni, dok su bodovi od jedan do tri dodijeljeni kod blagih, umjerenih i ozbiljnih simptoma cGVHD-a. Na skali 0 - 10 nula bodova znači da simptomi cGVHD nisu prisutni, a ocjena deset znači da su prisutni najteži mogući simptomi cGVHD-a. Kronična GVHD aktivnost definirana je prema intenzitetu sistemske imunosupresije i terapijskoj namjeri u vrijeme evaluacije. Bolest je definirana kao „aktivna“ ako je liječnik odlučio povećati sustavnu terapiju zbog pogoršanja bolesti, zamijeniti ili povući sistemsku terapiju zbog nedostatka odgovora. Bolest je definirana kao „neaktivna“ ako je liječnik odlučio smanjiti

sistemska terapiju jer se cGVHD poboljšava, ne mijenjati trenutnu sistemska terapiju jer je cGVHD bio stabilan ili promijeniti sistemska terapiju samo zbog toksičnosti.

Svi su ispitanici potpisali obrazac za informirani pristanak, a Etičko povjerenstvo KBC-a Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu odobrili su protokol istraživanja. Dodatno su praćeni i vrijeme od transplantacije do dijagnoze cGVHD-a, vrijeme od dijagnoze cGVHD-a do prvog pregleda, klasifikacija cGVHD (klasični ili preklapajući) te glukokortikoidna terapija tijekom istraživanja. Osim podataka o cGVHD-u, u istraživanje su uključeni podaci iz povijesti bolesti koji uključuju osnovnu bolest, pripremu za transplantaciju, odnosno tip kondicioniranja (mijeloablativno ili drugo), datum transplantacije, izvor krvotvornih matičnih stanica (periferna krv ili koštana srž), vrsta darivatelja (podudarni srodni ili podudarni nesrodni), prethodni aGVHD, vrijeme od transplantacije do pregleda.

Prema sljedećim kriterijima određena je podobnost za uključivanje bolesnika u istraživanje:

- uključujući kriteriji
  1. za ispitivanu skupinu postavljena konačna dijagnoza cGVHD-a, za kontrolnu skupinu isključivanje postojanja cGVHD-a
  2. vrijeme proteklo od alo-TKMS-a minimalno 100 dana za obje skupine
  3. odsutnost znakova aGVHD-a
  4. pristanak na provođenje protokola istraživanja uz potpisani Informirani pristanak
- isključujući kriteriji
  1. dob manja od 18 godina
  2. trudnoća
  3. aGVHD
  4. trenutno liječenje hipovitaminoze vitamina D.

### **3.3 Opis i tijek istraživanja**

Svi ispitanici uključeni u studiju potpisali su informirani pristanak. Bolesnici su bili podijeljeni u dvije skupine, odnosno ispitivanu i kontrolnu skupinu. Ispitivanu skupinu činili su bolesnici s dijagnosticiranim cGVHD-om, a kontrolnu bolesnici koji nakon najmanje 100 dana od alo-TKMS-a nisu razvili cGVHD. Ispitanici su praćeni tijekom dva pregleda: na početku, prilikom uključivanja u istraživanje i na kontrolnom pregledu nakon 8 mjeseci  $\pm$  4 tjedna.

Bolesnike s cGVHD-om nadležni hematolozi iz dnevne hematološke bolnice uputili su na pregled u ambulantu za kliničku prehranu te su oni uključeni u istraživanje nakon novopostavljene dijagnoze ili tijekom kontrolnih pregleda već dijagnosticiranih bolesnika gdje im je izvađena krv u svrhu određivanja statusa vitamina D i ostalih biokemijskih markera. Bolesnike koji nisu razvili cGVHD, a uključeni su u istraživanje također su uputili nadležni hematolozi nakon isključivanja aGVHD-a ili tijekom kontrolnih pregleda. U ambulanti za kliničku prehranu svim je ispitanicima na prvom pregledu određen nutritivni i funkcionalni status te im je propisana nadomjesna terapija vitaminom D ovisno o inicijalnim serumskim vrijednostima do kontrolnog pregleda. Ispitanici su također popunili upitnik o vitaminu D te su dobili detaljne upute o provođenju trodnevnog dnevnika prehrane. Na kontrolnom pregledu ponovno su određeni nutritivni i funkcionalni status te serumske vrijednosti 25-hidroksi vitamina D i ostalih biokemijskih markera. Pregled bolesnika u ambulanti za kliničku prehranu KBC-a Zagreb trajao je prosječno 45 - 60 minuta.

### **3.4 Određivanje nutritivnog statusa**

Za procjenu nutritivnog statusa kod svih ispitanika korištene su sljedeće metode: antropometrijske metode (tjelesna visina, tjelesna masa, ITM, debljina kožnog nabora tricepsa (eng. *triceps skinfold, TSF*) i obujam nadlaktice (eng. *middle upper arm circumference, MUAC*), PG-SGA i metoda bioelektrične impedancije (engl. *bioelectrical impedance analysis, BIA*).

#### **3.4.1 Antropometrijske metode**

##### **3.4.1.1 Određivanje tjelesne mase, visine i ITM-a**

Tjelesna masa se kod svakog ispitanika određivala pomoću vage za BIA-u (Tanita BC-420MA 50 kHz/90  $\mu$ A) na jednu decimalu. Tjelesna visina mjerena je pomoću visinomjera. ITM izračunat je kao omjer između tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima. Ovisno o ITM-u, ispitanici su klasificirani kao pothranjeni, potencijalno pothranjeni, normalne tjelesne mase, prekomjerne tjelesne mase te pretili I., II. ili III. stupnja (**Tablica 1**).



**Tablica 1.** Klasifikacija nutritivnog statusa prema vrijednostima ITM-a.

Klasifikacija	ITM (kg/m <sup>2</sup> )
Pothranjenost	<18,5
Potencijalna pothranjenost	18,5 – 20
Normalna tjelesna masa	20 – 25
Prekomjerna tjelesna masa	25 – 30
Pretilost I. stupnja	30 – 35
Pretilost II. stupnja	35 – 40
Pretilost III. stupnja	40+

#### 3.4.1.2 Određivanje MUAC-a

MUAC je opseg nadlaktice izražen u centimetrima koji se određuje na nedominantnoj ruci pomoću mjerne trake preciznosti do 1 mm. Mjera se uzima na sredini između vrhova ramena i lakta dok je ruka uz tijelo savijena pod kutom od 90 stupnjeva.

#### 3.4.1.3 Određivanje TSF-a

TSF je debljina kožnog nabora nadlaktice u području tricepsa izražena u milimetrima te se određuje na sredini stražnjeg dijela nadlaktice nedominantne ruke pomoću kalipera. U ovom istraživanju provedena su tri mjerenja pomoću kalipera tipa Harpenden Skinfold Caliper CE0120 preciznosti do 0,2 mm i izračunata je srednja vrijednost TSF-a.

#### 3.4.2 Subjektivna globalna procjena bolesnika (PG-SGA)

PG-SGA široko je raširena referentna metoda u kliničkim istraživanjima za procjenu nutritivnog statusa onkoloških bolesnika (74), a proizlazi iz dobro poznatog upitnika za procjenu nutritivnog statusa, subjektivne globalne procjene (eng. *Subjective Global Assessment, SGA*) (75). PG-SGA se danas koristi u brojnim studijama, na različitim populacijama bolesnika zato što pruža mogućnost predviđanja ishoda liječenja, komplikacija, preživljenja, kvalitete života te je osjetljiv na promjene nutritivnog statusa nakon uvođenja nutritivne intervencije (76).

PG-SGA objedinjuje podatke iz povijesti bolesti (promjene tjelesne mase, promjene apetita i unosa hrane, prisutnost simptoma koji mogu utjecati na poteškoće unosa hrane, promjene

funkcionalnog statusa vezanog uz dnevne aktivnosti), kliničkog pregleda (vidljive promjene mišićne i masne mase, prisutnost ascitesa, edema) i metaboličkog stresa (prisutnost i duljina povišene tjelesne temperature, primjena glukokortikoida).

Prisutnost ili težina različitih parametara svake kategorije PG-SGA upitnika boduju se s 0 - 4 boda.

PG-SGA se sastoji iz 7 dijelova kojima se bilježi:

1. Promjena tjelesne mase u posljednja dva tjedna, zatim u mjesec dana i šest mjeseci, a ovisno o visini postotka gubitka, dodjeljuju se bodovi u rasponu od 0 do 4.
2. Promjena unosa hrane koja se procjenjuje na temelju uobičajenog unosa hrane u posljednjih mjesec dana (bez promjene, povećan unos, smanjen unos). Ako pacijent ima smanjen unos, navode se značajnije promjene količine i konzistencije hrane te uzimanje dodatne nutritivne potpore u obliku oralnih nutritivnih suplemenata (ONS).
3. Promjena apetita i prisutnost različitih simptoma koji mogu utjecati na promjene unosa hrane u posljednja dva tjedna (gastrointestinalni simptomi ili mučnina, povraćanje, bolovi u trbuhu, proljevi, opstipacija, prerani osjećaj sitosti, promjene okusa i mirisa, otežano gutanje, zatim promjene u usnoj šupljini kao što su suhoća, bolovi, afte, infekcije i ulceracije te ostali simptomi kao što su umor, dentalni problemi, depresija i dr.) koji se boduju pojedinačno s 1 - 3 boda.
4. Promjene funkcionalnog kapaciteta u posljednjih mjesec dana, od sposobnosti obavljanja dnevnih aktivnosti bez ograničenja do potpune disfunkcije (bolesnik u krevetu); boduju se s 0 - 3 boda.
5. Utjecaj osnovne bolesti, komorbiditeta i dobi veće od 65 godina na nutritivne potrebe.
6. Utjecaj glukokortikoida (0 - 3 boda ovisno o dnevnoj dozi) i tjelesne temperature (0 - 3 boda ovisno o visini tjelesne temperature i duljini njezina trajanja) na metabolički stres.
7. Klinički pregled odnosi se na vidljive nedostatke mišićne mase i masne mase određenih dijelova tijela te prisutnih edema ili ascitesa. Broj bodova od 0 do 3 ovisit će o subjektivnoj procjeni ispitivača.

Ukupni zbroj bodova izražava se kao PG-SGA rezultat pomoću kojeg se bolesnici svrstavaju u tri kategorije (A, B i C) koje daju ukupnu sliku nutritivnog statusa bolesnika. Kategorija A podrazumijeva uredan nutritivni status, kategorija B umjerenu malnutriciju ili izloženost riziku nastanka malnutricija i kategorija C ozbiljnu malnutriciju (**Prilog 1**).

### 3.4.3 Bioelektrična impedancija

Bioelektrična impedancija pouzdana je i neinvazivna metoda analize sastava tijela na temelju dvokomponentnog modela (2C), odnosno masne i nemasne tjelesne mase. U ovom istraživanju BIA je provedena pomoću vage (Tanita BC-420MA s jednom radnom frekvencijom od 50 kHz pri 90  $\mu$ A) koja mjeri impedanciju, izraženu u omima ( $\Omega$ ), prema slabom signalu električne struje koji se šalje kroz tijelo putem stajnih elektroda. Na temelju sastava tijela električni signal putuje kroz tkivo koje sadrži vodu. Različite komponente tijela imaju različite razine impedancije pa je tako provodljivost veća kroz nemasnu masu koja uključuje mišiće, kosti i vodu, nego kroz masnu masu koja sadrži vrlo malo vode. Kod jednofrekventne BIA-e vrijednost impedancije tumači se kao otpor (R) koji se kroz znanstveno utvrđene jednadžbe koristi za izračunavanje sastava tijela, odnosno masne i nemasne mase.

Svi ispitanici mjerili su se na BIA vagi bosi u laganoj odjeći. Prilikom mjerenja unose se podaci o tjelesnoj visini, dobi, spolu i tjelesnoj građi (atletski tip ili standardni). Samo mjerenje traje nekoliko sekundi, nakon čega svaki ispitanik dobiva ispis sljedećih podataka:

1. tjelesne mase u kg
2. ITM u  $\text{kg}/\text{m}^2$
3. masne mase (engl. *fat mass*, *FM*) u kg i postotak masne mase
4. nemasne mase (engl. *fat free mass*, *FFM*) u kg
5. ukupne mišićne mase u kg
6. ukupne vode u kg i postotak
7. koštane mase u kg
8. procjenu bazalnog metabolizma u mirovanju u kcal
9. procjenu metaboličke dobi prema sastavu tijela
10. visceralne masnoće
11. vrijednost impedancije (R) u  $\Omega$ .

Skeletna mišićna masa (SMM) izračunava se pomoću formule (77):

$$\text{SMM (kg)} = [(\text{TV}^2/\text{R} \times 0,401) + (\text{spol} \times 3,825) + (\text{dob} \times -0,071)] + 5,102$$

gdje je TV tjelesna visina u cm; R je otpor u  $\Omega$ ; spol = 0 za žene, 1 za muškarce; dob u godinama.

Indeks skeletne mišićne mase (eng. *skeletal muscle index*, *SMI*), indeks masne mase (engl. *fat mass index*, *FMI*) i indeks nemasne mase (engl. *fat free mass index*, *FFMI*) izračunavaju se iz SMM-a, FM-a i FFM-a dobivenih iz BIA:  $\text{SMI} = \text{SMM}/\text{TV}^2$ ,  $\text{FMI} = \text{FM}/\text{TV}^2$ ,  $\text{FFMI} = \text{FFM}/\text{TV}^2$  gdje je TV tjelesna visina u metrima.

### **3.5 Određivanje funkcionalnog statusa (mišićne funkcije)**

Za procjenu funkcionalnog statusa korišteni su dinamometrija šake i PG-SGA kod svih ispitanika te dvominutni test hoda (2MWT) i Karnofskyjeva ljestvica izvedbenog statusa kod ispitanika s cGVHD-om.

#### **3.5.1 Dinamometrija šake**

Dinamometrija šake je metoda za određivanje mišićne funkcije, odnosno procjene mišićne snage pomoću dinamometra. U ovome istraživanju korišten je hidraulički ručni dinamometar (Jamar, Sammons Preston Rolyan) koji prikazuje HGS u kilogramima. Jamar dinamometar smatra se zlatnim standardom za mjerenje HGS-a u većini studija (78). Mjerenje je provedeno tri puta na obje ruke (dominantna i nedominantna ruka) nakon čega je određena srednja vrijednost. Bolesnici su tijekom mjerenja sjedili, a ruka na kojoj se mjerila snaga stiska šake bila je savijena u području lakta pod kutom od 90 stupnjeva. Bolesnici su imali pauze od nekoliko minuta između mjerenja. Normativi za HGS prema spolu i dobi korišteni su prema prethodno utvrđenim normativima slične populacije (79).

#### **3.5.2 Dvominutni test hodanja (2MWT)**

Dvominutni test hoda (2MWT) jedan je od elemenata procjene funkcionalnog kapaciteta kod bolesnika s cGVHD-om prema NIH kriterijima. Pri provođenju 2MWT-a bolesnici su hodali na stazi od 50 metara (25 metara u svakom smjeru) s okretajima od 180 stupnjeva na svakom kraju te je na kraju zabilježena ukupna udaljenost prijeđena u dvije minute. 2MWT mjerio je nadležni fizijatar samo kod bolesnika s cGVHD-om.

#### **3.5.3 Funkcionalni kapacitet prema PG-SGA-u**

Promjene funkcionalnog kapaciteta prema PG-SGA-u procjenjuju se u posljednjih mjesec dana prema sposobnosti obavljanja dnevnih aktivnosti bez ograničenja do potpune disfunkcije (bolesnik u krevetu) i boduju se od 0 do 3 boda.

#### **3.5.4 Karnofskyjeva ljestvica izvedbenog statusa kod cGVHD-a**

Karnofskyjeva ljestvica koristi se u svrhu procjene općeg tjelesnog stanja bolesnika i mogućnosti obavljanja dnevnih aktivnosti. Kod bolesnika s cGVHD-om pri svakom pregledu

nadležnog hematologa određivao se Karnofskyjev indeks čiji je brojčani raspon od 0 (smrt) do 100 (normalne dnevne aktivnost bez ograničenja, nema znakova bolesti) bodova.

### **3.6 Uzorci krvi**

Uzorci periferne venske krvi za potrebe istraživanja uzorkovani su ujutro, natašte između 7 i 9 sati. Uzorci krvi uzimali su se kod bolesnika uključenih u istraživanje prilikom prvog i drugog pregleda u dnevnoj bolnici Zavoda za hematologiju KBC-a Zagreb. Laboratorijska ispitivanja uzoraka krvi bolesnika provedena su na Odjelu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb, a uključivala su standardizirano mjerenje leukocita, trombocita, C-reaktivnog proteina (CRP), albumina, ukupnih proteina, lipidograma (ukupni kolesterol, trigliceride, LDL, HDL), 25-(OH)D i kreatinina.

#### **3.6.1 Određivanje 25(OH)D u krvi**

Odabrani biomarker za određivanje statusa vitamina D bio je 25(OH)D vitamin s obzirom na to da je, za razliku od aktivnog oblika 1,25-dihidroksi vitamina D, bolji pokazatelj ukupnog statusa vitamina D u organizmu. Koncentracije 25(OH)D određene su primjenom imunokemijske metode ECLIA (eng. *electrochemiluminescence immunoassay*) (Roche Cobas E601, Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Vrijednosti vitamina D u krvi više od 75 nmol/L smatrale su se urednima, niže od 75 nmol/L manjkom ili insuficijencijom vitamina D, a serumske vrijednosti niže od 50 nmol/L nedostatkom ili deficitom vitamina D (28).

#### **3.6.2 Određivanje ostalih standardnih biokemijskih biljega**

Ostali biokemijski biljezi koji su se pratili prilikom prvog i drugog pregleda uključivali su leukocite, trombocite, CRP, lipidogram (ukupni kolesterol, trigliceride, LDL, HDL), kreatinin, albumin i ukupne proteine. Leukociti i trombociti određeni su na hematološkom brojaču (Sysmex XE 5000, Sysmex Corp., Kobe, Japan) laserskom tehnologijom rasipanja svjetlosti. Ukupni proteini određeni su spektrofotometrijski s biuret reagensom (80), a albumini s bromkrezol zelenilom (BCG) (81). Kreatinin je određen fotometrijski s kreatininazom (82), trigliceridi fotometrijski s glicerolfosfatoksidazom (GPO-PAP) (83), ukupni kolesterol fotometrijski s kolesterol-oksidadom (CHOD-PAP), a HDL/LDL homogenom enzimskom kolorimetrijskom metodom (84). Koncentracije CRP-a određene su imunoturbidimetrijskim metodama (Cobas 6000cee, Roche, Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) (85).

### 3.7 Propisivanje nadomjesne terapije vitamina D i praćenje adherencije

Ovisno o serumskim vrijednostima 25(OH)D, svim bolesnicima koji su bili uključeni u istraživanje tijekom prvog pregleda propisana je nadomjesna terapija vitaminom D do kontrolnog pregleda, kada je ponovljeno mjerenje vitamina D u serumu. Svim ispitanicima propisan je vitamin D u obliku kapi, 1 kap = 400 IU kolekalciferola (Oleovit D3 kapi). Doziranje kolekalciferola određeno je svakom pacijentu s obzirom na inicijalne serumске vrijednosti 25(OH)D (**Tablica 2**) i trajanje nadomjesne terapije (8 mjeseci), a sukladno Smjernicama za prevenciju, prepoznavanje i liječenje nedostatka vitamina D u odraslih (28). Prema istim smjernicama, serumске vrijednosti 25(OH)D vitamina <50 nmol/L smatraju se nedostatkom ili deficitom, <75 nmol/L manjkom ili insuficijencijom, a vrijednosti ≥75 nmol/L adekvatnom razinom vitamina D.

**Tablica 2.** Propisane doze kolekalciferola ovisno o serumskim vrijednostima 25(OH)D

25(OH)D (nmol/L)	Kolekalciferol (IU/dan)
<50	2000
50 - 75	1600
75 - 100	1200
>100	800

Adherencija je praćena indirektnom metodom intervjuiranja bolesnika putem telefona tijekom istraživanja i na kontrolnom pregledu. Ispitanici su bili upitani pridržavaju li se uzimanja vitamina D kako im je na početku istraživanja objašnjeno. Neaderentnim ispitanicima smatrali su se oni koji su neredovito uzimali vitamin D, koji su ga uzimali kraće od propisanog (npr. pet mjeseci umjesto osam) ili oni koji su uzimali doze vitamina D niže od propisanih.

#### 3.7.1 Procjena unosa vitamina D putem prehrane

Unos vitamina D putem prehrane procijenjen je iz upitnika o vitaminu D (**Prilog 2**) koji je sadržavao šest pitanja o učestalosti konzumacije (dnevno, tjedno ili mjesečno) namirnica bogatih vitaminom D (riba, mlijeko, sir, maslaci margarin, jaja, gljive).

Upitnik o vitaminu D validiran je putem dnevnika prehrane koji su ispitanici vodili tijekom tri dana (dva radna dana i jedan dan vikendom). U dnevnik prehrane upisivali su sve namirnice koje su konzumirali toga dana (količinu, pripremu i vrstu namirnica). U nedostatku hrvatskih

tablica sastava hrane novijeg datuma i podataka o sadržaju vitamina D korištene su tablice poljskog nacionalnog instituta za hranu i prehranu (86), iz kojih je izračunat ukupni dnevni unos vitamina D iz hrane u  $\mu\text{g}$  ( $1 \mu\text{g}=40 \text{ IU}$ ).

### **3.8 Praćenje imunosupresivne terapije tijekom istraživanja**

Tijekom ovog istraživanja (između dva pregleda) kod svih bolesnika praćena je i farmakoterapija koja se odnosila na imunosupresivnu terapiju prvenstveno prednizonom i metilprednizonom koju je propisao nadležni hematolog. Sve doze metilprednizolona bile su preračunate u prednizon. Doza metilprednizolona od 4 mg smatrala se ekvivalentna dozi prednizona od 5 mg (87).

### **3.9 Statistička obrada podataka**

Podaci su prikupljeni u Excel tablicama (Microsoft, SAD). Za statističku obradu podataka korišten je programski paket Medcalc v11.4 (Medcalc Software, Belgija). Normalnost distribucije numeričkih varijabli ispitana je Kolmogorov-Smirnov testom. Varijable s normalnom distribucijom sumirane su korištenjem srednje vrijednosti i standardne devijacije (SD), dok je za nenormalno distribuirane varijable prikazan medijan i interkvartilni raspon (IKR). Ovisno o normalnosti raspodjele rezultata upotrijebljeni su odgovarajući testovi parametrijskih (Studentov t-test, ANOVA) i neparametrijskih (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis) statističkih metoda. Usporedbe vrijednost prvog i kontrolnog pregleda istog bolesnika uspoređivane su s uparenim testovima (paired t-test, neparametrijski Wilcoxon test). Kategoričke varijable uspoređivane su  $\chi^2$ -testom. Korelacije su evaluirane Pearsonovim ili Spearmanovim koeficijentom korelacije ovisno o tipu varijabli. Logistička regresija primijenjena je za određivanje faktora rizika za nisku mišićnu snagu, nisku razinu vitamina D te malnutriciju. Varijable koje su na univarijatnoj analizi pokazale vezu s varijablom od interesa ( $p < 0,1$ ) korištene su za izradu multivarijatnog modela. Statistički značajna razlika smatrana je  $p \leq 0,05$ .

## 4 REZULTATI

### 4.1 Karakteristike svih ispitanika na početku istraživanja

U istraživanje su bila uključena ukupno 102 bolesnika nakon alo-TKMS-a koja su se liječila na Zavodu za hematologiju KBC-a Zagreb od rujna 2016. do ožujka 2021. godine. Demografske karakteristike svih ispitanika nalaze se u **Tablici 3** iz koje je vidljivo da nije bilo statistički značajne razlike u spolu i dobi između ispitanika s cGVHD-om i kontrolne skupine. U skupini cGVHD-a 9,2 % bolesnika bilo je starije od 65 godina, a u kontrolnoj skupini 10,8 %. Nije bilo statistički značajne razlike između varijabli nutritivnog i funkcionalnog statusa ispitanika koju su imali 65+ ili <65 godina. Statistički značajna razlika nađena je kod primarne bolesti između skupina pa su ALL/AML/MDS i KML bili učestaliji kod bolesnika s cGVHD-om, dok su ostale bolesti bile učestalije kod kontrolne skupine. Mijeloablativno kondicioniranje prošlo je 46,2 % ispitanika u cGVHD skupini naspram 32,4 % ispitanika kontrolne skupine. Statistički značajna razlika između bolesnika s cGVHD-om i kontrolne skupine bila je u vremenu od alo-TKMS-a do prvog pregleda, odnosno uključivanja u istraživanje (Mann-Whitney test,  $P=0,0009$ ). Kod kontrolne skupine je medijan bio 258 (153 - 541), a kod cGVHD skupine 640 (232 - 1968) dana. Srodnog darivatelja je imalo 45,1 % bolesnika. Izvor krvotvornih matičnih stanica (KMS) bio je iz periferne krvi darivatelja u 78,4 % slučajeva. Prethodni akutni oblik GVHD-a imalo je 57,8 % ispitanika bez statistički značajne razlike između skupina.



**Tablica 3.** Demografske karakteristike svih ispitanika uključenih u istraživanje.

		<b>cGVHD bolesnici (n=65)</b>	<b>Kontrolna skupina (n=37)</b>	<b>Ukupno (n=102)</b>	<b>P</b>
<b>Spol</b>	Ženski	31 (47,7)	17 (45,9)	48 (47,1)	0,8658
	Muški	34 (52,3)	20 (54,1)	54 (52,9)	
<b>Dob u godinama (medijan, IKR)</b>		51 (39 - 60)	50 (39 - 58)	50 (39 - 59)	0,9306
	65+	6 (9,2)	4 (10,8)	10 (9,8)	0,7974
	<65	59 (90,8)	33 (89,2)	92 (90,2)	
<b>Primarna bolest</b>	ALL /AML / MDS	46 (70,8)	24 (64,9)	70 (68,6)	<b>0,0406</b>
	KML	14 (21,5)	4 (10,8)	18 (17,6)	
	Drugo	5 (7,7)	9 (24,3)	14 (13,7)	
	AA/PNH	2 (3,1)	1 (2,7)	3 (2,9)	
	MF	0 (0)	3 (8,1)	3 (2,9)	
	HL	0 (0)	3 (8,1)	3 (2,9)	
	KLL	1 (1,5)	1 (2,7)	2 (2,0)	
	MPN	1 (1,5)	1 (2,7)	2 (2,0)	
	MM	1 (1,5)	0 (0)	1 (1,0)	
<b>Kondicioniranje</b>	RIC	29 (44,6)	23 (62,2)	52 (51,0)	0,4007
	Mijeloablativno	30 (46,2)	12 (32,4)	42 (41,2)	
	Mijelo + TBI	3 (4,6)	1 (2,7)	4 (3,9)	
	TBI	3 (4,6)	1 (2,7)	4 (3,9)	
<b>Srodnost darivatelja</b>	Nesrodan	36 (56,4)	20 (54,1)	56 (54,9)	0,8972
	Srodan	29 (44,6)	17 (45,9)	46 (45,1)	
<b>Izvor KMS</b>	Periferna krv	53 (81,5)	27 (73,0)	80 (78,4)	0,3143
	Koštana srž	12 (18,5)	10 (27,0)	22 (21,6)	
<b>Prethodni akutni GVHD</b>		42 (64,6)	17 (45,9)	56 (57,8)	0,0677
<b>Vrijeme (medijan, IKR) u danima od alo- TKMS-a do uključivanja u istraživanje</b>		640 (232-1968)	258 (153-541)	400 (197-1501)	<b>0,0009</b>

cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; ALL – akutna limfoblastična leukemija; AML – akutna mijeloična leukemija, MDS – mijelodisplastični sindrom; KML – kronična mijeloična leukemija; AA/PNH – aplastična anemija / paroksizmalna noćna hemoglobinurija; MF – mijelofibroza; HL – Hodgkinov limfom; MPN – mijeloproliferativna neoplazma; MM – multipli mijelom; RIC – kondicioniranje smanjenog intenziteta, TBI – zračenje; KMS – krvotvorne matične stanice; IKR – interkvartilni raspon.

## 4.2 Demografske karakteristike ispitanika s cGVHD-om na prvom i kontrolnom pregledu

Pregled demografskih karakteristika svih cGVHD ispitanika na prvom i kontrolnom pregledu prikazan je u **Tablici 4**. Statističke značajnosti promatrane su testovima za uparene uzorke za bolesnike koji su imali i prvi i kontrolni pregled gdje je to bilo moguće. Medijan vremena od alo-TKMS-a do nastanka cGVHD-a bio je 250 dana od nastanka cGVHD-a do uključivanja u istraživanje, odnosno prvog pregleda 152 dana. Većina ispitanika, 83,1 %, imala je klasičan cGVHD. Statistički nije bilo značajne razlike u procjeni ozbiljnosti cGVHD-a prema NIH kriterijima i HCP-a na prvom i kontrolnom pregledu iako je na kontrolnom pregledu bilo više bolesnika s blažim cGVHD-om. Statistički značajno manje bolesnika imalo je cGVHD jetre na kontrolnom pregledu ( $P=0,0133$ ).

**Tablica 4.** Karakteristike ispitanika s cGVHD-om na prvom i kontrolnom pregledu.

		Prvi pregled (n=65)	Kontrolni pregled (n=43)	P
Nastup cGVHD-a	<i>De novo</i>	24 (36,9)	14 (32,6)	0,8912*
	Progresivan	19 (29,2)	14 (32,6)	
	Mirujući	22 (33,8)	15 (34,9)	
Klasifikacija cGVHD-a	Klasičan	54 (83,1)	34 (79,1)	0,5758*
	Preklapajući	11 (16,9)	9 (20,9)	
Dani od alo-TKMS-a do cGVHD (medijan, IKR)		250 (157 - 513)	257 (154 - 570)	0,8573*
Dani od cGVHD-a do prvog pregleda (medijan, IKR)		152 (8 - 1420)	182 (4 - 1272)	0,6486*
Procjena aktivnosti cGVHD-a	0	15 (23,1)	14 (32,6)	0,3423**
	1	13 (20,0)	11 (25,6)	
	2	32 (49,2)	14 (32,6)	
	3	5 (7,7)	4 (9,3)	
Procjena ozbiljnosti cGVHD-a prema NIH kriterijima	Blagi	14 (21,5)	18 (41,9)	0,0749**
	Umjereni	27 (41,5)	14 (32,6)	
	Teški	24 (36,9)	11 (25,6)	
Procjena ozbiljnosti cGVHD-a prema kliničaru (HCP)	Blagi	20 (30,8)	20 (46,5)	0,4244**
	Umjereni	26 (40,0)	10 (23,3)	
	Teški	19 (29,2)	13 (30,2)	
Karnofskyjev indeks %	<70	3 (4,6)	0 (0)	0,5000**
	70	9 (13,8)	8 (18,6)	
	80	18 (27,7)	10 (23,3)	
	90	18 (27,7)	8 (18,6)	
	100	17 (26,2)	17 (39,5)	
Broj organa zahvaćen cGVHD-om	0 - 1	13 (20,0)	17 (39,5)	0,3799**
	2	12 (18,5)	8 (18,6)	
	3	21 (32,3)	12 (27,9)	
	4+	19 (29,2)	6 (14)	
Organski sustavi zahvaćeni cGVHD-om	Pluća	24 (36,3)	10 (23,3)	0,3391**
	Jetra	15 (23,1)	2 (4,7)	<b>0,0133**</b>
	Probavni sustav	12 (18,5)	3 (7)	0,1810**
	Zglobovi i fascije	14 (21,5)	10 (23,3)	0,2705**
	Oči	40 (61,5)	27 (62,8)	0,1000**
	Usta	39 (60,0)	22 (51,2)	0,2791**
	Koža	29 (44,6)	10 (23,3)	0,1613**
	Genitalni sustav	10 (15,4)	8 (18,6)	0,5614**

\* uspoređeni su svi bolesnici naspram samo onih koji su došli na kontrolni pregled. \*\* uspoređeni su upareni bolesnici koji su imali i prvi i kontrolni pregled. cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; NIH – National Institute of Health; HCP – health care provider; IKR – interkvartilni raspon.

### 4.3 Nutritivni status ispitanika

Nutritivni status ispitanika na prvom i kontrolnom pregledu prikazan je u **Tablici 5**. Normalnu tjelesnu masu prema ITM-u 20 - 25 kg/m<sup>2</sup> imalo je 43,1 % cGVHD bolesnika i 29,7 % ispitanika kontrolne skupine prilikom prvog pregleda, a prilikom drugog pregleda 41,9 i 41,7 %. Pothranjenih ili potencijalno pothranjenih prema ITM-u <18,5 i 18,5 - 20 kg/m<sup>2</sup> bilo je 13,9 % cGVHD bolesnika i 13,7 % ispitanika kontrolne skupine na prvom pregledu te 9,4 i 8,3 % na kontrolnom pregledu. Prekomjernu tjelesnu masu prema ITM-u  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> imalo je 30,8 % cGVHD bolesnika i 32,4 % ispitanika kontrolne skupine na prvom pregledu te 30,2 i 33,3 % na kontrolnom pregledu. Pretilost I. i II. stupnja bila je prisutna kod 12,4 % cGVHD bolesnika i 24,3 % ispitanika kontrolne skupine na prvom pregledu te 18,6 i 16,6 % na kontrolnom pregledu. Nije bilo statistički značajnih razlika ITM-a između skupina, kao ni promjena između dva pregleda. Promjena ITM-a među pregledima računata je kao razlika vrijednosti kontrolnog i prvog pregleda. Za kategorije ITM-a razlika se gledala kao pozitivna ili negativna promjena kategorije među pregledima. Tako izračunate promjene za svakog bolesnika uspoređene su među skupinama prikladnim statističkim testom.

Prema SGA na prvom pregledu 40 % bolesnika s cGVHD-om i 27 % ispitanika kontrolne skupine imali su malnutriciju ili su bili u riziku od malnutricije (kategorija B i C), a na kontrolnom pregledu 18,7 i 20,8 %. Iako je na kontrolnom pregledu veći dio cGVHD bolesnika popravio SGA kategoriju nutritivnog statusa (81,4 % kategorije A), taj napredak nije dosegao razinu statističke značajnosti (*Chi-square*,  $P=0,071$ ). Niži PG-SGA rezultat kontrolnog pregleda bio je značajnije izražen kod kontrolne skupine. Kod obje skupine bolesnika primijećeno je znatno usporenje gubitka tjelesne mase (unatrag šest mjeseci od pregleda;  $P=0,004$ ). Tako je kod cGVHD bolesnika unutar šest mjeseci do prvog pregleda prosječan gubitak tjelesne mase bio  $3,4 \pm 5,5$  kg, a unutar šest mjeseci od prvog pregleda samo  $0,9 \pm 2,2$  kg.

Promjene masne mase, odnosno porast FMI-ja značajniji je kod ispitanika s cGVHD-om ( $P=0,0131$ ), a promjene nemasne mase prema FFMI-ju kod obje skupine nisu bile statistički značajne. Skeletna mišićna masa prema SMI-ju mjerena prema BIA-u bila je nezamjetno niža prilikom kontrolnog pregleda kod bolesnika s cGVHD-om. Porast visceralnih masnoća (VF) na kontrolnom pregledu statistički je značajan u obje skupine. Među ispitivanim skupinama nije bilo razlika u promjenama pojedinih parametara između prvog i kontrolnog dolaska.

**Tablica 5.** Nutritivni status ispitanika na prvom (n=102) i kontrolnom pregledu (n=67).

Parametar	cGVHD bolesnici srednja vrijednost (SD) ili n( %)			Kontrolna skupina srednja vrijednost (SD) ili n(%)			Razlika skupina*
	Prvi pregled	Kontrolni pregled	P**	Prvi pregled	Kontrolni pregled	P**	P
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	24,4 (4,5)	25,2 (4,7)	0,2362	25,6 (5)	25,8 (5,2)	0,0563	0,3495
ITM kategorija							
Pothranjenost	4 (6,2)	2 (4,7)	0,8961	3 (8,3)	2 (8,3)	0,6691	0,5642
Potencijalna pothranjenost	5 (7,7)	2 (4,7)		2 (5,4)	0 (0)		
Normalna tjelesna masa	28 (43,1)	18 (41,9)		11 (29,7)	10 (41,7)		
Prekomjerna tjelesna masa	20 (30,8)	13 (30,2)		12 (32,4)	8 (33,3)		
Pretilost I. stupnja	6 (9,2)	7 (16,3)		7 (18,9)	2 (8,3)		
Pretilost II. stupnja	2 (3,1)	1 (2,3)		2 (5,4)	2 (8,3)		
PG-SGA rezultat	7 (5,1)	5,1 (3,8)	0,1992	5,4 (4,4)	3,4 (3,6)	0,0505	0,4147
PG-SGA kategorija							
A	39 (60,0)	35 (81,4)	0,0701	27 (73,0)	19 (79,2)	0,3593	0,9467
B	18 (27,7)	6 (14)		7 (18,9)	5 (20,8)		
C	8 (12,3)	2 (4,7)		3 (8,1)	0 (0)		
TM 1 mj. (kg)	0,83 (2,4)	0,2 (0,7)	0,1353	1,1 (2,7)	0,2 (0,7)	0,1094	0,3378
TM 6 mj. (kg)	3,4 (5,5)	0,9 (2,2)	<b>0,004</b>	3,2 (4,9)	1 (3,2)	<b>0,0134</b>	0,5609
MUAC (cm)	28,5 (4,1)	29,2 (4,3)	0,0874	29,3 (4,7)	29,5 (5,5)	<b>0,0321</b>	0,5479
TSF (mm)	18,2 (7,8)	19,2 (8,6)	0,1639	19,7 (9,3)	21,5 (10,2)	<b>0,0304</b>	0,4375
FMI (kg/m <sup>2</sup> )	6,4 (4,1)	7,2 (4,4)	<b>0,0131</b>	6,9 (4,0)	7 (3,8)	0,0822	0,9794
FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	18,1 (3,0)	18 (3,2)	0,1027	18,6 (2,5)	18,8 (2,7)	0,8671	0,1652
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	9,8 (1,8)	9,5 (1,6)	0,1881	9,8 (1,7)	9,6 (1,7)	0,1209	0,4331
VF	7,3 (4,5)	7,8 (4,7)	<b>0,0332</b>	7,6 (3,9)	8,1 (3)	<b>0,0448</b>	0,6221

\* izračunata je promjena svake varijable na kontrolnom pregledu u odnosu na prvi pregled te su promjene opažene u kontrolnoj i ispitnoj skupini uspoređene t-testom, tj. Mann-Whitney testom.

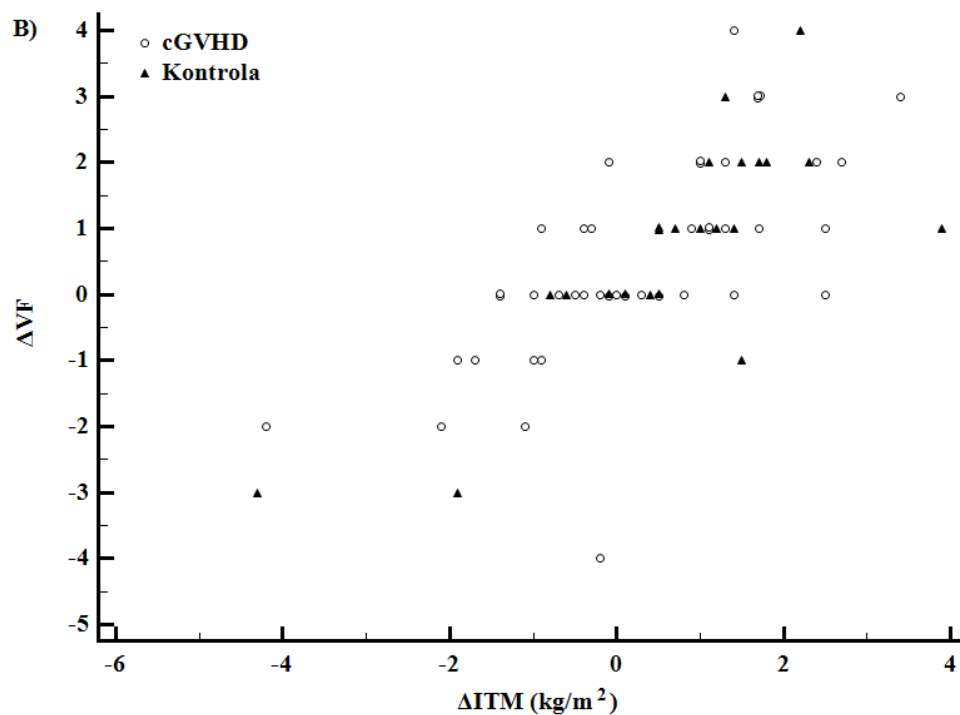
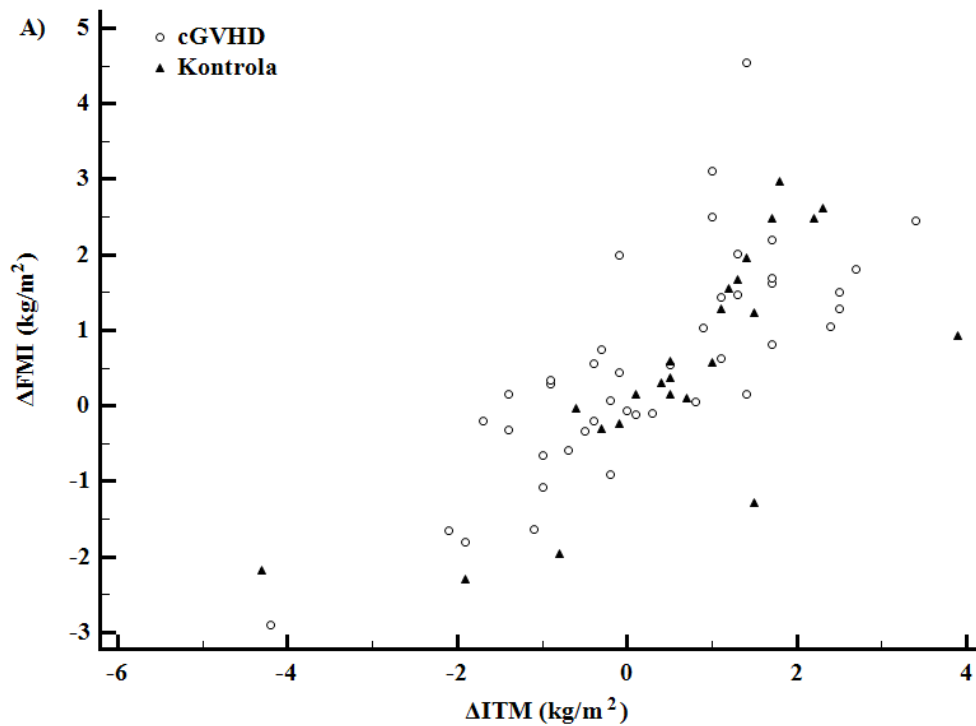
\*\* razlike vrijednosti na prvom i kontrolnom pregledu uspoređivane su t-testom ili Wilcoxon testom za uparene uzorke; statistički značajne razlike su podebljane. cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; ITM – indeks tjelesne mase; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; TM – tjelesna masa (gubitak tjelesne mase 1 ili 6 mjeseci); MUAC – obujam nadlaktice; TSF – debljina kožnog nabora, FMI – indeks masne mase; FFMI – indeks nemasne mase; SMI – indeks skeletne mišićne mase; VF – visceralne masnoće.

Korelacije između promjena varijabli nutritivnog statusa prikazane su u **Tablici 6**. Promjena ITM-a pozitivno korelira s promjenom FMI-ja ( $r=0,793$ ,  $P<0,0001$ ) i VF-a ( $r=0,746$ ;  $P<0,0001$ ) prikazano na **Slici 2 (A i B)** te s promjenom MUAC-a i TSF-a. Promjena mišićne mase prema SMI-ju negativno korelira s FMI-jem ( $r=0,545$ ;  $P<0,0001$ ) i VF-om ( $r=0,479$ ;  $P<0,0001$ ) kako je prikazano na **Slici 3**.

**Tablica 6.** Korelacije između promjena varijabli nutritivnog statusa.

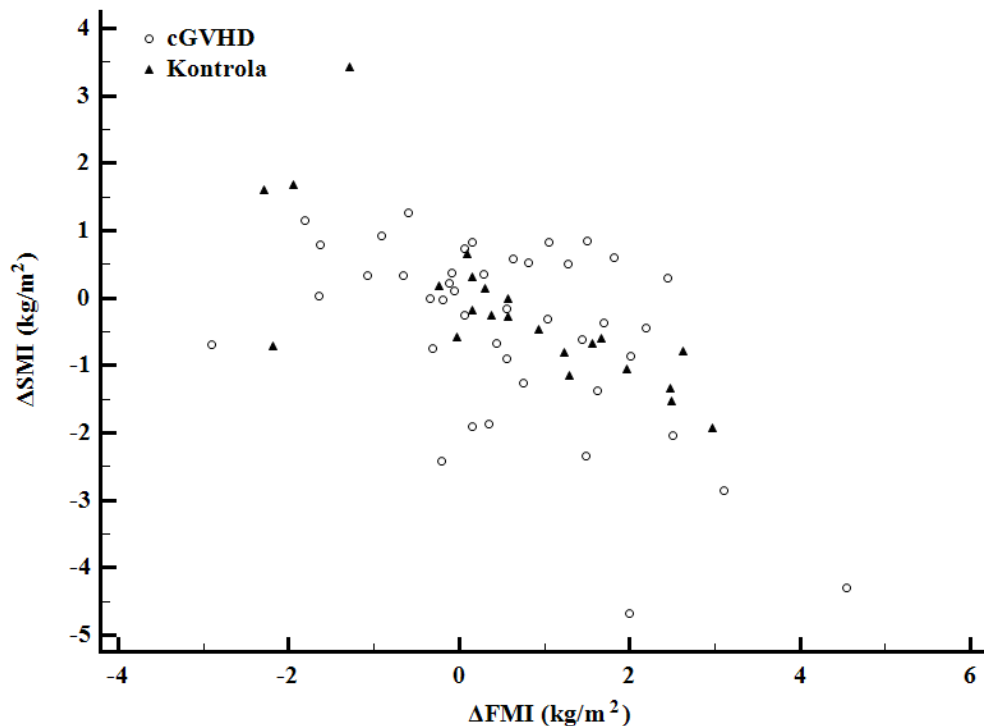
	ITM (kg/m <sup>2</sup> )	PG-SGA rezultat	MUAC (cm)	TSF (mm)	FMI (kg/m <sup>2</sup> )	FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	SMI (kg/m <sup>2</sup> )	VF
ITM (kg/m <sup>2</sup> )		-0,16	0,75 ***	0,51 ***	0,79 ***	0,35 **	-0,08	0,75 ***
PG-SGA rezultat	-0,16		-0,1	-0,01	-0,21	0,05	0,2	-0,11
MUAC (cm)	0,75 ***	-0,1		0,45 ***	0,73 ***	0,12	-0,22	0,69 ***
TSF (mm)	0,51 ***	-0,01	0,45 ***		0,49 ***	0,05	-0,24	0,51 ***
FMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,79 ***	-0,21	0,73 ***	0,49 ***		-0,21	-0,55 ***	0,89 ***
FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,35 **	0,05	0,12	0,05	-0,21		0,79 ***	-0,09
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,08	0,2	-0,22	-0,24	-0,55 ***	0,79 ***		-0,48 ***
VF	0,75 ***	-0,11	0,69 ***	0,51 ***	0,89 ***	-0,09	-0,48 ***	

ITM – indeks tjelesne mase; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; MUAC – obujam nadlaktice; TSF – debljina kožnog nabora; FMI – indeks masne mase; FFMI – indeks nemasne mase; SMI – indeks skeletne mišićne mase; VF – visceralne masnoće.



**Slika 2.** Promjena indeksa masne mase (A) i visceralnih masnoća (B) ovisno o promjeni indeksa tjelesne mase.

FMI – indeks masne mase; ITM – indeks tjelesne mase; VF – visceralne masnoće.



**Slika 3.** Povezanost promjene indeksa masne mase s promjenom indeksa skeletne mišićne mase.  
FMI – indeks masne mase; SMI – indeks skeletne mase.

#### 4.4 Funkcionalni status ispitanika

Funkcionalni status ispitanika na prvom i kontrolnom pregledu prikazan je u **Tablici 7**. Na početku mjerenja cGVHD ispitanici imali su niže vrijednosti HGS-a, ali one nisu bile statistički značajne naspram kontrolne skupine (HGS-D, Mann-Whitney test,  $P=0,1119$ ). Izrazito niski HGS <16 kg za žene i HGS <27 kg (prvi kriterij u dijagnostici sarkopenije prema EWGSOP-u) za muškarce imalo je 30,1 % cGVHD bolesnika naspram 10,8 % kontrola. Statistički značajan porast mišićne snage na kontrolnom pregledu, prema mjerenju HGS-a, vidljiv je kod obje skupine. Nije bilo statistički značajnih promjena u subjektivnoj procjeni funkcionalnog kapaciteta niti kod cGVHD-a niti kod kontrolnih ispitanika (PG-SGA funkcionalni kapacitet, *Chi square test*  $p>0,05$ ). Kod cGVHD-a bolesnika primijećeno je blago poboljšanje KPI indeksa, ali nije bilo statistički značajno (*Chi square test*,  $P=0,5$ ). Na **Slici 4** prikazana je statistički značajna povezanost HGS-D s funkcionalnim kapacitetom prema PG-SGA-u ( $p<0,0001$ ).

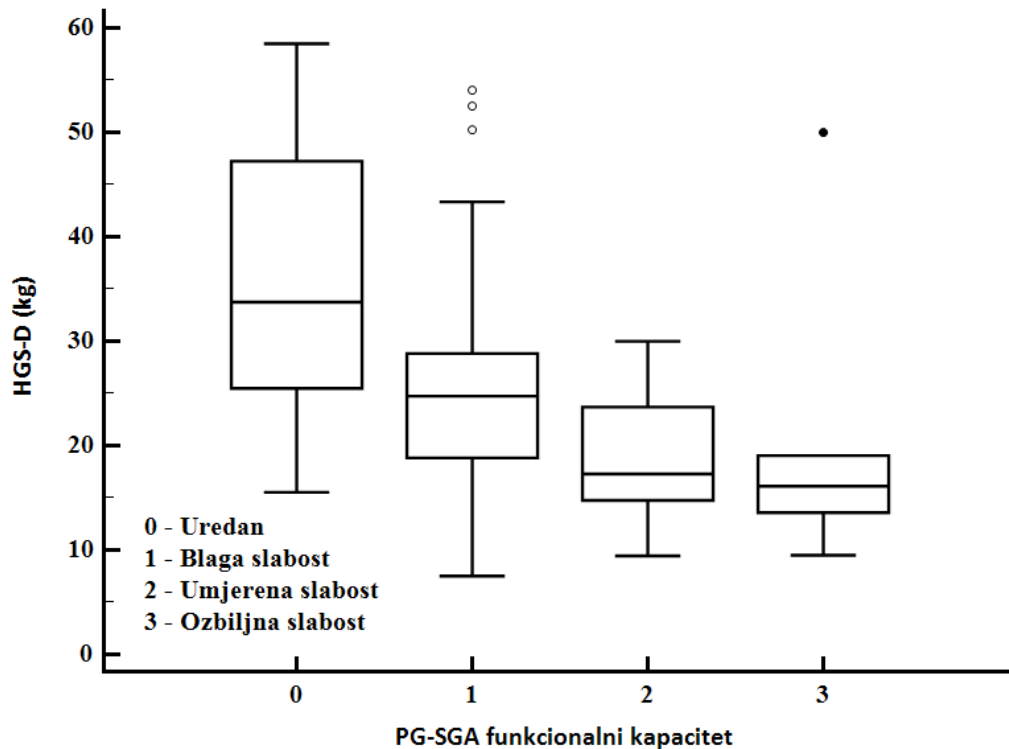


**Tablica 7.** Funkcionalni status ispitanika na prvom (n=102) i kontrolnom pregledu (n=67).

		cGVHD bolesnici			Kontrolna skupina			Razlika skupina*
Parametar		Prvi pregled	Kontrolni pregled	P **	Prvi pregled	Kontrolni pregled	P**	P
HGS-D (kg)		27,8 (12,5)	31,4 (14,5)	<b>0,0032</b>	31,5 (12,9)	36,0 (15,6)	<b>0,0061</b>	0,2504
HGS-ND (kg)		26,1 (12,4)	29,5 (13,5)	<b>0,0016</b>	29,8 (12,3)	34,1 (15,8)	<b>0,0041</b>	0,1477
<b>PG-SGA f.k.</b>	0	23 (35,4)	15 (34,9)	0,7599	19 (51,4)	17 (70,8)	0,4018	0,739
	1	28 (43,1)	22 (51,2)		15 (40,5)	4 (16,7)		
	2	7 (10,8)	3 (7)		3 (8,1)	3 (12,5)		
	3	7 (10,8)	3 (7)		0 (0)	0 (0)		
<b>KPI</b>	50	1 (1,5)	0 (0)	0,4266				
	60	2 (3,1)	0 (0)					
	70	9 (13,8)	8 (18,6)					
	80	18 (27,7)	10 (23,3)					
	90	18 (27,7)	8 (18,6)					
	100	17 (26,2)	17 (39,5)					

\* izračunata je promjena svake varijable na kontrolnom pregledu u odnosu na prvi pregled te su promjene opažene u kontrolnoj i ispitnoj skupini uspoređene t-testom, tj. Mann-Whitney testom.

\*\* razlike vrijednosti na prvom i kontrolnom pregledu uspoređivane su Wilcoxon testom za uparene uzorke ili hi-kvadrat testom; cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; HGS-D/HGS-ND – snaga stiska šake dominantna ruka/nedominantna ruka; PG-SGA f.k. – subjektivna globalna procjena bolesnika – funkcionalni kapacitet; KPI – Karnofskyjev indeks; statistički značajne razlike su podebljane.



**Slika 4.** Povezanost snage stiska šake dominantne ruke i funkcionalnog kapaciteta prema PG-SGA-u. PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.

Mjerenje 2MWT-a kod cGVHD-a izostavljeno je iz analize podataka zbog nemogućnosti usklađivanja datuma pregleda bolesnika te nedovoljnog broja podataka drugog mjerenja na kontrolnom pregledu. S obzirom na to da je glavni cilj istraživanja određivanje utjecaja vitamina D na mišićnu snagu koja se određuje HGS-om i masu bolesnika s cGVHD-om, izostavljanje 2MWT-a nije značajno utjecalo na rezultate istraživanja.

#### 4.4.1 Povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa ispitanika

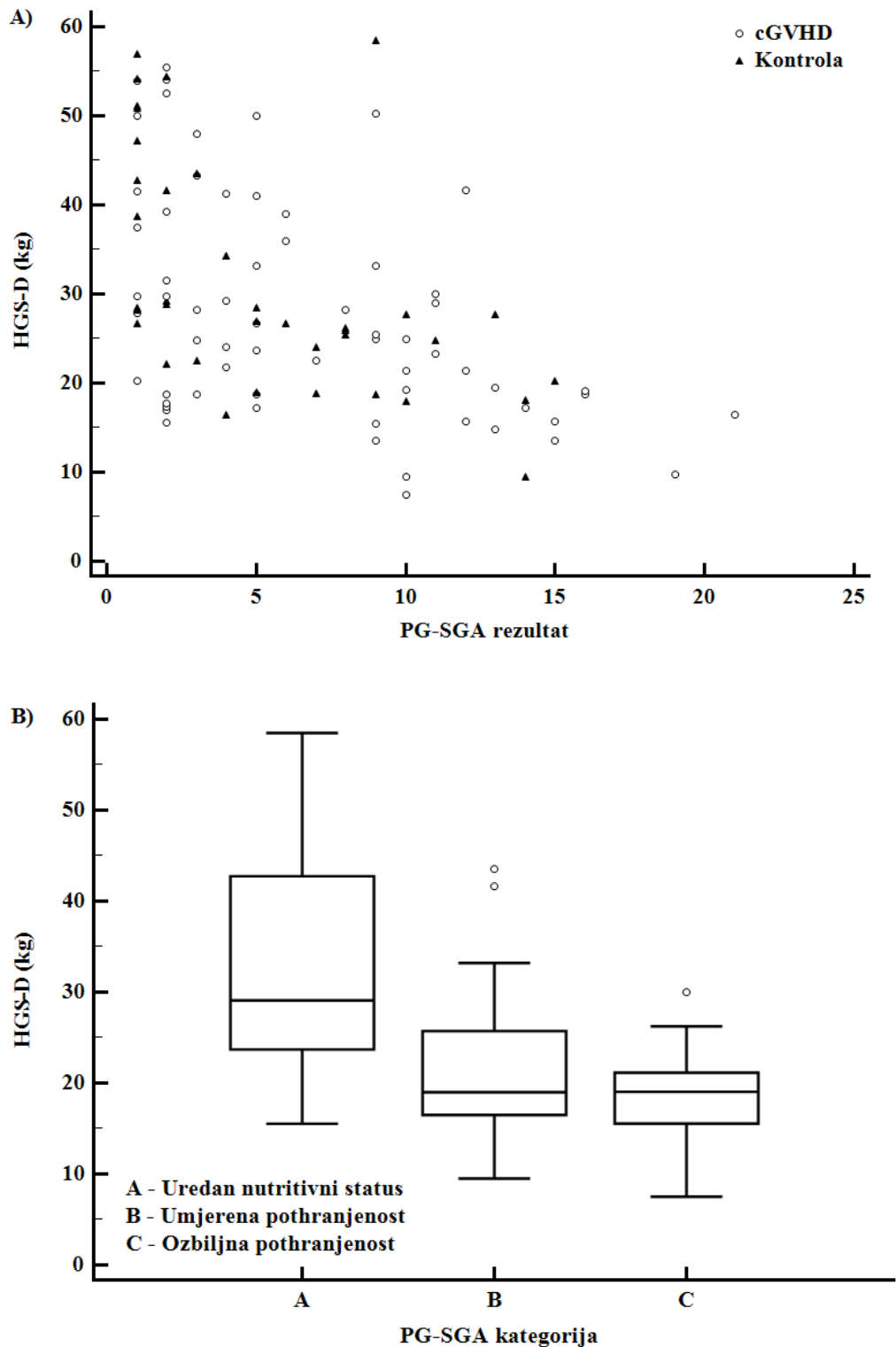
U **Tablici 8** prikazana je povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa na prvom pregledu (Spearman korelacija). Funkcionalni status prema HGS-u dominantne i nedominantne ruke pozitivno korelira s mjerenjima ITM-a, MUAC-a, FFMI-ja i SMI-ja ( $P < 0,005$ ), a negativno s PG-SGA rezultatom ( $P < 0,005$ ), što je prikazano i na **Slici 5A**. Prema **Slici 5B** vidljivo je da su ispitanici s urednim nutritivnim statusom (kategorija A) imali značajno viši HGS-D naspram ispitanika kategorije B i C prema PG-SGA-u ( $P < 0,0001$ ). Povezanost mišićne mase prema FFMI-ju s HGS-D ( $r = 0,61$ ;  $P < 0,005$ ) prikazana je na **Slici 6**. Funkcionalni kapacitet prema PG-SGA-u pozitivno korelira s PG-SGA kategorijom ( $P < 0,005$ ), a negativno s HGS-om, FFMI-jem ( $P < 0,005$ ), MUAC-om, ITM-om i SMI-jem ( $P < 0,005$ ). Međusobno snažno negativno

koreliraju HGS i funkcionalni kapacitet prema PG-SGA-u ( $P < 0,005$ ). Antropometrijske varijable ITM-a, TSF-a i MUAC-a međusobno i s FM-om, FMI-jem i VF-om pokazuju značajnu pozitivnu korelaciju ( $P < 0,005$ ). KPI kod cGVHD ispitanika ( $n=65$ ; nije prikazano u Tablici) negativno je korelirao s nutritivnim i funkcionalnim statusom (PG-SGA rezultat  $r=-0,56$ ;  $P < 0,0001$ ; PG-SGA kategorija (A,B,C)  $r=-0,58$ ;  $P < 0,0001$ ; PG-SGA funkcionalni kapacitet  $r=-0,61$ ;  $P < 0,0005$ ).

**Tablica 8.** Povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa svih ispitanika (prvi pregled,  $n=102$ ).

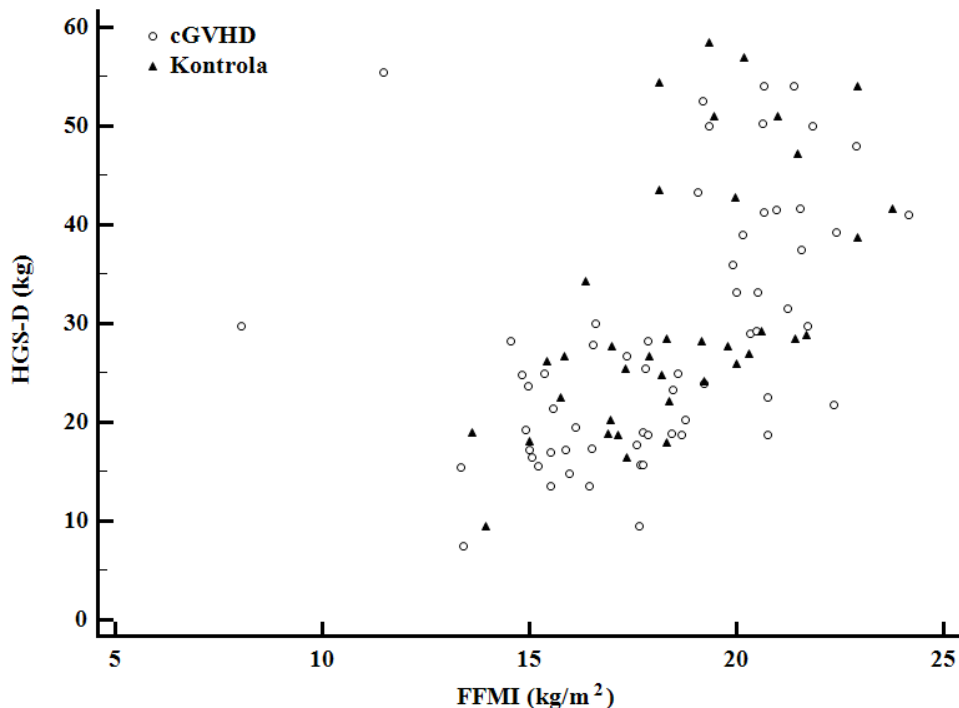
	HGS- D (kg)	HGS-ND (kg)	MUAC (cm)	TSF (mm)	PG- SGA f.k.	PG-SGA rezultat	ITM (kg/m <sup>2</sup> )	FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	FMI (kg/m <sup>2</sup> )	SMI (kg/m <sup>2</sup> )	VF
HGS- D (kg)		0,96 ***	0,45 ***	-0,13	-0,51 ***	-0,53 ***	0,43 ***	0,61 ***	0,1	0,44 ***	0,39**
HGS- ND (kg)	0,96 ***		0,45 ***	-0,12	-0,49 ***	-0,52 ***	0,4 ***	0,61 ***	0,06	0,41 ***	0,33*
MUAC (cm)	0,45 ***	0,45 ***		0,56 ***	-0,3 **	-0,47 ***	0,86 ***	0,63 ***	0,63 ***	0,35 ***	0,62***
TSF (mm)	-0,13	-0,12	0,56 ***		0,01	-0,17	0,59 ***	0,01	0,77 ***	-0,1	0,41**
PG-SGA f.k.	-0,51 ***	-0,49 ***	-0,3 **	0,01		0,69 ***	-0,33 **	-0,41 ***	-0,12	-0,31 **	-0,08
PG-SGA rezultat	-0,53 ***	-0,52 ***	-0,47 ***	-0,17	0,69 ***		-0,47 ***	-0,41 ***	-0,31 **	-0,23 *	-0,27*
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,43 ***	0,4 ***	0,86 ***	0,59 ***	-0,33 **	-0,47 ***		0,62 ***	0,81 ***	0,35 ***	0,8***
FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,61 ***	0,61 ***	0,63 ***	0,01	-0,41 ***	-0,41 ***	0,62 ***		0,1	0,78 ***	0,5***
FMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,1	0,06	0,63 ***	0,77 ***	-0,12	-0,31 **	0,81 ***	0,1		-0,15	0,67***
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,44 ***	0,41 ***	0,35 ***	-0,1	-0,31 **	-0,23 *	0,35 ***	0,78 ***	-0,15		0,31*
VF	0,41 ***	0,38 ***	0,61 ***	0,39 ***	-0,19	-0,24 *	0,8 ***	0,52 ***	0,65 ***	0,28 **	

Spearman rank korelacija, P vrijednosti \* =  $< 0,05$ , \*\* =  $< 0,005$ , \*\*\* =  $< 0,0005$ ; HGS-D/HGS-ND – snaga stiska šake dominantna ruka/nedominantna ruka; MUAC – obujam nadlaktice; TSF – debljina kožnog nabora; PG-SGA f.k. – subjektivna globalna procjena bolesnika – funkcionalni kapacitet; ITM - indeks tjelesne mase; FFMI – indeks nemasne mase; FMI – indeks masne mase; SMI – indeks skeletne mišićne mase; VF – visceralne masnoće.



**Slika 5.** Povezanost između nutritivnog statusa prema PG-SGA rezultatu (A), odnosno PG-SGA kategoriji (B) i mišićne snage prema snazi stiska šake dominantne ruke.

PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.



**Slika 6.** Povezanost mišićne snage prema snazi stiska šake dominantne ruke s indeksom nemasne mase.

FFMI – indeks nemasne mase; HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.

#### 4.5 Koncentracija 25(OH)D u krvi i ostali biokemijski markeri

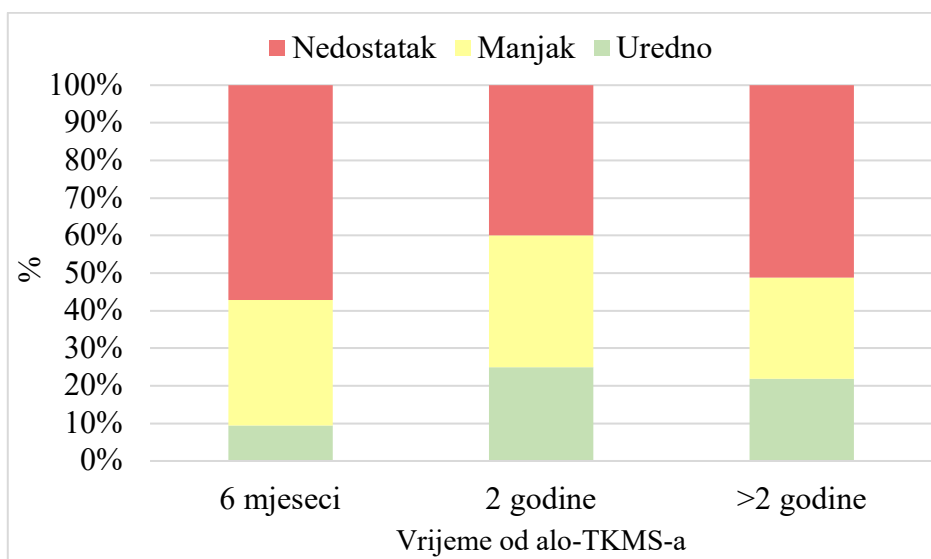
Nedostatak vitamina D prema vrijednostima 25(OH)D na prvom pregledu kod obje skupine prisutan je u oko 50 % ispitanika, a nedostatak u oko 30 % (**Tablica 9**). Statistički značajan porast serumskih vrijednosti 25(OH)D na kontrolnom pregledu imala je cGVHD skupina ( $P < 0,0001$ ), dok kod kontrolnih bolesnika opaženi porast nije dosegao razinu statističke značajnosti ( $P = 0,0607$ ). Gledano prema kategorijama razine D vitamina u serumu, kod obje skupine uočen je pomak prema boljim kategorijama. Na **Slici 7** prikazan je postotak ispitanika s nedostatkom, insuficijencijom ili urednim vrijednostima vitamina D u serumu ovisno o vremenu od alo-TKMS-a. Porast trombocita na kontrolnom pregledu statistički je značajan u obje skupine dok je porast ukupnih proteina i HDL-a značajan samo kod kontrolne skupine. Ostali biokemijski markeri mjereni na prvom i kontrolnom pregledu prikazani su u **Tablici 9**.

**Tablica 9.** Laboratorijska mjerenja iz krvi bolesnika s cGVHD-om i kontrolne skupine.

Parametar	cGVHD bolesnici			Kontrolna skupina			Razlika skupina*
	Prvi pregled	Kontrolni pregled	P*	Prvi pregled	Kontrolni pregled	P*	
<b>25(OH) D</b> (nmol/L)	55,0 (30,8)	77,1 (28,3)	<b>&lt;0,0001</b>	52,6 (23,1)	63 (11,0)	0,0607	<b>0,0229</b>
Uredno	13 (20,0)	22 (51,2)	<b>0,0003</b>	8 (21,6)	3 (12,5)	<b>0,0005</b>	0,2474
Manjak	21 (32,3)	14 (32,6)		11 (29,7)	19 (79,2)		
Nedostatak	31 (47,7)	7 (16,3)		18 (48,6)	2 (8,3)		
<b>Leukociti</b> (x10 <sup>9</sup> /L)	7,9 (3,6)	8 (3,6)	0,2183	5,6 (2,4)	6,4 (3)	0,2940	0,9816
<b>Trombociti</b> (x10 <sup>9</sup> /L)	213,7 (82,3)	222,4 (77,6)	<b>0,0467</b>	158,1 (104,8)	184,3 (75,1)	<b>0,0119</b>	0,3809
<b>CRP</b> (mg/L)	6,5 (10,2)	7,6 (12,4)	0,1276	12,4 (25,7)	6,1 (9,8)	0,4549	0,3125
<b>Albumin</b> (g/L)	41,9 (6,2)	45,2 (3,8)	0,1600	42,9 (4,,7)	45,2 (3,2)	0,0798	0,4761
<b>Uk. proteini</b> (g/L)	67,9 (7,9)	72 (5,9)	0,1215	69,9 (6,3)	75,4 (6,2)	<b>0,0362</b>	<b>0,0095</b>
<b>Kreatinin</b> (μmol/L)	82,7 (26,4)	83,4 (23)	0,6967	79,2 (16,4)	83 (19,3)	0,5781	0,7698
<b>Kreatinin kinaza**</b>	91,7 (165,6)	119,4 (101,4)	<b>0,0152</b>	57,9 (36,3)	40,7 (2,5)	NA	NA
<b>Kolesterol</b> (mmol/L)	5,6 (1,6)	5,4 (1,3)	0,5495	5,9 (2,4)	5,5 (1,2)	0,2500	0,297
<b>HDL</b> (mmol/L)	1,4 (0,7)	1,4 (0,5)	0,7009	1,2 (0,5)	1,4 (0,4)	<b>0,0137</b>	<b>0,0249</b>
<b>LDL</b> (mmol/L)	3,1 (1,3)	3,1 (1,2)	0,5028	3,8 (2,4)	3,3 (1,1)	1,0000	0,9507
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	2,4 (1,3)	2,2 (1,2)	0,1288	2,3 (1,4)	1,6 (0,8)	0,4131	0,8344

\* korišten je t-test ili Wilcoxon test za uparene uzorke, tj. test za nezavisne uzorke za usporedbe skupina.

\*\* samo 2 kontrolna ispitanika imala su mjerenje kreatin kinaze pa statističke testove nije bilo moguće napraviti. Statistički značajne razlike su podebljane; cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja ; 25(OH)D – 25 hidroksi vitamin D; HDL – lipoprotein velike gustoće; LDL – lipoprotein male gustoće; CRP – C reaktivni protein.



**Slika 7.** Udio ispitanika u pojedinim kategorijama statusa vitamina D na prvom pregledu ovisno o vremenu od alo-TKMS-a.

#### 4.5.1 Nadomjesna terapija vitaminom D

Ukupno je 67 bolesnika u cijelosti završilo istraživanje, 43 cGVHD bolesnika i 24 kontrolna bolesnika. Razlozi zbog kojih 35 ispitanika nije obavilo kontrolni pregled su: nedolazak na kontrolni pregled (n=17), smrt (n=14), razvoj cGVHD-a kod kontrolnih ispitanika (n=2) te odbijanje propisane nadomjesne terapije vitaminom D (n=2).

Prema **Tablici 10** u 62,7 % uključenih ispitanika propisana je nadomjesna terapija vitaminom D u kapima od 2000 IU; u 17,9 % od 1600 IU i u 19,4 % 800 -1200 IU.

**Tablica 10.** Propisane doze vitamina D s obzirom na serumske razine 25(OH)D na prvom pregledu.

Propisane doze vitamina D (ovisno o statusu)	N (%)	Srednja vrijednost 25(OH)D u serumu (nmol/L)
800 IU/dan (>100 nmol/L)	7 (10,4)	94 (12,9)
1200 IU/dan (75 - 100 nmol/L)	6 (9)	77,2 (6)
1600 IU/dan (50 - 75 nmol/L)	12 (17,9)	62,1 (5,3)
2000 IU/dan (<50 nmol/L)*	42 (62,7)	37,4 (18,4)
<b>Ukupno</b>	<b>67 (100)</b>	<b>51,3 (25,1)</b>

\* kod jednog cGVHD bolesnika s urednim serumskim vrijednostima vitamina D doza vitamina D bila je 2000 IU s obzirom na to da je ona prethodno propisana zbog dijagnoze multiple skleroze.

#### 4.5.2 Adherencija nadomjesnoj terapiji vitaminom D

Adherentnih cGVHD bolesnika prema nadomjesnoj terapiji vitaminom D bilo je 86,1 %, a kontrolnih 66,7 % (**Tablica 11**). Nije bilo statistički značajnih razlika u adherenciji među skupinama.

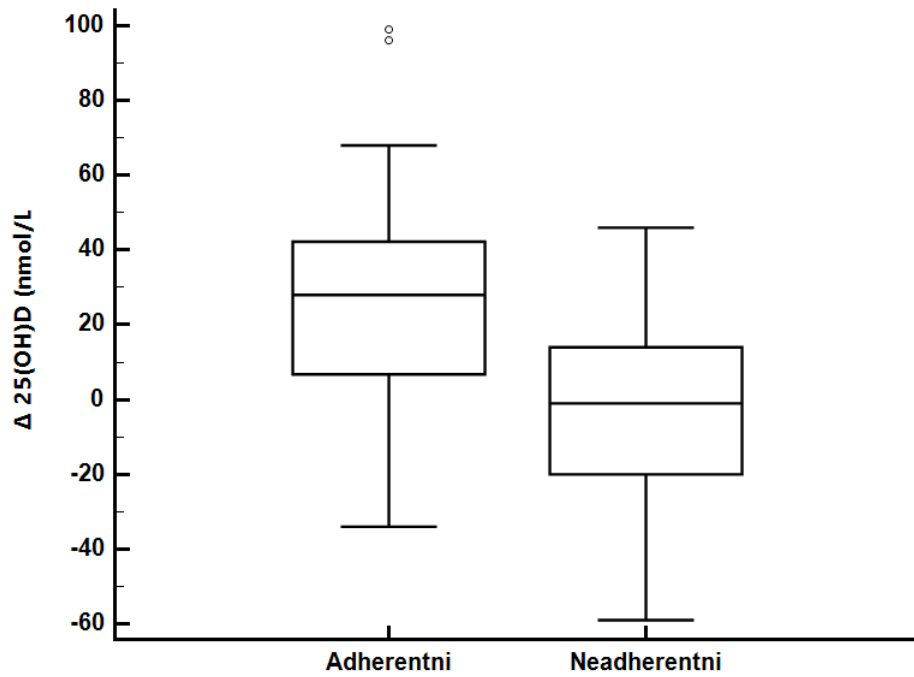
**Tablica 11.** Adherencija nadomjesnoj terapiji vitaminom D.

Adherencija	cGVHD bolesnici	Kontrolna skupina	
	N (%)	N (%)	P
Adherentni	37 (86,1)	16 (66,7)	0,0633
Neadherentni	6 (13,9)	8 (33,3)	
Neredovito	2 (4,7)	3 (12,5)	
Niža doza	2 (4,7)	1 (4,2)	
Kraće trajanje	2 (4,7)	4 (16,7)	
<b>Ukupni</b>	43 (100)	24 (100)	

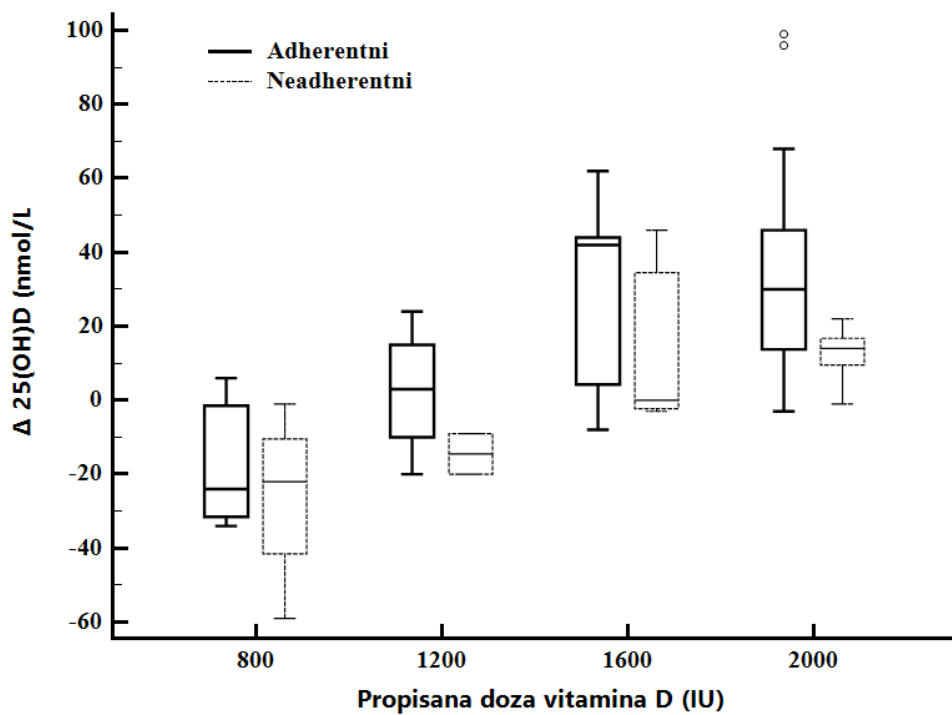
#### 4.5.3 Razlike u promjeni statusa vitamina D ovisno o adherenciji

Primijećena je statistički značajna razlika u promjeni serumske razine vitamina D kod adherentnih naspram ispitanika koji nisu bili adherentni (**Slika 8**). Adherentna skupina ispitanika imala je značajnije veću promjenu serumskih vrijednosti vitamina D (26, 8) od neadherentne skupine (-1,9) gledajući direktnu promjenu serumskih koncentracija 25(OH)D kod svakog pojedinog bolesnika (prvi - kontrolni pregled) ( $p=0,0006$ ). Sličan trend primijećen je kod svih propisanih doza vitamina D osim 800 IU (**Slika 9**). Stoga je fokus rasprave usmjeren na adherentne bolesnike.

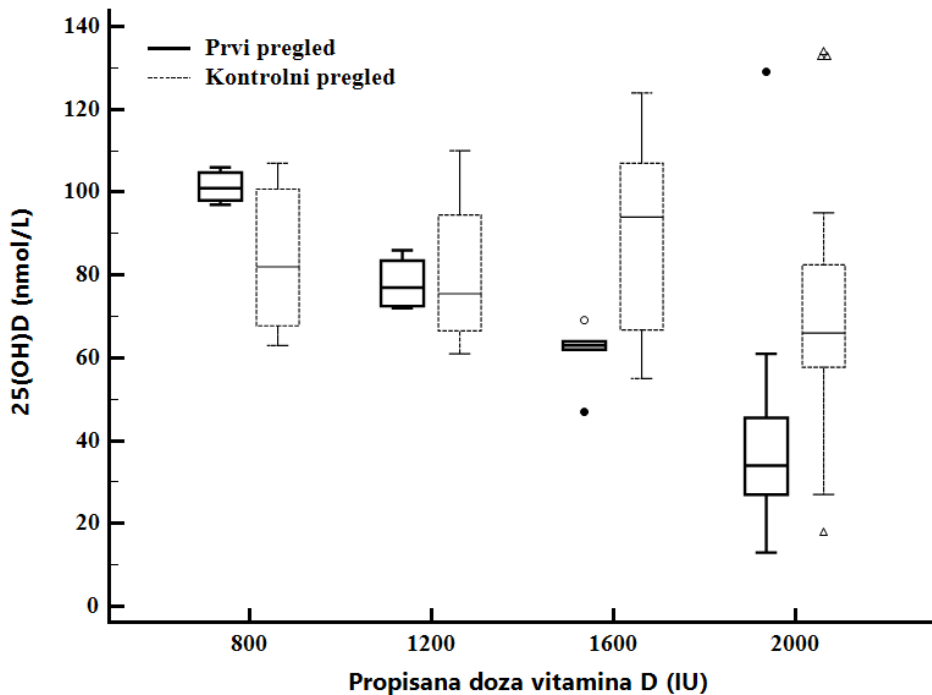




**Slika 8.** Promjena koncentracije vitamina D u serumu kod adherentne i neadherentne skupine ispitanika.



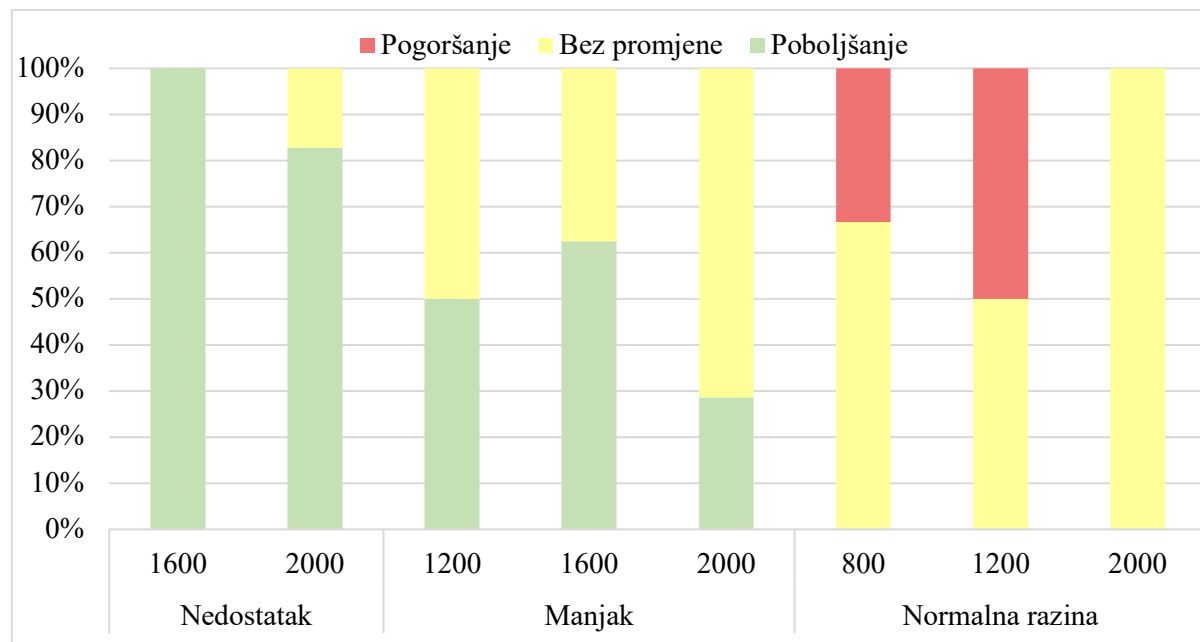
**Slika 9.** Promjena koncentracije vitamina D u serumu kod adherentne i neadherentne skupine ispitanika ovisno o propisanoj dozi oralne nadomjesnom terapijom vitaminom D.



**Slika 10.** Promjena razine serumskih vrijednosti 25(OH)D kod adherentne skupine ispitanika na inicijalnom i kontrolnom pregledu.

**Slika 10** prikazuje prosječne razine 25(OH)D kod ispitanika koji su primali različite doze vitamina D te su se pridržavali propisane terapije. Iako su bolesnici kojima je propisana najniža doza ( $n=3$ ) imali inicijalno najviše razine vitamina D, kod njih je u prosjeku zabilježen pad od 17,3 jedinica unatoč nadomjesnoj terapiji s 800 IU. Zbog malog broja ispitanika sniženje nije bilo statistički značajno ( $P=0,2860$ ). Slično je bilo i kod bolesnika kojima je propisana doza od 1200 IU ( $n=4$ ), gdje je uglavnom zabilježena stagnacija statusa (prosječan porast vitamina D od samo 2,5 jedinica, koji nije bio statistički značajan ( $P=0,8007$ )). S druge strane, kod bolesnika s inicijalno nižim razinama 25(OH)D kojima su propisane više doze nadomjesne terapije (1600 IU  $n=9$  i 2000 IU  $n=37$ ) prati se značajan porast razine 25(OH)D u serumu na kontrolnom pregledu. U prosjeku je porast bio 28,4 jedinica za dozu od 1600 IU ( $P=0,0087$ ), a još značajniji je bio porast (32,5 jedinica) kod onih koji su uzimali najvišu dozu od 2000 IU ( $P<0,0001$ ). Porast serumskih vrijednosti 25(OH)D na kontrolnom pregledu pratio se kod ispitanika koji su imali niže serumske vrijednosti 25(OH)D, odnosno onih ispod 50 nmol/L te onih između 50 i 75 nmol/L i koji su primali vitamin D 2000 IU, odnosno 1600 IU dnevno. Značajniji porast zabilježen je u skupini koja je primala 1600 IU vitamina D. Na **Slici 11**, prikazana je efektivna promjena razine 25(OH)D s obzirom na ishodišne koncentracije u

serumu te uzimanu dozu propisanu nadomjesnom terapijom. Zanimljivo je primijetiti da je do pogoršanja (s normalne razine na manjak) došlo isključivo kod onih bolesnika kojima su bile propisane niske doze vitamina D.



**Slika 11.** Prikaz udjela adherentnih ispitanika s pogoršanjem, poboljšanjem ili bez promjene statusa vitamina D ovisno o inicijalnom statusu (*Nedostatak, Manjak, Normalna razina*) i propisanoj dozi vitamina D (*800, 1200, 1600, 2000 IU/dan*).

#### 4.5.4 Procjena unosa vitamina D prehranom

Upitnik o unosu vitamina D putem prehrane validiran je trodnevnom dnevnikom prehrane. Nađena je visoka korelacija između procjene unosa vitamina D putem upitnika o vitaminu D i trodnevnom dnevniku prehrane ( $r=0,946$ ;  $P<0,0001$ ). Prosječan dnevni unos vitamina D u  $\mu\text{g}$  putem upitnika o vitaminu D bio je  $2,08\pm 1,12$ , a putem dnevnika prehrane  $2,11\pm 1,3$  i SD bez statistički značajne razlike između cGVHD bolesnika i kontrolne skupine. Nije nađena korelacija između dnevnog unosa vitamina D putem prehrane i koncentracije vitamina D u krvi na prvom i kontrolnom pregledu.

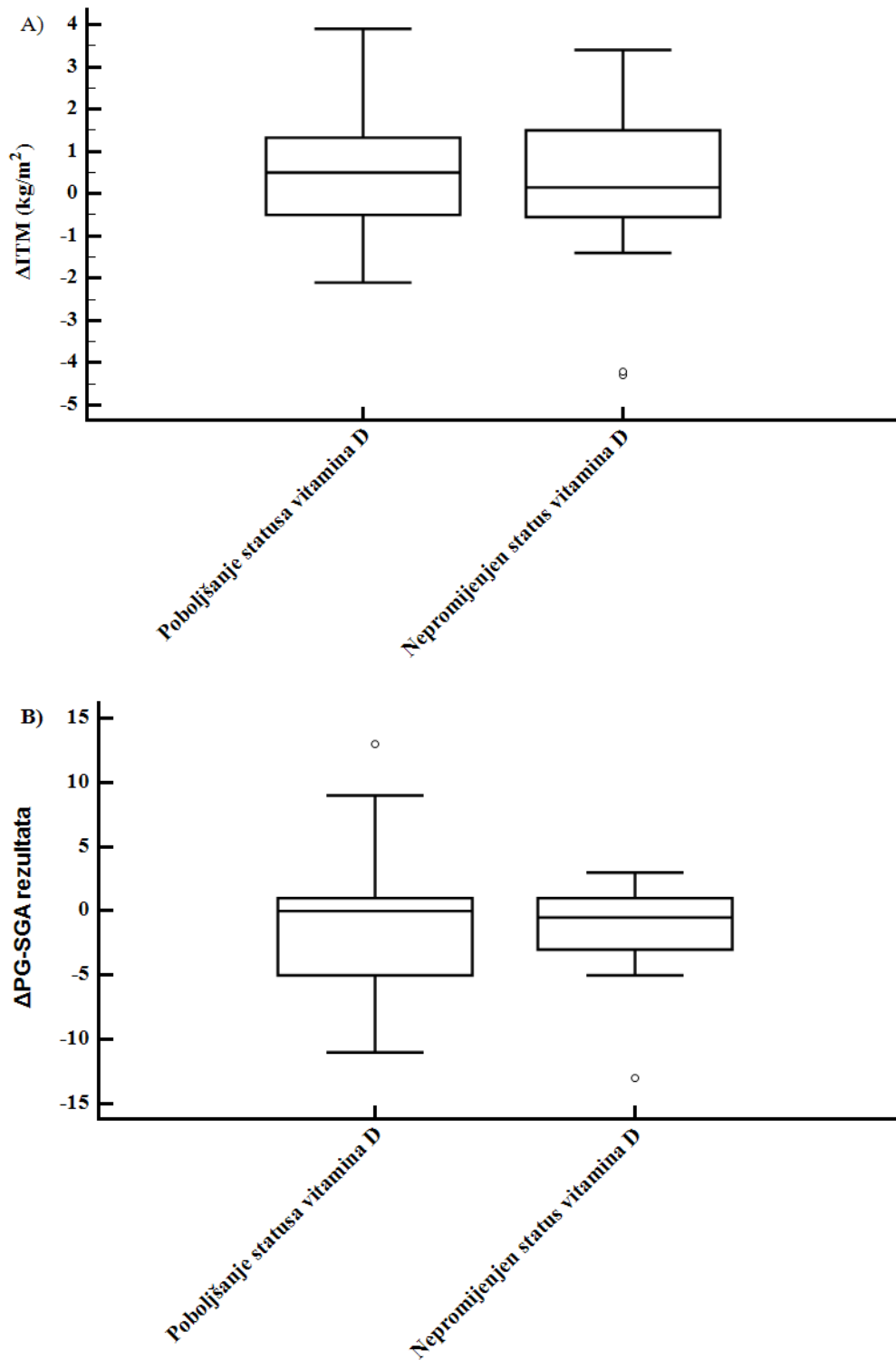
#### 4.6 Utjecaj promjene statusa vitamina D na promjene nutritivnog statusa

Poboljšanje statusa vitamina D (prelazak bolesnika iz kategorije nedostataka u kategoriju insuficijencije ili normalnih vrijednosti i prelazak iz kategorije insuficijencije u kategoriju normalne vrijednosti) nije značajno utjecalo na nutritivni status adherentnih ispitanika s obzirom na promatrane parametre (ITM, PG-SGA, FM, FMI, FFM, FFMI, SMM i SMI) (**Slika 12, Slika 13, Tablica 12**). Slično je utvrđeno i za sve odabrane laboratorijske parametre, osim ukupnih proteina kod kojih je utvrđen statistički značajan porast kod bolesnika kod kojih je postignuto poboljšanje statusa vitamina D (t-test, P=0,018).

**Tablica 12.** Povezanost promjene nutritivnog statusa i odabranih laboratorijskih parametara s promjenama serumskih vrijednosti vitamina D.

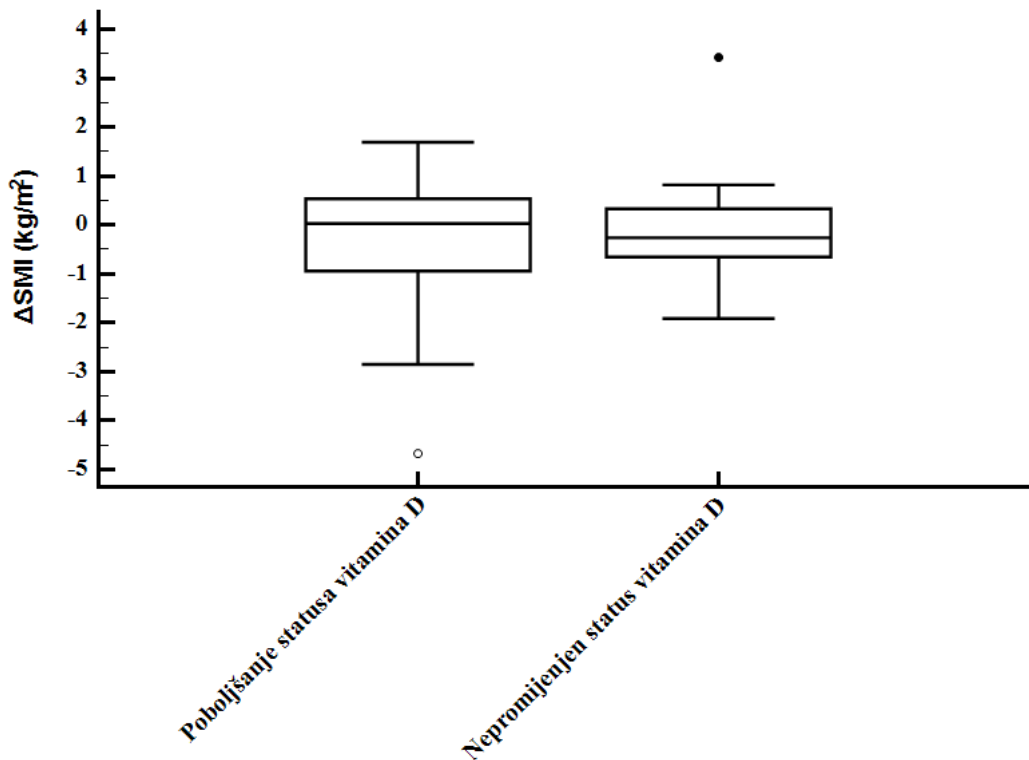
Promjena od prvog do kontrolnog pregleda	Vitamin D Bez promjene (N=20)	Vitamin D Poboljšanje (N=33)	P
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,14 (1,96)	0,45 (1,4)	0,507
PG-SGA rezultat	-1,3 (3,51)	-1,03 (5,22)	0,839
VF	0,21 (1,84)	0,52 (1,25)	0,482
FM (kg)	0,5 (3,81)	1,61 (3,91)	0,317
FMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,17 (1,34)	0,53 (1,3)	0,335
FFM (kg)	-0,11 (3,19)	-0,2 (3,25)	0,92
FFMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,04 (1,06)	-0,08 (1,05)	0,892
SMM (kg)	-0,16 (3,18)	-1,16 (4,03)	0,356
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,04 (1,04)	-0,38 (1,34)	0,347
LDL (mmol/L)	0,14 (0,83)	-0,14 (1,08)	0,438
HDL (mmol/L)	-0,07 (0,82)	-0,04 (0,55)	0,875
Kolesterol (mmol/L)	0,07 (1,18)	-0,27 (1,1)	0,394
Trigliceridi (mmol/L)	-0,15 (0,77)	-0,29 (0,88)	0,654
Albumin (g/L)	0,11 (3,24)	1,58 (4,56)	0,302
Ukupni proteini (g/L)	-0,23 (3,85)	3,65 (4,83)	<b>0,018</b>

ITM – indeks tjelesne mase; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; VF – visceralne masnoće; FM – masna masa; FMI – indeks masne mase; FFM – nemasna masa; FFMI – indeks nemasne mase; SMM – skeletna mišićna masa; SMI – indeks skeletne mišićne mase; LDL – lipoprotein male gustoće; HDL – lipoprotein velike gustoće.



**Slika 12** Promjena indeksa tjelesne mase (A) i PG-SGA rezultata (B) ovisno o promjeni serumskih vrijednosti vitamina D kod adherentne skupine ispitanika.

PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; ITM – indeks tjelesne mase.



**Slika 13.** Promjena indeksa skeletne mase ovisno o promjeni statusa vitamina D kod adherentne skupine ispitanika.

SMI – indeks skeletne mase.

#### 4.7 Utjecaj promjene statusa vitamina D na funkcionalni status

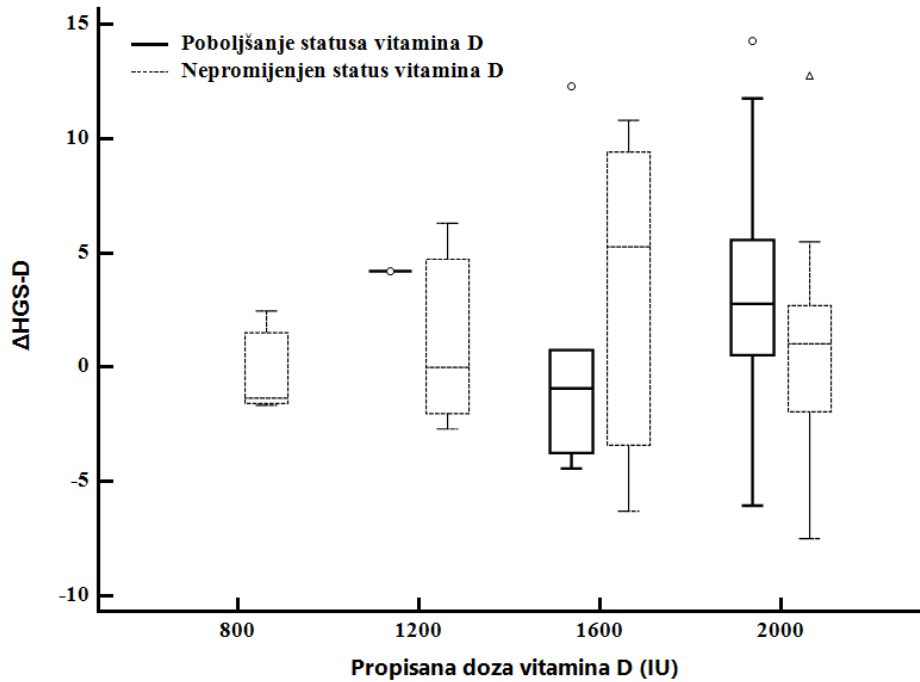
Promjena mišićne snage prema HGS-u kod adherentnih ispitanika nije bila povezana s promjenom statusa vitamina D (**Tablica 13**). Na **Slici 14** prikazana je promjena mišićne snage prema HGS-u ovisno o promjeni serumskih vrijednosti vitamina D prema doziranju. Samo kod skupine adherentnih ispitanika koji su primali dozu vitamina D od 2000 IJ prati se trend porasta HGS-a. Promjena funkcionalnog statusa prema KPI-ju, kao i prema PG-SGA-u nije bila povezana s promjenama serumskih vrijednosti vitamina D.

Prema **Slici 15** kod većine ispitanika došlo je do promjene mišićne snage, odnosno njezina porasta na kontrolnom pregledu. Poboljšanje HGD-a nije bilo povezano s promjenom serumskih vrijednosti 25(OH)D. Kao što je prikazano na **Slici 16**, nije utvrđena povezanost između promjena serumskih vrijednosti 25(OH)D i promjene SMI-ja i HGS-D-a. Isto tako nije bilo povezanosti između promjena serumskih vrijednosti 25(OH)D i HGS-D i nutritivnog statusa prema PG-SGA indeksu (**Slika 17**).

**Tablica 13.** Povezanost promjene funkcionalnog statusa s promjenama serumskih vrijednosti vitamina D.

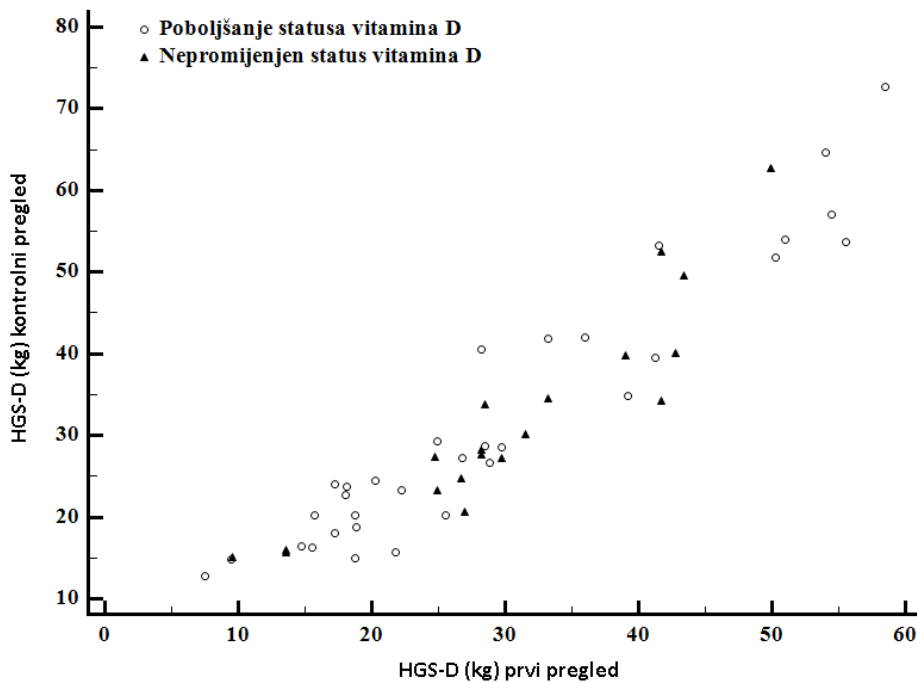
Promjena od prvog do kontrolnog pregleda	Vitamin D Bez promjene (n=20)	Vitamin D Poboljšanje (n=33)	P
HGS-D	1,35 (5,16)	2,78 (5,04)	0,335
HGS-ND	1,56 (5,09)	2,03 (4,26)	0,723
<b>PG-SGA mišićna masa</b>			
-1 (poboljšanje)	3 (15 %)	6 (18,2 %)	0,9173
0 (nepromijenjeno)	15 (75 %)	23 (69,7 %)	
1 (pogoršanje)	2 (10 %)	4 (12,1 %)	
<b>PG-SGA funkcionalni kapacitet</b>			
-1 (poboljšanje)	5 (25 %)	4 (12,1 %)	0,4158
0 (nepromijenjeno)	12 (60 %)	21 (63,6 %)	
1 (pogoršanje)	3 (15 %)	8 (24,2 %)	
<b>cGVHD KPI</b>			
-1 (pogoršanje)	0 (0 %)	6 (26,1 %)	0,0666
0 (nepromijenjeno)	12 (85,7 %)	12 (52,2 %)	
+1 (poboljšanje)	2 (14,3 %)	5 (21,7 %)	

HGS-D/HGS-ND – snaga stiska šake dominantna ruka/nedominantna ruka; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; KPI – Karnofskyjev indeks.



**Slika 14.** Promjena mišićne snage prema snazi stiska šake dominantne ruke ovisno o promjeni serumskih vrijednosti vitamina D kod različitih režima doziranja.

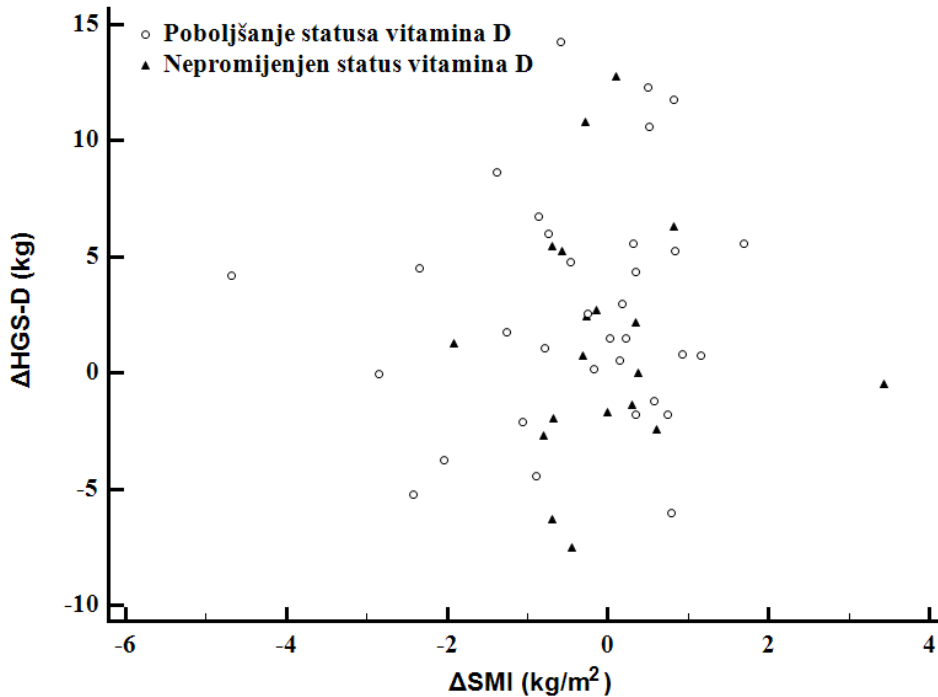
HGS-D – snaga stiska šake dominantne šake.



**Slika 15.** Prikaz mišićne snage prema snazi stiska šake dominantne ruke (HGS-D) na prvom i kontrolnom pregledu ovisno o promjeni statusa vitamina D.

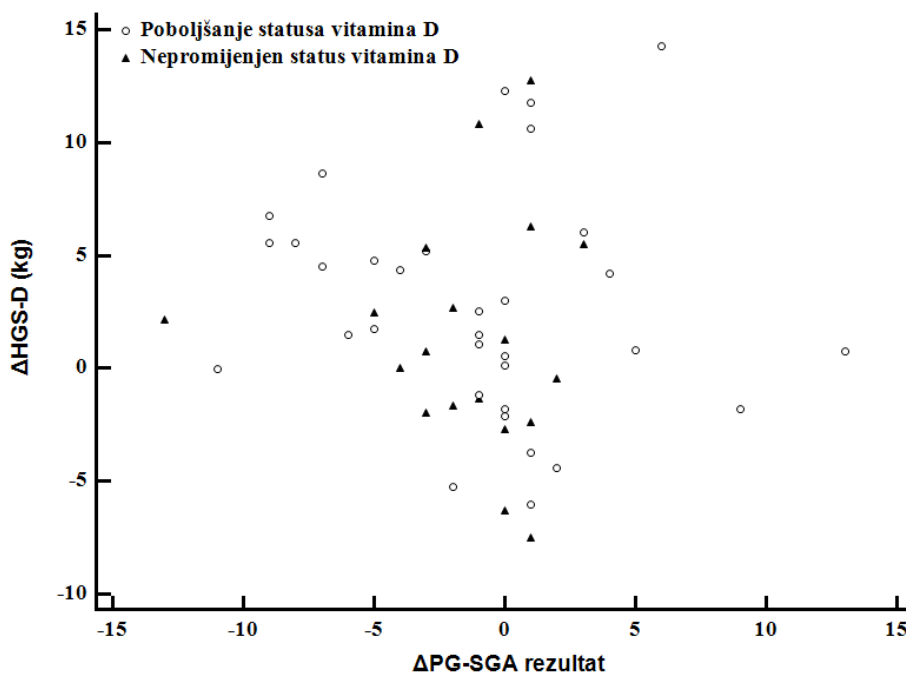
HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.





**Slika 16.** Povezanost promjene mišićne mase prema indeksu skeletne mišićne mase i snage prema snazi stiska šake ovisno o promjeni statusa vitamina D između dva pregleda.

SMI – indeks skeletne mase; HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.



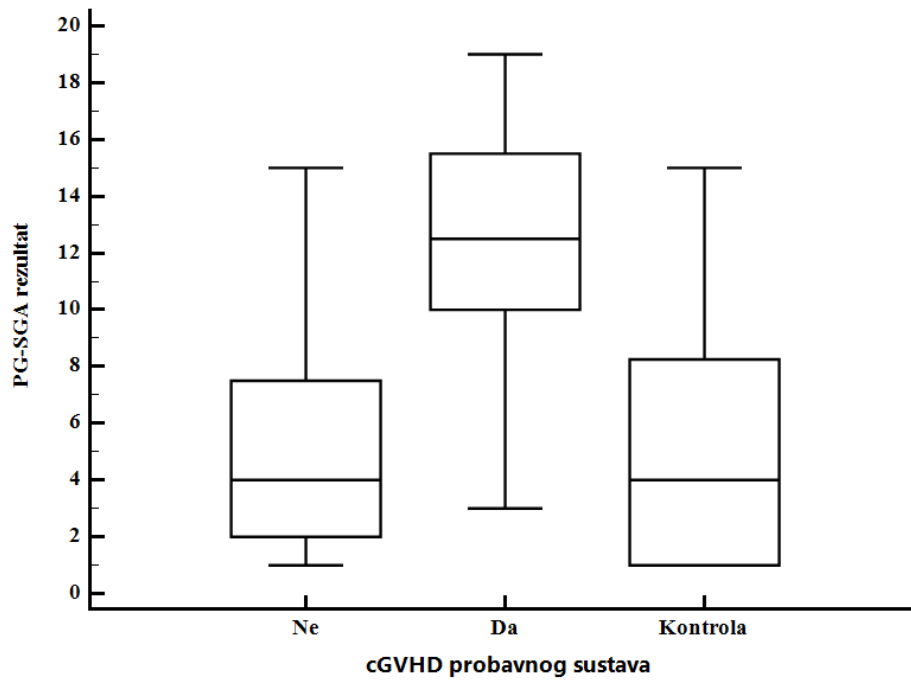
**Slika 17.** Povezanost mišićne snage prema snazi stiska šake dominantne ruke (HGS-D) i PG-SGA rezultata ovisno o promjeni statusa vitamina D između dva pregleda.

PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; HGS-D – snaga stiska šake dominantne ruke.

#### 4.8 Utjecaj težine cGVHD-a na nutritivni i funkcionalni status bolesnika

U **Tablici 14** prikazana je povezanost zahvaćenosti organa cGVHD-om s nutritivnim i funkcionalnim statusom ispitanika s cGVHD-om na prvom pregledu. Pozitivna korelacija nutritivnog statusa prema PG-SGA-u i kategoriji utvrđena je s aktivnošću i brojem zahvaćenih organa cGVHD-om ( $P < 0,05$ ) i cGVHD-om probavnog sustava ( $P < 0,0005$ ). Promjena TM šest mjeseci prije prvog pregleda korelirala je pozitivno s cGVHD-om probavnog sustava ( $P < 0,005$ ) i negativno s cGVHD-om zglobova i fascija ( $P < 0,05$ ) (**Slika 18**). Funkcionalni status prema PG-SGA-u korelirao je pozitivno s aktivnošću i ozbiljnošću cGVHD-a ( $P < 0,05$ ) te cGVHD-om probavnog sustava i pluća ( $P < 0,005$ ). Funkcionalni status prema Karnofskyjevu indeksu korelirao je negativno s ozbiljnošću i aktivnošću cGVHD-a ( $P < 0,0005$  i  $P < 0,005$ ), cGVHD-om pluća ( $P < 0,005$ ) i cGVHD-om zglobova i fascija te probavnog sustava ( $P < 0,05$ ). Funkcionalni status prema HGS-u korelirao je negativno s brojem organa zahvaćenih cGVHD-om ( $P < 0,05$ ). Na **Slici 19** prikazani su nutritivni status, mišićna masa i funkcionalni kapacitet ispitanika prema PG-SGA-u ovisno o zahvaćenosti pojedinih organa cGVHD-om. Na **Slici 20** prikazane su serumske vrijednosti 25(OH)D ovisno o zahvaćenosti jetre cGVHD-om.

Nije utvrđena povezanost cGVHD-a usta, očiju, jetre i kože s nutritivnim i funkcionalnim statusom. Status vitamina D korelirao je negativno s cGVHD-om jetre ( $P < 0,05$ ) i pozitivno s danima proteklima od dijagnoze cGVHD-a do prvog pregleda ( $P < 0,0005$ ) i s danima proteklima od alo-TKMS-a do prvog pregleda ( $P < 0,005$ ). Vrijeme proteklo od alo-TKMS-a do pregleda, kao i vrijeme proteklo od dijagnoze cGVHD-a do pregleda nije imalo značajnu povezanost s nutritivnim i funkcionalnim statusom bolesnika.



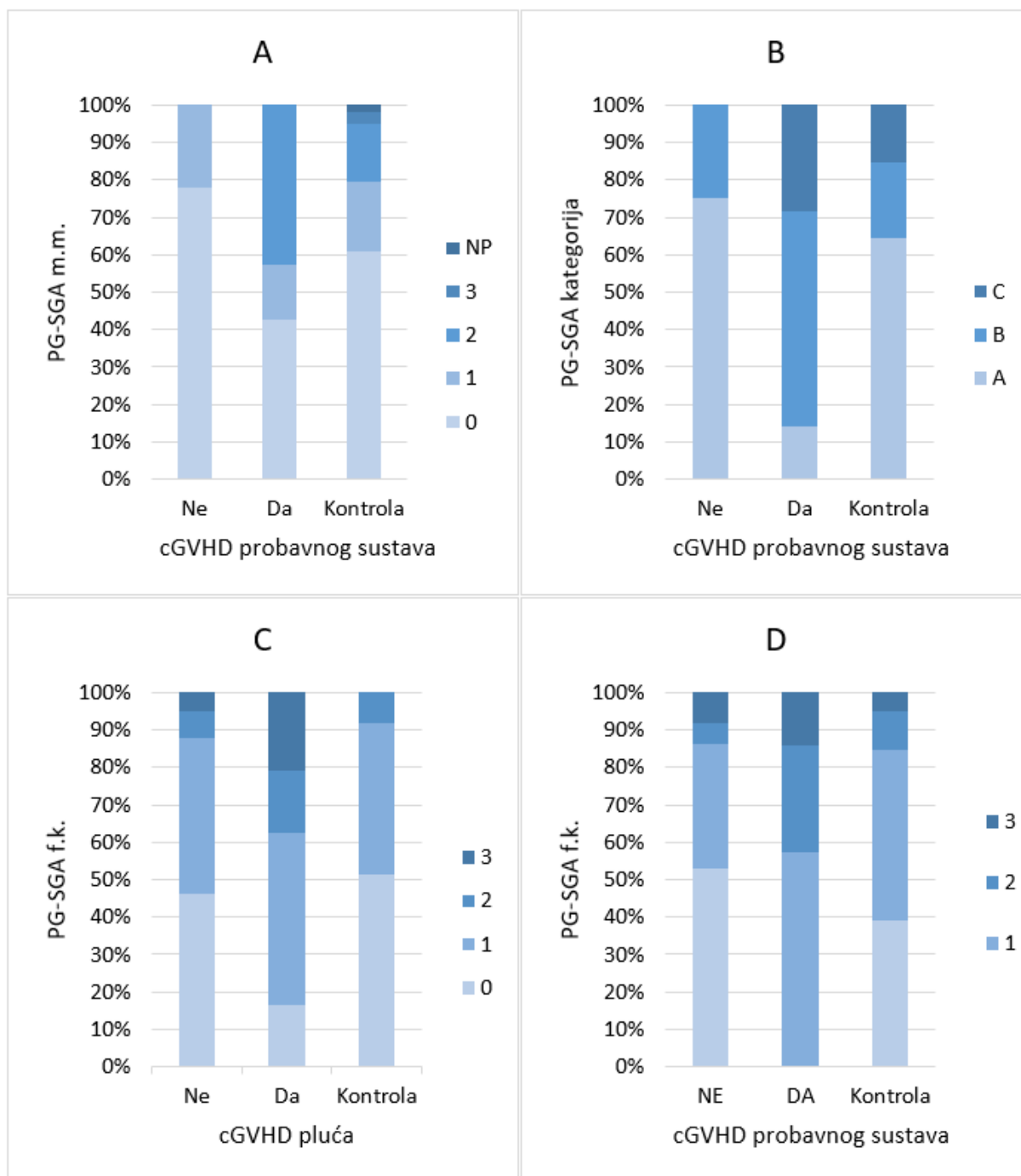
**Slika 18.** PG-SGA rezultat kod bolesnika s cGVHD-om probavnog sustava.

PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika.

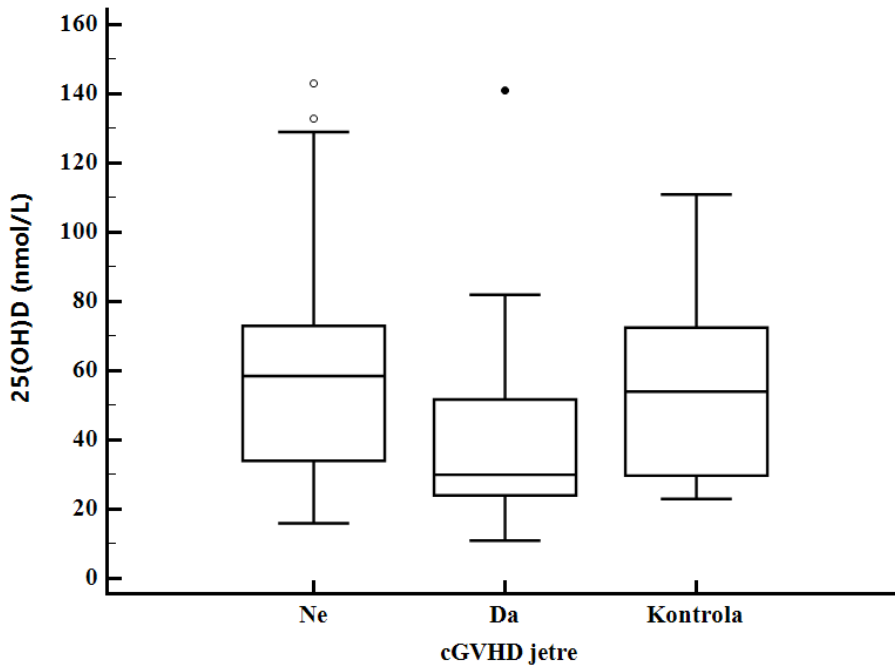
**Tablica 14.** Utjecaj težine, aktivnosti i zahvaćenosti broja organa cGVHD-om na nutritivni i funkcionalni status bolesnika (prvi pregled, n=65).

	Vita min D	PG- SGA m.m.	PG- SGA f.k.	PG- SGA kateg orija	PG- SGA rezult at	PG- SGA TM 6 mj.	HGS- D	HGS- ND	SMI	KPI
Ozbiljnost prema NIH-u	0,01	0,37 **	0,3 *	0,22	0,15	-0,04	-0,2	-0,22	-0,14	-0,42 ***
Procjena aktivnosti cGVHD-a	-0,26*	0,2	0,26*	0,27*	0,29*	0,29*	-0,08	-0,05	0,04	-0,42**
cGVHD oči	0,04	0,09	0,04	0,06	0,02	0	0,05	-0,05	0,36 **	-0,22
cGVHD genitalni sustav	-0,16	-0,04	-0,04	-0,07	-0,07	-0,08	-0,06	-0,06	-0,23	0,24
cGVHD probavni sustav	-0,08	0,4 **	0,39 **	0,5 ***	0,47 ***	0,38 **	-0,22	-0,24	-0,14	-0,33 *
cGVHD zglobovi i fascije	0,06	0,16	0,17	-0,03	0,03	-0,3 *	-0,23	-0,22	-0,16	-0,25 *
cGVHD jetra	-0,26 *	0,1	-0,05	0,18	0,13	0,29 *	-0,07	-0,07	-0,11	-0,06
cGVHD pluća	0,06	0,32 *	0,37 **	0,18	0,26 *	-0,06	-0,15	-0,16	-0,02	-0,36 **
cGVHD usta	-0,1	0,05	-0,01	0,16	0,19	0,25 *	-0,07	-0,03	0,05	-0,06
cGVHD koža	-0,01	0	0,02	0,06	-0,05	-0,05	-0,1	-0,13	-0,08	-0,15
cGVHD broj organa	-0,14	0,25 *	0,28 *	0,26 *	0,3 *	0,12	-0,28 *	-0,32 *	-0,06	-0,35 **
Karnofsky indeks	0,05	-0,55 ***	-0,61 ***	-0,57 ***	-0,56 ***	-0,2	0,27 *	0,32 *	-0,07	0 ***
Dani od cGVHD-a do 1. pregleda	0,45 ***	-0,19	-0,01	-0,3 *	-0,38 **	-0,35 **	0,26 *	0,22	-0,05	0,05
Dani od Tx do 1. pregleda	0,22 *	-0,1	0,03	-0,18	-0,23 *	-0,38 ***	0,18	0,14	-0,210	0,06
Dani od Tx do cGVHD-a	-0,07	-0,06	0,03	-0,02	-0,08	-0,18	0,19	0,15	0,04	-0,42**

NIH – National Institute of Health; cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; PG-SGA m.m. ili f.k. – subjektivna globalna procjena bolesnika, mišićna masa ili funkcionalni kapacitet; TM – tjelesna masa; HGS-D/HGS-ND – snaga stiska šake dominantna ruka/nedominantna ruka; SMM – skeletna mišićna masa; KPI – Karnofskyjev indeks; Tx – transplantacija.



**Slika 19.** PG-SGA mišićna masa (0 - uredno, 1 - blagi nedostatak, 2 - umjeren nedostatak, 3 - ozbiljan nedostatak) kod cGVHD-a probavnog sustava (**A**). PG-SGA kategorija (A - uredan nutritivni status, B - umjerena malnutricija, C - ozbiljna malnutricija) kod cGVHD-a probavnog sustava (**B**). PG-SGA funkcionalni kapacitet (0 - uredno, 1 - blaga slabost, 2 - umjerena slabost, 3 - ozbiljna slabost) kod cGVHD-a pluća (**C**). PG-SGA funkcionalni kapacitet (0 - uredno, 1 - blaga slabost, 2 - umjerena slabost, 3 - ozbiljna slabost) kod cGVHD-a probavnog sustava (**D**).



**Slika 20.** Serumske vrijednosti 25(OH)D bolesnika s cGVHD-om jetre.

#### 4.9 Utjecaj imunosupresivne terapije na nutritivni i funkcionalni status te serumske vrijednosti 25(OH)D

Prije prvog pregleda 21 pacijent (od ukupno 67 koji su završili istraživanje (31,3 %)) primao je sistemsku terapiju glukokortikoidima. Od toga je 18 bolesnika bilo s cGVHD-om, a 3 kontrolni ispitanici.

Tijekom istraživanja (između dva pregleda) 13 bolesnika s cGVHD-om (30,2 %) primalo je glukokortikoidnu terapiju (metilprednizolon 10, a prednizon 3 bolesnika) (**Tablica 15**). U kontrolnoj skupini 2 ispitanika primala su nisku dozu glukokortikoida zbog postupnog smanjivanja do ukidanja terapije prethodnog akutnog GVHD-a, a jedan pacijent zbog liječenja autoimune hemolitičke anemije.

**Tablica 15.** Prikaz imunosupresivne terapije koju su ispitanici primali tijekom istraživanja.

Lijek	cGVHD bolesnici (N=13)	Kontrolna skupina (N=3)	P
Prednizon (mg/dan)	20,9 (16,8)*	20,67 (13,2)*	0,976

\*Sr. vrijed. (SD)

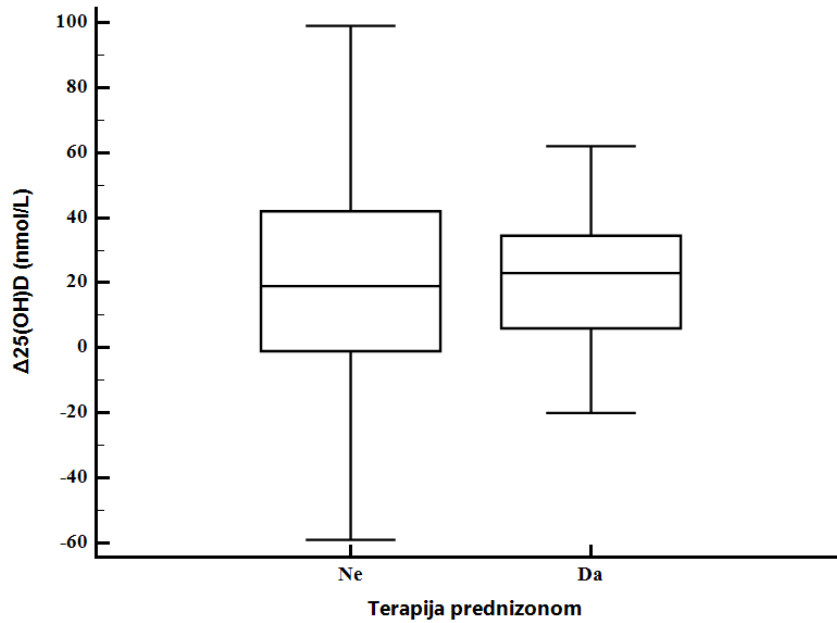
Glukokortikoidna terapija koju su cGVHD ispitanici primali tijekom ovog istraživanja pozitivno je korelirala s PG-SGA kategorijom na prvom i kontrolnom pregledu, a negativno s KPI-jem. Korelacija s HGS-om bila je prisutna samo na kontrolnom pregledu (**Tablica 16**). Nije bilo razlike u promjeni serumskih vrijednosti 25(OH)D između ispitanika koji su primali glukokortikoidnu terapiju tijekom istraživanja i onih koji nisu (**Slika 21**).

**Tablica 16.** Prikaz značajnih korelacija primjene glukokortikoidne terapije tijekom istraživanja kod cGVHD bolesnika.

Variable	Koeficijent korelacije
HGS kontrolni pregled	-0,408*
KPI prvi pregled	-0,342*
KPI kontrolni pregled	-0,312*
PG-SGA kategorija prvi pregled	0,362*
PG-SGA kategorija kontrolni pregled	0,353*

\*P<0,05

HGS – snaga stiska šake; KPI – Karnofskyjev indeks; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika.



**Slika 21.** Promjena 25(OH) D u serumu ovisno o primjeni glukokortikoidne terapije.

#### 4.10 Čimbenici rizika malnutricije prema PG-SGA kategoriji

Prema univarijantnoj analizi, malnutricija prema PG-SGA-u (B+C) bila je povezana s cGVHD-om probavnog sustava; pacijenti koji su imali cGVHD probavnog sustava imali su 12 puta veći rizik od malnutricije naspram kontrolnih bolesnika koji nisu imali cGVHD probavnog sustava. Prema univarijantnoj i multivarijantnoj analizi, niski ITM povezan je s pothranjenosti prema PG-SGA-u (B+C), tj. porast ITM-a djeluje protektivno (**Tablica 17**).



**Tablica 17.** Prediktori malnutricije (PG-SGA (B+C) prema univarijantnoj i multivarijantnoj regresijskoj analizi.

Varijabla	PG-SGA (A)	PG-SGA (B+C)	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
			OR	CI	P	OR	CI	P
	N=66	N=36						
Vrijeme od alo-TKMS-a, Medijan IQR	573,5 (231 - 1546)	273 (176 - 950)	0,99	0,99 - 1,00	0,135			
cGVHD vs. kontrole	39 (59,1 %)	26 (72,2 %)	1,8	0,75 - 4,34	0,19			
<b>cGVHD usta</b>								
kontrola	27 (40,9 %)	10 (27,8 %)	1					
ne	16 (24,2 %)	10 (27,8 %)	1,69	0,58 - 4,93	0,339			
da	23 (34,8 %)	16 (44,4 %)	1,88	0,71 - 4,94	0,201			
<b>cGVHD probavni sustav</b>								
kontrola	27 (40,9 %)	10 (27,8 %)	1			1		
ne	37 (56,1 %)	15 (41,7 %)	0,86	0,34 - 2,18	0,745	0,92	0,29 - 2,88	0,884
da	2 (3 %)	10 (27,8 %)	11,56	2,27 - 58,87	<b>0,003</b>	8,12	1,04 - 63,41	<b>0,046</b>
<b>cGVHD pluća</b>								
kontrola	27 (40,9 %)	10 (27,8 %)	1					
ne	26 (39,4 %)	15 (41,7 %)	1,56	0,59 - 4,09	0,368			
da	27 (40,9 %)	10 (27,8 %)	2,28	0,77 - 6,74	0,135			
<b>NIH ozbiljnost cGVHD-a</b>								
kontrola	27 (40,9 %)	10 (27,8 %)	1					
bez/blaga	10 (15,2 %)	4 (11,1 %)	1,08	0,28 - 4,24	0,912			
umjerena	16 (24,2 %)	10 (27,8 %)	1,69	0,58 - 4,93	0,339			
ozbiljna	13 (19,7 %)	12 (33,3 %)	2,5	0,86 - 7,26	0,094			
<b>Kondicioniranje</b>								
RIC	38 (57,6 %)	14 (38,9 %)	<b>1</b>					
Mijeloablativno	24 (36,4 %)	18 (50 %)	0,90	0,09 - 9,44	0,933			
TBI	1 (1,5 %)	3 (8,3 %)	2,04	0,86 - 4,84	0,107			
Mijeloablativno i TBI	3 (4,5 %)	1 (2,8 %)	8,14	0,78 - 84,93	0,08			
Dob	48,3 (13,6)	49,19 (11,97)	1,01	0,97 - 1,04	0,749			
ITM	26,5 (4,3)	21,52 (3,47)	0,70	0,60 - 0,82	<b>&lt;0,0001</b>	0,715	0,61 - 0,84	<b>0,0001</b>

PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; RIC – kondicioniranje smanjenog intenziteta; TBI – zračenje; ITM – indeks tjelesne mase.

#### 4.11 Čimbenici rizika za nisku mišićnu snagu

Prema univarijantnoj analizi faktori rizika za nisku mišićnu snagu prema HGS-u bili su status cGVHD-a (ispitanici naspram kontrola), zahvaćenost probavnog sustava, jetre i pluća, umjerena i ozbiljna aktivnost cGVHD-a, niski KPI, loš PG-SGA (B i C) status te niski ITM. Prema multivarijantnoj analizi aktivnost bolesti kod cGVHD-a i nutritivni status prema PG-SGA-u, odnosno B i C kategorija bili su nezavisni rizični čimbenici niske mišićne snage mjereno prema HGS-u (**Tablica 18**).

**Tablica 18.** Prediktori niske mišićne snage prema univarijantnoj i multivarijantnoj regresijskoj analizi

Varijable	Uredan HGS	Nizak HGS	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	n=43	N=59	OR	CI	P	OR	CI	P
<b>Spol (F)</b>	18 (41,9 %)	30 (50,8 %)	1,44	0,65 - 3,17	0,37			
<b>Dob</b>	50,6 (11,5)	47,1(13,9)	0,98	0,95 - 1,01	0,174			
<b>Vrijeme od alo-TKMS-a, Medijan IQR</b>	888 (206,8 - 1904,8)	341 (188,8 - 1185,5)	0,99	0,99 - 1,00	0,12			
<b>cGVHD vs. kontrole</b>	22 (51,2 %)	43 (72,9 %)	2,57	1,12 - 5,88	<b>0,025</b>			
<b>cGVHD probavni sustav</b>								
kontrola	21 (48,8 %)	16 (27,1 %)	1					
ne	20 (46,5 %)	32 (54,2 %)	1,98	0,85 - 4,62	0,116			
da	2 (4,7)	10 (16,9)	6,18	1,19 - 32,08	<b>0,030</b>			
<b>cGVHD jetre</b>								
kontrola	21 (48,8 %)	16 (27,1 %)	1					
ne	19 (44,2 %)	31 (52,5 %)	2,14	0,90 - 5,09	0,085			
da	3 (7 %)	12 (20,3 %)	5,25	1,27 - 21,78	<b>0,022</b>			
<b>cGVHD pluća</b>								
kontrola	21 (48,8 %)	16 (27,1 %)	1					
ne	15 (34,9 %)	26 (44,1 %)	2,28	0,92 - 5,65	0,076			
da	7 (16,3 %)	17 (28,8 %)	3,19	1,07 - 9,52	<b>0,038</b>			
<b>NIH ozbiljnost cGVHD-a</b>								
kontrola	21 (48,8 %)	16 (27,1 %)	1					
blagi	9 (20,9 %)	5 (8,5 %)	0,73	0,20 - 2,60	0,627	0,71	0,18 - 2,82	0,622
umjereni	7 (16,3 %)	19 (32,2 %)	3,56	1,21 - 10,53	<b>0,022</b>	3,53	1,11 - 11,22	<b>0,032</b>

teški	6 (14 %)	19 (32,2 %)	4,16	1,35 - 12,80	<b>0,013</b>	3,434	1,02 - 11,53	<b>0,046</b>
<b>KPI</b>								
	21 (48,8 %)	16 (27,1 %)	1					
100	11 (25,6 %)	6 (10,2 %)	0,72	0,22 - 2,35	0,582			
80 - 90	9 (20,9 %)	27 (45,8 %)	3,94	1,45 - 10,66	<b>0,007</b>			
<80	2 (4,7 %)	10 (16,9 %)	6,56	1,26 - 34,23	<b>0,026</b>			
<b>Kondicioniranje</b>								
RIC	25 (58,1 %)	27 (45,8 %)	<b>1</b>					
Mijeloablativno	15 (34,9 %)	27 (45,8 %)	1,67	0,72 - 3,83	0,23			
TBI	1 (2,3 %)	3 (5,1 %)	2,78	0,27 - 28,48	0,39			
Mijeloablativno i TBI	2 (4,7 %)	2 (3,4 %)	0,93	0,12 - 7,08	0,940			
<b>PG-SGA kategorija</b>								
<b>A</b>	37 (86 %)	29 (49,2 %)	1					
<b>B</b>	5 (11,6 %)	20 (33,9 %)	5,10	1,71 - 15,24	<b>0,004</b>	5,205	1,64 - 16,49	<b>0,005</b>
<b>C</b>	1 (2,3 %)	10 (16,9 %)	12,76	1,54 - 105,48	<b>0,018</b>	9,981	1,14 - 87,40	<b>0,038</b>
<b>Nedostatak vitamina D</b>	57,0+ - 28,4	52,0+ - 28,1	0,99	0,98 - 1,01	0,371			
broj ispitanika	20 (46,5 %)	29 (49,2 %)	1,1117	0,51 - 2,44	0,792			
<b>ITM</b>	27,3 (4,8)	22,9 (3,7)	0,784	0,7 - 0,88	<b>&lt;0,0001</b>			
<b>SMI</b>	9,9 (1,6)	9,7 (1,9)	0,917	0,73 - 1,15	0,456			

HGS – snaga stiska šake; cGVHD – chronic graft-versus-host disease; KPI – Karnofskyjev indeks; RIC – kondicioniranje smanjenog intenziteta; TBI – zračenje; PG-SGA – subjektivna globalna procjena bolesnika; ITM – indeks tjelesne mase; SMI – indeks skeletne mišićne mase.

#### 4.12 Čimbenici rizika za nedostatak vitamina D

Prema univarijantnoj analizi blaga i umjerena aktivnost cGVHD-a i mijeloablativno kondicioniranje čimbenici su rizika za nedostatak vitamina D. Prema multivarijantnoj analizi jedino je mijeloablativno kondicioniranje u odnosu na RIC kondicioniranje rizični čimbenik za pojavu nedostataka vitamina D kod svih ispitanika (**Tablica 19**).

**Tablica 19.** Prediktori za pojavu nedostataka vitamina D (<50 nmol/L) prema univarijatnoj i multivarijatnoj regresijskoj analizi.

Varijable	Vitamin D	Vitamin D	Univarijatna analiza			Multivarijatna analiza		
	≥50nmol/L	<50nmol/L	OR	CI	P	OR	CI	P
	n=53	n=49						
Vrijeme od alo-TKMS-a, Medijan IQR	448 (227,8 - 1968,3)	349 (184,8 - 980)	0,99	0,99 - 1,00	0,299			
cGVHD vs. kontrole	34 (64,2 %)	31 (63,3 %)	0,96	0,43 - 2,16	0,926			
<b>cGVHD kože</b>								
kontrola	19 (35,8)	18 (36,7)	1					
ne	19 (35,8)	17 (34,7)	0,94	0,38 - 2,37	0,902			
da	15 (28,3)	14 (28,6)	0,99	0,37 - 2,61	0,976			
<b>cGVHD probavni sustav</b>								
kontrola	19 (35,8)	18 (36,7)	1					
ne	30 (56,6)	22 (44,9)	0,73	0,32 - 1,70	0,469			
da	4 (7,5)	8 (16,3)	2	0,51 - 7,78	0,317			
<b>NIH ozbiljnost cGVHD-a</b>								
kontrola	19 (35,8)	18 (36,7)	1					
blagi	7 (13,2)	7 (14,3)	1,06	0,31 - 3,61	0,931			
umjereni	12 (22,6)	14 (28,6)	1,23	0,45 - 3,36	0,685			
teški	15 (28,3)	10 (20,4)	0,70	0,25 - 1,97	0,503			
<b>Procjena aktivnosti cGVHD-a</b>								
kontrola	19 (35,8)	18 (36,7)	1					
0	11 (20,8)	4 (8,2)	0,66	0,19 - 2,3	0,511	0,32	0,08 - 1,27	0,106
1 - blaga	7 (13,2)	6 (12,2)	7,22	1,4 - 37,25	<b>0,018</b>	0,79	0,21 - 3,02	0,731
2 - umjereni	14 (26,4)	18 (36,7)	4,68	1,62 - 13,54	<b>0,004</b>	1,18	0,43 - 3,26	0,752
3 - ozbiljna	2 (3,8)	3 (6,1)	0,88	0,13 - 5,87	0,891	1,17	0,16 - 8,53	0,876
ITM	24,7 (4,2)	24,9 (5,3)	1,01	0,93 - 1,09	0,795			
Unos vitamina D prehranom	2,3 (1,2)	1,9 (1,4)	0,76	0,45 - 1,28	0,3			
<b>Kondicioniranje</b>								
RIC	33 (62,3)	19 (38,8)	1					

Mijeloablativno	15 (28,3)	27 (55,1)	3,13	1,34 - 7,29	<b>0,008</b>	3,12	1,29 - 7,52	<b>0,011</b>
TBI	2 (3,8)	2 (4,1)	1,74	0,23 - 13,35	0,596	1,33	0,16 - 10,78	0,790
Mijeloablativno i TBI	3 (5,7)	1 (2)	0,58	0,06 - 5,97	0,646	0,49	0,04 - 5,16	0,549
<b>Dob</b>	48,9 (13,7)	48,3 (12,3)	0,99	0,97 - 1,03	0,828			

cGVHD – kronična reakcija davatelja protiv primatelja; ITM – indeks tjelesne mase; RIC – kondicioniranje smanjenog intenziteta; TBI – zračenje.

## 5 RASPRAVA

### 5.1 Nutritivni status ispitanika

Ranije provedena istraživanja pokazuju kako je malnutricija prisutna u oko 20 % bolesnika kod kojih je prošlo od tri mjeseca do nekoliko godina nakon alo-TKMS-a (70, 88). Čimbenici rizika uključuju prethodno prisutnu malnutriciju (89), režim kondicioniranja (bolesnici koji su prošli TBI imaju veću učestalost malnutricije) (90), anoreksiju, infekcije, mukozitis te GVHD (91). U ovom istraživanju je učestalost malnutricije kod svih ispitanika mjerena prema PG-SGA-u bila veća nego prema ITM-u s obzirom na to da PG-SGA, osim tjelesne mase i visine, u svrhu procjene nutritivnog statusa uključuje i čimbenike kao što su gastrointestinalni simptomi, promjene tjelesne mase, gubitak mišićne mase i umor. Sukladno rezultatima u onkoloških bolesnika (92, 93) i u ovom istraživanju ITM se nije pokazao kao dobar neovisni pokazatelj nutritivnog statusa jer ne uzima obzir promjene mišićne mase. Iako je kod cGVHD ispitanika bila veća učestalost malnutricije prema ITM-u i PG-SGA-u, kao i viši PG-SGA rezultat, ovo istraživanje nije pokazalo statistički značajnu razliku nutritivnog statusa između ispitivanih skupina. Navedeno se može objasniti prisutnošću cGVHD simptoma koji utječu na povećanje PG-SGA rezultata, a time i na promjenu PG-SGA kategorije.

Prema dostupnim literaturnim podacima malnutricija je kod cGVHD-a prisutna u 29 - 43 % bolesnika (prema PG-SGA-u i ITM-u), a povezuje se s cGVHD-om pluća, usta, crijeva, NIH-ovom ocjenom ozbiljnosti cGVHD-a te narušenim funkcionalnim statusom i kvalitetom života (94, 95). U ovom istraživanju učestalost malnutricije cGVHD bolesnika iznosila je 40 %, a glavni čimbenik rizika malnutricije prema PG-SGA-u (B+C) bio je cGVHD probavnog sustava. Slično rezultatima prethodno navedenih studija, kod cGVHD bolesnika ni u ovom istraživanju nije utvrđena povezanost malnutricije s demografskim ili transplantacijskim karakteristikama bolesnika (94, 95).

Porast masne mase između dva pregleda bio je statistički značajniji kod cGVHD bolesnika, dok je porast visceralnih masnoća bio značajan u obje ispitivane skupine. Gubitak skeletne mišićne mase između dva pregleda, iako statistički nije bio značajan, također je zabilježen u obje skupine. Kod svih ispitanika porast masne mase pozitivno je korelirao s porastom ITM-a i visceralnim masnoća, a negativno s promjenom skeletne mišićne mase. Promjene sastava tijela ispitanika u ovom istraživanju u skladu su s rezultatima istraživanja kod bolesnika nakon alo-TKMS-a i auto-TKMS-a (6 mjeseci do 6 godina nakon transplantacije) prema kojima dolazi do porasta ukupne masne mase i gubitka mišićne mase (72, 96).

## 5.2 Funkcionalni status – mišićna snaga ispitanika

Mjerenjem mišićne snage pomoću dinamometrije šake ili HGS-a može se predvidjeti incidencija kroničnih bolesti (97, 98), nutritivni status (86 - 88), utjecaj na kvalitetu života (102), duljinu hospitalizacije (103) i mortalitet (104). Riječ je o pouzdanoj i jednostavnoj metodi koja odražava ukupnu mišićnu snagu različitih dobnih skupina (92 - 94), mišićnu masu (108) i općenito funkcionalni status (109) zbog čega se smatra i vrijednim kliničkim i prognostičkim čimbenikom (110).

Procjena mišićne snage pomoću HGS-a, uz procjenu mišićne mase i tjelesne izvedbe, važan je alat u dijagnostici sarkopenije s obzirom na to da je, prema revidiranim smjernicama Europske radne skupine za sarkopeniju u starijih osoba (engl. *European Working Group on Sarcopenia in Older People, EWGSOP*), niska mišićna snaga ključna karakteristika sarkopenije, a time i prvi kriterij u njezinoj dijagnostici (111). U ovom istraživanju promjena HGS-a od prvog do kontrolnog pregleda bila je statistički značajna kod obje skupine. Ispitanici s cGVHD-om imali su inicijalno niže vrijednosti HGS-a naspram kontrolne skupine, što je bilo i očekivano s obzirom na prisutnost kronične bolesti. Kod cGVHD bolesnika utvrđen je 2,5 puta viši rizik za nisku mišićnu snagu naspram bolesnika koji nisu razvili cGVHD, odnosno kontrolne skupine. Granične vrijednosti HGS-a koje ukazuju na mišićnu slabost (<27 za muškarce i <16 za žene) prema EWGSOP-u nisu uzete u obzir u ovome radu jer se temelje na gerijatrijskoj populaciji, iako je prema njima velik broj ispitanika ovog istraživanja imao zadovoljen i prvi uvjet u dijagnostici sarkopenije. Mali broj gerijatrijskih bolesnika u ovom istraživanju (9 % ispitanika) nije utjecao na značajnost ispitivanih varijabli nutritivnog i funkcionalnog statusa. Gledajući srednju vrijednost HGS-a ispitanika, jasno je da je mišićna snaga velikog broja ispitanika niska, odnosno možemo zaključiti da većina ima mišićnu slabost.

Slično kao i u prethodnim radovima (112), niži HGS kod cGVHD bolesnika ovog istraživanja korelirao je s većim brojem organa zahvaćenih cGVHD-om, ali nije pronađena povezanost sa specifičnim organom zahvaćenim cGVHD-om. Univarijatna regresijska analiza pokazala je da su cGVHD probavnog sustava, jetre i pluća prediktori niske mišićne snage, što je i razumljivo s obzirom na to da bolesnici koji imaju teški cGVHD ta tri organa imaju i 6,5 puta višu incidenciju mortaliteta za razliku od bolesnika s ozbiljnim cGVHD-om drugih organa koji imaju 2,8 puta višu incidenciju u usporedbi s bolesnicima bez cGVHD-a (8).

Bolesnike nakon alo-TKMS-a često prati privremeno oštećenje funkcionalnog statusa i, iako se većina dobro oporavi u prvih godinu dana nakon transplantacije, kod bolesnika s komorbiditetima, osobito cGVHD-om, ono se može dalje pogoršavati (113) te može prijeći i u

invalidnost (114). Te se promjene odražavaju negativno i na psihosocijalne čimbenike kao što su nemogućnost obavljanja dnevnih aktivnosti, nemogućnost odlaska na posao, pojava depresiju (115) i općenito pogoršanje kvalitete života (116). U ovom istraživanju više od 50 % ispitanika imalo je narušen funkcionalni kapacitet, odnosno sposobnost obavljanja dnevnih aktivnosti prema PG-SGA-u, a time i značajno niži HGS, odnosno veću mišićnu slabost naspram ispitanika s urednim funkcionalnim kapacitetom. Kod cGVHD bolesnika narušeni funkcionalni status prema PG-SGA-u i Karnofskyjevu indeksu bio je statistički značajno povezan s procjenom aktivnosti cGVHD-a i ozbiljnošću cGVHD-a prema NIH kriterijima. Niži Karnofskyjev indeks imali su cGVHD bolesnici koji su imali više organa zahvaćenih cGVHD-om te oni koji su imali cGVHD pluća, zglobova i fascija te probavnog sustava. Prema mišljenju kliničara, Karnofskyjev indeks, HGS, procjena plućne funkcije, 2MWT, procjena ozbiljnosti prema kliničaru i pacijentu značajno su povezani s četiri istodobna ishoda (procjene ozbiljnosti i aktivnosti bolesti) koja održavaju opterećenje bolesti cGVHD-a (117). Zahvaćenost zglobova, fascija i pluća cGVHD-om najviše utječe na kvalitetu života bolesnika određenu kao funkcionalni status bolesnika (procijenjen prema HGS-u, 2MWT-u i upitnicima funkcionalnog kapaciteta osjetljivih na promjene cGVHD statusa kao HAP (engl. *human activity profile*) (118)). Međutim, iako je smanjeni funkcionalni kapacitet kod cGVHD-a potvrđen HGS mjerenjima kroz više studija (119) te korelira s procjenom ozbiljnosti cGVHD-a prema NIH kriterijima (112, 118), NIH konzorcij smatra da HGS ima ograničenu korist kao rutinski klinički alat kod cGVHD-a i ne koristi se u procjeni funkcionalnog kapaciteta cGVHD bolesnika (112). Potrebno je spomenuti da HGS ima i ograničenja u procjeni funkcionalnog statusa i ukupne mišićne snage s obzirom na to da je indikator mišićne snage gornjih ekstremiteta te nije idealna mjera, primjerice, kod vulnerabilnih skupina bolesnika te gerijatrijskih bolesnika. Upravo zbog toga u ovome su istraživanju u svrhu procjene funkcionalnog statusa cGVHD bolesnika uz HGS korišteni i PG-SGA te KPI.

Novim studijama kod alo-TKMS bolesnika, s posebnim osvrtom na cGVHD bolesnike, trebala bi se preispitati ova klinički vrijedna i jednostavna metoda procjene mišićne snage s obzirom na to da je HGS promjenjiva varijabla na koju utječu brojni čimbenici, prije svega dob i spol koji u istraživanjima nisu jasno definirani. Dodatno, granične vrijednosti za mišićnu slabost jasno su utvrđene samo kod gerijatrijske populacije, poglavito uz dijagnostiku sarkopenije (111), dok one nisu utvrđene kod bolesnika s kroničnim bolestima.



### 5.3 Povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa

U ovom istraživanju utvrđena je snažna povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa bez razlike između cGVHD bolesnika i kontrolne skupine. To bismo mogli objasniti činjenicom da bolesnike nakon alo-TKMS-a, osim cGVHD-a, mogu pratiti i brojne druge komplikacije od kardiovaskularnih, endokrinoloških, bubrežnih, respiratornih i reproduktivnih do relapsa osnovne bolesti ili čak pojave sekundarnih tumora (120). Statistički značajna razlika u vremenu od alo-TKMS-a između bolesnika ispitivanih skupina mogla bi također biti jedan od čimbenika koji su utjecali na rezultate istraživanja nutritivnog, funkcionalnog i statusa vitamina D s obzirom na to da se kod ispitanika koji nisu razvili cGVHD s vremenom očekuje značajnije poboljšanje. Ispitanici s niskim ITM-om i narušenim nutritivnim statusom imali su i niže vrijednosti mišićne snage od ispitanika s urednim nutritivnim statusom. Nadalje, ispitanici s nižom mišićnom masom imali su i niže vrijednosti mišićne snage prema HGS-u. Funkcionalni kapacitet prema PG-SGA-u je također bio značajno povezan s nutritivnim varijablama (ITM, mišićna masa prema FFMI-ju i SMI-ju), dok je niži Karnofskyjev indeks kod cGVHD bolesnika bio povezan s narušenim nutritivnim statusom prema PG-SGA-u.

Promjene morfologije mišića kod bolesnika s malnutricijom povezuju se s niskom mišićnom masom i snagom. Patogeneza mišićne disfunkcije uzrokovane malnutricijom nije u potpunosti razjašnjena, ali smatra se da uključuje smanjenu sintezu proteina, a povećanu proteolizu, promjene glikolitičke enzimske i mitohondrijske aktivnosti, povećanje intracelularnog kalcija, što dovodi do atrofije mišićnih vlakana, nedostupnost energetske supstrate, promjene membranskog potencijala, a ukupno rezultira smanjenjem mišićne mase (101).

Malnutricija i sarkopenija prate brojne kronične i teške bolesti te se nerijetko pojavljuju i istodobno (u tom slučaju se klasificiraju kao sindrom malnutricije i sarkopenije). Povezuju se s povećanjem smrtnosti od svih uzroka, zatim morbiditeta, duljine boravka u bolnici, infekcija, funkcionalnih oštećenja, prijeloma i padova, tjelesnog invaliditeta i depresije koji dovode do gubitka neovisnosti i većih troškova liječenja (121,122). Ovo istraživanje nije uključivalo dijagnostiku sarkopenije, no prema mjerenjima HGS-a evidentno je da je jedan dio bolesnika zadovoljavao prvi kriterij sarkopenije (30,2 % cGVHD-a i 10,8 % kontrolnih ispitanika). Narušen nutritivni status prema PG-SGA-u povezan je sa smanjenom mišićnom masom i snagom, odnosno dijagnosticiranom sarkopenijom kod bolesnika nakon alo-TKMS-a (66).

Rezultati ovog istraživanja u skladu su s prethodnim istraživanjima koja su pokazala da je snaga stiska šake ili HGS prediktor nutritivnog statusa (99, 101, 109, 123, 124) zbog čega se smatra pouzdanim alatom, ne samo u procjeni funkcionalnog kapaciteta, nego i malnutricije u

svakodnevnoj kliničkoj praksi. Pravodobna identifikacija bolesnika s niskim HGS-om i narušenim nutritivnim statusom kod hospitaliziranih bolesnika omogućava i adekvatnu nutritivnu intervenciju, a time i klinički napredak, poboljšani ishod te pozitivan utjecaj na troškove hospitalizacije (124).

Nadalje, važno je napomenuti da oporavak bolesnika ne može biti adekvatan ako se uz nutritivnu intervenciju ne uključi i rehabilitacijski plan, odnosno tjelesna aktivnost kako bi se pokušalo promijeniti tijekom malnutricije i sarkopenije. Problem razvoja preventivnih i terapijskih strategija sekundarne sarkopenije (koja nastaje uglavnom kod bolesnika s kroničnim bolestima i nije posljedica starenja) jest manjak usmjerenih istraživanja s obzirom na to da su ona uglavnom fokusirana na gerijatrijsku populaciju koju prati primarna sarkopenija (125, 126).

#### **5.4 Status vitamina D kod alo-TKMS ispitanika**

Nedostatak vitamina D (<50 nmol/L) u oko 50 % i manjak ili insuficijencija (50 - 75 nmol/L) u oko 30 % ispitanika ovog istraživanja, ukazuje na to da je hipovitaminoza vitamina D učestali problem bolesnika nakon alo-TKMS-a bez obzira na prisutnost cGVHD-a. Navedeno je u skladu s rezultatima recentne metaanalize koja nije našla statistički značajnu povezanost nedostatka vitamina D s cGVHD-om (65).

Dosadašnji radovi pokazali su različitu stopu prevalencije nedostatka vitamina D kod adultnih i pedijatrijskih bolesnika prije i nakon alo-TKMS-a (127). Kod odrasle populacije, s obzirom na serumske vrijednosti 25(OH)D <50 nmol/L, ona je iznosila od 11 do 70 % prije (63, 64, 128–130) i od 60 do 85 % poslije alo-TKMS-a (67, 69, 128, 130). Istraživanje Kreutz i sur. (2004) pokazalo je značajan pad serumskih vrijednosti 25(OH)D i 1,25(OH)D tijekom alo-TKMS-a ( $36,4 \pm 2,2$  nmol/L prije i  $27,8 \pm 1,3$  nmol/L nakon alo-TKMS-a) zbog čega autori pretpostavljaju da je kod bolesnika moguće prisutan i problem aktivacije vitamina D. U istom radu je kod bolesnika bez ili s blagim cGVHD-om utvrđen porast serumskih vrijednosti 25(OH)D, dok je kod umjerenog i ozbiljnog cGVHD-a status ostao nepromijenjen ili je pao (131). Čimbenici rizika za pojavu nižih serumskih vrijednosti 25(OH)D kod alo-TKMS bolesnika uključuju: imunosupresivnu terapiju (132), poglavito glukokortikoide, nedovoljno izlaganje suncu (133) te kod nekih bolesnika i narušenu apsorpciju iz hrane zbog nuspojava lijekova, GVHD-a probavnog sustava te bakterijskog prerastanja (134).

Nedostatak vitamina D kod bolesnika prije i nakon alo-TKMS-a, prema posljednjoj metaanalizi Ito i sur. (2022) značajno je povezan s lošijim ukupnim preživljenjem. Kod alo-TKMS-a niži status vitamina D povezan je s većom stopom recidiva bolesti, a time i lošijom prognozom, ali ne i preživljenju bez relapsa bolesti (135). Ipak, i ova posljednja metaanaliza ima ograničenja s

obzirom na to da nije jasno definiran prag za utvrđivanje nedostatka vitamina D (nedostatak vitamina D definiran je različito u različitim studijama; kao < 20, 30, 50 i 62,5 nmol/L); korištene su različite metode određivanja vitamina D u serumu; neke studije nisu navele podatak o nadomjesnoj terapiji vitaminom D; mali broj studija uključenih u metaanalizu te nemogućnost utvrđivanja uzroka te obrnute uzročnosti (135).

Kod većine ispitanika utvrđen je porast serumskih vrijednosti 25(OH)D nakon nadomjesne terapije vitaminom D, s tim da je promjena statistički značajnija kod cGVHD bolesnika, što možemo objasniti većim brojem adherentnih bolesnika u cGVHD skupini. Promjena razina 25(OH)D u serumu ovisila je o inicijalnim vrijednostima vitamina D, odnosno njegovoj propisanoj dozi. Značajan porast statusa vitamina D utvrđen je kod ispitanika s nižim inicijalnim statusom kojima je bila propisana nadomjesna terapija vitaminom D u dozi od 1600 do 2000 IU dnevno. Kod bolesnika koji su imali uredan inicijalni status vitamina D i primali 800 IU vitamina D dnevno vrijednosti vitamina D su blago pale (nije bilo statistički značajno), iz čega proizlazi da bi za održavanje adekvatnih razina vitamina D u serumu (>75 nmol/L) bila potrebna veća doza od 800 IU dnevno.

Izrazito nizak prosječni unos vitamina D putem prehrane (oko 2 µg dnevno) u usporedbi s unosom kod, primjerice, Finaca i Šveđana (5,8-6 µg dnevno) i preporuka zdravstvenih organizacija za dnevni unos od 10 do 15 µg dnevno zasigurno pridonosi nedostatku vitamina D kod ispitanika ovog istraživanja iako međusobna povezanost nije utvrđena (136).

TKMS populacija ima visok rizik osteopenije i osteoporoze, čemu pridonose prethodni protokoli kondicioniranja i terapije; smanjena sinteza vitamina D putem kože (zbog pigmentacije, izbjegavanja sunca, dobi); smanjen unos vitamina D hranom (zbog smanjenog unosa hrane i malapsorpcije uslijed GVHD probavnog sustava, bakterijskog prerastanja i dr.); i promjene metabolizma vitamina D (zbog imunosupresivne terapije te oštećenja jetre ili bubrega) (137). Prema dosadašnjim studijama kod TKMS populacije nije jasno utvrđena doza vitamina D nužna za prevenciju prethodno navedenih komplikacija, a dostupne preporuke sugeriraju doze vitamina D u rasponu od 400 do 4000 IU dnevno. Nadalje, nisu određene ni granične vrijednosti statusa vitamina D koje bi se mogle povezati s komplikacijama TKMS-a jer je dosad objavljeno malo studija s malim brojem ispitanika, od kojih je samo pola prospektivnih (137).

Prospektivna longitudinalna studija koja je proučavala gubitak mineralne gustoće kosti kod dugoročno preživjelih TKMS (n=81) bolesnika pokazala je da je posttransplantacijsko razdoblje obilježeno brzim gubitkom mineralne gustoće kosti i sniženjem serumskih vrijednosti 25(OH)D unatoč primjeni kalcija (1 g kalcij karbonata) i vitamina D (1000 IU) (138). Retrospektivno

istraživanje Silva i sur. (139) pokazalo je da učinkovitost nadomjesne terapije vitaminom D (1000 IU) u svrhu liječenja osteopenije i osteoporoze te mogućnost prekida imunosupresije kod cGVHD-a ovisi o stupnju bolesti te se pozitivni učinci postižu samo kod bolesnika s ozbiljnim cGVHD-om. Ipak, važno je naglasiti da je riječ o istraživanju na samo 12 ispitanika te nisu bile poznate serumske vrijednosti 25(OH)D prije i nakon nadomjesne terapije vitaminom D. Nadalje, multicentrično i prospektivno kliničko ispitivanje učinka nadomjesne terapije vitaminom D pet dana prije do tri mjeseca nakon alo-TKMS-a na 150 ispitanika koji su bili podijeljeni u tri skupine (oni koji su primali 1000 IU vitamina D, 5000 IU i kontrolna skupina) pokazalo je nižu incidenciju cGVHD-a, ali ne i aGVHD-a kod ispitanika koji su imali nadomjesnu terapiju vitaminom D (1000 IU i 5000 IU) naspram kontrolne skupine (140).

### **5.5 Utjecaj nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status ispitanika**

Ovo istraživanje u skladu je s dosadašnjim istraživanjima koja nisu pokazala povezanost nedostatka vitamina D s malnutricijom (procijenjenoj prema PG-SGA-u) kod različitih kroničnih bolesti (47, 48, 51). Rezultati istraživanja kod cGVHD bolesnika (n=310) također ne nalaze statistički značajnu povezanost nutritivnog statusa prema PG-SGA-u, odnosno kategorijama B + C (kategorija ozbiljna i umjerena malnutricija) s nedostatkom vitamina D u serumu ili  $\leq 50$  nmol/L (67). Nadalje, nije bilo statistički značajne razlike između ITM kategorija i serumskih razina 25(OH)D, odnosno povezanosti prekomjerne tjelesne mase s niskim statusom vitamina D kod ispitanika; najvjerojatnije zbog malog broja ispitanika u kategoriji pretilosti. Isto tako, utvrđena je povezanost između promjena mišićne mase i masne mase s promjenom kategorije vitamina D, a ni same te promjene nisu bile značajne. Promjene nutritivnog i funkcionalnog statusa ispitanika također nisu bile povezane s promjenom vitamina D u serumu. U skupini pacijenata s deficitom vitamina D koja je primala nadomjesnu terapiju vitaminom D od 2000 IU nazirao se trend povećanja mišićne snage prema HGS-u, ali nije dosegao statističku značajnost. Navedeno je u skladu s dosadašnjim metaanalizama koje ukazuju na mali pozitivni učinak nadomjesne terapije vitaminom D na porast mišićne snage, no koji ne doseže statističku značajnost (141–143). Stoga su potrebna daljnja istraživanja kako bi se bolje istražila ova povezanost kod specifičnih stanja i bolesti.

## **5.6 Povezanost statusa vitamina D s ozbiljnosti, aktivnosti i organima zahvaćenim cGVHD-om**

Ozbiljnost cGVHD-a kod bolesnika obuhvaćenih istraživanjem prema NIH kriterijima nije bila povezana s nedostatkom vitamina D. Aktivnost cGVHD-a prema univarijantnoj analizi čimbenik je rizika nedostatka vitamina D kod cGVHD bolesnika, dok je mijeloablativno kondicioniranje prema multivarijantnoj analizi u odnosu na RIC, čimbenik rizika niskog vitamina D kod svih ispitanika. Od organa zahvaćenih cGVHD-om samo je cGVHD jetre bio povezan sa statusom vitamina D (ispitanici koji su imali cGVHD jetre imali su niži status vitamina D od cGVHD bolesnika koji nisu imali zahvaćenu jetru te bolesnika u kontrolnoj skupini). To se može objasniti činjenicom što je zbog narušene funkcije jetre sinteza 25(OH)D kod bolesnika s cGVHD-om jetre smanjena, što rezultira nižim statusom. Navedeno je u skladu s brojnim literaturnim navodima koji ukazuju na visoku prevalenciju nedostatka vitamina D kod različitih bolesti jetre (akutna ozljeda jetre, nealkoholna masna bolest jetre, steatoza, kolestatska bolest jetre, hepatocelularni karcinom, virusni hepatitis) (144). Smatra se da vitamin D svojim imunomodulatornim učincima ima ključnu ulogu u etiologiji različitih bolesti jetre (144). Međutim, trenutačno nema kliničkih dokaza o potencijalnom terapijskom učinku nadomjesne primjene vitamina D u bolestima jetre kao ni utjecajima na kvalitetu života ili morbiditet povezan s jetrenim bolestima (145).

Suprotno očekivanome, nedostatak vitamina D nije bio povezan s cGVHD-om kože najvjerojatnije zato što se svim alo-TKMS bolesnicima, bez obzira na nastanak cGVHD-a kože, savjetuje da se ne izlažu suncu te da koriste visoke UV zaštitne faktore, a zbog povećanog rizika od nemelanomskog raka kože te moguće aktivacije cGVHD-a (132). Povezanost nižeg statusa vitamina D s kraćim vremenom od alo-TKMS-a do prvog pregleda u ovom istraživanju mogla bi se povezati s duljinom hospitalizacije, kondicioniranjem, imunosupresivnom terapijom i smanjenom izloženosti suncu tijekom alo-TKMS-a.

## **5.7 Povezanost statusa vitamina D s terapijom glukokortikoidima**

Glukokortikoidi utječu na metabolizam i aktivnost vitamina D tako što smanjuju aktivnosti enzima važnih u procesu hidroksilacije vitamina D te utječu na ekspresiju receptora za vitamin D (146). Bolesnici na terapiji glukokortikoidima imaju dvostruko veći rizik od pojave nedostatka vitamina D u usporedbi s općom populacijom (147). S obzirom na to da je glukokortikoidna terapija i dalje prva linija terapije za cGVHD, bolesnici imaju visok rizik za nastanak sekundarne osteoporoze. Prema istraživanju Pirsl i sur. (148), niska tjelesna masa,

malnutricija i fizička inaktivnost prema PG-SGA-u te viša doza prednizona neki su od čimbenika rizika za osteoporozu kod cGVHD-a. U istom istraživanju, suprotno očekivanome, serumske vrijednosti vitamina D nisu bile povezane s osteoporozom, što su autori objasnili relativno zadovoljavajućim statusom vitamina D u ispitanika (oko 75 nmol/L) zbog redovite suplementacije. Ograničeni broj dosadašnjih studija pokazao je da cGVHD bolesnici na terapiji glukokortikoidima imaju nizak status vitamina D (68,69). Nasuprot tome, neke studije nisu pokazale takvu povezanost (67,149). U ovom istraživanju glukokortikoidna terapija bila je povezana s nižim nutritivnim statusom prema PG-SGA-u i narušenim funkcionalnim statusom prema KPI-ju te nižom mišićnom snagom prema HGS-u. Nije utvrđena razlika između serumskih vrijednosti 25(OH)D ispitanika na terapiji glukokortikoidima te onih koji ne primaju glukokortikoide, niti na početku istraživanja, niti nakon nadomjesne terapije vitaminom D. Duljina primjene prednizona, kao i dnevna doza - koje su različite od bolesnika do bolesnika - zasigurno su dodatni čimbenici koji bi mogli utjecati na promjenu statusa vitamina D, ali zbog malog broja ispitanika nije bilo moguće provesti takve analize. S obzirom na nepostojanje definiranih protokola liječenja cGVHD-a u drugoj liniji terapije te iznimnu heterogenost u primjeni terapijama bez jasnih vremenskih odjeljenja između primjene pojedinih linija uz nepoznat status nadomjesne terapije vitaminom D, utjecaj prethodne terapije nije bilo moguće analizirati. Kako bi se izbjegla sustavna pogreška u istraživanju, u obzir je uzeta samo trenutna kortikosteroidna terapija. Iz ovog istraživanja proizlazi činjenica da i dalje veliki broj bolesnika koji imaju nedostatak ili manjak vitamina D i/ili glukokortikoidnu terapiju nema propisanu nadomjesnu terapiju vitaminom D. U posljednjih 10-ak godina objavljeno je nekoliko međunarodnih i nacionalnih smjernica za prevenciju i liječenje nedostatka vitamina D (28,150–152) prema kojima je glukokortikoidna terapija čimbenik rizika nedostatka vitamina D te je potrebna adekvatna nadomjesna terapija vitaminom D neovisno o inicijalnom statusu.

## **5.8 Ograničenja istraživanja**

Ograničenja ovoga istraživanja su prvenstveno mali broj bolesnika s obzirom na heterogenost ispitivanih skupina po pitanju demografskih karakteristika, a kod cGVHD ispitanika i karakteristika cGVHD-a (kao što su tip i broj zahvaćenih organa, vrijeme od dijagnostike cGVHD-a i imunosupresivna terapija). Bolesnici koji nakon alo-TKMS-a nisu razvili cGVHD, a koji su bili kontrolna skupina, problematični su jer postoji mogućnost da u bilo kojem trenutku razviju simptome cGVHD-a a da se oni odmah jasno ne prepoznaju.

Dodatni ograničavajući čimbenici su nedostatni podaci o statusu vitamina D te nutritivnom i funkcionalnom statusu bolesnika prije alo-TKMS-a; nedostatni podaci o prethodnim linijama imunosupresivne terapije te intenzitetu i duljini njihove primjene (osobito glukokortikoidima ako je o njima riječ); velike razlike među ispitanicima s obzirom na razdoblje koje je proteklo od alo-TKMS-a, odnosno pojave cGVHD-a do uključivanja u istraživanje.

## 6 ZAKLJUČCI

1. Malnutricija, procijenjena prema PG-SGA-u, bila je prisutna u 40 % ispitanika bez statistički značajne razlike između cGVHD-a i kontrolne skupine. Ti su rezultati u skladu s dosadašnjim istraživanjima kod bolesnika s cGVHD-om, a mogu se objasniti činjenicom da je kod cGVHD bolesnika zahvaćenost probavnog sustava cGVHD-om neovisni čimbenik rizika malnutricije. To je i očekivano s obzirom na to da ti bolesnici imaju zatajenje crijevne funkcije koja se povezuje s malapsorpcijom, maldigestijom, nedostatkom vitamina i minerala, a time i negativnim utjecajem na nutritivni status.
2. Funkcionalni status bolesnika određen prema HGS-u i PG-SGA-u narušen je kod 50 % ispitanika bez statistički značajne razlike između bolesnika cGVHD-a i kontrolne skupine. Malnutricija je neovisni čimbenik rizika niske mišićne snage kod alo-TKMS ispitanika. Niska mišićna snaga prema HGS-u ukazuje i na rizik sarkopenije, osobito cGVHD ispitanika. Kronični oblik GVHD-a čimbenik je rizika niske mišićne snage kod alo-TKMS ispitanika prema univarijantnoj regresijskoj analizi. Neovisni čimbenik rizika niske mišićne snage kod cGVHD bolesnika su umjerena i teška ozbiljnost cGVHD-a prema NIH kriterijima. Nadalje, zahvaćenost probavnog sustava, jetre i pluća cGVHD-om dodatni su čimbenici rizika niske mišićne snage kod cGVHD bolesnika.
3. U istraživanju je nađena snažna povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa. Malnutricija prema PG-SGA-u (B+C) čimbenik je rizika niske mišićne mase alo-TKMS ispitanika. Malnutricija povezana s bolešću prati brojne kronične bolesti, a njezine posljedice odražavaju se i na promjene mišićne funkcije s naglaskom na gubitak mišićne mase i snage, osobito gerijatrijske populacije. Upravo je zbog toga važno uvesti jasno definirane protokole praćenja nutritivnog i funkcionalnog statusa bolesnika, kao i fizikalne terapije, ne samo nakon nego i prije samog alo-TKMS-a s ciljem prevencije malnutricije te gubitka mišićne mase i snage, a time i rizika nastanka sarkopenije.
4. Nedostatak vitamina D bio je prisutan u 50 %, a manjak u 30 % ispitanika. Najznačajnija promjena serumskih vrijednosti vitamina D prati se u skupini ispitanika s nedostatkom vitamina D koji su primali najvišu dozu nadomjesne terapije vitaminom D (2000 IU). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je viši unos vitamina D potreban ne samo za korekciju nedostatka vitamina D, nego i za održavanje urednog statusa. Iz navedenog proizlazi zaključak da bi individualni pristup propisivanja nadomjesne nadoknade vitaminom D (s obzirom na aktivnost bolesti te zahvaćenost drugih organa cGVHD-om, terapiju glukokortikoidima, sindrom malapsorpcije, pretilost, osteoporoza, infekcije i



drugo) bio učinkovitiji od rutinskog propisivanja određenog režimom doziranja glukokortikoidima.

5. Suprotno očekivanome, status vitamina D kod cGVHD bolesnika nije bio niži (u odnosu na kontrolu). Također, nije utvrđena povezanost statusa vitamina D s nutritivnim i funkcionalnim statusom, kao ni s njihovom promjenom tijekom nadomjesne terapije vitaminom D.
6. Kod cGVHD ispitanika utvrđeno je da su bolesnici s cGVHD-om jetre imali niži status vitamina D (naspram bolesnika koji nisu imali cGVHD jetre). Navedeno opažanje je očekivano s obzirom na ulogu jetre u biološkoj aktivaciji (prvoj hidroksilaciji) vitamina D koja se zbiva u jetri.
7. Čimbenik rizika nedostatka vitamina D kod svih ispitanika prema multivarijantnoj analizi je mijeloablativno kondicioniranje. Prema univarijantnoj analizi, aktivnost bolesti čimbenik je rizika nedostatka vitamina D kod cGVHD bolesnika. Navedeno opažanje može se objasniti činjenicom da bolesnici s aktivnom bolesti imaju veći intenzitet sistemske imunosupresije, a time i dodatni rizik nedostatka vitamina D.
8. Terapija glukokortikoidima koju su ispitanici primali tijekom istraživanja bila je povezana s lošijim nutritivnim i funkcionalnim statusom. Međutim, nije utvrđena povezanost terapije prednisonom i serumskih vrijednosti 25(OH)D. Navedeno se može objasniti malim brojem ispitanika te različitim terapijskim režimima prednizona (doza i trajanje terapije).
9. Nedostatak vitamina D, kao i narušen nutritivni i funkcionalni status alo-TKMS ispitanika upućuju na potrebu implementacije protokola praćenja nutritivnog i funkcionalnog statusa s naglaskom na mišićnu masu i snagu (uključujući određivanje statusa vitamina D) te pravodobne intervencije nadležnih specijalista.

## 7 LITERATURA

1. Sureda A, Bader P, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2015 Aug [cited 2022 Feb 2];50(8):1037–56. Available from: <https://www.nature.com/articles/bmt20156>
2. Singh AK, McGuirk JP. Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Historical and Scientific Overview. *Cancer Res*. 2016 Nov 15;76(22):6445–51.
3. Ng AP, Alexander WS. Haematopoietic stem cells: past, present and future. *Cell Death Discov*. 2017;3:17002.
4. Park M, Seo JJ. Role of HLA in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Bone Marrow Res*. 2012;2012:680841.
5. Jaing TH. Complications of haematopoietic stem cell transplantation. *ISBT Sci Ser*. 2011;6(2):332–6.
6. Clark CA, Savani M, Mohty M, Savani BN. What do we need to know about allogeneic hematopoietic stem cell transplant survivors? *Bone Marrow Transplant*. 2016 Aug;51(8):1025–31.
7. Nasserredine S, Rafei H, Elbahesh E, Tabbara I. Acute Graft Versus Host Disease: A Comprehensive Review. *Anticancer Res*. 2017 Apr;37(4):1547–55.
8. Grube M, Holler E, Weber D, Holler B, Herr W, Wolff D. Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation-Results from a Single-Center Observational Study. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2016 Oct;22(10):1781–91.
9. Presland RB. Biology of chronic graft-vs-host disease: Immune mechanisms and progress in biomarker discovery. *World J Transplant*. 2016 Dec 24;6(4):608–19.
10. Arai S, Arora M, Wang T, Spellman SR, He W, Couriel DR, et al. Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015 Feb;21(2):266–74.
11. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945–56.
12. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*. 2011 Mar 17;117(11):3214–9.

13. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015 Mar;21(3):389-401.e1.
14. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S, Hakim FT, Jagasia M, Fowler DH, et al. The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2017 Feb;23(2):211–34.
15. Zeiser R, Blazar BR. Pathophysiology of Chronic Graft-versus-Host Disease and Therapeutic Targets. *N Engl J Med*. 2017 Dec 28;377(26):2565–79.
16. Ferrara JLM, Reddy P. Pathophysiology of graft-versus-host disease. *Semin Hematol*. 2006 Jan;43(1):3–10.
17. MacDonald KPA, Hill GR, Blazar BR. Chronic graft-versus-host disease: biological insights from preclinical and clinical studies. *Blood*. 2017 Jan 5;129(1):13–21.
18. Rhoades R, Gaballa S. The Role of B Cell Targeting in Chronic Graft-Versus-Host Disease. *Biomedicines*. 2017 Oct 17;5(4).
19. Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt GC, Vogelsang GB, et al. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2010 Dec;16(12):1611–28.
20. Cutler CS, Koreth J, Ritz J. Mechanistic approaches for the prevention and treatment of chronic GVHD. *Blood*. 2017 Jan 5;129(1):22–9.
21. Flowers MED, Martin PJ. How we treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2015 Jan 22;125(4):606–15.
22. Miklos D, Cutler CS, Arora M, Waller EK, Jagasia M, Pusic I, et al. Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood*. 2017 Nov 23;130(21):2243–50.
23. Umar M, Sastry KS, Chouchane AI. Role of Vitamin D Beyond the Skeletal Function: A Review of the Molecular and Clinical Studies. *Int J Mol Sci*. 2018 May 30;19(6).
24. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Gonzalez-Gross M, Valtueña J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016 Apr;103(4):1033–44.
25. Forrest KYZ, Stuhldreher WL. Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. *Nutr Res N Y N*. 2011 Jan;31(1):48–54.
26. Brandi ML. Indications on the use of vitamin D and vitamin D metabolites in clinical phenotypes. *Clin Cases Miner Bone Metab Off J Ital Soc Osteoporos Miner Metab Skelet Dis*. 2010 Sep;7(3):243–50.

27. Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger S, Köstenberger M, Tmava Berisha A, et al. Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *Eur J Clin Nutr.* 2020 Nov;74(11):1498–513.
28. Vranešić Bender D, Giljević Z, Kušec V, Laktašić Žerjavić N, Bošnjak Pašić M, Vrdoljak E, et al. GUIDELINES FOR THE PREVENTION, DETECTION AND THERAPY OF VITAMIN D DEFICIENCY IN ADULTS. *Lijec Vjesn.* 2016 May;138(5–6):121–32.
29. Vieth R. Why the minimum desirable serum 25-hydroxyvitamin D level should be 75 nmol/L (30 ng/ml). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):681–91.
30. Parva NR, Tadepalli S, Singh P, Qian A, Joshi R, Kandala H, et al. Prevalence of Vitamin D Deficiency and Associated Risk Factors in the US Population (2011-2012). *Cureus.* 2018 Jun 5;10(6):e2741.
31. Cariolou M, Cupp MA, Evangelou E, Tzoulaki I, Berlanga-Taylor AJ. Importance of vitamin D in acute and critically ill children with subgroup analyses of sepsis and respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2019 May 22;9(5):e027666.
32. Galesanu C, Mocanu V. VITAMIN D DEFICIENCY AND THE CLINICAL CONSEQUENCES. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2015 Jun;119(2):310–8.
33. Matyjaszek-Matuszek B, Lenart-Lipińska M, Woźniakowska E. Clinical implications of vitamin D deficiency. *Przegląd Menopauzalny Menopause Rev.* 2015 Jun;14(2):75–81.
34. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 May 18;101(20):7711–5.
35. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016 Jan;96(1):365–408.
36. Bikle DD. Extra Renal Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D and its Health Implications. *Clin Rev Bone Miner Metab.* 2009 Jun 1;7(2):114–25.
37. Kägi L, Bettoni C, Pastor-Arroyo EM, Schnitzbauer U, Hernando N, Wagner CA. Regulation of vitamin D metabolizing enzymes in murine renal and extrarenal tissues by dietary phosphate, FGF23, and 1,25(OH)2D3. *PloS One.* 2018;13(5):e0195427.
38. Bikle D. Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanisms of Action. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, et al., editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000.
39. Hirota Y, Suhara Y, Osakabe N, T S, T O. 25-hydroxyvitamin D3 may Function via Genomic and Non-Genomic actions. *Anat Physiol.* 2017 Jan 1;07.
40. Hii CS, Ferrante A. The Non-Genomic Actions of Vitamin D. *Nutrients.* 2016 Mar 2;8(3):135.

41. Bikle DD. Vitamin D: Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level. *J Endocr Soc.* 2020 Feb 1;4(2):bvz038.
42. Orces C. The Association between Body Mass Index and Vitamin D Supplement Use among Adults in the United States. *Cureus.* 2019 Sep 21;11(9):e5721–e5721.
43. Zakharova I, Klimov L, Kuryaninova V, Nikitina I, Malyavskaya S, Dolbnya S, et al. Vitamin D Insufficiency in Overweight and Obese Children and Adolescents. *Front Endocrinol.* 2019;10:103.
44. Samuel L, Borrell LN. The effect of body mass index on optimal vitamin D status in U.S. adults: the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. *Ann Epidemiol.* 2013 Jul;23(7):409–14.
45. Bednarek-Skublewska A, Smoleń A, Jaroszyński A, Załuska W, Ksiazek A. Effects of vitamin D3 on selected biochemical parameters of nutritional status, inflammation, and cardiovascular disease in patients undergoing long-term hemodialysis. *Pol Arch Med Wewn.* 2010 May;120(5):167–74.
46. Wang Q, Shi X, Wang J, Zhang J, Xu C. Low serum vitamin D concentrations are associated with obese but not lean NAFLD: a cross-sectional study. *Nutr J.* 2021 Apr 1;20(1):30.
47. Mentella MC, Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, Gasbarrini A, Miggiano GAD. The Association of Disease Activity, BMI and Phase Angle with Vitamin D Deficiency in Patients with IBD. *Nutrients.* 2019 Oct 26;11(11):2583.
48. Lagunova Z, Porojnicu AC, Lindberg F, Hexeberg S, Moan J. The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. *Anticancer Res.* 2009 Sep;29(9):3713–20.
49. Merker M, Amsler A, Pereira R, Bolliger R, Tribolet P, Braun N, et al. Vitamin D deficiency is highly prevalent in malnourished inpatients and associated with higher mortality: A prospective cohort study. *Medicine (Baltimore).* 2019 Nov;98(48):e18113–e18113.
50. Aytakin Aydin. Comparison of Vitamin D Levels Between Healthy Individuals and Cancer Patients. *EURASIAN J MEDICAL Investig.* 2020;4(2):259–64.
51. Trukova K, Gupta D, Vashi PG, Adams A, Lambert GM, Grutsch JF, et al. Serum 25-hydroxy vitamin D and nutritional status: Implications for vitamin D assessment and dietary supplementation in oncology. *J Clin Oncol.* 2009 May 20;27(15\_suppl):9638–9638.
52. Simpson RU, Thomas GA, Arnold AJ. Identification of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors and activities in muscle. *J Biol Chem.* 1985 Jul 25;260(15):8882–91.
53. Girgis CM. Vitamin D and Skeletal Muscle: Emerging Roles in Development, Anabolism and Repair. *Calcif Tissue Int.* 2020 Jan;106(1):47–57.

54. Srikuea R, Zhang X, Park-Sarge OK, Esser KA. VDR and CYP27B1 are expressed in C2C12 cells and regenerating skeletal muscle: potential role in suppression of myoblast proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012 Aug 15;303(4):C396-405.
55. Latham CM, Brightwell CR, Keeble AR, Munson BD, Thomas NT, Zagzoog AM, et al. Vitamin D Promotes Skeletal Muscle Regeneration and Mitochondrial Health. *Front Physiol*. 2021;12:660498.
56. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocr Rev*. 2013 Feb;34(1):33–83.
57. Gunton JE, Girgis CM. Vitamin D and muscle. *Bone Rep*. 2018 Jun;8:163–7.
58. Visser M, Deeg DJH, Lips P. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Dec;88(12):5766–72.
59. Aspell N, Laird E, Healy M, Lawlor B, O’Sullivan M. Vitamin D Deficiency Is Associated With Impaired Muscle Strength And Physical Performance In Community-Dwelling Older Adults: Findings From The English Longitudinal Study Of Ageing. *Clin Interv Aging*. 2019;14:1751–61.
60. Flicker L, Mead K, MacInnis RJ, Nowson C, Scherer S, Stein MS, et al. Serum vitamin D and falls in older women in residential care in Australia. *J Am Geriatr Soc*. 2003 Nov;51(11):1533–8.
61. Bislev LS, Grove-Laugesen D, Rejnmark L. Vitamin D and Muscle Health: A Systematic Review and Metaanalysis of Randomized Placebo-Controlled Trials. *J Endocr Soc*. 2021 May 3;5(Suppl 1):A281–A281.
62. Arain A, Matthiesen C. Vitamin D deficiency and graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplant population. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2019 Sep;12(3):133–9.
63. Glotzbecker B, Ho VT, Aldridge J, Kim HT, Horowitz G, Ritz J, et al. Low levels of 25-hydroxyvitamin D before allogeneic hematopoietic SCT correlate with the development of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Apr 1;48(4):593–7.
64. von Bahr L, Blennow O, Alm J, Björklund A, Malmberg KJ, Mougiakakos D, et al. Increased incidence of chronic GvHD and CMV disease in patients with vitamin D deficiency before allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Sep;50(9):1217–23.
65. Chiengthong K, Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Lertjitbanjong P, Cato LD, Bathini T, et al. Vitamin D deficiency is not associated with graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation: A meta-analysis. *J Evid-Based Med*. 2020 Aug;13(3):183–91.
66. Ljubas Kelecic D, Lelas A, Karas I, Desnica L, Vukic T, Sabol I, et al. Sarcopenia among patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and the impact

- of chronic graft-versus-host disease. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2020 Nov;146(11):2967–78.
67. Katić M, Pirsl F, Steinberg SM, Dobbin M, Curtis LM, Pulanić D, et al. Vitamin D levels and their associations with survival and major disease outcomes in a large cohort of patients with chronic graft-vs-host disease. *Croat Med J*. 2016 Jun 30;57(3):276–86.
  68. Robien K, Strayer LG, Majhail N, Lazovich D, Baker KS, Smith AR, et al. Vitamin D status among long-term survivors of hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2011/01/17 ed. 2011 Nov;46(11):1472–9.
  69. Sproat L, Bolwell B, Rybicki L, Dean R, Sobecks R, Pohlman B, et al. Vitamin D level after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2011 Jul;17(7):1079–83.
  70. Brotelle T, Lemal R, Cabrespine A, Combal C, Hermet E, Ravinet A, et al. Prevalence of malnutrition in adult patients previously treated with allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2018 Apr;37(2):739–45.
  71. Fuji S, Mori T, Khattry N, Cheng J, Do YR, Yakushijin K, et al. Severe weight loss in 3 months after allogeneic hematopoietic SCT was associated with an increased risk of subsequent non-relapse mortality. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Jan;50(1):100–5.
  72. Kyle UG, Chalandon Y, Miralbell R, Karsegard VL, Hans D, Trombetti A, et al. Longitudinal follow-up of body composition in hematopoietic stem cell transplant patients. *Bone Marrow Transplant*. 2005 Jun 1;35(12):1171–7.
  73. Pavletic SZ, Martin P, Lee SJ, Mitchell S, Jacobsohn D, Cowen EW, et al. Measuring Therapeutic Response in Chronic Graft-versus-Host Disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: IV. Response Criteria Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Mar 1;12(3):252–66.
  74. Balstad TR, Bye A, Jenssen CR, Solheim TS, Thoresen L, Sand K. Patient interpretation of the Patient-Generated Subjective Global Assessment (PG-SGA) Short Form. *Patient Prefer Adherence*. 2019;13:1391–400.
  75. Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, et al. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1987 Feb;11(1):8–13.
  76. Jager-Wittenaar H, Ottery FD. Assessing nutritional status in cancer: role of the Patient-Generated Subjective Global Assessment. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017 Sep;20(5):322–9.
  77. Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2000 Aug;89(2):465–71.
  78. Roberts HC, Denison HJ, Martin HJ, Patel HP, Syddall H, Cooper C, et al. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age Ageing*. 2011 Jul;40(4):423–9.

79. Mathiowetz V, Kashman N, Volland G, Weber K, Dowe M, Rogers S. Grip and pinch strength: normative data for adults. *Arch Phys Med Rehabil.* 1985 Feb;66(2):69–74.
80. WEICHSELBAUM TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pathol.* 1946 Mar;10:40–9.
81. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. 1971. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 1997 Feb 3;258(1):21–30.
82. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffé creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clin Lab.* 2000;46(1–2):53–5.
83. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem.* 1973 May;19(5):476–82.
84. Jansen E. Long Term Stability of Parameters of Lipid Metabolism in Frozen Human Serum: Triglycerides, Free Fatty Acids, Total-, HDL- and LDL-cholesterol, Apolipoprotein-A1 and B. *J Mol Biomark Diagn.* 2014 Jan 1;05.
85. Mackenzie I, Woodhouse J. C-reactive protein concentrations during bacteraemia: A comparison between patients with and without liver dysfunction. *Intensive Care Med.* 2006 Sep;32(9):1344–51.
86. Głąbska D, Uroić V, Guzek D, Pavić E, Bival S, Jaworska K, et al. The Possibility of Applying the Vitamin D Brief Food Frequency Questionnaire as a Tool for a Country with No Vitamin D Data in Food Composition Tables. *Nutrients.* 2018 Sep 10;10(9).
87. Mager DE, Lin SX, Blum RA, Lates CD, Jusko WJ. Dose equivalency evaluation of major corticosteroids: pharmacokinetics and cell trafficking and cortisol dynamics. *J Clin Pharmacol.* 2003 Nov;43(11):1216–27.
88. Lenssen P, Sherry ME, Cheney CL, Nims JW, Sullivan KM, Stern JM, et al. Prevalence of nutrition-related problems among long-term survivors of allogeneic marrow transplantation. *J Am Diet Assoc.* 1990 Jun;90(6):835–42.
89. Hirose EY, de Molla VC, Gonçalves MV, Pereira AD, Szor RS, da Fonseca ARBM, et al. The impact of pretransplant malnutrition on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcomes. *Clin Nutr ESPEN.* 2019 Oct;33:213–9.
90. Iestra JA, Fibbe WE, Zwinderman AH, van Staveren WA, Kromhout D. Body weight recovery, eating difficulties and compliance with dietary advice in the first year after stem cell transplantation: a prospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2002 Mar;29(5):417–24.
91. Espinoza M, Perelli J, Olmos R, Bertin P, Jara V, Ramírez P. Nutritional assessment as predictor of complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Bras Hematol E Hemoter.* 2016 Feb;38(1):7–14.



92. Isenring E, Cross G, Daniels L, Kellett E, Koczwara B. Validity of the malnutrition screening tool as an effective predictor of nutritional risk in oncology outpatients receiving chemotherapy. *Support Care Cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer*. 2006 Nov;14(11):1152–6.
93. Laky B, Janda M, Cleghorn G, Obermair A. Comparison of different nutritional assessments and body-composition measurements in detecting malnutrition among gynecologic cancer patients. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jun;87(6):1678–85.
94. Jacobsohn DA, Margolis J, Doherty J, Anders V, Vogelsang GB. Weight loss and malnutrition in patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2002 Feb;29(3):231–6.
95. Bassim CW, Fassil H, Dobbin M, Steinberg SM, Baird K, Cole K, et al. Malnutrition in patients with chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 2014/07/14 ed. 2014 Oct;49(10):1300–6.
96. DeFilipp Z, Troschel FM, Qualls DA, Li S, Kuklinski MW, Kempner ME, et al. Evolution of Body Composition Following Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Incidence of Sarcopenia and Association with Clinical Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Aug 1;24(8):1741–7.
97. de Araújo Amaral C, Amaral TLM, Monteiro GTR, de Vasconcellos MTL, Portela MC. Factors associated with low handgrip strength in older people: data of the Study of Chronic Diseases (Edoc-I). *BMC Public Health*. 2020 Mar 26;20(1):395.
98. Cheung CL, Nguyen USDT, Au E, Tan KCB, Kung AWC. Association of handgrip strength with chronic diseases and multimorbidity: a cross-sectional study. *Age Dordr Neth*. 2013 Jun;35(3):929–41.
99. Flood A, Chung A, Parker H, Kearns V, O’Sullivan TA. The use of hand grip strength as a predictor of nutrition status in hospital patients. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2014 Feb;33(1):106–14.
100. Mendes NP, Barros TA de, Faria BS, Aguiar ES, Oliveira CA de, Souza ECG de, et al. Hand grip strength as predictor of undernutrition in hospitalized patients with cancer and a proposal of cut-off. *Clin Nutr ESPEN*. 2020 Oct;39:210–4.
101. Norman K, Stobäus N, Gonzalez MC, Schulzke JD, Pirlich M. Hand grip strength: Outcome predictor and marker of nutritional status. *Clin Nutr*. 2011 Apr 1;30(2):135–42.
102. Marques LP, Confortin SC, Ono LM, Barbosa AR, d’Orsi E. Quality of life associated with handgrip strength and sarcopenia: EpiFloripa Aging Study. *Arch Gerontol Geriatr*. 2019 Apr;81:234–9.
103. Mendes J, Alves P, Amaral TF. Comparison of nutritional status assessment parameters in predicting length of hospital stay in cancer patients. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2014 Jun;33(3):466–70.
104. Chites VS, Teixeira PP, Lima J, Burgel CF, Gattermann Pereira T, Silva FM. Reduced Handgrip Strength in Hospital Admission Predicts Prolonged Hospital Stay and Death

- but Is Not Accurate to Identify Malnutrition: A Longitudinal Study of Reduced Handgrip Strength in Hospitalized Patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2021 Jul;45(5):1016–22.
105. Wind AE, Takken T, Helders PJM, Engelbert RHH. Is grip strength a predictor for total muscle strength in healthy children, adolescents, and young adults? *Eur J Pediatr.* 2010 Mar;169(3):281–7.
  106. Trosclair D, Bellar D, Judge LW, Smith J, Mazerat N, Brignac A. Hand-Grip Strength as a Predictor of Muscular Strength and Endurance. *J Strength Cond Res [Internet].* 2011;25. Available from: [https://journals.lww.com/nsca-jscr/Fulltext/2011/03001/Hand\\_Grip\\_Strength\\_as\\_a\\_Predictor\\_of\\_Muscular.156.aspx](https://journals.lww.com/nsca-jscr/Fulltext/2011/03001/Hand_Grip_Strength_as_a_Predictor_of_Muscular.156.aspx)
  107. Strandkvist V, Larsson A, Pauelsen M, Nyberg L, Vikman I, Lindberg A, et al. Hand grip strength is strongly associated with lower limb strength but only weakly with postural control in community-dwelling older adults. *Arch Gerontol Geriatr.* 2021;94:104345.
  108. Moreau J, Ordan MA, Barbe C, Mazza C, Perrier M, Botsen D, et al. Correlation between muscle mass and handgrip strength in digestive cancer patients undergoing chemotherapy. *Cancer Med.* 2019 Jul;8(8):3677–84.
  109. Barata AT, Santos C, Cravo M, Vinhas M do C, Morais C, Carolino E, et al. Handgrip Dynamometry and Patient-Generated Subjective Global Assessment in Patients with Nonresectable Lung Cancer. *Nutr Cancer.* 2017 Jan;69(1):154–8.
  110. Bohannon RW. Muscle strength: clinical and prognostic value of hand-grip dynamometry. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2015 Sep;18(5):465–70.
  111. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing.* 2019 Jan 1;48(1):16–31.
  112. Pidala J, Chai X, Martin P, Inamoto Y, Cutler C, Palmer J, et al. Hand grip strength and 2-minute walk test in chronic graft-versus-host disease assessment: analysis from the Chronic GVHD Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* 2013 Jun;19(6):967–72.
  113. Andrews C, Smith S, Kennel M, Schilling S, Kalpakjian C. The Association of Performance Status and Disease Severity in Patients With Chronic Graft-vs-Host Disease. *Arch Phys Med Rehabil.* 2019 Apr;100(4):606–12.
  114. Hamilton BK, Storer BE, Wood WA, Pidala JA, Cutler CS, Martin PJ, et al. Disability Related to Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020 Apr 1;26(4):772–7.
  115. Syrjala KL, Langer SL, Abrams JR, Storer B, Sanders JE, Flowers MED, et al. Recovery and long-term function after hematopoietic cell transplantation for leukemia or lymphoma. *JAMA.* 2004 May 19;291(19):2335–43.
  116. Lee SJ. Classification systems for chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2016/11/07 ed. 2017 Jan 5;129(1):30–7.

117. Curtis LM, Grkovic L, Mitchell SA, Steinberg SM, Cowen EW, Datiles MB, et al. NIH response criteria measures are associated with important parameters of disease severity in patients with chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 2014/08/25 ed. 2014 Dec;49(12):1513–20.
118. Baird K, Steinberg SM, Grkovic L, Pulanic D, Cowen EW, Mitchell SA, et al. National Institutes of Health chronic graft-versus-host disease staging in severely affected patients: organ and global scoring correlate with established indicators of disease severity and prognosis. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2013 Apr;19(4):632–9.
119. Fiuza-Luces C, Simpson RJ, Ramírez M, Lucia A, Berger NA. Physical function and quality of life in patients with chronic GvHD: a summary of preclinical and clinical studies and a call for exercise intervention trials in patients. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Jan;51(1):13–26.
120. Samardžić A, Perić Z, Serventi-Seiwerth R, Desnica L, Vrhovac R, Duraković N. Long-term effects of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation among survivors at University Hospital Centre Zagreb. *Liječnički Vjesn*. 2019;141(5–6):124–124.
121. Meyer F, Valentini L. Disease-Related Malnutrition and Sarcopenia as Determinants of Clinical Outcome. *Visc Med*. 2019 Oct;35(5):282–91.
122. Vandewoude MFJ, Alish CJ, Sauer AC, Hegazi RA. Malnutrition-Sarcopenia Syndrome: Is This the Future of Nutrition Screening and Assessment for Older Adults? Fletcher AE, editor. *J Aging Res*. 2012 Sep 13;2012:651570.
123. Matos LC, Tavares MM, Amaral TF. Handgrip strength as a hospital admission nutritional risk screening method. *Eur J Clin Nutr*. 2007 Sep;61(9):1128–35.
124. Guerra RS, Fonseca I, Pichel F, Restivo MT, Amaral TF. Handgrip strength and associated factors in hospitalized patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2015 Mar;39(3):322–30.
125. Sieber CC. Malnutrition and sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*. 2019 Jun;31(6):793–8.
126. Raoul Saggini. Sarcopenia in Chronic Illness and Rehabilitative Approaches. In: Simona Maria Carmignano, editor. *Frailty and Sarcopenia* [Internet]. Rijeka: IntechOpen; 2017 [cited 2022 Mar 8]. p. Ch. 9. Available from: <https://doi.org/10.5772/intechopen.70223>
127. Soto JR, Anthias C, Madrigal A, Snowden JA. Insights Into the Role of Vitamin D as a Biomarker in Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2020 Jun 8;11:966–966.
128. Joseph RW, Alousi A, Konda B, Komanduri K, Neumann J, Trevino C, et al. High incidence of vitamin D deficiency in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 2011 Nov;86(11):954–6.
129. Urbain P, Ihorst G, Biesalski HK, Bertz H. Course of serum 25-hydroxyvitamin D(3) status and its influencing factors in adults undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Hematol*. 2012 May;91(5):759–66.

130. Florenzano P, Ernst D, Lustig N, Rojas P, Ramírez P, Campusano C. [Vitamin D and parathyroid hormone levels and bone mineral density in patients undergoing hematopoietic cell transplantation]. *Rev Med Chil.* 2016 Sep;144(9):1119–24.
131. Kreutz M, Eissner G, Hahn J, Andreesen R, Drobnik W, Holler E. Variations in 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> serum levels during allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004 Apr 1;33(8):871–3.
132. Kenny SA, Collum K, Featherstone CA, Farooki A, Jakubowski A. Impact of a Replacement Algorithm for Vitamin D Deficiency in Adult Hematopoietic Stem Cell Transplant Patients. *J Adv Pract Oncol.* 2019/03/01 ed. 2019 Mar;10(2):109–18.
133. Simmons J, Sheedy C, Lee H, Koh S, Alvarez J, Koyama T, et al. Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in child and adolescent patients undergoing hematopoietic cell transplantation compared to a healthy population. *Pediatr Blood Cancer.* 2013 Dec;60(12):2025–30.
134. van der Meij BS, de Graaf P, Wierdsma NJ, Langius JAE, Janssen JJWM, van Leeuwen PAM, et al. Nutritional support in patients with GVHD of the digestive tract: state of the art. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Apr 1;48(4):474–82.
135. Ito Y, Honda A, Kurokawa M. Impact of vitamin D level at diagnosis and transplantation on the prognosis of hematological malignancy: a meta-analysis. *Blood Adv.* 2022 Mar 8;6(5):1499–511.
136. Głąbska D, Guzek D, Sidor P, Włodarek D. Vitamin D Dietary Intake Questionnaire Validation Conducted among Young Polish Women. *Nutrients.* 2016 Jan 5;8(1).
137. Ros-Soto J, Anthias C, Madrigal A, Snowden JA. Vitamin D: is it important in haematopoietic stem cell transplantation? A review. *Bone Marrow Transplant.* 2019 Jun 1;54(6):810–20.
138. Schulte C, Beelen DW, Schaefer UW, Mann K. Bone loss in long-term survivors after transplantation of hematopoietic stem cells: a prospective study. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2000;11(4):344–53.
139. Silva F, Pérez-Simón JA, Caballero-Velazquez T, Sánchez-Guijo FM, Villanueva-Gomez F, Vazquez L, et al. Effect of vitamin D treatment in chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2011 Oct 1;46(10):1395–7.
140. Caballero-Velázquez T, Montero I, Sánchez-Guijo F, Parody R, Saldaña R, Valcarcel D, et al. Immunomodulatory Effect of Vitamin D after Allogeneic Stem Cell Transplantation: Results of a Prospective Multicenter Clinical Trial. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2016 Dec 1;22(23):5673–81.
141. Tabrizi R, Hallajzadeh J, Mirhosseini N, Lankarani KB, Maharlouei N, Akbari M, et al. The effects of vitamin D supplementation on muscle function among postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *EXCLI J.* 2019 Aug 6;18:591–603.

142. Rosendahl-Riise H, Spielau U, Ranhoff AH, Gudbrandsen OA, Dierkes J. Vitamin D supplementation and its influence on muscle strength and mobility in community-dwelling older persons: a systematic review and meta-analysis. *J Hum Nutr Diet Off J Br Diet Assoc.* 2016/07/27 ed. 2017 Feb;30(1):3–15.
143. Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, Gillain S, Cavalier E, Slomian J, et al. The Effects of Vitamin D on Skeletal Muscle Strength, Muscle Mass, and Muscle Power: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Nov 1;99(11):4336–45.
144. Elangovan H, Chahal S, Gunton JE. Vitamin D in liver disease: Current evidence and potential directions. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* 2017 Apr 1;1863(4):907–16.
145. Bjelakovic G, Nikolova D, Bjelakovic M, Gluud C. Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Nov 3;11(11):CD011564–CD011564.
146. Mazziotti G, Formenti AM, Frara S, Doga M, Giustina A. Vitamin D and Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. In: *Frontiers of Hormone Research* [Internet]. 2017. p. 149–60. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000486078>
147. Skversky AL, Kumar J, Abramowitz MK, Kaskel FJ, Melamed ML. Association of glucocorticoid use and low 25-hydroxyvitamin D levels: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2001-2006. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Dec;96(12):3838–45.
148. Pirsl F, Curtis LM, Steinberg SM, Tella SH, Katić M, Dobbin M, et al. Characterization and Risk Factor Analysis of Osteoporosis in a Large Cohort of Patients with Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* 2016/04/23 ed. 2016 Aug;22(8):1517–24.
149. Campos DJ, Biagini GLK, Funke VAM, Bonfim CMS, Boguszewski CL, Borba VZC. Vitamin D deficiency in children and adolescents submitted to hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Bras Hematol E Hemoter.* 2014 Mar;36(2):126–31.
150. 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 Jul;96(7):1911–30.
151. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, et al. Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018 Jan;175:125–35.
152. Kimball SM, Holick MF. Official recommendations for vitamin D through the life stages in developed countries. *Eur J Clin Nutr.* 2020 Nov;74(11):1514–8.
153. Autier P, Gandini S, Mullie P. A Systematic Review: Influence of Vitamin D Supplementation on Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Aug 1;97(8):2606–13.

## Scored Patient-Generated Subjective Global Assessment (PG-SGA)

History (Boxes 1-4 are designed to be completed by the patient.)

Patient ID Information

### 1. Weight (See Worksheet 1)

In summary of my current and recent weight:

I currently weigh about \_\_\_\_\_ pounds

I am about \_\_\_\_\_ feet \_\_\_\_\_ tall

One month ago I weighed about \_\_\_\_\_ pounds

Six months ago I weighed about \_\_\_\_\_ pounds

During the past two weeks my weight has:

decreased <sup>(1)</sup>  not changed <sup>(2)</sup>  increased <sup>(3)</sup>

Box 1

### 2. Food Intake: As compared to my normal intake, I would

rate my food intake during the past month as:

unchanged <sup>(0)</sup>

more than usual <sup>(1)</sup>

less than usual <sup>(2)</sup>

I am now taking:

*normal food* but less than normal amount <sup>(1)</sup>

little solid food <sup>(2)</sup>

only liquids <sup>(3)</sup>

only nutritional supplements <sup>(3)</sup>

very little of anything <sup>(4)</sup>

only tube feedings or only nutrition by vein <sup>(5)</sup>

Box 2

### 3. Symptoms: Have had the following problems that have kept me from eating enough during the past two weeks (check all that apply):

no problems eating <sup>(0)</sup>

no appetite, just did not feel like eating <sup>(3)</sup>

nausea <sup>(1)</sup>

constipation <sup>(1)</sup>

mouth sores <sup>(2)</sup>

things taste funny or have no taste <sup>(1)</sup>

problems swallowing <sup>(2)</sup>

pain; where? <sup>(2)</sup> \_\_\_\_\_

other <sup>(1)</sup> <sup>\*\*</sup> \_\_\_\_\_

<sup>\*\*</sup> Examples: depression, money, or dental problems

vomiting <sup>(3)</sup>

diarrhea <sup>(3)</sup>

dry mouth <sup>(1)</sup>

smells bother me <sup>(1)</sup>

feel full quickly <sup>(1)</sup>

fatigue <sup>(1)</sup>

Box 3

### 4. Activities and Function: Over the past month, I would generally rate my activity as:

normal with no limitations <sup>(0)</sup>

not my normal self, but able to be up and about with fairly normal activities <sup>(1)</sup>

not feeling up to most things, but in bed or chair less than half the day <sup>(2)</sup>

able to do little activity and spend most of the day in bed or chair <sup>(3)</sup>

pretty much bedridden, rarely out of bed <sup>(3)</sup>

Box 4

Additive Score of the Boxes 1-4

A

The remainder of this form will be completed by your doctor, nurse, dietitian, or therapist. Thank you.

### Scored Patient-Generated Subjective Global Assessment (PG-SGA)

#### Worksheet 1 - Scoring Weight (Wt) Loss

To determine score, use 1 month weight data if available. Use 6 month data only if there is no 1 month weight data. Use points below to score weight change and add one extra point if patient has lost weight during the past 2

10% or greater	20% or greater
5-9.9%	10-19.9%
3-4.9%	6-9.9%
2-2.9%	2-5.9%
0-1.9%	0-1.9%

Numerical score from Worksheet 1

#### Additive Score of the Boxes 1-4 (See Side 1)

A

#### 5. Worksheet 2 - Disease and its relation to nutritional requirements

All relevant diagnoses (specify) \_\_\_\_\_

One point each:

- Cancer  AIDS  Pulmonary or cardiac cachexia  Presence of decubitus, open wound, or fistula  
 Presence of trauma  Age greater than 65 years  Chronic renal insufficiency

Numerical score from Worksheet 2  B

#### 6. Worksheet 3 - Metabolic Demand

Score for metabolic stress is determined by a number of variables known to increase protein & calorie needs. The score is additive so that a patient who has a fever of >102 degrees (3 points) and is on 10 mg of prednisone chronically (2 points) would have an additive score for this section of 5 points.

Stress	none (0)	low (1)	moderate (2)	high (3)
Fever	no fever	>99 and <101	≥101 and <102	≥102
Fever duration	no fever	<72 hrs	72 hrs	> 72 hrs
Corticosteroids	no corticosteroids	low dose (<10mg prednisone equivalents/day)	moderate dose (≥10 and <30mg prednisone equivalents/day)	high dose steroid (≥30mg prednisone equivalents/day)

Numerical score from Worksheet 3  C

#### 7. Worksheet 4 - Physical Exam

Physical exam includes a subjective evaluation of 3 aspects of body composition: fat, muscle, & fluid status. Since this is subjective, each aspect of the exam is rated for degree of deficit. Muscle deficit impacts point score more than fat deficit. Definition of categories: 0 = no deficit, 1+ = mild deficit, 2+ = moderate, 3+ = severe

Muscle Status:	0	1+	2+	3+	Fluid Status:	0	1+	2+	3+
temples (temporalis muscle)	0	1+	2+	3+	ankle edema	0	1+	2+	3+
clavicles (pectoralis & deltoids)	0	1+	2+	3+	sacral edema	0	1+	2+	3+
shoulders (deltoids)	0	1+	2+	3+	ascites	0	1+	2+	3+
intersosseous muscles	0	1+	2+	3+	Global fluid status rating	0	1+	2+	3+
Scapula (trapezius dors, trapezius, deltoids)	0	1+	2+	3+					
thigh (quadriceps)	0	1+	2+	3+					
calf (gastrocnemius)	0	1+	2+	3+					
Global muscle status rating	0	1+	2+	3+					
Fat Stores:									
orbital fat pads	0	1+	2+	3+					
triceps skin fold	0	1+	2+	3+					
fat overlying lower ribs	0	1+	2+	3+					
Global fat deficit rating	0	1+	2+	3+					

Global fat deficit rating  D

Numerical score from Worksheet 4  D

#### Worksheet 5 - PG-SGA Global Assessment Categories

Category	Worksheet A	Worksheet B	Worksheet C
Weight	Well nourished	Moderately malnourished	Severely malnourished
Weight	No wt loss	<5% wt loss in 1 month	>5% wt loss in 1 month
Weight	OR Recent wt gain	OR Progressive wt loss	OR Progressive wt loss
Nutrient intake	No deficit	Definite decrease in intake	Severe deficit in intake
Nutrient intake	OR Significant recent improvement	Present of nutrient impact symptoms (PG-SGA Box 3)	Present of nutrient impact symptoms (PG-SGA Box 3)
Functioning	Adequate intake	Moderate functional deficit	Severe functional deficit
Functioning	OR Recent improvement	Evidence of mild to moderate loss of muscle mass, SQ fat	OR Recent significant deterioration
Physical Exam	No deficit OR Chronic deficit but recent improvement	muscle tone on palpation	OR Ongoing signs of malnutrition (eg. severe loss muscle, SQ tissue, possible edema)

©FD Orlery, 2005 email: fdlortery@santientpharm.com or nonpresrl@aol.com

Nutritional Triage Recommendations: Additive score is used to define specific nutritional interventions including patient & family education, symptom management including pharmacologic intervention, and appropriate nutrient intervention (food, nutritional supplements, enteral, or parenteral triage)

First line nutrition intervention includes optimal symptom management

Triage based on PG-SGA point score  
 0-1 No intervention required at this time. Re-assessment on routine and regular basis during treatment.  
 2-3 Patient & family education by dietitian, nurse, or other clinician with pharmacologic intervention as indicated by symptom survey (Box 3) and lab values as appropriate.  
 4-8 Requires intervention by dietitian, in conjunction with nurse or physician as indicated by symptoms (Box 3).  
 ≥ 9 Indicates a critical need for improved symptom management and/or nutrient intervention options.

(Total numerical score of A+B+C+D above)  
 (See triage recommendations below)  
 Global PG-SGA rating (A, B, or C) =

Prilog 2. Upitnik o učestalosti konzumacije hrane bogate vitaminom D.

<b>Koliko često konzumirate masnu ribu</b> (tuna, sardine, skuša, bakalar, haringa, losos)?	<b>Koliko puta mjesečno?</b> <1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>Koliko puta tjedno?</b> <1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>Koliko puta dnevno?</b> <1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koliko često jedete ostalu ribu i koju?	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<b>Koliko često pijete mlijeko?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koje mlijeko (proizvođač), s koliko masnoća?			
<b>Koliko često uzimate jogurte ili kiselo mlijeko?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koji jogurt ili kiselo mlijeko (proizvođač), s koliko masnoća?			
<b>Koliko često jedete sireve?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koje sireve i u kojoj količini?			
<b>Koliko često jedete kruh s maslacem ili margarinom?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koliko takvih šnita kruha pojedete? Koji maslac ili margarin (proizvođač)?			
<b>Koliko često jedete jaja?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koliko jaja?			
<b>Koliko često jedete gljive?</b>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<1 1 2 3 ≥4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Koje gljive i na koji način pripravljene?			



## ŽIVOTOPIS

Dina Ljubas Kelečić završila je Farmaceutsko-biokemijski fakultet u Zagrebu 2004. godine, smjer farmacija. Zaposlena je u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, u Centru za kliničku prehranu Klinike za unutarnje bolesti, na radnome mjestu farmaceuta od 2008. godine. Upisala je postdiplomski doktorski studij 2010. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu. Autorica je i koautorica 7 A1 radova i 7 radova indeksiranih u Scopusu te poglavlja o prehrani i farmakoterapiji u knjigama Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu: „Selected topics in ICM“ (2009.) Davida Bennetta i Vladimira Gašparovića, „Potporno i palijativno liječenje onkoloških bolesnika“ (2010.) Mirka Šamije, Damira Nemeta i sur., „Gerijatrija - medicina starije dobi“ (2007.) Zijada Durakovića i sur., „Hemodijaliza“ (2018.) Nikoline Bašić Jukić i sur., „Peritonealna dijaliza“ Nikoline Bašić Jukić, Sanjina Račkog i sur. i „Dijetoterapija i klinička prehrana“ (2021.) Davora Štimca i sur. Prisustvovala je brojnim kongresima i tečajevima s područja kliničke prehrane te je održala brojna međunarodna predavanja i vježbe. Završila je četiri stručna seminara (jedan u zemlji i tri u inozemstvu). Govori engleski i njemački jezik (V. stupanj).

Nastavna aktivnost uključuje vođenje seminara i vježbi na modulima „Dijetoterapija“ i „Parenteralna i enteralna prehrana“ preddiplomskog i diplomskog studija Nutricionizam te sudjelovanje u izvođenju nastave na Medicinskom fakultetu u Zagrebu izbornog modula „Prehrana i dijetoterapija u kliničkoj praksi“. Koautor je priručnika za Poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja 1. kategorije na Medicinskom fakultetu u Zagrebu.

Članica je Hrvatske ljekarničke komore, Hrvatskog farmaceutskog društva, Hrvatskog liječničkog zbora, Hrvatskog društva za parenteralnu i enteralnu prehranu, Europskog društva za kliničku prehranu (ESPEN) i Adriatic Club of Clinical Nutrition (ACCN). Godine 2012. dobila je diplomu ESPEN Faculty (diploma službenog predavača Europskog društva za kliničku prehranu i metabolizam).

Popis objavljenih radova:

1. Ljubas Kelecic D, Lelas A, Karas I, Desnica L, Vukic T, Sabol I, Vranesic Bender D, Serventi Seiwert R, Peric Z, Durakovic N, Vitali Cepo D, Vrhovac R, Nemet D, Pavletic S, Pulanic D, Krznaric Z. Sarcopenia among patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and the impact of chronic graft-versus-host disease. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020 Nov;146(11):2967-2978.

2. Krznarić Ž, Karas I, Ljubas Kelečić D, Vranešić Bender D. The Mediterranean and Nordic Diet: A Review of Differences and Similarities of Two Sustainable, Health-Promoting Dietary Patterns. *Front Nutr.* 2021 Jun 25;8:683678.
3. Ljubas Kelečić D, Vranešić Bender D, Krznarić Ž. Razumijevanje, prevencija i liječenje refeeding-sindroma: uloga tiamina. *Liječnički vjesnik*, 2021; 143(3-4): 120-129.
4. Babić A, Kurić L, Zelić Kerep A, Desnica L, Lelas A, Milošević M, Serventi-Seiwerth R, Duraković N, Perić Z, Mravak Stipetić M, Bilic E, Čeović R, Barešić M, Vukić T, Ljubas Kelečić D, Mazić S, Bojanić I, Hećimović A, Bilic E, Zadro R, Vrhovac R, Pavletic SZ, Batinić D, Pulanić D. B regulatory cells and monocyte subpopulations in patients with chronic graft-vs-host disease. *Croat Med J.* 2021 Apr 30;62(2):154-164.
5. Vukić T, Robinson Smith S, Ljubas Kelečić D, Desnica L, Prenc E, Pulanić D, Vrhovac R, Nemet D, Pavletic SZ. Joint and fascial chronic graft-vs-host disease: correlations with clinical and laboratory parameters. *Croat Med J.* 2016 Jun 30;57(3):266-75.
6. Matijašić M, Meštrović T, Perić M, Čipčić Paljetak H, Panek M, Vranešić Bender D, Ljubas Kelečić D, Krznarić Ž, Verbanac D. Modulating Composition and Metabolic Activity of the Gut Microbiota in IBD Patients. *Int J Mol Sci.* 2016 Apr 19;17(4):578.
7. Zelić M, Vranešić Bender D, Ljubas Kelečić D, Župan Ž, Cicvarić T, Maldini B, Durut I, Rahelić V, Škegro M, Majerović M et al. Hrvatske smjernice za perioperativnu enteralnu prehranu kirurških bolesnika. *Liječnički vjesnik.* 2014;136:179-185.
8. Krznarić Ž, Ljubas Kelečić D, Rustemović N, Vranešić Bender D, Ostojić R, Markoš P, Scarpignato C. Pharmaceutical principles of acid inhibitors : unmet needs. *Digestive diseases.* 2011;29(5):469-475.
9. Krznarić Ž, Vranešić Bender D, Kelečić Ljubas D, Reiner Ž, Roksandić Tomek S, Kekez D, Pavić T. Hrvatske smjernice za prehranu osoba starije dobi, Dio II - Klinička prehrana. *Liječnički vjesnik.* 2011;133:299-307.

10. Zeljko K, Darija VB, Dina LK, Marko B. Wernicke's encephalopathy during parenteral nutrition in a Crohn's disease patient. *Nutrition*. 2011 Apr;27(4):503-4.
11. Krznarić Ž, Kolaček S, Vranešić Bender D, Ljubas Kelečić D, Čuković-Čavka S, Mijandrušić Sinčić B, Banić M, Borzan V, Šimunić M, Peršić M et al. Hrvatske smjernice za primjenu enteralne prehrane u Crohnovoj bolesti. *Liječnički Vjesnik*. 2010;132:1-7.
12. Krznarić Ž, Vranešić Bender D, Ljubas Kelečić D, Tonkić A, Čuković-Čavka S, Mijandrušić-Sinčić B, Domislović V, Pavić T, Barišić A, Banić M, Vucelić B. SMJERNICE ZA KLINIČKU PREHRANU KOD UPALNIH BOLESTI CRIJEVA. *Liječnički vjesnik*. 2018; 140(3-4): 106-119.
13. Leskovar D, Meštrović T, Barešić A, Kraljević I, Panek M, Čipčić Paljetak H, Perić M, Matijašić M, Rogić D, Barišić A, Ljubas Kelečić D, Vranešić Bender D, Krznarić Ž, Verbanac D. The Role of Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease - Assessing Therapeutic and Preventive Potential of Supplementation and Food Fortification. *Food Technol Biotechnol*. 2018 Dec;56(4):455-463.
14. Poljaković Z, Vodanović D, Vranešić Bender D, Ljubas Kelečić D, Starčević K, Kolundžić Z, Bedeković Roje M, Mišir M, Habus S, Krznarić Ž. SMJERNICE ZA RANO PREPOZNAVANJE, DIJAGNOSTIKU I TERAPIJU NEUROGENE OROFARINGEALNE DISFAGIJE. *Liječnički vjesnik*. 2017;139:118-135.
15. Vranešić Bender D, Giljević Z, Kušec V, Laktašić Žerjavić N, Bošnjak Pašić M, Vrdoljak E, Ljubas Kelečić D, Reiner Ž, Anić Branimir, Krznarić Ž. SMJERNICE ZA PREVENCIJU, PREPOZNAVANJE I LIJEČENJE NEDOSTATKA VITAMINA D U ODRASLIH. *Liječnički vjesnik*, 2016; 138(5-6): 121-132.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Doktorski rad  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

## UTJECAJ VITAMINA D NA NUTRITIVNI I FUNKCIONALNI STATUS BOLESNIKA S KRONIČNOM REAKCIJOM DAVATELJA PROTIV PRIMATELJA (cGVHD) NAKON TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

Dina Ljubas Kelečić

### SAŽETAK

Kronična reakcija davatelja protiv primatelja (cGVHD) osnovni je uzrok kasnog morbiditeta i mortaliteta nakon alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica (alo-TKMS). Režim kondicioniranja, imunosupresivna terapija te komplikacije cGVHD-a mogu negativno utjecati na status vitamina D, kao i na nutritivni i funkcionalni status bolesnika. Ovo je prvo prospektivno istraživanje utjecaja nadomjesne terapije vitaminom D na nutritivni i funkcionalni status alo-TKMS ispitanika, kao i na karakteristike cGVHD-a. U istraživanje su bila uključena ukupno 102 alo-TKMS bolesnika (spol: 54 M i 48 Ž; dob 50 (39-59)), od kojih je bilo 65 cGVHD i 37 kontrolnih bolesnika koji nisu razvili cGVHD. Svim ispitanicima je na prvom i kontrolnom pregledu određen nutritivni i funkcionalni status, status vitamina D i ostali laboratorijski parametri te im je, ovisno o inicijalnim serumskim vrijednostima, propisana nadomjesna terapija vitaminom D. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je malnutricija, prema subjektivnoj globalnoj procjeni bolesnika (PG-SGA), prisutna u oko 40 %, narušenost funkcionalnog statusa prema snazi stiska šake (HGS) i PG-SGA procjeni u oko 50 %, a nedostatak (<50 nmol/L) i manjak vitamina D (<75 nmol/L) kod oko 50 i 30 % ispitanika bez obzira na prisutnost cGVHD-a. U istraživanju je nađena snažna povezanost nutritivnog i funkcionalnog statusa ( $P < 0,0005$ ). Niski HGS (30,2 % cGVHD, 10,8 % kontrole) i blagi gubitak mišićne mase kod ispitanika ukazuju na povišen rizik za razvoj sarkopenije. Zahvaćenost probavnog sustava cGVHD-om bio je čimbenik rizika umjerene i teške malnutricije prema PG-SGA-u (B+C), a malnutricija, prisutnost cGVHD-a, zahvaćenost probavnog sustava, jetre i pluća cGVHD-om čimbenici rizika niskog HGS-a. Nije pronađena povezanost serumskih vrijednosti vitamina D s nutritivnim i funkcionalnim statusom, kao ni s njihovom promjenom nakon nadomjesne terapije vitaminom D. Ispitanici koji su primali najvišu dozu nadomjesne terapije vitaminom D (2000 IU) imali su i najveću promjenu njegovih serumskih vrijednosti. Niske vrijednosti vitamina D bile su povezane s cGVHD-om jetre ( $P < 0,05$ ). Čimbenik rizika nedostatka vitamina D kod svih ispitanika bilo je mijeloablativno kondicioniranje, a kod cGVHD bolesnika aktivnost bolesti. Rezultati pokazuju da alo-TKMS bolesnici, neovisno o prisutnosti cGVHD-a, imaju narušen nutritivni i funkcionalni status, kao i nedostatak vitamina D, ne samo u prvim mjesecima nakon alo-TKMS-a nego i godinama nakon toga. Nadomjesna terapija vitaminom D utjecala je na oporavak serumskih vrijednosti, ali ne i na promjenu mišićne mase i snage.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.  
Rad sadrži: 91 stranicu, 21 slika, 19 tablica i 153 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku  
Ključne riječi: vitamin D, cGVHD, mišićna snaga, nutritivni status, funkcionalni status  
Mentori: prof. dr. sc. Željko Krznarić, *redoviti profesor, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*,  
prof.dr.sc. Dubravka Vitali Čepo, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*  
Povjerenstvo: Izv.prof.dr.sc. Donatella Verbanac, prof.dr.sc. Damir Nemet, prof.dr.sc. Karmela Barišić

Rad prihvaćen:

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**University of Zagreb**  
**Ph.D.Thesis**  
**Faculty of Pharmacy and Biochemistry**  
**A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia**

### **EFFECT OF VITAMIN D ON NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL STATUS IN PATIENTS WITH CHRONIC GRAFT VERSUS HOST DISEASE (cGVHD) AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION**

**Dina Ljubas Kelečić**

#### **SUMMARY**

Chronic graft versus host disease (cGVHD) is the underlying cause of late morbidity and mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). Conditioning regimen, immunosuppressive therapy, and complications of cGVHD may affect vitamin D status as well as the nutritional and functional status of patients. This is the first prospective study of the impact of vitamin D replacement therapy on the nutritional and functional status of allo-TKMS subjects as well as on the characteristics of cGVHD. A total of 102 allo-HSCT patients (gender: 54 M and 48 F; age 50 (39-59)) were included in the study, of whom 65 were cGVHD and 37 were control patients. In all participants, nutritional and functional status, vitamin D levels and other laboratory parameters were assessed at the first and control examinations, and depending on the initial serum values, they were prescribed vitamin D replacement therapy. The results of this study showed an incidence of malnutrition assessed with patient generated subjective global assessment (PG-SGA) in about 40%, impaired functional status assessed with hand grip strength (HGS) and PG-SGA in about 50% and vitamin D deficiency (<50nmol / L) in about 50% and insufficiency (<75nmol / L) in about 30% of all subjects regardless of the presence of cGVHD. A strong correlation between nutritional and functional status was found in the study (P <0.0005). Low HGS (30.2% cGVHD, 10.8% control) and mild loss of muscle mass in out participants indicate an increased risk of developing sarcopenia. Gastrointestinal cGVHD was a risk factor for moderate and severe malnutrition as assessed by PG-SGA (B + C) and malnutrition, cGVHD and cGVHD of the digestive system, liver, and lungs risk factors for low muscle strength. were. We did not find an association of serum vitamin D values with nutritional and functional status or with their change after vitamin D supplementation. The most significant change in serum vitamin D values was present in patients receiving the highest dose of vitamin D supplementation (2000IU). In cGVHD patients, low vitamin D levels were associated with liver cGVHD (P <0.05). Risk factors for vitamin D deficiency in all subjects was myeloablative conditioning, and in cGVHD patients, disease activity. Our results showed that allo-HSCT patients, regardless of the presence of cGVHD, have impaired nutritional and functional status as well as vitamin D deficiency not only in the first months but also in the years after allo-HSCT. Vitamin D supplementation affected the recovery of vitamin D serum values, but not the change in muscle mass and strength.

This thesis is deposited in the Central library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb.

This thesis includes: 91 pages, 21 figures, 19 tables and 153 references. Original is in Croatian language.

Keywords: vitamin D, cGVHD, muscle strength, nutritional status, functional status

Supervisors: Željko Krznarić, Ph.D., *Full Professor, Faculty of Medicine, University of Zagreb, Dubravka*  
Vitali Čepo, Ph.D., *Full Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb*

Reviewers: Izv.prof.dr.sc. Donatella Verbanac, prof.dr.sc. Damir Nemet, prof.dr.sc. Karmela Barišić

The thesis accepted:

