

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET



**UTICAJ STATUSA VITAMINA D
NA METABOLIČKU AKTIVNOST KOSTI I KOŠTANU MASU
KOD BOLESNIKA SA ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE**

- Doktorska disertacija -

Kandidat:

Željka Savić

Mentor:

Prof. dr Dragomir Damjanov

Doc. dr Nikola Ćurić

Novi Sad, 2014.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA
ACIMSI

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada: VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Željka Savić
Mentor: MN	Prof. dr Dragomir Damjanov Doc. dr Nikola Čurić
Naslov rada: NR	UTICAJ STATUSA VITAMINA D NA METABOLIČKU AKTIVNOST KOSTI I KOŠTANU MASU KOD BOLESNIKA SA ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2014.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet Hajduk Veljkova 3 Novi Sad
Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8 / stranica 121/ slika 6 / grafikona 49 / tabela 61 / referenci 206 / priloga 2)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Gastroenterologija i hepatologija Endokrinologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Alkoholna ciroza jetre; Vitamin D + terapijska primena; Deficijencija vitamina D; Kosti + metabolizam Gustina kostiju; Funkcionalni testovi jetre; Dijetetski suplementi
UDK	616.36-004:616.71-008]-085 615.35.03:577.161.2
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta Hajduk Veljkova 3 21000 Novi Sad
Važna napomena: VN	

Izvod:

IZ

Uvod: Hepatička osteodistrofija je termin koji obuhvata metaboličke bolesti kosti udružene sa hroničnim bolestima jetre. U alkoholnoj cirozi (AC) jetre postoji visoka zastupljenost deficijencije vitamina D proporcionalna stepenu disfunkcije jetre, ali njena uloga u patogenezi hepatičke osteodistrofije nije dovoljno objašnjena. Nivo 25(OH)D odražava status vitamina D. Kod AC jetre izmenjena je metabolička aktivnost kosti i suprimirano je formiranje kosti što dovodi do smanjenja koštane mase. U centru interesovanja je postizanje optimalnog statusa vitamina D. Stavovi o suplementaciji vitaminom D kod AC jetre nisu jasno definisani.

Cilj rada: Utvrditi nivo vitamina D, ispitati metaboličku aktivnost kosti i mineralnu gustinu kosti kod bolesnika sa AC jetre. Utvrditi efekte suplementacije sa 1000 IU vitamina D₃ na dan tokom godinu dana u odnosu na metaboličku aktivnost kosti i mineralnu gustinu kosti kod ispitivanih bolesnika.

Bolesnici i metode: Istraživanje je sprovedeno na Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu kao prospektivna intervencijska studija sa primenom suplementacije sa 1000 IU vitamina D₃ na dan kod bolesnika sa AC jetre. Grupu bolesnika koja je uključena u istraživanje (1) činilo je 70 bolesnika muškog pola sa dijagnozom AC jetre. Bolesnici su imali četiri pregleda (P), odnosno tačke studije: P1-uključivanje bolesnika i započinjanje suplementacije vitaminom D; P2, P3 i P4 posle tri, šest i dvanaest meseci suplementacije vitaminom D, redom. Prilikom svakog pregleda rađene su analize funkcije jetre, metabolizma kosti i statusa vitamina D. Na početku (P1) i na kraju istraživanja (P4) vršeno je merenje mineralne gustine kosti (BMD) DXA metodom. Gubitak bolesnika od P1 do P4 bio je dvadeset, na različitim tačkama studije. Prvi deo istraživanja odnosi se na Grupu bolesnika koja je uključena u istraživanje (1) i završila prvi pregled (P1). Pedeset bolesnika je završilo kompletno istraživanje po predviđenom protokolu i oni se zbog realizacije svih pregleda i ponovljenih merenja posmatraju kao: Grupa bolesnika koja je završila istraživanje (2).

Rezultati: (1): Kod bolesnika sa AC jetre utvrđena je deficijencija vitamina D, snižen nivo osteokalcina, normalni nivoi CrossLapsa, PTH, ukupnog i jonizovanog kalcijuma, fosfora i magnezijuma. Osteopeniju je imalo 42,65% a osteoporozu 14,71% ispitanika. Kod svih ispitanika najniži BMD izmeren je na vratu femura. (2): Suplementacija vitaminom D dovela je do značajnog porasta 25(OH)D. U odnosu na osteokalcin konstatovana je pozitivna razlika vrednosti P1/P4, iako je nivo ostao ispod donje granice normale. Kod nivoa CrossLapsa i PTH razlika P1/P4 je negativna, ali su nivoi u sva četiri merenja u okviru referentnih vrednosti. Na lumbalnoj kičmi došlo je do poboljšanja BMD za 0.87%, a pogoršanja su na vratu femura -1.87 % i kuku -1.65%. Konstatovano je i poboljšanje funkcije jetre.

Zaključci: Kod bolesnika sa AC jetre poboljšanje statusa vitamina D dovodi do povećanja formiranja kosti i poboljšanja koštane mase na lumbalnoj kičmi. Neophodno je određivanje statusa vitamina D kod svih bolesnika sa AC jetre i uvođenje suplementacije vitaminom D kod bolesnika koji imaju nivo 25(OH)D < 80 nmol/l, uz tromesečne kontrole efekta. Kod postavljanja dijagnoze AC jetre potrebno je inicijalno određivanje BMD. Kod suplementacije vitaminom D nakon inicijalnog DXA pregleda sledeći se preporučuje nakon jedne do dve godine.

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	22.05.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: KO	predsednik: član: član: član: član:

KEY WORD DOCUMENTATION
ACIMSI

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Željka Savić
Mentor: MN	Prof. dr Dragomir Damjanov Doc. dr Nikola Ćurić
Title: TI	EFFECTS OF VITAMIN D STATUS ON BONE METABOLISM AND BONE MASS IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC LIVER CIRRHOSIS
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	Serbian / English :
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2014.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Faculty of Medicine Hajduk Veljkova 3 Novi Sad
Physical description: PD	Number of chapters 8 / pages 121 / images 6/ graphs 49/ tables 61 / references 206 / appendices 2
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Gastroenterology and Hepatology Endocrinology
Subject, Key words SKW	Liver Cirrhosis, Alcoholic; Vitamin D + therapeutic use; Vitamin D Deficiency; Bone and Bones + metabolism; Bone Density; Liver Function Tests; Dietary Supplements
UC	616.36-004:616.71-008]-085 615.35.03:577.161.2
Holding data: HD	Library of Faculty of Medicine Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia,
Note: N	

Abstract:

AB

Introduction: The term Hepatic osteodystrophy defines a group of metabolic bone diseases associated with underlying chronic liver disease. Alcoholic liver cirrhosis (ALC) is characterized by high incidence of vitamin D deficiency that is proportional to the level of liver failure; however, its role in the pathogenesis of hepatic osteodystrophy has not yet been fully elucidated. The level of 25(OH)D best reflects the vitamin D status. ALC is characterized by changed bone metabolic activity and suppressed bone formation, resulting in the decrease in bone mass. The key topic of interest is the achievement of optimal vitamin D status. The attitude of health professionals towards vitamin D supplementation in alcoholic liver cirrhosis has not yet been clearly defined.

The aim of the research: Determining of vitamin D levels, investigating the metabolic activity of the bone and bone mass in patients with alcoholic liver cirrhosis (ALC); Determining the effects of vitamin D₃ supplementation at the dose 1000 IU/day during a one-year period in relation to metabolic activity of the bone and bone mineral density (BMD) in the investigated patient population.

Patients and methods: The research was conducted at the Clinic for Gastroenterology and Hepatology of the Clinical Centre of Vojvodina in Novi Sad. The research was designed as a prospective interventional study implicating vitamin D₃ supplementation at the dose 1000 IU/day to patients with ALC. The investigated patient population (1) encompassed 70 male patients diagnosed with ALC. The patients underwent four examinations (P), that is, research phases: P1 – inclusion of the patient into the study and introduction of vitamin D supplementation; P2, P3 and P4 after 3, 6 and 12 months of vitamin D supplementation treatment, respectively. Each examination included the analysis of liver function, bone metabolism and vitamin D status. At the beginning (P1) and at the end (P4) of the investigation period, bone mineral density (BMD) was measured by means of dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) method. Twenty patients dropped out from the research at different stages throughout the investigation period (P1 to P4). The first part of the investigation pertains to the Group of patients who were included into the study (1) and completed the first examination (P1). Fifty patients have completed the entire research according to the foreseen protocol encompassing all examinations and repeated measurements. These patients are considered a Group of patients who completed the research (2)

Results: (1): In ALC patients, vitamin D deficiency and decreased osteocalcin levels were established, as well as normal levels of CrossLaps, PTH, total and ionized calcium, phosphorus and magnesium. Osteopenia and osteoporosis were established in 42.65% and 14.71% of patients, respectively. The lowest BMD was measured in the femoral neck in all patients. (2): Vitamin D supplementation resulted in significant increase in 25(OH)D. Analysis of osteocalcin level revealed positive P1/P4 difference, even though the level remained below the lower normal limit. The levels of CrossLaps and PTH revealed negative P1/P4 difference; however, the levels determined at all four measurements were within the reference values. An improvement of BMD for 0.87% was established in lumbar spine, whereas a decrease was noticed in femoral neck (1.87%) and hip (1.65%). Furthermore, an improvement of liver function was established.

Conclusions: Improvement of vitamin D status in ALC patients results in an increase of bone formation and improvement of body mass in lumbar spine. Determining the vitamin D status in all patients with ALC is of utmost importance, as well as the vitamin D supplementation of patients with levels of 25(OH)D < 80 nmol/l along with the monitoring of treatment outcome at three-month intervals. Establishment of the diagnosis of alcoholic liver cirrhosis should encompass initial measurement of BMD. In case of vitamin D supplementation treatment, the initial DXA examination should be repeated after the period of one to two years.

Accepted on Scientific Board on: AS	22.05.2012.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member: member: member:

SPISAK SKRAĆENICA

- AC - alkoholna ciroza jetre
AH - alkoholni hepatitis
ALD - alkoholna bolest jetre (eng. *Alcoholic liver disease*)
CLD - hronične bolesti jetre (eng. *Chronic liver disease*)
NAFLD - nealkoholna masna bolest jetre (eng. *Non-alcoholic fatty liver disease*)
HCC - hepatocelularni karcinom
PBC - primarna bilijarna ciroza
BMD - mineralna gustina kosti (eng. *Bone mineral density*)
BRU - jedinica koštanog remodeliranja (eng. *Bone remodelling unit*)
BMU - bazična multicelularna jedinica (eng. *basic multicellular unit*)
CrossLaps - fragmenti C terminalnog ukrštenog telopeptida kolagena tipa 1
OC - osteokalcin
DXA - dvostruka X-zračna apsorpciometrija
RANK - receptor aktivator nuklearnog faktora kapa beta (eng. *Receptor activator of NF kappa beta*)
RANKL - receptor aktivator nuklearnog faktora kapa beta-ligand (eng. *Receptor activator of NF kappa beta ligand*)
OPG - osteoprotegerin
BMI - indeks telesne mase (eng. *Body mass index*)
EGF - epidermalni faktor rasta (eng. *Epidermal growth factor*)
FGF - fibroblastni faktor rasta
LPS - lipopolisaharidi
IL - interleukini
INF - interferon
M-CSF - makrofagnih kolonija stimulirajući faktor (eng. *Macrophage colony stimulating factor*)
IGF-1 - insulinu sličan faktor rasta (eng. *Insulin-like growth factor-1*)
TGF- β - transformišući faktor rasta β (eng. *Transforming growth factor- β*)
TNF α - faktor tumorske nekroze α (eng. *Tumor necrosis factor α*)
ROS - slobodni kiseonični radikali (eng. *Reactive oxygen species*)
PDGFR - faktor rasta trombocitne razgradnje (engl. *Platelet degradation growth factor*)
VDR - vitamin D receptor
DBP - vitamin D vezujući protein (eng. *vitamin D-binding protein*)
RXR - retinoid X receptor
PMR - plazma membranski receptor
MMP - matriks metaloproteinaze
cAMP- ciklični adenozin monofosfat
PTH - parathormon ili paratireoidni hormon
NO - azot monoksid
COL1A - kolagen 1a
FSH - folikulostimulirajući hormon
LH - luteinizirajući hormon
ICSH - intersticijalnih ćelija stimulirajući hormon (eng. *Interstitial cell stimulating hormon*)

S A D R Ź A J

1. UVOD	1
1.1. KOST I METABOLIZAM KOSTI	1
1.1.1. Opšte napomene	1
1.1.2. Čelijski elementi koštanog tkiva	2
1.1.3. Međučelijski prostor koštanog tkiva	5
1.1.4. Metabolizam kosti	6
1.1.4.1. Modeliranje i remodeliranje kosti	6
1.1.4.2. Biohemijski markeri metaboličke aktivnosti kosti	7
1.2. OSTEOPOROZA	10
1.2.1. Definicija osteoporoze	10
1.2.2. Densitometrija kosti	10
1.2.3. Podela osteoporoze	11
1.2.3.1. Sekundarna osteoporoza	11
1.2.4. Osteoporoza kod muškaraca	12
1.2.5. Bolest kosti indukovana alkoholom	12
1.3. ALKOHOLNA BOLEST JETRE (ALD)	14
1.3.1. Patofiziologija alkoholne bolesti jetre	14
1.3.2. Patofiziologija osteoporoze u ALD	16
1.3.3. Malnutricija u ALD	18
1.3.4. Indikacije za osteodenzitometriju kod bolesnika sa cirozom jetre	19
1.4. VITAMIN D	19
1.4.1. Definicija i istorijat vitamina D	19
1.4.2. Izvori vitamina D	19
1.4.3. Metabolizam vitamina D	20
1.4.4. Dejstva i efekti vitamina D	22
1.4.5. Status vitamina D	25
1.4.5.1. Uzroci deficijencije vitamina D	26
1.4.5.2. Indikacije za određivanje statusa vitamina D	27
1.4.6. Suplementacija vitaminom D	27
1.4.6.1. Strategija suplementacije vitaminom D	28
1.5. VITAMIN D I BOLESTI JETRE	29
1.5.1. Značaj Vitamin D receptora u bolestima jetre	31
1.5.2. Vitamin D u alkoholnoj cirozi jetre	33
1.5.3. Suplementacija vitaminom D u hroničnim bolestima jetre	33
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA	35
2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	35
2.2. OSNOVNE HIPOTEZE OD KOJIH SE U ISTRAŽIVANJU POLAZI	35
3. MATERIJAL I METODE	36
3.1. UZORAK	36
3.2. DIZAJN ISTRAŽIVANJA	36
3.3. PROMENE ISPITIVANE GRUPE - gubici bolesnika ("drop out")	36
3.4. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA	37
3.4.1. Laboratorijske analize	38
3.4.2. Osteodenzitometrija	38
3.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA I PREZENTACIJA REZULTATA	39

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	...	40
4.1. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE UKLJUČENA U ISTRAŽIVANJE	...	40
4.1.1. Opšte karakteristike ispitivanih bolesnika	...	40
4.1.1.1. Tok bolesti do uključivanja u istraživanje	...	40
4.1.1.2. Navike bolesnika	...	40
4.1.1.3. Vitamin D	...	40
4.1.1.4. Starosna dob, uzimanje alkohola i neke karakteristike bolesti jetre ispitivanih bolesnika	...	40
4.1.1.5. Metabolizam kosti i minerala	...	41
4.1.1.6. Opšte laboratorijske analize	...	41
4.1.1.7. Laboratorijske analize funkcije jetre	...	41
4.1.1.8. Parametri mineralne gustine kosti	...	41
4.1.2. Kategorije nivoa vitamina D	...	43
4.1.2.1. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D	...	43
4.1.2.2. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara metabolizma kosti	...	44
4.1.2.3. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara funkcije jetre	...	45
4.1.2.4. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i drugih laboratorijskih parametara	...	45
4.1.2.5. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i mineralne gustine kosti	...	46
4.1.3. Serumaska koncentracija vitamina D, biohemijskih markera metabolizma kosti i parathormona kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	47
4.1.3.1. Serumaska koncentracija vitamina D kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	47
4.1.3.2. Serumaska koncentracija osteokalcina kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	47
4.1.3.3. Serumaska koncentracija CrossLapsa kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	49
4.1.3.4. Serumaska koncentracija PTH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	50
4.1.4. Međusobni odnosi vitamina D, biohemijskih markera metabolizma kosti, PTH i mineralne gustine kosti	...	52
4.1.4.1. Korelacije ispitivanih varijabli (Pirsonova korelaciona analiza)	...	52
4.1.4.2. Korelacije ispitivanih varijabli (Linearni regresioni model)	...	54
4.1.5. Polni hormoni i IGF-1 kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	57
4.1.5.1. Estradiol kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	57
4.1.5.2. Testosteron kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	58
4.1.5.3. FSH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	59
4.1.5.4. LH (ICSH) kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	60
4.1.5.5. IGF-1 kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	61
4.1.6. Mineralna gustina kosti kod ispitivanih bolesnika	...	62
4.1.6.1. Osteoporoza	...	62
4.1.6.2. Karakteristike mineralne gustine kosti	...	63

4.2. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE ZAVRŠILA ISTRAŽIVANJE	...	64
4.2.1. Kategorije nivoa vitamina D u odnosu na prvi (početni) i četvrti (završni) pregled ispitivanih bolesnika	...	64
4.2.1.1. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom prvog pregleda	...	64
4.2.1.2. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom četvrtog pregleda	...	65
4.2.2. Promene nivoa vitamina D tokom istraživanja	...	65
4.2.2.1. Promene nivoa vitamina D prema sprovedenim pregledima	...	65
4.2.2.2. Promene nivoa vitamina D u odnosu na početne kategorije njegovog nivoa	...	66
4.2.2.3. Promene nivoa vitamina D kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji	...	67
4.2.3. Uticaj suplementacije vitaminom D na parametre metabolizma kosti	...	68
4.2.3.1. Osteokalcin	...	68
4.2.3.2. CrossLaps	...	69
4.2.3.3. Parathormon (PTH)	...	70
4.2.3.4. Kalcijum (Ca)	...	71
4.2.3.5. Fosfor	...	72
4.2.3.6. Magnezijum	...	73
4.2.3.7. Međusobni uticaj vitamina D, jonizovanog kalcijuma, CrossLapsa, osteokalcina, fosfora i PTH u odnosu na ponavljana merenja	...	74
4.2.4. Uticaj suplementacije vitaminom D na funkciju jetre	...	74
4.2.4.1. Bilirubin, albumini, PV ratio	...	75
4.2.4.2. AST, ALT, ALP, GGT	...	77
4.2.5. Uticaj suplementacije vitaminom D na mineralnu gustinu kosti	...	80
5. DISKUSIJA	...	85
5.1. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE UKLJUČENA U ISTRAŽIVANJE	...	85
5.1.1. Status vitamina D u alkoholnoj cirozi jetre	...	85
5.1.2. Metabolizam kosti u alkoholnoj cirozi jetre	...	87
5.1.3. Mineralna gustina kosti u alkoholnoj cirozi jetre	...	92
5.1.4. Promene grupe bolesnika uključenih u istraživanje - Gubici bolesnika ("drop out")	...	96
5.2. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE ZAVRŠILA ISTRAŽIVANJE	...	97
5.2.1. Suplementacija vitaminom D	...	97
5.2.2. Efekti suplementacije vitaminom D na poboljšanje statusa vitamina D	...	99
5.2.3. Efekti suplementacije vitaminom D na metabolizam kosti	...	102
5.2.4. Efekti suplementacije vitaminom D na koštanu masu	...	104
5.2.5. Efekti suplementacije vitaminom D na funkciju jetre	...	106
6. ZAKLJUČCI	...	108
7. LITERATURA	...	110
8. PRILOZI	...	119

1. UVOD

Hepatička osteodistrofija je termin koji obuhvata metaboličke bolesti kosti udružene sa hroničnim bolestima jetre. U okviru hepatičke osteodistrofije kao posledica izmenjenog metabolizma koštanog tkiva dominira osteoporoza, dok je osteomalacija sasvim retko prisutna.

Osteoporoza je česta komplikacija hroničnih bolesti jetre. U cirozi jetre javlja se u oko 12-55% bolesnika [1]. To je sistemska bolest skeleta koja se karakteriše smanjenjem koštane mase po jedinici volumena, kao i oštećenjem mikroarhitektonike koštanog tkiva sa konsekventnim povećanjem fragilnosti kosti i povećanom sklonošću ka frakturama. Definiše na osnovu redukcije mineralne gustine kosti (*Bone mineral density* - BMD).

Osteomalacija je metaboličko oboljenje kosti čiju suštinu čini nedovoljna mineralizacija organskog matriksa kosti. Hepatička osteomalacija se ispoljava u okviru kompleksnih poremećaja metaboličke aktivnosti koštanog tkiva, a nivo njenog prisustva procenjuje se histomorfometrijskim kriterijumima [1].

U bolestima jetre smanjenje koštane mase zavisi od etiologije, dužine trajanja i težine bolesti jetre, a na njega utiču i: dob i pol bolesnika, genetski i imunološki faktori, dijetarni deficit i malnutricija, smanjeno kretanje, hipogonadizam, primena kortikosteroidne terapije, smanjen unos kalcijuma i vitamina D, poremećen metabolizam vitamina D u jetri, akumulacija gvožđa i bakra u jetri,olestaza, gubitak sintetske funkcije jetre i drugo. Smanjenje koštane mase najviše je istraživano u hroničnim holestatskim bolestima jetre, zatim pre i posle transplantacije jetre, a ređe u virusnim hepatitisima, hemohromatozi i alkoholnoj bolesti jetre [1, 2].

U cirozi jetre je utvrđeno postojanje obrnute korelacije između nivoa 25-hidroksi vitamina D i težine ciroze jetre. Bez obzira na konstatovane niže nivoe vitamina D, još uvek je hipotetička uloga deficita ovog vitamina u genezi hepatičke osteodistrofije. Deficit D vitamina dovodi do sekundarnog hiperparatiroidizma i gubitka mase kosti, dominantno kortikalne (kuk). Osteomalacija asocirana sa sekundarnim hiperparatiroidizmom, javlja se retko kod bolesnika obolelih od ciroze jetre i to kod prolongiranog i vrlo teškog deficita vitamina D. Kod bolesnika sa holestatskim bolestima jetre smanjena je intestinalna koncentracija žučnih soli neophodnih za apsorpciju liposolubilnih vitamina, a nezavisno od etiologije, smatra se da je u teškoj disfunkciji jetre limitirana i hepatička konverzija vitamina D u hidroksilirane molekule. Postoje i brojni drugi uzroci nedostatka vitamina D u cirozi jetre kao što je nedovoljan unos ovog vitamina ishranom, nedovoljno izlaganje suncu, abuzus alkohola, upotreba određenih lekova i drugo [1, 2].

1.1. KOST I METABOLIZAM KOSTI

1.1.1. Opšte napomene

Kosti čine osnovne elemente skeleta. Zahvaljujući svojoj čvrstini i obliku, zajedno sa mišićnim tkivom imaju ulogu u kretanju, ali i zaštiti pojedinih prostora od mehaničkih oštećenja. Koštano tkivo je veoma dinamično i ima značajnu metaboličku funkciju. Predstavlja rezervoar kalcijuma, fosfora i drugih minerala i omogućava homeostazu njihovog serumskog nivoa.

Na osnovu strukturnih i funkcijskih odlika, kost može biti kortikalna (kompaktna) ili trabekularna (spongiozna). Kompaktna kost je znatno zastupljenija u skeletu, sačinjava površne strukture kosti i uglavnom ima mehaničku i zaštitnu funkciju. Trabekularna kost, smeštena u okrajcima dugih kostiju i telima pršljenova, predstavlja sistem odgovarajuće usmerenih i međusobno povezanih gredica, ploča mineralizovanog tkiva, koje između sebe ostavljaju široke prostore ispunjene elementima koštane srži. Trabekularna kost čini petinu ukupnog skeleta, ali je njen udeo u ukupnoj metaboličkoj aktivnosti skeleta približno jednak doprinosu kortikalne kosti.

Koštano tkivo je sačinjeno od kost specifičnih ćelija osteoblasta, osteocita i osteoklasta, dok veoma prostrana vanćelijska masa sadrži organski i neorganski deo.

Mineralni deo kosti čini 70% suve težine kosti. Od komponenti ovog dela kosti predominantan je hidroksiapatit, a ostale komponente su karbonati, citrati, magnezijum, natrijum, fluorid i stroncijum.

Organski matriks kosti čini 30% suve težine kosti. 90% ovog matriksa sastoji se od kost specifičnog kolagena, a 10% čine nekolageni proteini kosti kao što su osteokalcin, osteonektin, osteopontin i koštani sijaloprotein. Proteini matriksa stvaraju se od strane osteoblasta [3].

1.1.2. Ćelijski elementi koštanog tkiva

OSTEOBLASTI

Osteoblasti imaju ulogu u stvaranju kosti. Potiču od lokalnih mezenhimalnih stem ćelija (stroma koštane srži ili mezenhim vezivnog tkiva) od kojih potiču i hondrociti, mioblasti, adipociti i ćelije tetiva, u zavisnosti od prisustva odgovarajućih faktora transkripcije. Za osteoblastnu liniju značajni su sledeći: *Cbfa 1 (core binding factor 1)* poznat i kao *RUNX2*, potom *Osx* i *ATF4* [4].

Mezenhimalne stem ćelije se proliferacijom i diferencijacijom preko preosteoblasta pretvaraju u zrele osteoblaste. Formiraju unidirekcionalnu strukturu sličnu epitelu na površini organskog matriksa, sloj osteoida čija debljina zavisi od vremena između formiranja matriksa i njegove subsekventne kalcifikacije (primarna mineralizacija). Transportni sistemi locirani na plazma membrani osteoblasta su odgovorni za transfer jona minerala kosti, prvenstveno kalcijuma (Ca) i fosfora (P) iz ekstraćelijskog prostora u kostnoj srži u sloj osteoida. Plazma membrana osteoblasta je bogata u alkalnoj fosfatazi koja ulazi u sistemsku cirkulaciju i koristi se kao biohemijski marker formiranja kosti.

Tokom diferencijacije osteoblasti eksprimuju karakterističnu paletu gena koji ih razlikuju od ostalih ćelija. Diferencijacija osteoblastnih prekursora može se pratiti kroz ekspresiju proteina i enzima koštanog matriksa. Kolagen tip I α 1 (COL1) je eksprimovan od samog početka diferencijacije osteoblasta i predstavlja glavnu strukturalnu komponentu koštanog matriksa. Osteopontin (nekolageni protein matriksa) i ALP su neophodni u stabilizaciji matriksa. Osteokalcin je takođe nekolageni protein matriksa i dominira u stadijumu kasne diferencijacije osteoblasta, što bi moglo sugerisati da ima delimičnu ulogu i u mineralizaciji matriksa [4].

Osim klasične uloge u formiranju kosti, osteoblasti imaju sposobnost da regulišu resorpciju kosti putem sistema RANKL, RANK, osteoprotegerin. RANKL (*Receptor activator of NF kappa beta ligand*), RANK (*Receptor activator of NF kappa beta*) i OPG (osteoprotegerin) pripadaju grupi tumor nekrotišućih faktora. RANKL koji sekretuju osteoblasti je ključni regulator funkcije osteoklasta. Vezuje se za svoj receptor RANK na prekursorima osteoklasta indukujući osteoklastogenezu. OPG koji sekretuju osteoblasti je

solubilni receptor koji inhibira RANKL. Na formiranje i aktivnost osteoblasta bitno utiču vitamin D, parathormon, IGF-1 (*Insulin-like growth factor-1*) i estrogen [1].

Vrlo važna uloga osteoblasta je u kreiranju i održavanju arhitektonike skeleta. Kada su aktivne, ove ćelije imaju veliki Golgi aparat i naborani endoplazmatski retikulum. Kada su diferencijirane sposobne su da luče elemente koštanog matriksa. Na kraju se pojedini osteoblasti zarobe u svom sopstvenom novostvorenom matriksu i postanu osteociti koji postepeno prestaju da stvaraju osteoid. Osteociti su najzastupljenije ćelije u kosti, komuniciraju jedna sa drugom i sa okružujućim medijumom putem produžetaka svoje plazma membrane. Deluju i kao mehanosenzori instruišući osteoklaste kada da resorbuju a osteoblaste kada da stvaraju kost [4].

Wnt su glikoproteini koji nastaju enkodiranjem Wnt gena a utiču na sudbinu ćelije, determinaciju, proliferaciju, migraciju, polarnost i ekspresiju gena. Wnt glikoproteini aktiviraju tri intraćelijska procesa: Wnt/ β kateninski put, Wnt/ Ca^{2+} put, Wnt/polarni put.

Wnt/ β kateninski put određuje ćelijsku sudbinu, njenu proliferaciju i preživljavanje preko porasta nivoa β katenina. Wnt/ β kateninski put je esencijalan za diferencijaciju zrelih osteoblasta.

Aktivacija ovog signalnog puta nastaje vezivanjem Wnt za

- Fz (*Frizzled*) transmembranski receptor i
- LRP5/6 (*low-density lipoprotein receptor related protein 5/69*) koreceptore.

U nedostatku Wnt liganda, nivo β katenina u citosolu ostaje nizak. Redukovani Wnt signalni put je asociran sa osteoporozom.

LRP5 je u malom nivou izražen u različitim tkivima. Predstavlja značajan faktor u formiranju kosti, preko učešća u Wnt/ β kateninskom putu koji je esencijalan za diferencijaciju zrelih osteoblasta. β katenin je ključan za diferencijaciju zrelih osteoblasta, ali njegov nedostatak ne dovodi do promena u diferencijaciji osteoprogenitorskih ćelija u prekursore osteoblasta.

Wnt/ β kateninski put atenuira osteoklastogenezu putem transkripcionalne regulacije OPG-a. Wnt/ β kateninski put ima i svoje antagoniste [4]:

- WNT-1 inhibišući faktor (*Wnt inhibitory factor* WIF-1)
- faktor sFRP (*secreted frizzled-related protein family*) koji inhibira Fz.
- sklerostin koji antagonizuje aktivnost LRP5/6 u Wnt putu. Sklerostin stvaraju osteociti. Deluje tako što inhibira proliferaciju i maturaciju osteoblasta i promoviše njihovu apoptozu.

OSTEOCITI

Osteociti su ćelije matriksa kosti i čine 90-95% svih koštanih ćelija. Dugo su smatrani mirnim prisutnim ćelijama, pasivnim u odnosu na osteoblaste i osteoklaste. Međutim, oni imaju centralnu ulogu u regulaciji dinamičke prirode kosti. Predstavljaju glavne senzore za mehaničko opterećenje kosti. Stvaraju faktore koji utiču na formiranje i resorpciju kosti. Regulišu lokalnu depoziciju minerala u matriks kosti, a funkcionišu i kao endokrine ćelije koje stvaraju faktore koji deluju na udaljene organe kao što su bubrezi u smislu regulacije transporta fosfata.

Uloga osteocitnih signala u skeletnom metabolizmu može se posmatrati preko pet dejstava na fukciju kosti [5]. To su:

1. Regulacija lokalne mineralizacije

Osteociti stvaraju DMP 1 (*dentin matrix protein*) i MEPE (*matrix extracellular phosphoglycoprotein*), fosfoproteine koji regulišu mineralnu depoziciju u matriks kosti, a mogu biti signali i za druge ćelije kosti. Takođe stvaraju PHEX (*phosphate regulating neutral*

endopeptidase on chromosome X) koji mogu uticati na lokalnu mineralnu regulaciju. PHEX takođe imaju interakciju sa sistemskom FGF 23 (*fibroblast growth factor 23*) osovinom.

2. Regulacija sistemske mineralizacije

Osteociti imaju ulogu u kost-bubreg osovini koja reguliše sistemski nivo fosfata, time što endokrino stvaraju fosfaturični faktor FGF 23.

3. Uloga u formiranju kosti putem osteoblasta

Osteociti stvaraju sklerostin koji inhibira osteoblaste. Ako se smanji stvaranje sklerostina (na primer kao odgovor na povećane mehaničke zahteve), aktivira se formiranje kosti

4. Uloga u resorpciji kosti putem osteoklasta

U situaciji kada su intenzivirani lokalni stresori (na primer mikrofrakture, gubitak estrogena, imobilizacija, kortikosteroidi...) deo osteocita podleže apoptozi, a susedni neumirući osteociti povećavaju stvaranje RANKL-a. Drugi osteociti takođe mogu da povećaju stvaranje RANKL-a kao direktan odgovor na endokrine, parakrine i mehaničke signale.

5. Osetljivost na mehaničko opterećenje

Osteociti registruju deformacije i pomeranje fluida u lakunarno-kanalikularnim prostorima, što ih stimuliše na stvaranje signala koji regulišu funkciju osteoblasta i osteoklasta. Senzitivnost osteocita na mehaničko opterećenje može biti alterisana endokrinim signalima kao što su estrogen i PTH [5].

OSTEOKLASTI

Osteoklasti su džinovske ćelije koje sadrže 4-20 nukleusa. Uloga im je u resorpciji kosti. Potiču od hematopoetske stem ćelije. Nalaze se u kontaktu sa kalcifikovanim tkivom kosti preko lakuna koje su rezultat njihove resorptivne aktivnosti.

Osim resorpcije kosti, osteoklasti i njihovi prekursori imaju multiple funkcije u kosti. Prekursori osteoklasta cirkulišu u krvi, a potom bivaju regrutovani na mesta remodelovanja kosti gde su izloženi faktorima koji stimulišu njihovu dalju diferencijaciju i fuziju u multinuklearne osteoblaste. RANK je eksprimovan i na prekursorima i na zrelih osteoklastima, kao odgovor na različite uticaje, uključujući neke transkripcionalne faktore i citokine, kao i M-CSF (*macrophage colony stimulating factor*) koji stvaraju osteoblasti u kostnoj srži. Osteoblasti na površini ćelije eksprimuju RANKL, koji je kao i M-CSF esencijalan za diferencijaciju osteoklasta. Osteoblasti takođe stvaraju i osteoprotegerin koji vezuje RANKL pre nego što se spoji sa RANK na osteoklastima i na taj način ograničavaju formiranje osteoklasta.

Većina faktora koji stimulišu formiranje osteoklasta ispoljavaju svoje efekte indirektno, preko stimulisanja ekspresije RANKL-a na osteoblastima (PTH, IL-1, TNF- α i drugi citokini i faktori rasta) [6].

Formiranje i aktivnost osteoklasta povećani su u brojnim inflamatornim stanjima sa zahvaćenošću skeleta. Imune ćelije su u interakciji sa prekursorima osteoklasta i oslobađaju citokine koji lokalno i sistemski deluju na povećanje resorpcije kosti. Th1 i Th2 ćelije inhibiraju osteoklastogenezu, prvenstveno delujući na prekursore ovih ćelija uglavnom putem IFN- γ i IL-4. Th17 ćelije (stimulisane od strane IL-23) promovišu osteoklastogenezu putem stvaranja IL-17. Osim tog dejstva, IL-17 povećava lokalnu inflamaciju putem regrutovanja i aktivacije imunih ćelija što rezultuje abudantnom količinom inflamatornih citokina kao što su TNF- α i IL-1. Oni povećavaju stvaranje RANKL-a od strane osteoblasta, a putem vezivanja za RANK na prekursorima osteoklasta dolazi do osteoklastne diferencijacije i aktivacije [7].

Na Th17 ćelijama postoji relativno velika ekspresija RANKL-a te i to participira osteoklastogenezi. Međutim, Th17 ćelije ne indukuju osteoklastogenezu u odsustvu osteoblasta, možda zato što stvaraju i malu količinu IFN- γ što se suprotstavlja delovanju RANKL-a.

Ko-stimulatorni signali se aktiviraju na prekursorima osteoklasta tokom imunog odgovora a posredstvom imunoglobulinima sličnih receptora uključujući TREM-2 (*triggering receptor expressed in myeloid cells-2*) i OSCAR (*osteoclast-associated receptor*). Lipidski medijator S1P (*sphingosine-1-phosphate*) može regulisati pomeranje prekursora osteoklasta iz kostne srži u krv. Precizni mehanizam kojim prekursori osteoklasta bivaju povučeni iz krvotoka u kost, na mesta njenog remodeliranja, nije u potpunosti objašnjen, ali se pretpostavlja da bi ulogu mogao imati S1P receptor 2 (s1pr2) koji je eksprimovan na prekursorima osteoklasta. Posle vezivanja za površinu kosti započinje proces resorpcije. Osteoklasti luče lizozomalne proteaze u resorptivnu lakunu, zajedno sa jonom vodonika i hlora [6].

Tip 1 kolagena je glavni protein koštanog matriksa. Razgrađuje se kolagenazama nakon demineralizacije matriksa u kiselom okruženju resorptivne lakune. Katepsin K je glavna kolagenaza osteoklasta. Razloženi proteini koštanog matriksa, uključujući fragmente kolagena tipa 1 putem endocitoze ulaze u osteoklast, bivaju transportovani kroz citoplazmu i egzocitozom oslobođeni u ekstraćelijski prostor odakle dospevaju u krvotok. Ovi fragmenti kolagena mogu biti detektovani u serumu i u urinu kao markeri metabolizma kosti, kao što su na primer N telopeptid tipa 1 prokolagena (NTX) i C telopeptid tipa 1 kolagena (CTX) [6].

1.1.3. Međućelijski prostor koštanog tkiva

Vanćelijska masa kalcifikovane kosti sadrži približno 25% organskog matriksa, 5% vode i oko 70% minerala. Matriks koštanog tkiva sačinjen je najvećim delom, do 90% od kolagena, dok su sa preostalih 10% zastupljeni nekolageni proteini. Nekolagenu frakciju organskog dela kosti, prvenstveno stvaraju ćelije koštanog tkiva, dok je manji deo nekoštanog porekla, ali se adsorbuje ili nakuplja u prostorima koštanog matriksa.

Osteoblasti sintetišu i luče proteinske komponente osteoida. Sveže sintetisani matriks, pre mineralizacije sadrži uglavnom kolagen. U koštanom tkivu dominira kolagen tip I. Kolagene molekule su međusobno fiksirane tako da se delimično preklapaju duž aksijalne osovine, dok se u sagitalnoj projekciji, između telopeptida susednih molekula kolagena, pojavljuju prazni prostori od kojih se na nivou fibrila formiraju kanalići. Tokom mineralizacije, ti kanalići bivaju impregnirani kristalima minerala. Čvrstina, nerastvorljivost i otpornost na istezanje su najvažnije fizičko-hemijske karakteristike kolagena [3].

Nekolageni proteini matriksa su heterogena grupa polipeptida koji mogu obezbediti kontakt i komunikaciju između ćelija i vanćelijskog prostora koštanog tkiva, uticati na strukturu matriksa, vršiti regulaciju mineralizacije kosti.

Odlaganje minerala u koštani matriks počinje tek desetak dana nakon formiranja osteoida. Zaostajanje mineralizacije potrebno je zbog sazrevanja izlučenog kolagena u matriksu. U osnovi ovog procesa je formiranje stabilnih poprečnih veza između molekula kolagena, odnosno stvaranje optimalne arhitekture kolagenih vlakana za odlaganje kristala minerala. Kada počne primarni talas mineralizacije osteoida, mineralni sadržaj se brzo poveća do 70% konačne količine, dok se odlaganje preostalih 30% u okviru sekundarnog talasa mineralizacije, produžava tokom nekoliko narednih meseci.

Konačni rezultat mineralizacije kosti je stvaranje visokoorganizovane smeše, proteinskog matriksa kosti i minerala u vidu kristala hidroksiapatita, koja definiše strukturni integritet kosti. Mehanička čvrstina kosti zavisi od mineralizacije, dok elastičnost kosti i otpornost na istezanje obezbeđuje kolagen [3].

1.1.4. Metabolizam kosti

Razgradnja i stvaranje kosti su dva dinamična, međusobno suprotstavljena procesa, koja se različitim intenzitetom odvijaju svakog trenutka u toku života i definišu aktuelnu metaboličku aktivnost kosti. Modeliranje i remodeliranje kosti predstavljaju dve različite organizacije rada ćelija koštanog tkiva.

Jedna od bitnih karakteristika koštanog tkiva je sposobnost adaptacije. Gubitak fizičke aktivnosti dovodi do smanjenja mase i čvrstine kosti, dok dozirano fizičko opterećenje povećava masu i ukupnu mehaničku otpornost kosti.

1.1.4.1. Modeliranje i remodeliranje kosti

Koštano tkivo je veoma dinamično. Osteoblasti sintetišu i luče elemente osteoida i lokalne medijatore koji regulišu aktivnost ćelija koštanog tkiva, a osteoklasti rastvaraju kristale hidroksiapatita i razgradjuju organsku potku koštanog tkiva. Proces koštane pregradnje uvek započinje razgradnjom kosti kojoj sledi koštana izgradnja. Za jedan ciklus pregradnje potrebno je do 8 meseci, izgradnja traje značajno duže od razgradnje. Gubitak ravnoteže između formiranja i resorpcije kosti rezultuje gubitkom koštane mase.

Oblik i struktura kosti se kontinuirano obnavljaju i modifikuju u procesu modeliranja i remodeliranja.

Modeliranje kosti započinje razvojem skeleta tokom fetalnog života i nastavlja se do kraja druge dekade. U procesu modeliranja kost se formira na lokacijama različitim od mesta resorpcije, što dovodi do promena makroarhitekture skeleta. Longitudinalan rast dugih kostiju kao što je tibija zavisi od proliferacije i diferencijacije kartilaginoznih ćelija na epifiznim površinama. Rast dijafiza nastaje polaganjem novog koštanog sloja ispod periosta. Kost se simultano resorbuje sa endostealnih površina.

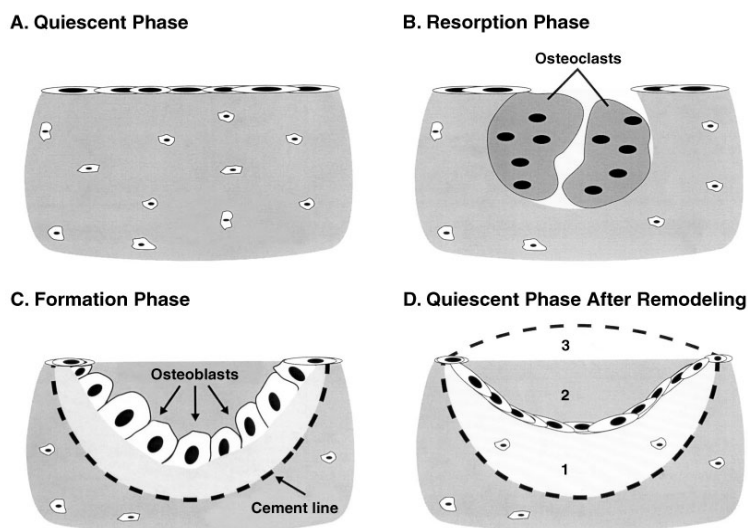
Remodeliranje kosti nastaje simultano sa modeliranjem od fetalnog života do maturacije skeleta kada postaje predominantno. Održava mehanički integritet skeleta zamenom stare kosti novom. Formiranje i resorpcija kosti odvijaju se na istom mestu pa nema značajnijih promena u obliku kostiju. Ovaj konstantan proces koštane pregradnje omogućava da se iz skeleta oslobodi kalcijum fosfat kad god je apsorpcija ovog minerala manja od količine koja se ekskretuje urinom.

U adultnom skeletu aproksimativno 5-10% postojeće kosti se svake godine zameni remodeliranjem. To se ne dešava uniformno, nego fokalno. Morfološka dinamička struktura koštane pregradnje je jedinica koštanog remodeliranja - BRU (*bone remodelling unit*) ili kako se još naziva, bazična multicelularna jedinica - BMU (*basic multicellular unit*). Morfološki entitet koji nastaje završetkom procesa je strukturalna jedinica kosti - BSU (*bone structural unit*).

I u kortikalnoj i u trabekularnoj kosti proces remodeliranja započinje resorpcijom kosti osteoklastima. Ova faza se završava za nekoliko dana odlaskom multinuklearnih osteoklasta u reverznoj fazi. U reverznoj fazi mononuklearne ćelije ispunjavaju resorptivne lakune, deponuje se cementna linija za limitiranje prvobitnih erozija. Ove ćelije se subsekventno zamenjuju osteoprogenitor ćelijama koje se diferenciraju u kuboidne osteoblaste. Stvara se organski matriks nakon čega sledi depozicija minerala. Lakune se postepeno pune novostvorenom kosti tokom nekoliko meseci. Ovakav proces resorpcije kosti koji prati formiranje na istom mestu smatra se kuplovanim, slika 1.

Održavanje normalnog, zdravog, mehanički kompetentnog skeleta zavisi od uravnoteženosti procesa resorpcije i procesa formiranja kosti. Resorpcija i formiranje kosti su dva povezana procesa, tako da se u normalnim okolnostima količina resorbovane kosti popuni formiranjem u sledećoj fazi ovog kuplovanog procesa. U korenu ove koordinacije je

povezanost između osteoblasta i osteoklasta posredovana oslobađanjem faktora rasta iz kosti, tokom njene resorpcije [8, 9].



Slika 1. Ciklus koštanog remodeliranja

(Legenda: A: Faza mirovanja: površina kosti je inaktivna; B: Faza resorpcije: osteoklasti kreiraju kavitete; C: Faza formiranja: osteoblasti stvaraju koštani matriks koji popunjava kavitete. Cementna linija definiše granicu između novostvorene kosti i površine kaviteta nastalog osteoklastnom aktivnošću na kraju faze resorpcije; D: Faza mirovanja: inaktivna površina kosti posle kompletiranog ciklusa remodeliranja. Nova površina kosti može biti 1. nedovoljno popunjena, 2. dobro popunjena, 3. previše popunjena, što odražava 1. lokalni gubitak koštane mase, 2. koštana masa bez promena, 3. porast koštane mase. Kod alkoholom indukovanoj gubitku koštane mase radi se o mehanizmu pod brojem 1. Preuzeto iz [29].

Veliki broj činioca može narušiti proces remodeliranja kosti, što se odražava na jedinicu remodeliranja u smislu produženja ili skraćivanja vremena propagacije BMU, u vidu promena kvantitativnih odnosa razgradnje i formiranja kosti po ciklusu, kao i u pogledu kvalitativnih karakteristika novostvorene kosti. Najčešći poremećaj remodeliranja kosti, zajednički za najveći broj metaboličkih bolesti kosti, u osnovi ima smanjenje koštane mase zbog neravnoteže između razgradnje i stvaranja kosti, pri čemu je razgradnja dominantna i prevazilazi količinu novostvorene kosti u svakom ciklusu remodeliranja. Kod osteoporoze pored gubitka koštane mase, u okviru ubrzane metaboličke aktivnosti kosti narušena je i arhitektura kosti, što takvu kost čini manje otpornom na mehanička opterećenja i povećava njenu sklonost prelomima [3].

1.1.4.2. Biohemijski markeri metaboličke aktivnosti kosti

Procena metaboličke aktivnosti kosti moguća je laboratorijskom analizom krvi i urina. Marker metabolizma kosti odražavaju procese pregradnje kostiju. Dele se na:

1. Enzimske markere izgradnje kostiju (vezane za aktivnost osteoblasta) i razgradnje kostiju (vezane za aktivnost osteoklasta)
2. Proteine koštanog matriksa i razgradne produkte organskog skeletnog matriksa koji se otpuštaju u cirkulaciju za vreme izgradnje ili razgradnje kostiju
3. Markere neorganskog koštanog matriksa (Ca i P koji pre svega odražavaju homeostazu Ca i P)

Markeri izgradnje kostiju su:

- ukupna ALP (*Total Alkaline Phosphatase-ALP*), (specifična je samo kod bolesnika koji nemaju hepato-bilijarno oboljenje)
- B-ALP (*Bone alkaline phosphatase, B-ALP*) (koštana alkalna fosfataza, specifičan produkt osteoblasta)
- osteokalcin (specifični produkt osteoblasta),
- C-terminalni propeptid prokolagena tipa 1 (PICP) (*C-terminal propeptide of type I procollagen PICP*), specifični produkt osteoblasta i fibroblasta
- N-terminalni propeptid prokolagena tipa 1 (PINP) (*N-terminal propeptide of type I procollagen PINP*, spec. produkt osteoblasta i fibroblasta, delom inkorporiran u skeletni matriks

Markeri razgradnje kostiju:

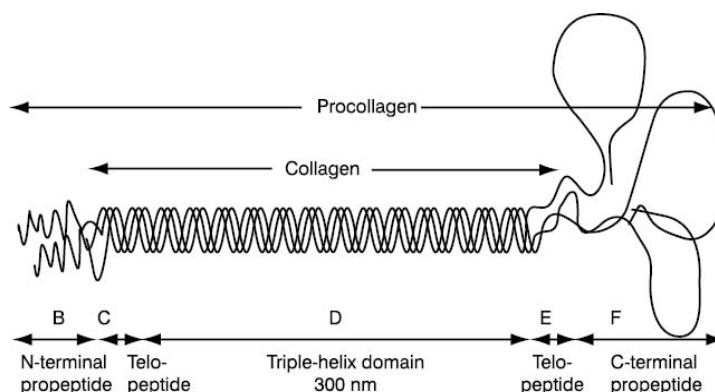
- Hidroksiprolin (*Hydroxyproline*) (specifičan za sve fibrile kolagena i deo kolagenih proteina, uključujući elastin; prisutan u novostvorenom i zreom kolagenu)
- Piridinolin (*Pyridinoline PYD, Pyr*) (velika koncentracija u hrskavici i kolagenu kostiju, nije prisutan u koži, prisutan samo u zreom kolagenu)
- Deoksipiridinolin (*Deoxypyridinoline DPD, d-Pyr*) (velika koncentracija samo u kolagenu kosti, nije prisutan u hrskavici ili u koži, prisutan samo u zreom kolagenu)
- C terminalni ukršteni telopeptid kolagena tipa 1 (ICPT) (*Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen ICPT*) velikim delom potiče iz koštanog kolagena tipa 1, delom iz sveže stvorenog kolagena
- Fragmenti C terminalnog ukrštenog telopeptida kolagena tipa 1 (*Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen, fragments alpha-CTX i beta-CTX*) u tipu 1 kolagena, verovatno velika proporcija iz koštanog kolagena
- Fragmenti N terminalnog ukrštenog telopeptida kolagena tipa 1 (*Cross-linked N-terminal telopeptide of type I collagen, fragments NTX*) u tipu 1 kolagena, velika proporcija iz kosti. Slika 2.
- Hidroksilizin glikozidi (*Hydroxylysine-glycosides Hyl-Glyc*) u kolagenu i proteinima kolagena; glukogalaktozil-hidroksilizin je visoko zastupljen u kolagenu mekih tkiva
- Koštani sijaloprotein (*Bone sialoprotein BSP*) stvaraju ga aktivni osteoblasti i polažu u ekstracelularni matriks kosti, a koristi se kao marker osteoklastne aktivnosti
- Tartarat rezistentna kiselina fosfataza (*Tartarat-resistant acid phosphatase TR-ACP*) osteoklasti, trombociti, eritrociti
- Slobodna gama karboksiglutaminska kiselina (*Free gamma carboxyglutamin acid GLA*) nastaje od proteina kosti kao što je osteokalcin ali i od faktora koagulacije

Prednost biohemijskih markera metabolizma kosti u odnosu na merenje mineralne gustine kosti (BMD) i statičku histomorfometrijsku analizu biopsije kosti (što je invazivna metoda) je činjenica da se njihovom upotrebom može dobiti informacija o statusu koštane pregradnje. Informacija o dinamičkom stanju metabolizma kostiju mogla bi ranije ukazati na neke patološke promene u kostima, odnosno na rizik nastanka nekih bolesti kostiju. Isto tako, merenjem koncentracije/aktivnosti biohemijskih markera koštanog metabolizma omogućava bržu informaciju o terapijskom odgovoru u odnosu na merenje koštane mase.

Značajne promene biohemijskih markera mogu se otkriti već nakon 1-3 meseca delotvorne terapije, dok se promena koštane mase može odgovarajuće proceniti tek nakon 1 ili 2 godine.

Preporuka je da se koristi jedan marker formiranja i jedan marker razgradnje kosti, a prednost se daje merenju markera u serumu. Krv se uzima natašte pre 9 sati. Preporučuje se

merenje markera formiranja kosti pre i nakon šest meseci terapije, a markera razgradnje kosti pre, nakon tri i nakon šest meseci terapije.



Slika 2. Shematski prikaz prokolagena tipa I sa domenama koje predstavljaju biohemijske markere.

(Legenda: B: Amino-terminalni propeptid tipa I prokolagena - PINP; C: Amino-terminalni poprečno vezani telopeptid tipa I kolagena - INTP; D: Trostruki heliks; E: Karboksi-terminalni poprečno vezani telopeptid tipa I kolagena ICTP; F: Karboksi-terminalni propeptid tipa I prokolagena - PICP; C+D+E: kolagen; Preuzeto iz [13].

Osteokalcin je glavni nekolageni protein koštanog matriksa koji primarno stvaraju osteoblasti, ali i odontoblasti i hipertrofični hondrociti. Sadrži 49 aminokiselina od kojih su tri gama-karboksi-glutaminske (vitamin K zavisna enzimska karboksilacija) i te tri su odgovorne za Ca-vezujuća svojstva ovog proteina. Posle sinteze, koju značajno stimuliše calcitriol, odnosno $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ otpušta se i ugrađuje u vanćelijski koštani matriks (>80%). Jedan deo (10-30%) novostvorenog osteokalcina otpušta se u cirkulaciju gde se njegova koncentracija može meriti imunohemijski.

Nivo osteokalcina u cirkulaciji odražava sintezu u osteoblastima i izgradnju kosti, međutim ustanovljena je značajna heterogenost cirkulišuće frakcije osteokalcina, obzirom da podleže proteolitičkom cepanju u jetri, bubrezima, plazmi i samim kostima. Vrlo brzo se izlučuje putem bubrega, poluživot cirkulišućeg osteokalcina je oko 4-5 minuta. Shodno navedenom, osteokalcin i njegovi fragmenti se nakupljaju i povećava im se koncentracija u serumu kada je promenjena bubrežna funkcija. Cirkulišući osteokalcin pokazuje cirkadijalni ritam s najvećim vrednostima noću i rano ujutro, a najnižim tokom prepodneva, a razlike su do 50%.

Osteokalcin (OC) vrlo osetljiv marker metabolizma kosti koji prvenstveno odražava formiranje kosti, mada je i hemotaksični faktor za osteoklaste i može igrati ulogu i u indukciji resorpcije kosti i procesu koštane pregradnje. Rezidue γ -karboksiglutaminske kiseline (GLA) su bitne za vezivanje OC za hidroksiapatit u kosti. Sinteza OC zavisi od vitamina D ali i od vitamina K. Deficijencija vitamina K je uzrok subnormalne karboksilacije OC, isto kao i deficijencija vitamina D.

Vitamin D direktno indukuje sintezu OC promovišući njegovu gensku transkripciju.

Vitamin K stimuliše posttranslacionu γ -karboksilaciju glutaminskih rezidua u OC propeptidu. Varfarin, potentni K vitamin antagonist, remeti γ -karboksilaciju OC što rezultuje smanjenim vezivanjem za hidroksiapatit.

Nekarboksilirana frakcija cirkulišućeg OC koja se ne vezuje za hidroksiapatit je povišena kod starijih žena, povezana je sa mineralnom gustinom kosti na vratu femura i može biti prediktor frakture kuka kod ovih osoba [10, 11].

Od markere razgradnje kosti ističe se značaj telopeptida kolagena tipa 1 (CTX, NTX). Kada se kolagen tipa 1 razgrađuje osteoklastima, N i C terminalni telopeptidni fragmenti, još

uvek pričvršćeni poprečnim vezama na helikalni fragment susedne molekule, otpuštaju se u cirkulaciju i uklanjaju putem bubrega. Pri tome se stvara višak razgradnih telopeptidnih produkata, budući da se cepanje polipeptidnih lanaca može dogoditi na nekoliko mesta unutar telopeptida. Telopeptidi mogu ili ne moraju biti poprečno vezani, a može postojati nekoliko tipova poprečnog povezivanja.

Najčešće se određuje fragment C terminalnog ukrštenog telopeptida kolagena tipa 1 beta (*Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen, fragment beta-CTX*), odnosno beta-crosslaps. Naziv CrossLaps odgovara antitelima koja se koriste u imunometrijskim analizama i ona su usmerena isključivo na β izomer oktapeptida. Na njegove serumske vrednosti može da utiče kolagenoliza iz jetre. Kod žena se vrednosti povećavaju s godinama i veće su nego vrednosti u odgovarajućoj dobnjoj grupi muškaraca [12, 13, 14].

1.2. OSTEOPOROZA

1.2.1. Definicija osteoporoze

Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO) osteoporoza je sistemska bolest skeleta koja se karakteriše smanjenjem koštane mase po jedinici volumena, kao i oštećenjem mikroarhitektonike koštanog tkiva sa konsekventnim povećanjem fragilnosti kosti i povećanom sklonošću ka frakturama. Definiše se na osnovu redukcije mineralne gustine kosti (*Bone mineral density*- BMD), merene osteodenzitometrijom.

SZO je 1993. definisala osteoporozu na osnovu određivanja BMD metodom dvostruke x zračne apsorpcimetrije (DXA) u postmenopauzalnih žena koja je 2,5 standardne devijacije (SD) ili više ispod prosečne vrednosti izmerene u prosečnoj mladoj odrasloj populaciji u području kičme, vratu butne kosti ili podlaktici [8, 15].

SZO je 1994. definisala osteoporozu kao smanjenje vrednosti proseka BMD lumbalnog dela kičme ili vratu femura i kuku od 2,5 SD ili veće u odnosu na prosečnu vrednost za mladu odraslu populaciju zdravih žena bele rase (T vrednost ili T score ≤ -2.5) za žene u postmenopauzi svih etničkih grupa i muškarce starije od 50 godina [16].

Za muškarce mlađe od 50 godina i premenopauzalne žene bez osteoporotičnog preloma, osim niske BMD vrednosti, potrebno je uzeti u obzir i faktore rizika za frakture te ih upoređivati sa vrednostima referentnim za dob pacijenta (osteoporoza se u ovom slučaju definiše Z skorom ukoliko je on ≤ -2).

T skor između -1 i -2.5 SD, a Z skor između -1 i -2 SD predstavlja osteopeniju, tj predstadijum osteoporoze, a vrednosti veće od -1 SD uredan nalaz mineralne gustine kosti [2, 17].

Smanjenje koštane mase ne prati značajno smanjenje razmere mineralne prema organskoj supstanci niti poremećaj mineralnog ili organskog matriksa kosti.

Histološki se konstatuje stanjenje kortikalnog dela kosti i smanjenje broja i veličine gredica spongiozne kosti. Smanjenje koštane mase i povećanje njene fragilnosti povećava rizik od fraktura. Osteoporotični prelom je prelom u odrasle osobe koji nastaje padom sa stojeće visine ili niže, bez značajne traume, najčešće u području grudne i lumbalne kičme, vratu butne kosti i podlaktici [18].

1.2.2. Densitometrija kosti

Kalcijum apsorbuje mnogo više X zraka nego proteini, odnosno meka tkiva. Količina energije X zraka koju apsorbuje kalcijum u kostima odražava mineralni sadržaj kosti ili BMC (*bone mineral content*). Mineralni sadržaj kosti podeljen po površini ili zapremini kosti predstavlja mineralnu gustinu kosti ili BMD (*bone mineral density*). Definiše se kao prosečna

koncentracija minerala po jedinici površine kosti koja je određena metodom dvostruke X zračne apsorpcimetrije (DXA).

Postoji visok stepen korelacije između BMD i čvrstine kosti, odnosno sile koja dovodi do frakture kosti. Ostale determinante čvrstine kosti uključuju veličinu (velike kosti su jače), makroskopsku strukturu (dugačke kosti su otpornije na savijanje), mikroskopsku strukturu (mikroskopske naprsline i gubitak normalne trabekularne arhitekture slabe kost), kompoziciju minerala i proteina kosti.

Dvostrukom X zračnom apsorpcijom se određuje BMD na kuku i kičmi, ali se njome može izmeriti i ukupna količina minerala u skeletu (*total body*). BMD kuka se odnosi na BMD vrata femura (*femur neck*) ili ukupnog kuka (*total hip*). BMD na vratu femura i kuku su bitni prediktori frakture kuka. BMD se na kičmi određuje od prvog do četvrtog lumbalnog pršljena (L1-L4). Tela kičmenih pršljenova se najviše sastoje od trabekularne kosti koja ima veliki odnos između površina remodeliranja prema volumenu kosti, zbog čega je osetljivija na efekat hormona i lekova u odnosu na kortikalnu kost [19].

DXA merenje mineralne gustine kosti je vrlo precizno, reproducibilno, jednostavno i brzo, uz minimalno zračenje, dijagnostički je pouzdano i medicinski prihvatljivo [20].

Kod bolesnika sa dekompenzovanom cirozom jetre postoje izvesne dileme u pogledu merenja BMD, jer centralni BMD određen DXA metodom kod bolesnika sa ascitesom može pokazivati lažno smanjenje, međutim, merenjem BMD putem DXA pre i posle paracenteze utvrđeno je da prisustvo ascitesa ne utiče na mineralnu gustinu kosti [21].

1.2.3. Podela osteoporoze

Osteoporoza se deli na:

- postmenopauzalnu, koja nastaje kao posledica gubitka estrogena
- senilnu, koja se javlja u starijoj životnoj dobi (>70 godina) kod oba pola. Kod osoba starije životne dobi smanjena je aktivnost osteoblasta i sposobnost matične stromalne ćelije za diferencijaciju u osteoblaste. Postoji smanjen unos kalcijuma i vitamina D, te se javlja sekundarni hiperparatireoidizam
- sekundarna osteoporoza je posledica drugih bolesti i stanja
- idiopatska, kod bolesnika mlađe životne dobi nepoznatog uzroka

1.2.3.1. Sekundarna osteoporoza

Osteoporoza se smatra sekundarnom ako postojeća bolest, određeni nedostaci ili upotreba određenih lekova povećavaju fragilitet kosti. Jedan ili više sekundarnih uzroka konstatuju se kod aproksimativno 30% postmenopauzalnih, 40-50% premenopauzalnih žena i 50-55% muškaraca sa dijagnostikovanom osteoporozom. Sekundarni uzroci postoje kod 70% muškaraca sa frakturom kuka.

Generalni princip lečenja sekundarne osteoporoze je lečenje osnovne bolesti ili utvrđene deficijencije, kao i prekidanje sa uzimanjem inkriminisanog leka.

Uzroci sekundarne osteoporoze mogu biti:

1. Kongenitalni i genetski
 - strukturalni poremećaji kolagena i vezivnog tkiva (*osteogenesis imperfecta*, Ehler-Danlos sindrom, Marfanov sindrom, *pseudoxantoma elasticum*)
 - poremećena homeostaza kalcijuma i/ili fosfata (*hypophosphatasia*, idiopatska hiperkalciurija)
 - metaboličke i bolesti taloženja (cistička fibroza, poremećaji deponovanja glikogena, Gaucherova bolest, hemohromatoza, porfirija)
2. Hematološki poremećaji (hemofilija, anemija srpastih ćelija, talasemija)

3. Endokrinološki poremećaji (primarna hipogonadalna stanja kao što su sindrom androgene insenzitivnosti, Turnerov i Klinefelterov sindrom, sekundarna hipogonadalna stanja kao što su prevremena menopauza, anoreksija i bulimija, kao i drugi endokrinološki poremećaji kao što su dijabetes, hiperparatireoidizam i hipertireoidizam, Kušingov sindrom, akromegalija, adrenalna insuficijencija)
4. Hematološke bolesti i neoplazije (leukemije, limfomi, multipli mijelom, mijelofibroza)
5. Infektivne bolesti (HIV)
6. Inflamatorne bolesti (inflamatorne bolesti creva, reumatoidni artritis, ankilozirajući spondilitis, sistemski eritemski lupus)
7. Bubrežne bolesti (renalna osteodistrofija)
8. Hronične bolesti jetre (hepatička osteodistrofija)
9. Alkoholizam i alkoholna malnutricija
10. malapsorpcija (celijakija, hronični pankreatitis, hronična holestaza, gastrična bypass hirurgija)
11. Lekovi (peroralni antikoagulansi, heparin, antikonvulzivi, antidepresivi, antipsihotici, inhibitori aromataze, antiretroviralni lekovi, ciklosporin i takrolimus, kortikosteroidi, progesteronski kontraceptivi, furosemid, inhibitori protonske pumpe) [22].

1.2.4. Osteoporoza kod muškaraca

Iako je osteoporoza više izražena kod osoba ženskog pola, aproksimativno 20% od 44 miliona Amerikanaca koji imaju osteoporozu su muškarci. 30-40% osteoporotičnih fraktura nastaje kod muškaraca. Životni rizik za frakture kod muškaraca starosne dobi 50 i više godina je 13-30%. Frakture kuka kod muškaraca praćene su 2-3 puta većim mortalitetom nego frakture kod žena. BMD može početi da opada kod muškaraca već u dobi od 30-40 godina, ali opada sporo (oko 0,5-1% godišnje) bez ubrzanja koje se viđa kod žena u menopauzi [23].

Zbog razlike u remodeliranju kosti koje nastaje starenjem, kod muškaraca se trabekule stanjuju, za razliku od žena gde trabekule gube svoj konektivitet.

U odnosu na polne hormone smatra se da muškarci sa normalnim androgenima zbog njihovog anaboličkog dejstva imaju pozitivne efekte na koštanu masu i koštanu geometriju. Međutim, jednako je važan i estrogen. Nivo vitamina D je veći kod muškaraca nego kod žena u svim dobnim grupama, ali opada sa starošću. PTH raste sa porastom životne dobi.

Mnogi faktori mogu doprinosti razlici u incidenci i prevalenci osteoporoze između muškaraca i žena. Muškarci imaju veće kosti što doprinosi njihovoj većoj mehaničkoj otpornosti, incidenca padova je manja nego kod žena (visok nivo androgena udružen je sa smanjenjem rizika od padova). Muškarci su podložniji zloupotrebi alkohola, a ako je ona hronična odgovorna je za aproksimativno 7% fraktura kuka kod muškaraca. Na kraju, muškarci imaju i kraći životni vek u odnosu na žene [23].

1.2.5. Bolest kosti indukovana alkoholom

Kod bolesti kosti indukovane alkoholom suprimirano je formiranje kosti što vremenom dovodi do smanjenja mase kosti i povećanja frakturnog rizika (nakon 10-20 godina asimptomatskog perioda). Takođe je otežano zarastanje preloma [24].

Osteoporoza indukovana uzimanjem alkohola je *low turn-over* osteoporoza, kada je smanjen proces pregradnje kosti. Zbog smanjenog formiranja kosti dominira povećana razgradnja, ali na sniženom nivou aktivnosti. Osteokalcin je koštani protein koji odražava sinezu kosti i snižen je kod alkoholičara.

U hroničnim bolestima jetre menjaju se nivoi i drugih, veoma potentnih lokalnih medijatora osteoklastne aktivnosti kao što su RANKL, RANK i osteoprotegerin (OPG). Na

formiranje i aktivnost osteoblasta osim uticaja vitamina D, parathormona, IGF-1 i estrogena postoji i uticaj onkofetalnog fibronektina koji se stvara aktivacijom zvezdastih ćelije jetre. U hroničnim bolestima jetre zapaljenske ćelije u jetri stvaraju osteoprotegerin koji suprimira ekscesivni gubitak kosti. Osteoprotegerin je povećan kod alkoholičara bez ciroze jetre, ali i u alkoholnoj cirozi jetre. U cirozi jetre je povećan i nivo estradiola [25, 26].

Osim direktnog efekta na ćelije koštanog tkiva u smislu inhibicije osteoblastogeneze i stimulacije diferencijacije i aktivacije osteoklasta, alkohol dovodi i do poremećaja GH/IGF-1 osovine što takođe rezultuje inhibitorno na formiranje kosti. Snižava nivo aktivnog oblika vitamina D $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tako što izaziva smanjenje ekspresije hepatičke hidroksilaze vitamina D (CYP27A1) a indukuje aktivnost enzima CYP24A1 koji u bubrezima razlaže $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Dovodi i do hipogonadizma. Povećava nivo $\text{TNF}\alpha$, i interleukina-6. Efekti alkohola na koštano tkivo danas se sagledavaju u okviru kompleksnog sistema direktnih i indirektnih dejstava, odnosno regulatornih mehanizama koji učestvuju u odvijanju metaboličke aktivnosti kosti [27, 28].

Kod alkoholičara postoje histomorfometrijski nalazi koji ukazuju na sniženje nivoa formiranja kosti uz konzistentni biohemijski nalaz sniženih vrednosti osteokalcina u serumu. Alkohol smanjuje diferencijaciju osteoblasta iz preosteoblasta, iako nema direktan toksički efekat na zrele osteoblaste. Nasuprot tome postoje kontradiktorni nalazi o efektima abususa alkohola na resorpciju kosti u pogledu histoloških promena i markera razgradnje kosti [29].

Trajanje abususa alkohola je u pozitivnoj korelaciji sa težinom osteopenije, što znači da je gubitak kosti postepen, odnosno kumulativno progredijentan. Postoji i indirektan mehanički efekat alkohola na kost, preko smanjenja telesne mase alkoholičara.

Efekti alkohola na humani skelet su veoma složeni i mnogostruki, sa brojnim stimulišućim i inhibitornim interakcijama. Teško je razgraničiti šta je isključivo uticaj alkohola, a šta ostalih faktora kao što su loš nutritivni status, deficit magnezijuma i cinka, smanjenje mehaničkog opterećenja zbog smanjenog kretanja i vežbanja, kao i zbog smanjenja telesne težine, malapsorpcija zbog hroničnog pankreatitisa, pušenje cigareta i drugo. Prestankom uzimanja alkohola dolazi do povećanja osteokalcina (već posle sedam dana) i poboljšanja BMD u periodu od šest meseci do dve godine [29, 30, 31, 32, 33, 34].

Akutna intoksikacija etanolom remeti funkciju osteoblasta, uzrokuje tranzitorni hipoparatiroidizam, snižava serumski nivo kalcijuma i fosfora, a povećava urinarnu ekskreciju kalcijuma i magnezijuma.

Prolongirana upotreba etanola snižava sintezu proteina kosti uz povećanu degradaciju kolagena, snižava nivo vitamina D, smanjuje stvaranje IGF-1 u jetri. IGF-1 ima anabolički efekat na sintezu mišićnih proteina, mišićnu masu i homeostazu kosti.

Alkohol ima visoku kalorijsku vrednost (7,1 kcal/g), ali njegov abususe je asociran sa malnutricijom, jer su kalorije iz etanola "prazne", neadekvatne za anabolizam. Ako unos alkohola premaši 50% ukupnih kalorija, metaboliše se preko manje efikasnog MEOS sistema sa manjim stvaranjem energije.

Alkoholičari i bolesnici sa alkoholnom cirozom imaju i proteinsku energetska malnutriciju. Moguće je da proteinska malnutricija više od samog alkohola dovodi do osteoporoze i smanjenja sinteze osteoida, a da oba faktora (alkohol i proteinska malnutricija) dovode do poremećaja mineralizacije kosti i povećane urinarne ekskrecije hidroksiprolina [35].

50% alkoholičara dožive frakture kosti a sa time je najviše asociran snižen nivo vitamina D i loš nutritivni status. Isključivo preko BMD se ne može precizirati fraktorni rizik jer se faktori koji su povezani sa kvalitetom kosti ne mogu odrediti na ovaj način. U procenu frakturnog rizika uključujuju se i drugi činioci.

Smanjenje mišićna snage takođe predstavlja začajan faktor rizika za padove i frakture.

Vitamin D ima značajnu ulogu u ovom kontekstu, u okviru svojih pozitivnih dejstava na muskulo-skeletni sistem [36].

Kod alkoholičara može biti i povećan BMD što se objašnjava povećanim nivoom estrogena (alkohol povećava produkciju androstenediona i njegovu konverziju u estrogen).

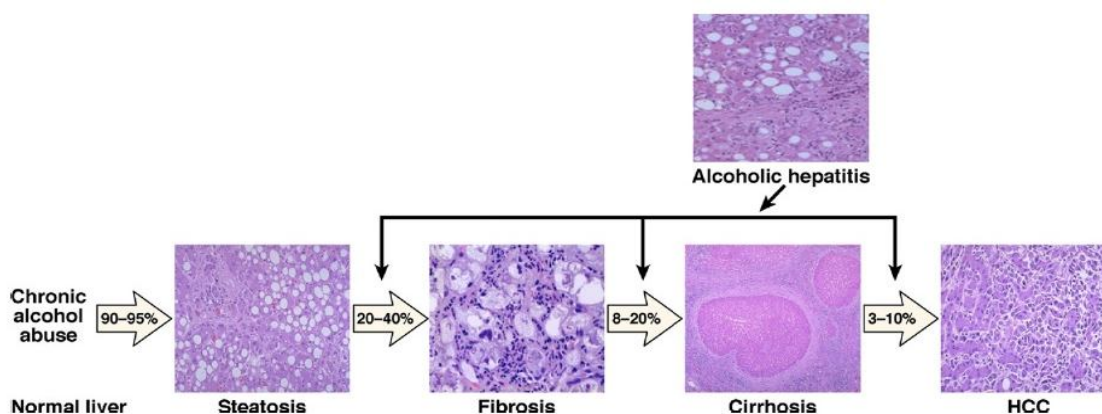
Postoje navodi da umeren unos alkohola 1-2 pića/dan može delovati protektivno na BMD kod postmenopauzalnih žena i starijih muškaraca, što se tumači dejstvom alkohola na adrenalne androgene i povećanjem koncentracije estrogena (koji je snižen kod postmenopauzalnih žena). Navedeno se odnosi na pivo i vino, a ne na žestoka alkoholna pića, pa se pretpostavlja da drugi faktori uz sam etanol mogu imati protektivan efekat. Silikon (ortosilicilna kiselina) kao značajan konstituent piva može dodatno poboljšati formiranje kosti, kao i resveratrol iz vina (koji ima dokazanu estrogensku aktivnost). Postoje i navodi da i viski sadrži visoku koncentraciju antioksidansa elagilne kiseline (ellagic acid) koji može potencijalno imati benefite za kost. Diskutabilno je šta je efekat alkohola, a šta ovih supstanci.

Naravno, autori se generalno i apsolutno slažu da to nikako ne predstavlja preporuku za konzumaciju alkohola. Antioksidanse je potrebno obezbediti na drugi način (voće i povrće) [37, 38, 39].

1.3. ALKOHOLNA BOLEST JETRE (ALD)

1.3.1. Patofiziologija alkoholne bolesti jetre

Hronična konzumacija alkohola je jedan od najznačajnijih faktor rizika za nastanak hroničnih bolesti jetre. Alkoholna bolest jetre (*alcoholic liver disease*) - ALD, obuhvata nekoliko entiteta: masna jetra, alkoholni hepatitis (AH), fibroza, alkoholna ciroza (AC) jetre i eventualno hepatocelularni karcinom (HCC), (slika 3). 48% mortaliteta vezanog za cirozu jetre u SAD je asociran je sa upotrebom alkohola.

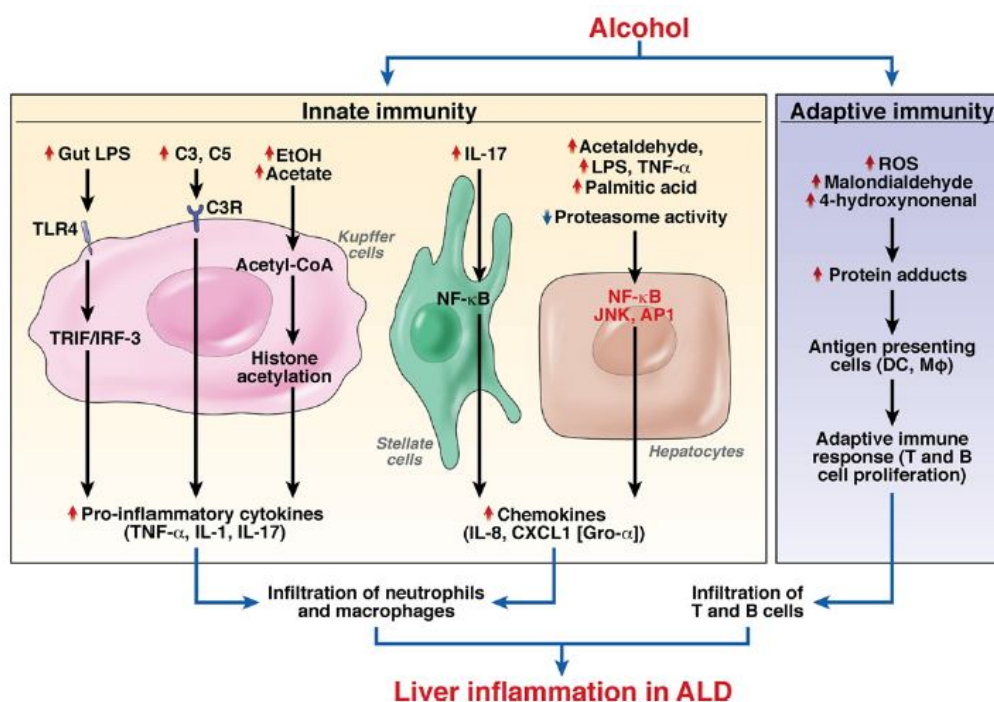


Slika 3. Spektar alkoholne bolesti jetre; Preuzeto iz [41].

U osnovi ALD nalazi se inflamacija, slika 4. Direktna inflamatorna kaskada nastaje u procesu detoksifikacije alkohola. Indirektna inflamatorna kaskada je odgovor na lipopolisaharide (LPS) koji nastaju oslobađanjem iz mikroflore gastrointestinalnog trakta (GIT). Jetra ima ključnu ulogu u detoksifikaciji alkohola i njegovih toksičnih produkata a takođe je odgovorna i za imunološke efekte. Zbog hronične inflamacije osim bolesti jetre mogu nastati i sistemske bolesti. Suštinski, ALD treba posmatrati iz perspektive hronične inflamacije.

Alkohol, acetaldehid i ekscesivna količina slobodnih masnih kiselina u hepatocitu dovode do stvaranja velike količine slobodnih kiseoničnih radikala (*reactive oxygen species*) -

ROS. Dalje nastaje lipidska peroksidacija, produkcija citokina i hepatička inflamacija. U Kupferovim ćelijama se odvija interreakcija LPS sa *toll-like* receptorom 4 (TLR4) nakon čega nastaje stvaranje proinflamatornih citokina i hemokina kao što su TNF- α , IL-8, IL-17, koji vode do stvaranja ROS i daljeg oštećenja jetre. Međutim, aktivacija TLR4 stimuliše Kupfferove ćelije na stvaranje i hepatoprotektivnih citokina kao što je IL-6 koji redukuje nekro-inflamatorni proces u hepatocitima i antiinflamatornih citokina kao što je IL-10.



Slika 4. Mehanizam inflamacije jetre (*liver inflammation*) u alkoholnoj bolesti jetre (ALD)

(Legenda: 1. Alkoholom uzrokovana aktivacija urođenog imuniteta: parenhimska infiltracija neutrofilima i makrofagima, indukcija stvaranja proinflamatornih citokina i hemokina. Alkohol indukuje brojne faktore koji aktiviraju Kupfferove ćelije, zvezdaste ćelije i hepatocite, što rezultuje stvaranjem citokina i hemokina; 2. Aktiviranje adaptivnog imuniteta: ALD je asocirana sa infiltracijom jetre CD4 i CD8 T limfocitima. Alkohol indukuje stvaranje slobodnih kiseoničnih radikala (*reactive oxygen species* - ROS) i uzrokuje stvaranje proteina koji mogu služiti kao antigeni, rezultujući akumulacijom T i B limfocita u jetri. (LPS-lipopolisaharidi, TLR- (*Toll-like receptor*), TRIF/IRF-3 signalni put, C3 i C5 komponente komplekta) Preuzeto iz [41].

Indukovana akutna faza inflamacije u jetri praćena je stvaranjem reaktanata akutne faze inflamacije kao što su CRP (C-reaktivni protein), feritin i amiloid A. Hronična niskostepena inflamacija u ALD dovodi do smanjenog oslobađanja azot oksida (NO) i endotelina. Ova inflamatorna kaskada može sinergistički ili interaktivno doprineti arterijskoj inflamaciji, uzrokovati endotelijalnu disfunkciju i poremetiti arterijski elasticitet.

ALD može poremetiti imunoregulaciju, što može dovesti do imunodeficijencije ili suprotno tome autoimunosti. Alkoholičari su posebno osetljivi na bakterijske infekcije (pneumonija, sepsa, TBC, ređe absces pluća, meningitis...).

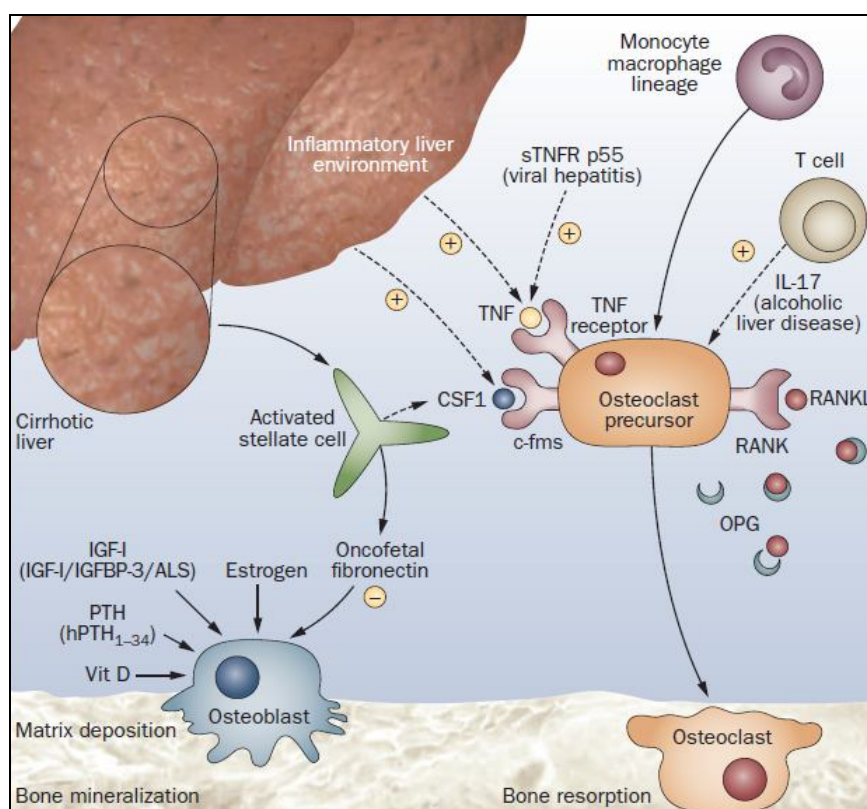
Alkoholni hepatitis i alkoholna ciroza su asocirani sa autoimunošću, konkretno sa pojavom autoantitela na jetrene ćelije što dalje doprinosi inflamaciji i nastanku (pogoršanju) fibroze. U ALD se javljaju druge autoimune bolesti ili alergijske reakcije. IgA depoziti se mogu naći osim u jetri, u koži i bubrezima kod mnogih bolesnika sa ALD. Konzumacija alkohola doprinosi mnogim IgE posredovanim reakcijama, kao što su alergije na hranu ili astma. Hronična upotreba alkohola povećava ukupni nivo IgE [40, 41].

1.3.2. Patofiziologija osteoporoze u ALD

Metaboličke bolesti kosti su česta komplikacija hroničnih bolesti jetre. Osteoporoza je zastupljena i do 50% kod bolesnika sa cirozom jetre. Takvi bolesnici imaju povećan rizik od fraktura kosti, čija incidenca je 5-20%, što utiče na kvalitet života, a u krajnjoj instanci i na preživljavanje. Uzrok gubitka koštane mase kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre je multifaktorijalan. U ALD se ističe patogenetski značaj osteoklastogenih inflamatornih citokina kao što su IL-1 i TNF- α [40].

Serumske koncentracija TNF- α , IL-1 β i IL-6 su značajno povećane u AC jetre, nezavisno od njene težine. Aktivacija monocitno makrofagnog sistema može doprineti napredovanju bolesti jetre [42].

Na ćelijskom nivou prepliću se odnosi i dejstva raznih medijatora, citokina, imunomodulatora i hormona, slika 5. Proinflamatorni osteoklastogeni citokini interleukin-1 i TNF- α su osim u AC povećani i u virusnim hepatitisima. U holestatskim bolestima jetre povećan je nivo CSF1 koji se veže za svoj receptor c-fms na prekursorima osteoklasta i takođe indukuje osteoklastogenezu. Na isti način deluje interleukin-17. Na zrele osteoklaste deluje interleukin-6 (IL-6) ispoljavajući povećanu osteoklastnu aktivnost [7, 43].



Slika 5. Faktori koji na ćelijskom nivou utiču na metabolizam kosti u bolestima jetre; Preuzeto iz [26].

Ponovo treba istaći da je etiologija osteoporoze kod bolesnika sa cirozom jetre multifaktorijalna [1, 2], a da se uloga alkohola kao etiološkog faktora hepatičke osteodistrofije ogleda u direktnim i indirektnim patofiziološkim efektima [44]. Direktni patofiziološki efekti se odnose na ćelije kosti. Pod uticajem alkohola inhibiran je rast mezenhimalnih stem ćelija u kostnoj srži i transformacija u osteoblaste. Alkohol predstavlja okidač transformacije mezenhimalnih ćelija predominantno u adipocite. Potom, alkohol inhibira sintezu DNA i ćelijsku proliferaciju osteoblasta. Modalitet smanjenja koštane mase i čvrstine kod

zloupotrebe alkohola je izazvan neuravnoteženošću remodeliranja kosti sa predominantnim smanjenjem formiranja kosti. Kod zloupotrebe alkohola postoje alteracije citokina, sa povećanjem TNF- α i IL-6, uz smanjenje IGF-1. Konstatuje se povećan odnos OPG/RANKL, te se povećanje OPG interpretira kao mogući zaštitni mehanizam koji se suprotstavlja alkoholom indukovanom povećanju TNF- α i IL-6 koji aktiviraju resorpciju kosti. Estradiol takođe ima protektivan efekat u odnosu na alkoholom indukovani gubitak kosti koji ostvaruje putem inhibicije povećanog stvaranja RANKL-a u osteoblastima [44].

Indirektni efekti alkohola prepliću se sa opštim i već pomenutim faktorima u etiologiji hepatičke osteodistrofije, kao što su sama bolest jetre, nutritivni deficiti, malapsorpcija, fizička inaktivnost, smanjeno izlaganje suncu, deficijencija vitamina D, hipogonadizam, pušenje [44], kao i primena kortikosteroida i antivirusne terapije, antikonvulziva, niskomolekularnog heparina, dugotrajna upotreba alkohola. Značajna je i starija životna dob, postmenopauzalni status i BMD < 19 kg/m² [1, 2].

Održavanje integriteta skeleta uključuje sekvencionalno kuplovanje procesa resorpcije kosti indukovano osteoklastima i osteoblastima posredovanog procesa formiranja kosti sa subsekventnom mineralizacijom osteoida na mestima remodeliranja odnosno multiceularnim jedinicima. Dinamička histomorfometrija uključujući dvostruko tetraciklinsko obeležavanje i biopsiju kriste ilijačne kosti rasvetlila je mehanizam smanjenja koštane mase kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre [9].

Kod hepatičke osteodistrofije navode se dve mogućnosti: smanjeno formiranje kosti kao primarna abnormalnost, odnosno "*low turn-over*" osteoporoza, a druga mogućnost je da se radi o povećanoj resorpciji kosti koja nadmašuje formiranje, odnosno "*high turn-over*" osteoporozi.

"Low turn-over" osteoporoza se karakteriše redukovanom sintezom kolagenog matriksa i smanjenom mineralizacijom. Disfunkcija osteoblasta može nastati zbog uzimanja alkohola, potom smanjenja trofičkih faktora kao što je IGF-1, ili zbog ekscesivnog prisustva inhibitora faktora rasta kao što je na primer bilirubin. Više od 90% cirkulišućeg IGF-1 se stvara u jetri. Predstavlja rani marker hepatocelularnog funkcionalnog kapaciteta i značajno opada u ranim stadijumima ciroze, pre nego što oštećenje bude detektabilno putem promene u vrednostima albumina, bilirubina i protrombinskog vremena. Kada IGF-1 pada, GH raste i stvara se stanje IGF rezistencije. IGF-1 je značajna determinanta BMD kod zdravih ljudi. Njegova ekspresija je povećana tokom ranog regrutovanja osteoblasta, stimuliše osteoblastnu proliferaciju, ali opada kada ove ćelije počnu diferencijaciju. Ima ključnu ulogu u remodeliranju kosti i održanju koštane mase. Smanjen nivo IGF-1 može dovesti do povećanja resorpcije kosti. TGF β (*Transforming growth factor- β*) je citokin koji ima anabolički efekat na kost.

Hronične bolesti jetre često se karakterišu hipogonadizmom. Kod napredovanja ciroze jetre produbljuje se hipogonadizam, smanjuje se koncentracija testosterona. Hronična zloupotreba alkohola i genetska hemohromatoza mogu dovesti do hipogonadizma i nezavisno od ciroze jetre. Histomorfometrijski kod alkoholne ciroze ustanovljeno je smanjeno formiranje kosti, ali i prostori erodirani osteoklastima što korelira sa sniženim nivoom testosterona.

U cirozi jetre ne razgrađuje se estradiol. Estrogen deluje putem modulacije faktora rasta i citokina na lokalnom nivou: povećava sekreciju IGF-1, osteoprotegerina i TGF β , a smanjuje sekreciju TNF α , IL-1 i IL-6 (posredna kontrola aktivnosti osteoklasta putem dejstva na osteoblaste i kontrole lučenja proresorptivnih citokina iz osteoblasta). Utiče i na regulisanje nivoa RANKL-a i osteoprotegerina, naime nedostatak estrogena rezultira povišenjem RANKL-a i sniženjem osteoprotegerina.

"High turn-over" osteoporoza se karakteriše normalnom sintezom matriksa kosti i njegovom normalnom mineralizacijom, ali nemogućnošću osteoblasta da popune brojne

stvorene resorptivne kavitete. Karakteriše primarne holestatske bolesti jetre, iako se u primarnoj bilijarnoj cirozi konstatuje i suprimiranje osteoblasta onkofetalnim fibronektinom koji se stvara aktivacijom zvezdastih ćelije jetre [9, 26, 45, 46, 47].

1.3.3. Malnutricija u ALD

U alkoholnoj bolesti jetre (ALD) postoji multifaktorijalna malnutricija. Može biti uzrokovana smanjenim unosom hrane, malapsorpcijom i maldigestijom, kao i disfunkcijom hepatocita.

Stepen proteinske kalorijske malnutricije (PCM) je u korelaciji sa stepenom oboljenja jetre, a naročito sa njenim komplikacijama u vidu infekcija, encefalopatije i ascitesa [48].

U ALD bolesnici uzimaju manje nutrienata zbog rane sitosti, anoreksije, umora. Faktori koji regulišu apetit, kao što su TNF α i leptin mogu biti alterisani hroničnim uzimanjem alkohola, što se negativno odražava na želju za jelom. Dijetarna redukcija Na (kuhinjske soli) i tečnosti kod bolesnika sa ascitesom remeti ukus hrane. Drugo, umesto nutrienata uzimaju prazne kalorije iz alkohola, što sve vodi nutritivnim deficitima. Uz to, imaju lošu oralnu higijenu i zdravlje zuba.

Bolesnici sa alkoholnom cirozom jetre (ACJ) su u hipermetabolizmu, odnosno stanju povećanog katabolizma. Značajan gubitak tkiva može biti maskiran stabilnom ili povećanom telesnom težinom zbog prisustva ascitesa.

Inflamacija (naročito izražena u alkoholnom hepatitisu) utiče na gubitak proteina iz mišića i visceralnih tkiva. Dodatno, smanjen je kapacitete jetre za deponovanje glikogena, smanjeno je preuzimanje aminokiselina i sinteza proteina.

Malapsorpcija masti je uslovljena poremećajem u lučenju žučnih kiselina i pankreasnih enzima. Malapsorpcija masti dovodi i do poremećaja u apsorpciji liposolubilnih vitamina.

Kod pojedinih bolesnika sa ACJ može postojati i gojaznost. To su bolesnici koji uz normalan unos hrane imaju aditivan unos alkohola.

U odnosu na metabolizam ugljenih hidrata konstatuje se smanjenje pankreasne sekrecije insulina i povećanje periferne insulinske rezistencije. Prevalenca dijabetesa kod bolesnika sa ALD je oko 20-30% [48].

Deficit vitamina u ALD ima tri razloga:

- smanjena absorpcija
- smanjena mogućnost deponovanja vitamina rastvorljivih u mastima
- smanjen metabolizam enzima u njihove aktivne forme

Unos alkohola dovodi do deficita folata povećavajući rizik od pojave megaloblastne anemije. Deficit tiamina (vitamina B1) uzrokuje alkoholnu polineuropatiju i Wernicke-ovu encefalopatiju. Deficit piridoksina (vitamina B6) dovodi do neuroloških, hematoloških i dermatoloških poremećaja.

Serumski nivo vitamina A može biti snižen, ali čak i ako je normalan, smanjeno je njegovo deponovanje u jetru. Hipovitaminoza A dovodi do noćnog slepila, oštećenja imunoloških funkcija i povećanog rizika od hepatičke fibroze. Nasuprot tome, ekscresivan unos vitamina A kod osoba koje nastave sa konzumacijom alkohola, takođe može dovesti do promena u hepatičkoj strukturi. Vitamin E je takođe tipično snižen kod alkoholičara.

Snižen serumski nivo vitamina D nastaje zbog nedovoljnog unosa, malapsorpcije kodolestaze i pankreasne insuficijencije, zatim kod smanjenog izlaganja suncu. Kao rezultat teškog stepena hepatičke disfunkcije oštećena je hepatička hidroksilacija vitamina D. Hipovitaminoza vitamina D dovodi do povećanog rizika od abnormalnog metabolizma kosti i nastanka osteoporoze.

Deficit minerala u ALD:

Sniženi serumski nivo kalcijuma (Ca) je izazvan neadekvatnim unosom Ca i vitamina D, malapsorpcijom i/ili povećanom bubrežnom ekskrecijom. Takođe može biti povezan sa sniženim nivoom serumskih albumina i magnezijuma. Obzirom da je Ca esencijalan za održavanje koštanog zdravlja, hipokalcemija kod alkoholičara povećava rizik za gubitak koštane mase. Suplementacija kalcijumom preporučuje se u dozi 1000-1500 mg/dan, ako se ne može obezbediti adekvatan nutritivni unos.

Kod ovih bolesnika jedna od preporuka je i suplementacija vitaminom D 800 IU/dan (holekalciferol). Preporučene doze primene za ergokalciferol su mnogo veće, 12000 do 15000 IU/dan, zbog smanjene biorasploživosti ovog suplementa.

Za alkoholičare je tipično da imaju povišen nivo serumskog gvožđa, koji je sekundaran na bazi povećane apsorpcije u crevu. Dolazi i do nagomilovanja gvožđa u jetri što može da imitira hemohromatozu [48].

1.3.4. Indikacije za osteodenzitometriju kod bolesnika sa cirozom jetre

Obzirom da osteoporoza ne ugrožava život bolesnika sa cirozom jetre, ali mu značajno remeti kvalitet, britansko i američko gastroenterološko društvo preporučuje određivanje koštane mase DXA metodom kod svih bolesnika sa cirozom jetre. Francusko udruženje daje restriktivnije preporuke, odnosno preporučuje određivanje koštane mase kod bolesnika sa cirozom jetre samo pre transplantacije jetre ili ako je prisutan jedan ili više sledećih faktora rizika: familijarna ili personalna istorija fraktura, rana menopauza, hipogonadizam, BMI ispod 19 kg/m² kortikosteroidni tretman u trajanju od tri meseca [49, 50, 51, 52].

1.4. VITAMIN D

1.4.1. Definicija i istorijat vitamina D

Vitamin D spada u grupu liposolubilnih vitamina, ali je zbog svojih hemijskih osobina, regulacije sinteze, postojanja receptora na ciljnim ćelijama i plejotropnih efekata svrstan u hormone.

Prvi klinički opis rahitisa, bolesti izazvane nedostatkom vitamina D potiče od Glissona 1651. godine (Morbus Anglorum). Asocijacija između nedostatka sunca i rahitisa ustanovljena je početkom 20-og veka, a 1920. počinje lečenje rahitisa sunčanjem.

Elmer McCollum je 1922. godine izolovao vitamin D iz ribljeg ulja i dao mu sadašnji naziv. Adolf Windaus je 1928. godine dobio Nobelovu nagradu jer je izolovao tri oblika ovog vitamina (D1, D2, D3). Hector de Luca je 1971. godine opisao put sinteze u organizmu i povezanost sa parathormonom (PTH) u održavanju homeostaze kalcijuma (Ca). Mark Haussler je 1975. godine otkrio receptor za vitamin D [53].

1.4.2. Izvori vitamina D

Ljudi dobijaju vitamin D prilikom izloženosti suncu, unošenjem hrane i dijetarnih suplemenata. Solarni ultravioletni B zraci (talasne dužine 290-315 nm) prolaze kroz kožu i konvertuju 7-dehidroholesterol u previtamin D₃, koji se brzo konvertuje u vitamin D₃. Obzirom da sunce odmah destruiše svaki višak ovako stvorenog previtamina D₃ ili vitamina D₃, ekscesivno izlaganje suncu ne može uzrokovati intoksikaciju vitaminom D₃.

Određena hrana prirodno sadrži ili je obogaćena vitaminom D. Slovo D u oznaci vitamina podrazumeva D₂ (ergokalciferol) ili D₃ (holekalciferol). Vitamin D₂ se stvara tokom ultravioletnog zračenja na ergosterol iz određene hrane biljnog porekla (pečurke, kvasac), a vitamin D₃ putem ultravioletnog zračenja na 7-dehidroholesterol iz lanolina, dakle

sunčanjem ili hranom animalnog porekla. Oba oblika vitamina se koriste u suplementima vitamina D koji se nalaze u slobodnoj prodaji. Oblik koji se daje lekarskom preskripcijom u Americi je vitamin D₂.

U odnosu na hranu, vitaminom D₃ (dato aproksimativno, u IU vitamina prema gramima ili dl hrane) je najbogatija masna riba: losos (100 g/600-1000 IU), sardina (100 g/300 IU), skuša (100 g/250 IU), tuna (100 g/230 IU). Bogati dijetarni izvori vitamina D₂ su sveže šitake pečurke (100 g/100 IU) i one sušene na suncu (100 g/1600 IU). Vitamin D₂ i D₃ nalazi se u žumancetu jajeta (20 IU). U nekim zemljama vrši se obogaćivanje hrane vitaminom D₃, pa se tako na primer u 2,5 dl mleka, jogurta oranž đusa dodaje oko 100 IU D₃, u 100 g butera oko 50 IU, u 100 g margarina oko 430 IU, a u 100 g sira oko 100 IU D₃ [54, 55].

1.4.3. Metabolizam vitamina D

Dijetarni D₂ ili D₃ se apsorbuju preko mehanizma koji uključuje prisustvo žučnih soli i masti u tankom crevu. Vitamin D se inkorporira u intestinalnom lumenu u micelle, potom apsorbuje preko enterocita, spaja se sa hilomikronima, limfnim putem dospeva u vensku cirkulaciju i portnim krvotokom dolazi do jetre.

Vitamin D stvoren u koži dejstvom sunca ili unet per os može biti deponovan u adipocite ili biti podvrgnut 25-hidroksilaciji u jetri. Enzim 25-hidroksilaza pripada grupi citohroma P450 uključuje mikrozomalni CYP2R1 i mitohondrijalni CYP27A1 enzim. Tako se stvara glavni cirkulišući, iako biološki neaktivan 25-hidroksivitamin D [25(OH)D] ili kalcidiol, koji ima dug poluživot od 2-3 nedelje i koristi se za procenu statusa vitamina D.

88% 25(OH)D je vezano za vitamin D vezujući protein (*vitamin D-binding protein*) DBP, poznat i kao Gc, odnosno grupno specifična komponenta globulina. DBP je α -makroglobulin, 58 kDa, koji se skoro ekskluzivno sintetise u jetri i član je albuminske genske familije locirane na hromozomu 4, sa visokom sekvencionom homologijom prema albuminu i α -fetoproteinu. Polimorfan je, sa tri najčešće izoforme Gc1F, Gc1s i Gc2. Gc1F izoforma ima najveći afinitet za vitamin D metabolite. DBP ima antiinflamatorno i imunomodulatorno dejstvo, nezavisno od njegove uloge kao prenosioca vitamina D.

Finalni korak u sintezi vitamina D je 1α -hidroksilacija predominantno u proksimalnim tubulima bubrega. Posredovana je enzimom 1α -hidroksilazom (CYP27B1) koja stvara aktivnu formu vitamina D, a to je $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D [$1\alpha,25$ (OH)₂D] ili kalcitriol (u daljem tekstu: $1,25$ (OH)₂D, odnosno $1,25$ -dihidroksivitamin D) koji je takođe u visokom procentu (85%) vezan za DBP. Ima poluživot od samo 4 sata.

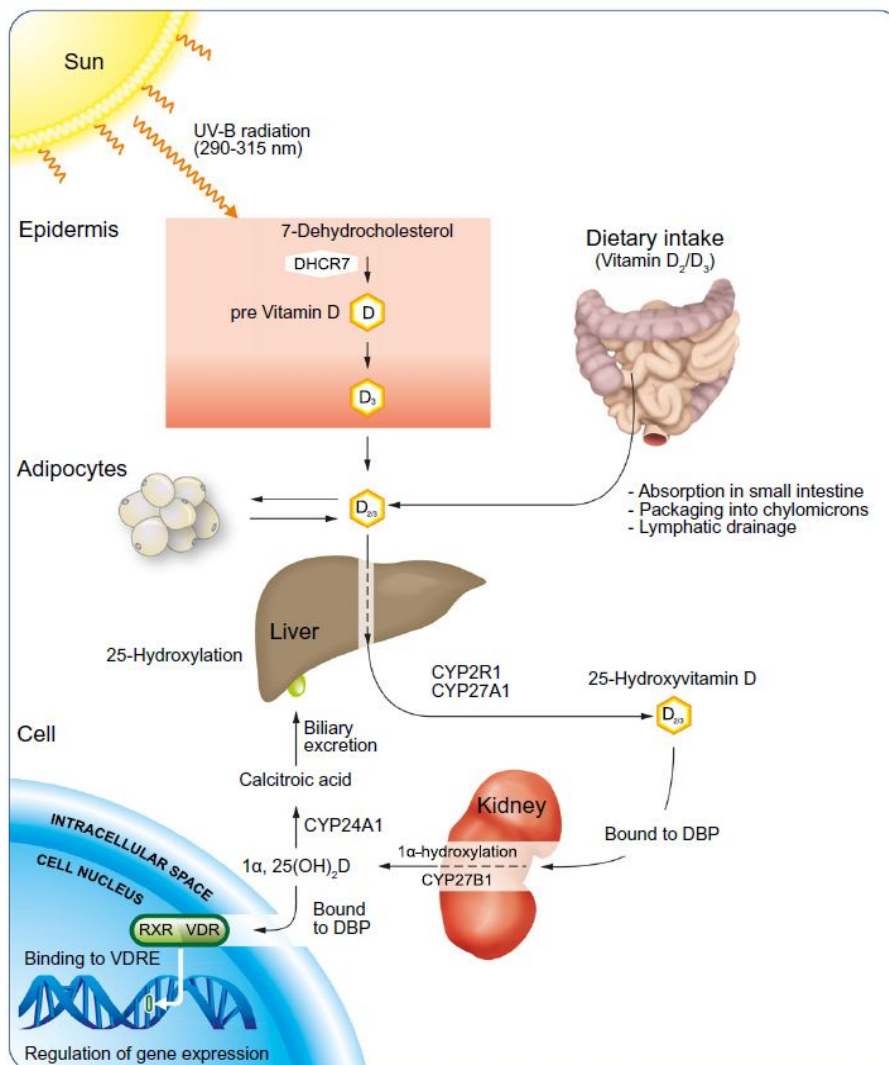
$1,25$ (OH)₂D je ligand koji aktivira vitamin D receptor (VDR). VDR potom formira heterodimer sa retinoičnim X receptorom, kompleks koji figurira kao faktor transkripcije koji se veže za vitamin D responzivne elemente (*VDR response elements*) na promotor regiji ciljnih gena, slika 6.

1α -hidroksilacija je pod uticajem faktora kao što su serumski nivo fosfata i kalcijuma, paratireoidni hormon, *fibroblast growth factor 23* i genetski polimorfizam CYP27B1. $1,25$ (OH)₂D mehanizmom negativne povratne sprege snižava svoju sopstvenu sintezu i povećava ekspresiju 25-hidroksivitamin D-24-hidroksilaze (CYP24A1) enzima koji ga kataboliše do biološki inertne kalcitroične kiseline koja se ekskretuje u žuč [56].

Fibroblast growth factor 23 (FGF 23), koštanog porekla, utiče na formiranje Na/P kotransportera koji biva internalizovan u ćelije bubrega i tankog creva da bi se i na taj način suprimirala sinteza $1,25$ (OH)₂D. Efikasnost apsorpcije Ca u bubrezima kao i Ca i P u crevima raste u prisustvu $1,25$ (OH)₂D. Apsorpcija Ca u tankom crevu se povećava putem interrekcije vitamin D receptor-retinoična kiselina X receptor kompleksa (VDR-RXR) u smislu ekspresije epitelijalnih kalcijumskih kanala TRPV6 (*transient receptor potential cation channel*,

subfamily V, member 6) i kalcijum vezujućeg proteina kalbindina 9k (*calbindin 9K, calcium-binding protein (CaBP)*) [57].

Smanjeno stvaranje enzima 1-alfa hidroksilaze u bubrezima je pod uticajem fosfaturičnih peptida, tzv fosfatonina (pomenuti *fibroblast growth factor 23 (FGF23)* i *secreted frizzled related protein 4 (sFRP4)*) [58].



Slika 6. Sinteza i metabolizam vitamina D; Preuzeto iz [56]

Ekspresija VDR postoji u većini ćelija i tkiva, uključujući jetru, pankreas i neke imune ćelije uključujući monocite, makrofage, T i B limfocite, NK (*natural killer*) ćelije i dendritične ćelije, sa abundantnom ekspresijom u epitelijalnim ćelijama u gastrointestinalnom traktu. Kao faktor transkripcije aktiviran od strane 1,25(OH)₂D, VDR direktno ili indirektno reguliše ekspresiju više od 200 gena koji utiču na ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu, imunomodulaciju i angiogenezu.

Vitamin D deficijencija je kada je serumski nivo 25(OH)D < 50 nmol/l. Nivo između 75 i 125 nmol/l se smatra optimalnim jer PTH raste kada je 25(OH)D < 75 nmol/l.

Jetra je ključni organ u sintezi 25(OH)D. To je mesto gde nastupa 25-hidroksilacija i gde se sintetise DBP. 25(OH)D je pokazatelj saturacije organizma vitaminom D. Kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre prevalenca insuficijencije vitamina D (<75 nmol/l) je skoro univerzalna, a deficijencija vitamina D (<50 nmol/l) je prisutna u oko 2/3 obolelih. Kod bolesnika sa cirozom jetre prevalenca teške vitamin D deficijencije (<25 nmol/l) raste

proporcionalno smanjenju sintetske funkcije jetre, odnosno težine same ciroze. U teškoj disfunkciji jetre smanjuje se i sinteza DBP [59, 60].

1.4.4. Dejstva i efekti vitamina D

Aktivan metabolit vitamina D $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ispoljava sledeća dejstva:

- genomski, preko VDR (vitamin D receptora). VDREs (*Vitamin D receptor response elements*) su detektovani u nekoliko stotina gena uključenih u fundamentalne ćelijske procese
- negenomski, preko PMR (plazma membranskog receptora) i sekundarnih glasnika kao što je ciklični adenozin monofosfat (cAMP) i MAP kinaza pri čemu je odgovor veoma brz i uključuje efekat na pankreas, glatke mišiće krvnih sudova i monocite [58].

Vitamin D utiče na mnoge zdravstvene aspekte. Ima značajne biološke funkcije. Efekti mu mogu biti:

- kalcemični: ciljna tkiva su crevo, bubreg i kost
- nekalcemični: uticaj na karcinogenezu, imunološke funkcije, autoimune bolesti, kardiovaskularne bolesti [61, 62]

Dejstvo vitamina D na osteoblaste:

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ je neophodan za mineralizaciju kostiju i to postiže:

1. indirektno, putem kontrole apsorpcije Ca iz creva i povećane reapsorpcije Ca u bubrezima
2. direktno, dejstvom na osteoblaste, preko njihovog VDR

Dejstvo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ na osteoblaste putem VDR

VDR pripada grupi nuklearnih ćelijskih receptora. Vitamin D se veže za VDR receptor, koji se onda heterodimerizuje sa receptorom retinoične kiseline, nastaje heterodimer koji se potom vezuje za vitamin D responzivne elemente na DNK da bi se regulisala ekspresija gena.

VDR je prisutan na osteoblastima i njegova ekspresija može biti regulisana putem $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (homologna povećana regulacija), ili drugim faktorima kao što su PTH, kortikosteroidi, TGF- β (*transforming growth factor- β*) i EGF (*epidermal growth factor*).

Otkrivena su mnoga mesta povećanja aktivnosti na VDR promoteru osteoblasta. CAMP responzivni element vezujući protein (*Cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein*) vezuje se za VDR promotor regiju i može biti potencijalno objašnjenje za heterologno povećanje VDR ekspresije na osteoblastima indukovano PTH.

RUNX2 je ključni faktor transkripcije u diferencijaciji osteoblasta. Interakcija VDR i RUNX2 je značajna za regulaciju ekspresije osteokalcina i osteopontina od strane osteoblasta.

U odnosu na regulaciju homologne povećane ekspresije VDR na osteoblastima, u slučaju njene ekstremne aktivacije, dolazi do povećanog stvaranja 24-hidroksilaze i degradacije $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, ali proces ne vodi direktno do inaktiviranja vitamin D molekule. $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ još uvek utiče na metabolizam kosti.

Iako prisustvo VDR na osteoblastima omogućava direktno dejstvo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ na osteoblaste, većina ovih efekata se odvija u prisustvu drugih faktora kao što su hormoni (PTH, kortizol), faktori rasta (TGF- β , IGF-1, EGF, hepatocitni faktor rasta, interferon) i drugi signalni molekuli kao što je PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) ligand i Wnt signalni put [63].

Dejstvo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ na proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta i efekat na mineralizaciju kosti

- $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ utiče na proliferaciju osteoblasta, ćelijski vijabilitet, apoptozu i procese vezane za ćelijski ciklus.

- 1,25(OH)₂D je regulator metabolizma i funkcije kosti tako što u osteoblastima dovodi do stimulacije stvaranja proteina koštanog matriksa (kolagena, osteopontina, osteokalcina, matriksnog Gla proteina) i aktiviranja alkalne fosfataze uključene u mineralizaciju.
- 1,25(OH)₂D je u interakciji sa Wnt signalnom kaskadom koja reguliše diferencijaciju osteoblasta. 1,25(OH)₂D povećava i β-katenin signalni put u osteoblastima.

Dakle, 1,25(OH)₂D stimuliše formiranje i mineralizaciju kosti. Na mineralizaciju utiče preko efekta na osteoblaste, ali je efekat indirektan, u smislu procesa pripreme okruženja (ekstraćelijskog matriksa) za mineralizaciju.

U skorašnjim istraživanjima konstatovan je značaj microRNA (miRNA)-637 i miRNA-1228 u procesu diferencijacije humanih osteoblasta stimulisane od strane 1,25(OH)₂D [64, 65].

- 1,25(OH)₂D stimuliše diferencijaciju osteoblasta i mineralizaciju, ali istovremeno stimuliše i stvaranje (ekspresiju) inhibitora diferencijacije osteoblasta i mineralizacije, kao što je aktivin A, u osteoblastima. Pretpostavlja se da ova uloga ima za cilj sprečavanja preterane mineralizacije.
- Follistatin je blokator aktivina A i povećava 1,25(OH)₂D stimulisanu mineralizaciju.
- Osim regulacije formiranja kosti, 1,25(OH)₂D utiče i na resorpciju kosti preko ekspresije (na osteoblastima) regulatora formiranja osteoklasta kao što su RANKL i osteoprotegerin. Odnos između 1,25(OH)₂D stimulisanog formiranja kosti i indukcije stvaranja regulatora resorpcije kosti, sa respektom diferencijacije osteoblasta, je još uvek nejasan. Postavlja se pitanje, da li 1,25(OH)₂D reguliše ove procese u različitim stadijumima diferencijacije osteoblasta? [63].

Dejstvo 1,25(OH)₂ na osteoblaste putem membranskih receptora

Osim klasičnog dejstva 1,25(OH)₂D na osteoblaste putem VDR, postoji i dejstvo putem membranskih receptora za 1,25(OH)₂D prisutnih na osteoblastima.

Ovaj receptor je poznat kao 1,25D3MARSS (*1,25D3 membrane associated rapid response-binding protein*) ili kao Pdia3 (*protein-disulfide isomerase-associated 3*), poznat i kao ERp60, ERp57 il Grp58. Ima ulogu u brzom odgovoru na dejstvo 1,25(OH)₂D.

Na kraju, hipotetiše se da se i lokalno, u osteoblastima, mogu stvarati 1-α hidroksilaza (CYP27B1), čak i vitamin D 25-hidroksilaza (CYP2R1 i CYP3A4), kao i receptori za vitamin D *binding protein*, što bi sve omogućilo lokalnu sintezu 1,25(OH)₂D (u samoj kosti), ali to bi se još moralo definitivno dokazati. Ako bi se sve sagledalo sa tog aspekta, moglo bi se zaključiti da je kompletan vitamin D endokrini sistem prisutan na osteoblastima omogućavajući autokrine i parakrine efekte na kost i kostnu srž [63].

Kalcemični efekti vitamina D

Bez vitamina D, resorbuje se samo 10-15% dijetarnog kalcijuma (Ca) i oko 60% fosfora (P). Interakcijom 1,25-dihidroksivitamina D i vitamin D receptora raste efikasnost intestinalne apsorpcije kalcijuma na 30-40%, a fosfora na oko 80%.

U slučaju insuficijencije vitamina D postoji značajno smanjenje apsorpcije Ca u tankom crevu. Kao posledica hipokalcemije nastaje povećana sekrecija parathormona (PTH). PTH stimuliše bubrege na stvaranje 1,25-dihidroksivitamina D i povećava tubularnu apsorpciju Ca u bubrežima. PTH takođe aktivira osteoblaste koji stimulišu transformaciju preosteoklasta u zrele osteoklaste [66, 67].

Vitamin D ima veliku ulogu u normalnom kuplovanju procesa remodeliranja kosti, delujući i na osteoblastnu i na osteoklastnu funkciju. Pospešuje diferencijaciju osteoblasta i mineralizaciju osteoida. Stimuliše i ekspresiju RANKL-a, a inhibira produkciju osteoprotegerina od strane osteoblasta, promovišući osteoklastogenezu.

Serumski nivo 25-hidroksivitamina D je direktno povezan sa mineralnom gustinom kosti, sa maksimalnom gustinom koja se postiže kada je nivo vitamina 100 nmol/l [68, 69].

Deficijencija vitamina D dovodi do sekundarnog hiperparatireoidizma. Međutim, to nije pravilo. Na primer, u hipomagnezijemiji je PTH često normalan i kada nivo 25-hidroksivitamina D padne ispod 50 nmol/l. Inače, PTH povećava metabolizam 25-hidroksivitamina D u 1,25-dihidroksivitamin D, što dalje povećava vitamin D deficijenciju [70].

PTH takođe uzrokuje fosfaturiju što dovodi do nisko-normalnog ili sniženog nivoa fosfora. Bez adekvatnog jonskih koncentracija kalcijuma i fosfora mineralizacija kolagenog matriksa je smanjena, uzrokujući rahitis kod dece i osteomalaciju kod odraslih. Kod osteoporoze nema bolova u kostima, a osteomalacija je udružena sa izolovanim ili generalizovanim bolom u kostima [71].

Nekalcemični efekti vitamina D

Mnoga tkiva, posebno komponente imunog sistema i različiti epitelni imaju sposobnost ekspresije 1α -hidroksilaze i lokalne sinteze $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (autokrino stvaranje). U ovoj situaciji eksprimuje se i 24-hidroksilaza i kao rezultat toga lokalno stvoreni $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ se odmah po ispoljenoj aktivnosti degradira i ne ulazi u cirkulaciju. Lokalna koncentracija $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ za omogućavanje funkcije određenih tkiva je veća nego što je tipična serumska koncentracija $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

U slučaju autokrine sekrecije, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ služi kao konekcija između ekstraćelijskih stimulusa i genomskog odgovora. Naime, mnoga tkiva imaju virtuelne proteine, enzime i signalne molekule koji nisu stvoreni, ali imaju svoj otisak u DNA ćelijskog jedra. Kada su ćelije tih tkiva izložene ekstraćelijskim stimulusima ili signalima koji od njih očekuju odgovor u vidu nekog proteina ili enzima, one "otvaraju biblioteku" DNA otisaka da nađu ogovarajući za datu situaciju, nastaje transkripcija enkodirane informacije i sinteza traženog proteina. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ služi kao ključ koji otvara zaključane rezerve DNA informacija. Bez vitamina D mogućnost ćelije da adekvatno odgovori na fiziološke i patološke signale je oštećena.

To objašnjava zašto većina telesnih epitela, čije ćelije se relativno brzo obnavljaju, koriste vitamin D kao signal za transkripciju proteina koji regulišu ćelijsku diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu. Količina lokalno stvorenog $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zavisi od serumske koncentracije njegovog prekursora $25(\text{OH})\text{D}$. Serumska koncentracija $25(\text{OH})\text{D}$ je ključni faktor za osiguravanje funkcionisanja različitih sistema kojima je neophodan vitamin D kao deo njihovog signalnog aparata [72].

Vitamin D u ćelijama i tkivima koja imaju vitamin D receptor kao što su kolon, prostata i dojka, kontroliše gene bitne za ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju. Ako ćelija postane maligna $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ može indukovati apoptozu i sprečiti angiogenezu smanjujući potencijal preživljavanja maligne ćelije [73].

Vitamin D ima ulogu u regulaciji imunog sistema preko uticaja na funkciju T-helper limfocita (Th-1), dendritičkih ćelija i regulatornih T limfocita. Dovodi do smanjenje Th-1 vođenog autoimunog odgovora što je značajno u sprečavanju nastanka i ublažavanju kliničke slike kod multiple skleroze, reumatoidnog artritisa, inflamatornih bolesti creva i tipa 1 šećerne bolesti [74, 75].

Vitamin D dovodi do proliferacije i diferencijacije mišićnih ćelija i sledstvenog povećanja mišićne snage [76, 77].

Putem negativne regulacije gena za renin umanjuje rizik od hipertenzije. Povećava kontraktilnost miokarda. U masnom tkivu inhibiše stvaranje faktora adipogeneze, kao što je aktivator peroksizoma, te sprečava pojavu metaboličkih poremećaja tipa insulinske rezistencije, tipa 2 šećerne bolesti, masne jetre, ateroskleroze [78, 79, 80, 81].

Vitamin D je takođe moćni imunomodulator. Monociti i makrofagi izloženi lipopolisaharidu ili bacilu *Mycobacterium tuberculosis* povećavaju stepen regulacije gena za vitamin D receptor i gena za 25(OH)D-1 α -hidroksilazu. Na taj način se povećava stvaranje 1,25(OH)₂D što rezultuje sintezom kateholicidina, peptida sposobnog da uništi *Mycobacterium tuberculosis*, kao i druge infektivne agense [82].

Vitamin D utiče na nivo pro-apoptičnih proteina (bax, bak) i/ili anti-apoptičnih proteina (bcl-2, bcl-XL) dovodeći sam proces u ravnotežu. Vitamin D indukuje apoptozu u u određenim ćelijskim linijama karcinoma kolona, nezavisno od p53. Vitamin D aktivira kaspaze raznim mehanizmima, ali u pojedinim slučajevima indukuje apoptozu kaspaza nezavisnim mehanizmima.

Vitamin D/VDR signalni put ima važnu ulogu u kontroli rasta normalnih tkiva. Vitamin D vrši supresiju rasta hiperplastičnih tkiva. Na primer: deficit vitamina D rezultuje u hiperplaziji paratireoidnih žlezda, a primena vitamina D inhibira ćelijski rast u paratireoidnim žlezdama. Ključni faktor u paratireoidnoj hiperplaziji je povećana ekspresija TGF α (*transforming growth factor- α*) i njegovog receptora EGFR (*epidermal growth factor receptor*). Vitamin D inhibira paratireoidni ćelijski rast smanjujući ekspresiju i TGF α i EGFR a povećavajući ekspresiju p21waf1 i p27kip1 koji su inhibitori progresije ćelijskog ciklusa. Indukcija CaSR (kalcijum osetljivih receptora) vitaminom D ima ključnu ulogu u povećanju osetljivosti ćelija paratireoideje na inhibiciju rasta putem kalcijuma.

Vitamin D indukuje diferencijaciju mnogih benignih i malignih ćelija. U nekim ćelijskim sistemima smanjuje proliferaciju i indukuje diferencijaciju, ali ovi procesi ne nastupaju uvek zajedno, naime ponekad smanjuje proliferaciju bez uticaja na diferencijaciju ćelija, a ponekad indukuje diferencijaciju bez alteracije ćelijskog rasta.

Postoji interreakcija vitamina D sa ostalim faktorima transkripcije i ćelijskim signalnim sistemima, kao što su: androgeni i estrogeni receptor, IGF- 1, TGF β i Wnt/beta-catenin/TCF signalni put [83, 84].

Ljudi koji žive na većim geografskim širinama imaju povećan rizik za Hodgkinov limfom, kao i karcinome kolona, pankreasa, prostate, jajnika i dojke. Seumski nivo 25(OH)D < 50 nmol/l je povezan sa 30-50% povećanim rizikom za pojavu karcinoma kolona, prostate i dojke, kao i sa povećanim mortalitetom od ovih karcinoma [85, 86].

Život na većim geografskim širinama i nedovoljan unos vitamina D povećava rizik od tipa 1 šećerne bolesti, multiple skleroze i Kronove bolesti. Suplementacija vitaminom D smanjuje rizik za pojavu navedenih bolesti. Isto je zapaženo i za reumatoidni artritis, a kod dece za pojavu tipa 1 šećerne bolesti [87, 88, 89, 90, 91].

Nedostatak vitamina D povezan je i sa šizofrenijom, depresijom i plućnim bolestima [prvenstveno hroničnim opstruktivnim bolestima pluća]. Zapažen je uticaj geografske širine na sezonske afektivne poremećaje [92, 93, 94].

1.4.5. Status vitamina D

Serumske vrednosti 25(OH)D odražavaju status vitamina D, odnosno egzogeno uneti vitamin D2 i D3 i endogeno stvoreni vitamin D3. Imunometrijskim analizama meri se ukupni vitamin 25(OH)D, odnosno i vitamin D2 [25(OH)D₂] i vitamin D3 [25(OH)D₃]. Merenje 1,25(OH)₂D ne treba nikad koristiti za dijagnostiku deficijencije vitamina D jer će njegov nivo biti normalan, ili čak povišen kao rezultat sekundarnog hiperparatireoidizma [54].

Postoje različita tumačenja dovoljnosti (adekvatnosti) statusa vitamina D, odnosno saturacije organizma vitaminom D izražene preko nivoa 25(OH)D. Nivo 25(OH)D od 50 nmol/l, je ranije smatran dovoljnim za koštano zdravlje [95].

Danas je prihvaćeno stanje adekvatnosti kod nivoa 25(OH)D > 75 nmol/l, zbog dokazanog pozitivnog efekta na koštano-mišićni sistem [54, 96, 97].

Granicom adekvatnosti može se smatrati i nivo 25(OH)D od 80 nmol/l. Stepeni inadekvatnosti vitamina D se tada definišu kao: insuficijencija 50-80 nmol/l, deficijencija <50 nmol/l, blaga deficijencija 25-49 nmol/l, umereno teška 12,5 nmol/l do 24 nmol/l i teška deficijencija <12,5 nmol/l [59, 72, 98, 99]. Stavovi pojedinih autora o optimalnom nivou 25(OH)D prikazani su u Tabela 1.4.1.

Tabela. 1.4.1. Optimalni nivo 25(OH)D za koštano zdravlje; Preuzeto iz [99]

Istraživač	Optimalni nivo 25(OH)D	Oralna doza vitamina D3 potrebna da se postigne prosečni optimalni nivo 25(OH)D	
	(nmol/l)	µg/dan	IU/dan
Lips	50	10 - 15	400 - 600
Holick	75	25	1000
Heaney	80	40	1600
Meunier	75	20	800
Vieth	70	25	1000
Dawson-Hughes	80	25	1000

Koristeći ovu definiciju procenjuje se da 1 bilion ljudi širom sveta ima insuficijenciju ili deficijenciju vitamina D, odnosno 50-80% opšte populacije.

Ako su vrednosti date u ng/ml deficijencijom se smatra nivo 25(OH)D < 20 ng/ml (50 nmo/l), insuficijencijom nivo 21-29 ng/ml (52-72 nmol/l) a nivo ≥ 30 ng/ml kao suficijencija, sa optimalnim statusom 30-76 ng/ml.

Intoksikacija vitaminom D zapaža se kada je serumski nivo 25-hidroksivitamina D > 374 nmol/l (150 ng/ml) [56, 100, 101].

Ranija definicija insuficijencije koju je dala SZO definisala je insuficijenciju vitamina D kao nivo 25(OH)D < 20 ng/ml (< 50 nmo/l) a deficijenciju kao nivo < 10 ng/ml (< 25 nmo/l) [8].

Nivo 25(OH)D je u obrnutoj proporciji sa parathormonom, sve dok se nivo vitamina D ne podigne na nivo od 75-100 nmol/l.

Intestinalni transport Ca povećava se sa 45% na 65% pri povećanju bazičnog nivoa 25-hidroksivitamina D sa 50 nmol/l na 80 nmol/l. Nivo 25(OH)2 veći od 80 nmol/l više ne povećava intestinalnu apsorpciju Ca. Serumaska koncentracija 25(OH)D je možda važnija od povećanog unosa Ca za obezbeđivanje poželjnih vrednosti PTH i metabolizma Ca [102].

1.4.5.1. Uzroci deficijencije vitamina D

1. Smanjena sinteza u koži:

- godišnje doba, geografska širina i doba dana (utiču na broj solarnih UVB fotona koji dolaze do zemlje zavisi od ugla sunčevog zenita, jer što je obliji manje UVB fotona doseže zemlju)
- zaštita od sunca (suncobrani, zaštitne kreme)
- kožni pigment (apsorpcija UVB zraka od strane melanina, zato su osobe tamnije kože podložnije deficijenciji vitamina D)
- starenje (redukcija 7-dehidroholesterola u koži)
- bolesnici sa opekotinama i kožnim graftovima

2. Smanjena biološka dostupnost:

- malapsorpcija, gde zbog oštećenja crevnog epitela ili smanjenja u apsorpciji masti postoji smanjenje apsorpcije liposolubilnih vitamina (Kronova bolest, celijakija, Whippleova bolest, cistična fibroza, pankreasna insuficijencija, holestaza)
 - gojaznost (povećana sekvestracija vitamina D u telesnoj masti)
3. Povećan katabolizam:
- lekovi (antikonvulzivi, kortikosteroidi, HAART; vezuju se za steroidne receptore, aktivira se destrukcija vitamina D do inaktivne kalcitrične kiseline)
4. Dojenje (mali sadržaj vitamina D u humanom mleku)
5. Smanjena sinteza 25(OH)D:
- bolesti jetre (kod 90% oštećenja jetre) oštećenje hepatičke hidroksilacije vitamina D
6. Povećan urinarni gubitak 25(OH)D:
- nefrotski sindrom: 25(OH)D vezan za *vitamin D binding protein* se gubi urinom
7. Smanjena sinteza 1,25(OH)₂D:
- hronična bubrežna insuficijencija sa razvojem konsekvantnog hiperparatireoidizma i renalne osteodistrofije
8. Stečeni poremećaji:
- primarni hiperparatireoidizam: povećan nivo PTH uzrokuje povećano pretvaranje 25(OH)D u 1,25(OH)₂D
 - hipertireoidizam: ubrzan metabolizam 25(OH)D
 - granulomatozne bolesti: konverzija makrofagima 25(OH)D u 1,25(OH)₂D [54].

1.4.5.2. Indikacije za određivanje statusa vitamina D

Skrining vitamin D deficijencije sprovodi se kod osoba kod kojih se ona očekuje. Kao marker statusa vitamina D u organizmu vrši se određivanje 25(OH)D.

Određivanje statusa vitamina D potrebno je kod sledećih bolesti i stanja [54]:

- rahitis
- osteomalacija
- hronična bolest bubrega
- hepatička insuficijencija
- malapsorptivni sindromi (IBD, celijakija, cistična fibroza)
- hiperparatireoidizam
- lekovi: antikonvulzivi, kortikosteroidi, lečenje AIDS-a, ketokonazol, holestiramin)
- etničke grupe: Afro-Amerikanci i Hispano-Amerikanci
- trudnoća i laktacija
- stare osobe sa istorijom padova i fraktura
- gojaznost (BMI > 30 kg/m²)
- granulomatozne bolesti (sarkoidoza, tuberkuloza)
- određeni tipovi limfoma

1.4.6. Suplementacija vitaminom D

100 IU/d (2,5 µg/dan) vitamina D povećava 25(OH) D za 2,5 nmol/l (1 ng/ml). Efektivnost Vitamina D₂ je svega 30% od efektivnosti vitamina D₃ u postizanju i održavanju serumskog nivoa 25(OH)D [72].

U odnosu na status vitamina D optimalnim se smatra serumski nivo 25(OH)D >80 nmo/l koji se obezbeđuje dnevnom metaboličkom utilizacijom 4000 IU vitamina D. Od toga se hranom obezbeđuje samo 5-10%, a ostalo mora biti stvoreno sunčanjem, a ako to nije slučaj nastaje stanje suboptimalne koncentracije 25(OH)D.

Obzirom da 100 IU dodatno unetog vitamina D u vidu suplemenata povećava serumski nivo 25(OH)D za 2,5 nmol/l (1 ng/ml), bolesnicima sa startnim nivoom 25(OH)D 37,5 nmol/l (15 ng/ml) neophodno je aproksimativno 1500 IU/d da bi podigli serumski nivo 25(OH)D do nivoa 75 nmol/l (30 ng/ml). Individualni odgovor na suplementaciju je varijabilan.

Suplementi sa vitaminom D2 su manje potentni od suplemenata sa vitaminom D3. Oba vitamina se apsorbiraju iz creva i podležu 25-hidroksilaciji u jetri jednako efikasno, međutim nakon toga vitamin D2 potencira aktivnost 24-hidroksilaze što vodi do povećane metaboličke degradacije unetog suplementa vitamina D2 i endogeno stvorenog D3.

Suplementacija kalcitriolom, odnosno 1,25(OH)₂D vitaminom se ne sprovodi jer se u tom slučaju povećava metabolički klirens 25(OH)D i ne omogućava dovoljna serumska koncentracija ovog ključnog metabolita. Serumski koncentracija 1,25(OH)₂D je generalno nedovoljna za omogućavanje autokrinog dejstva vitamina D. Biološki poluzivot 1,25(OH)₂D je kratak [72].

1.4.6.1. Strategija suplementacije vitaminom D

Preporuke dijetarnog unosa vitamina D [97] kod pacijenata koji imaju rizik za deficijenciju vitamina D (osvrst samo na kategoriju značajnu za sadašnje istraživanje) su sledeće:

- odraslima 50-70 godina, kao i onima preko 70 godina neophodno je najmanje 600-800 IU/dan vitamina D za postizanje maksimalnog koštanog zdravlja i funkcije mišića. Da li su te doze dovoljne i za neskeletni pozitivan uticaj ovog vitamina na zdravlje, za sada nije definitivno utvrđeno.
- da bi se postigao i održavao status vitamina D 75 nmol/l (> 30 ng/ml) može biti potrebno 1500-2000 IU vitamina D/dan.
- preporuka je da je gornja tolerabilna granica unosa vitamina D koja se ne sme prekoračiti bez medicinskog nadzora 4000 IU/dan za ovu dobnu grupu. Samo za korekciju deficijencije vitamina D mogu se koristiti veće doze (10000 IU/dan).

Preporuke suplementacije vitaminom D [97] kod pacijenata koji imaju deficijenciju vitamina D:

- Preporučuje se da sve odrasle osobe koje su vitamin D deficijentne budu lečene sa 50000 vitamina D jednom nedeljno tokom 8 nedelja ili sa
- 6000 IU vitamina D dnevno dok se ne postigne nivo vitamina D preko 75 nmol/l (30 ng/ml) kada treba primeniti dozu održavanja od 1500-2000 IU/dan.
- Kod gojaznih pacijenata, onih sa malapsorpcijom i onih koji uzimaju lekove sa efektom na metabolizam vitamina D preporučuju se veće doze 6000-10000 IU/dan za lečenje deficijencije vitamina D, odnosno postizanje nivoa od 75 nmol/l, a potom terapija održavanja 3000-6000 IU/d.
- Za sprečavanje rekurentne vitamin D deficijencije preporuka je: 50000 IU vitamina D jednom nedeljno svake druge nedelje ili 100000 IU vitamina D svaka četiri meseca.

U slučaju izostanka terapijskog odgovora razmišljati o pridruženim bolestima ili o komplikacijama i adherenciji bolesnika na lek [97].

DRI (*Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*) je sistem za kvantifikaciju unosa nutrienata, determinisan od strane medicinskog Instituta (IOM) i američke Akademije nauka. Obuhvata procenjene prosečne dnevne potrebe, preporučene dnevne doze i gornje granice unosa nutrienata koje se odnose na zdrave osobe.

Preporuke dijetarnog unosa vitamina D i kalcijuma za muškarce 51-70 godina [103, 104]:

- Procenjena prosečna dnevna potreba (*Estimated Average Requirement*) EAR je 400 IU vitamina D/dan i 800 mg Ca/dan.
- Preporučena dnevna doza (*Recommended Dietary Allowance*) RDA je 600 IU vitamina D/dan i 1000 mg Ca/dan.
- Gornja granica unosa (*Upper Level Intake*) je 4000 IU vitamina D/dan i 2000 mg Ca/dan.

Kod odraslih osoba koje se smanjeno izlažu suncu preventivne doze suplementacije vitaminom D3 su 800-1000 IU/ml, kod bubrežne insuficijencije 1000 IU/dan, kod nefrotskog sindroma, gojaznosti, u trudnoći i laktaciji 1000-2000 IU/dan, a kod malapsorptivnih sindroma smatraju se sigurnim i doze do 10000 IU/dan tokom pet meseci praćenja [105].

Još u drugoj polovini prošlog veka podstaknuta prepoznavanjem hepatičke osteodistrofije rađena su istraživanja statusa i suplementacije deficijencije vitamina D u hroničnim bolestima jetre sa ili bez prisutnih metaboličkih bolesti kostiju. Međutim, ova istraživanja su bila mnogo više zastupljena u holestatskim bolestima jetre, naročito u primarnoj bilijarnoj cirozi (PBC) [106-115] u odnosu na alkoholnu cirozu i alkoholnu bolest jetre [116-120].

Međutim, aktuelni vodiči nemaju jasno definisane stavove o potrebi određivanja statusa vitamina D kod hepatoloških bolesnika, kao i o terapiji njegovog deficita. Status vitamina D određuje se sporadično, a suplementacija se najčešće sprovodi empirijski. Pojedini autori periodično određuju status vitamina D kod ovih bolesnika i ukoliko je serumski nivo 25(OH)D < 75 nmol/l vrše suplementaciju sa 5000 IU vitamina D3 na dan, ili sa 50000 vitamina D2 ili D3 jednom nedeljno tokom tri meseca, a potom primenjuju 1000 IU/dan u neodređenom vremenskom periodu [121].

Prirodna "suplementacija": oprezno izlaganje suncu (ekscesivno se izbegava zbog rizika od opekotina i karcinoma kože) može obezbediti adekvatnu količinu vitamina D3, koji se deponuje u masnom tkivu i oslobađa tokom zime, kada se vitamin D3 ne može stvarati. Ekspozicija ruku i nogu 5-30 minuta (u zavisnosti od doba dana, godišnjeg doba, geografske širine i pigmentacije kože) između 10 sati pre podne i 3 sata posle podne dva puta nedeljno, je često dovoljno.

Intoksikacija vitaminom D

Intoksikacija vitaminom D je ekstremno retka, nastaje peroralnim unosom ekstremno visokih doza. Doze veće od 50000 IU/dan povećavaju nivo vitamina D na više od 374 nmol/l i asocirane su sa hiperkalcemijom i hiperfosfatemijom.

Toksičnost vitaminom D nije zapažena kod dnevnog unosa <30000 IU/dan u prolongiranom vremenskom periodu, niti kod doza do 50000 IU/dan tokom 1-5 meseci. Gornjom granicom dnevne suplementacije mogla bi se smatrati doza od 10000 IU/dan, prema istraživanjima u kojima se navodi da doze od 10000 IU/dan tokom pet meseci ne uzrokuju toksičnost [105, 122].

1.5. VITAMIN D I BOLESTI JETRE

Hronične bolesti jetre (*chronic liver disease* CLD) se definišu kao procesi dugotrajne, progresivne destrukcije i regeneracije jetre, pri čemu sa napredovanjem bolesti progredira hepatička fibroza i finalno nastaje ciroza jetre. Pogoršanje funkcije jetre udruženo je sa pojavom hepatičkih komplikacija (ascites, hepatorenalni sindrom, spontani bakterijski peritonitis, krvareći variksi jednjaka, hepatocelularni karcinom...).

Hepatička osteodistrofija je važna ekstrahepatička komplikacija uznapredovale bolesti jetre.

Prevalenca statusa vitamina D u CLD <50 nmol/l je 64-92% i najčešće je u obrnutoj proporciji sa progresijom bolesti jetre. Intervencijske studije sa suplementacijom vitaminom D dovode do poboljšanja statusa vitamina D i funkcije jetre.

Iako je jasno dokazana asociranost između bolesti jetre i statusa vitamina D, postoji nedoumica da li deficijencija vitamina D povećava rizik za nastanak i težinu bolesti jetre, ili bolest jetre uzrokuje deficijenciju vitamina D [123].

Visoka prevalenca vitamin D deficijencije kod ovih bolesnika je nezavisna od etiologije [124].

Vitamin D deficijencija je kada je serumski nivo 25(OH)D < 50 nmol/. Nivo između 75 i 125 nmol/l se smatra optimalnim jer PTH raste kada je 25(OH)D < 75 nmol/l. Nivo između 50 i 75 nmol/ smatra se insuficijencijom [56, 100].

Kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre prevalenca insuficijencije vitamina D (<75 nmol/l) je skoro univerzalna, a deficijencija vitamina D (<50 nmol/l) je prisutna u oko 2/3 obolelih. 68% bolesnika sa alkoholnom bolešću jetre ima deficijenciju vitamina D.

Kod bolesnika sa cirozom jetre prevalenca teške vitamin D deficijencije (<25 nmol/l) raste proporcionalno smanjenju sintetske funkcije jetre, odnosno težine same ciroze. U teškoj disfunkciji jetre smanjuje se i sinteza DBP.

Međutim, očekivani porast PTH kod statusa vitamina D < 75 nmol/l, kod obolelih od ciroze jetre nema linearan odnos. Kod ovih bolesnika sekundarni hiperparatireoidizam čak nije konzistentan sa statusom vitamina D [59, 60].

Vitamin D se u jetri konvertuje 25-hidroksilazom koja pripada familiji citohroma P450 i definisana je kao CYP2R1. Vitamin D vezan je na aktivnom mestu kristalne strukture ovog enzima. Enzim podjednako metaboliše vitamin D2 i D3. Velike genetske studije faktora koji mogu uticati na cirkulišući nivo 25(OH)D identifikovale su humani hromozomski 11p15 lokus za CYP2R1 ali lokusi za ostale enzime sa 25-hidroksilaznom aktivnošću (CYP27A1 and CYP3A4) nisu identifikovani. Ostale determinante serumskog 25(OH)D osim CYP2R1 su DBP (Gc protein), potom 7-dehydrocholesterol reduktaza i CYP24A1. Povećan unos vitamina D rezultuje porastom 25(OH)D iako verovatno ne linearno [125, 126, 127].

Kada je status vitamina D optimalan, smanjuje se ekspresija COL1A (kolagen 1a), TGF- β (*Transforming growth factor- β*), α -SMA (*α -smooth muscle actin*), IL-6 (interleukin-6) i PDGFR (*platelet degradation growth factor*) profibrotičnih i proinflamatornih citokina. Na taj način se mogu smanjiti hepatska fibroze i inflamacija.

Nezavisno od težine bolesti jetre, bitno je i smanjeno izlaganje suncu kao i neadekvatan unos vitamina D. Čak i ako je eventualno dovoljan unos, luminalna apsorpcija vitamina D može biti smanjena zbog intestinalnog edema koji komplikuje portnu hipertenziju, kao i zbog nemogućnosti formiranja micela sa žučnim kiselinama u slučajuolestaze.

Kod hroničnog hepatitisa C je visoka prevalencija vitamin D deficijencije koja može uticati na terapijski odgovor. U ovoj bolesti dokazana je i korelacija statusa vitamina D sa histološkim promenama. Kod deficijencije vitamina D je veći stepen hepatske nekroinflamacije, kao i uznapredovala fibroza koja i brže progredira [128].

Bolesnici sa genotipom 1 u hroničnom C hepatitisu imaju snižen serumski nivo 25(OH)D, moguće zbog smanjene ekspresije CYP27A1 u tkivu jetre. Nizak vitamin D je povezan sa težinom nekro-inflamatorne aktivnosti i teškom fibrozom.

Postoji ista dilema kao generalno kod CLC, da li u teškoj nekroinflamaciji izazvanoj HCV infekcijom, prvo nastaje smanjena ekspresija CYP27A1, a potom sniženje 25(OH)D koji je onda u korelaciji sa dve prethodne stavke, ili je vitamin D sam po sebi faktor koji pogoršava fibrozu. Poznato je da vitamin D preko interakcije sa VDR, štiti od oksidativnog stresa, utiče na migraciju, proliferaciju i ekspresiju gena na fibroblastima i redukuje inflamatornu i fibrogenu aktivnost zvezdastih ćelija jetre. Vitamin D predstavlja nezavisan

negativan faktor rizika za SVR (*sustained virological response*) na terapiju interferonom [129].

Interleukin-28B (IL-28B) rs12979860 C/T polimorfizam i serumska koncentracija vitamina D su komplementarni prediktori SVR u lečenju *treatment-naive* bolesnika sa hroničnim hepatitisom C [130].

Kod nealkoholne masne bolesti jetre (*Non-alcoholic fatty liver disease*) - NAFLD zapaženo je da nivo vitamina D opada 1,3 nmol/l za svaki 1 kg/m² porast u BMI (*body mass index*) [131].

Kod osoba koje imaju normalan status vitamina D je za dve trećine niža prevalenca metaboličkog sindroma, nego kod osoba koje imaju snižen nivo vitamina D [132].

Kod bolesnika sa NAFLD snižen serumski nivo 25(OH)D je asociran sa težinom histoloških promena (stepen steatoze, nekroinflamacije i fibroze) nezavisno od drugih faktora kao što su dob, pol, rasa, sezona kada je vršeno merenje, BMI, dijabetes, bubrežne bolesti, periferne vaskularne bolesti, bolesti jetre i hipertenzija. Kod NAFLD su neophodne prospektivne studije sa suplementacijom vitaminom D da bi se determinisao njegov uticaj na razvoj i progresiju NAFLD [133, 134].

1.5.1. Značaj Vitamin D receptora u bolestima jetre

Vitamin D-VDR osovina je značajna za brojne ćelijske i tkivne aktivnosti. Postoji rastuća tendencija da se istraži ova osovina u hepatičkoj fiziologiji i patofiziologiji. Molekularni mehanizam kojim ova osovina utiče na jetru tek treba da bude definisan.

Hepatociti su ćelije sa malom ekspresijom VDR, ali ekspresija VDR postoji u neparenhimskim ćelijama jetre.

Stvaranje vitamina D je proces pod kontrolom hormona, kao i dijetarnog Ca i P. Vitamin D reguliše svoju sopstvenu sintezu direktnim smanjivanjem aktivnosti 1 α -hidroksilaze i inhibicijom dejstva PTH. PTH kontroliše stvaranje 1,25(OH)₂D indukcijom ekspresije renalne 1 α -hidroksilaze cAMP zavisnim mehanizmom. Povišen nivo serumskog Ca direktno suprimira ekspresiju i aktivnost 1 α -hidroksilaze. Ca indirektno reguliše ekspresiju 1 α -hidroksilaze putem snižavanja nivoa PTH. Povišen serumski nivo P smanjuje ekspresiju i aktivnost 1 α -hidroksilaze mehanizmom koji je nezavisan od Ca i PTH. Kad raste serumski nivo P, raste i FGF23, pa bi efekat fosfata na sintezu vitamina D mogao biti posredovan FGF23-Klotho osovinom.

Metabolizam vitamina D može biti lokalno regulisan putem proinflamatornih signala poreklom monocita i makrofaga. Produkti bakterija ili INF- γ indukuju ekspresiju 1 α -hidroksilaze u ovim ćelijama, što rezultuje lokalnim stvaranjem 1,25(OH)₂D. Aktivni vitamin D tada kontroliše sposobnost monocita i makrofaga da izbegnu ekscesivni inflamatorni odgovor urođenog imuniteta autokrinim mehanizmom. Ova lokalna produkcija vitamina D nema uticaja na cirkulišući nivo vitamina D, osim u patološkim stanjima kao što su granulomatozne bolesti.

Obzirom da je skoro 90% svih tkivnih makrofaga locirano u jetri, hepatička produkcija vitamina D može biti od lokalnog značaja u zapaljenskim bolestima jetre.

Homeostaza vitamina D je regulisana i putem kataboličke kontrole. 1,25(OH)₂D indukuje ekspresiju kataboličkog enzima, 24-hidroksilaze (CYP24A1). Ekspresija i aktivnost 24-hidroksilaze se smanjuje dejstvom PTH a povećava pri povećanom nivou serumskog fosfata. Produkti aktivnosti 24-hidroksilaze su biološki neaktivni i izlučuju se u obliku kalcitrične kiseline.

25(OH)D i 1,25(OH)₂D cirkulišu u serumu vezani za VDB koji se stvara u jetri.

Biološki efekti $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ su uglavnom odvijaju putem VDR. Ekspresija VDR postoji u svim glavnim ciljnim tkivima za vitamin D, kao što su kost, bubreg, crevo, ali takođe i koža, imunološke ćelije i neparenhimalne ćelije jetre.

VDR pripada NR1I familiji, podrpi superfamilije nukleranih hormonskih receptora. VDR ima četiri velika domena, od kojih je jedan ligand vezujući, drugi je domen za heterodimerizaciju retinoid X receptora (RXR), treći je DNA vezujući domen za vitamin D responzivne elemente, a četvrti domen je za VDR koregulatore. Kada se vitamin D veže za VDR, VDR formira heterodimer sa RXR koji se vezuje za DNA, i uz pomoć koaktivatora nastaje transkripcija $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ciljnih gena.

Osim za genomska dejstva vitamina D, VDR je potreban i za rapidna, negenomska dejstva na hloridne i kalcijumske kanale $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ na osteoblastima. VDR je lokalizovan i na plazma membranama na ćelijama creva, pluća, bubrega i osteoblastima, gde se efikasno veže $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Ipak, rapidna dejstva $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ista su i na $\text{VDR}^{+/+}$ i na $\text{VDR}^{-/-}$ osteoblastima ukazujući da VDR ipak nije neohodan za većinu vitamin D rapidnih dejstava [135].

Drugi mebranski receptor za vitamin D je $1,25\text{D}_3\text{MARRS}$ (*membrane associated rapid response steroid binding protein*) koji vezuje $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sličnim afinitetom kao VDR. Ovaj receptor bi mogao biti odgovoran za brza negenomska dejstva vitamina D [136].

VDR je izražen u skoro svim imunim ćelijama i zahvaljujući tome moguće je imunoregulatorno dejstvo D vitamina. Deluje tako što inhibira stvaranje T-helper (Th1) produkujućih citokina, a promoviše one Th2 subtipa. Potom, vitamin D inhibira diferencijaciju dendritičnih ćelija što takođe rezultuje u smanjenju Th1 ćelijskog odgovora. U navednom se ogleda uticaj vitamin D-VDR osovine u autoimunim bolestima jetre. U autoimunom hepatitisu (AIH) i primarnoj bilijarnoj cirozi (PBC) identifikovan je VDR polimorfizam, koji je u PBC asociran i smanjenjem BMD. Ćelije bilijarnog epitela kao i zvezdaste ćelije jetre ekspresuju veliki nivo VDR. Ovo poslednje ukazuje da VDR polimorfizam ne utiče samo na susceptalitet za bolest nego i na komplikacije bolesti [137 - 141].

U patogenezi hroničnih virusnih hepatitisa uzazvanih B i C virusom (HBV i HCV) ključna je uloga celularnog imuniteta. Nizak serumski nivo vitamina D korelira sa težinom inflamacije i fibroze u ovim bolestima. Međutim, do sada nije evidentirana genetska asocijacija između VDR polimorfizma i HCV infekcije. Serumaska koncentracija DBP je obrnuto proporcionalna sa razvojem fibroze kod bolesnika sa HCV. Smanjenje cirkulišuć DBP ukazuje na smanjenu aktivnost vitamin D-VDR osovine kod ovih bolesnika [129, 142].

Kod HBV opisana je udruženost VDR polimorfizma sa susceptalitetom na bolest i sa njenim kliničkim tokom, kod bolesnika u Aziji, Africi i na srednjem Istoku. HBV i HCV hronične infekcije su veliki faktor rizika za razvoj hepatocelularnog karcinoma (HCC) [143, 144].

Kod HCC na terenu alkoholne ciroze uočena je značajna povezanost između VDR polimorfizma i bolesti. Vitamin D smanjuje proliferativni kapacitet transformisanih hepatocita. VDR ekspresija je povećana i kod holangiokarcinoma u komparaciji sa normalnim bilijarnim tkivom. Stepenu bilijarne VDR ekspresije je proporcionalan stepenu tumorske diferencijacije i preživljavanju bolesnika [145, 146].

U PBC aktivacija vitamin D-VDR osovine može biti od terapijskog interesa. VDR ekspresija se može povećati primenom ursodeoksiholne kiseline (UDCA). Zbog svega navedenog vitamin D bi se mogao koristiti u terapiji bolesti jetre [147, 148, 149].

1.5.2. Vitamin D u alkoholnoj cirozi jetre

Kod alkoholne bolesti jetre snižen status vitamina D je asociran sa stepenom oštećenje jetre. Kod alkoholne ciroze (AC) jetre najniži status je kod najtežih stepena oštećenja (po Child-Pugh i MELD skor), a korelira i sa stepenom portne hipertenzije prema vrednostima HVPG (*hepatic venous pressure gradient*). Status vitamina D < 25 nmol/l je značajno povezan sa povećanjem mortaliteta u AC, pa se teška deficijencija vitamina D može uvrstiti u prognostičke parametre težine i prognoze AC [150].

Povećan nivo TNF α koji postoji u alkoholnoj bolesti jetre je takođe udružen sa težinom i mortalitetom kod AC. Alkohol inače favorizuje proinflatornu kaskadu koja dovodi do imune disregulacije i neadekvatnog imunološkog odgovora na stimulaciju.

Eksperimentalne studije su dokazale da 1 α 25(OH) $_2$ D može suprimirati oslobađanje TNF α .

U AC jetre vitamin D može služiti kao prognostički biomarker, ali i kao terapijska meta u lečenju osnovne bolesti jetre. Status vitamina D može biti prediktor dekompenzacije i mortaliteta bolesnika sa cirozom jetre [150, 151].

Iako je inadekvatni status vitamina D u pozitivnoj korelaciji sa težinom bolesti jetre, uočeno je da nije praćen poremećajem u metabolizmu kalcijuma i fosfata, što se može objasniti apsorpcijom ovih minerala iz kosti. Međutim, obzirom da ga ne prati povišenje PTH, konstatuje se vitamin D-PTH paradoks. Moguće objašnjenje bi mogao biti VDR genski polimorfizam koji može indukovati supresiju sekrecije PTH. U "tupom" PTH odgovoru na deficijenciju vitamina D figurira i značaj Mg insuficijencije. Deficijencija Mg inhibira sintezu PTH putem smanjenja Mg zavisne enzimske aktivnosti u ovom procesu. Treće objašnjenje je poremećaj u regulaciji PTH sinteze na nivou transkripcije PTH gena i stabilnosti PTH mRNA. Problem može biti i na nivou Ca osetljivih receptora u paratireoidnim žlezdama [70, 98].

1.5.3. Suplementacija vitaminom D u hroničnim bolestima jetre

Uprkos dobro poznatoj činjenici o prisustvu deficijencije vitamina D u hroničnim bolestima jetre, nema dovoljno prospektivnih studija koje determinišu odgovor na standardnu suplementaciju vitaminom D.

Pojedini autori su bolesnicima sa CLD i suboptimalnim statusom vitamina D davali ergokalciferol (vitamin D $_2$) u dozi do 1000 IU/dan ili holekalciferol (vitamin D $_3$) u dozi od 50 mcg (2000 IU/dan). Oralna suplementacija vitaminom D rezultovala je porastom 25(OH)D za 41% kod blage, a 141% porasta kod teške deficijencije. Ukupni porast u vrednostima 25(OH)D za deficijentne bolesnike iznosio je 60% tokom perioda praćenja od 4 meseca. kod bolesnika koji nisu primali suplementaciju jer nisu imali deficijenciju konstatovan je pad u vrednostima 25(OH)D za 25%, iz čega implicira neophodnost suplementacije vitaminom D kod svih bolesnika sa CLD (152).

Zbog navedenog preporučuje se inicijalno određivanje statusa vitamina D kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre i cirozom jetre, i kod nivoa < od 75 nmol/l uvođenje suplementacione terapije sa 5000 IU holekalciferola dnevno (ili sa 50000 IU ergokalciferola ili holekalciferola nedeljno) tokom tri meseca, a potom 1000 IU/dan u periodu neodređene dužine (121).

Deficijencija vitamina D prediktor nepovoljnog odgovora na antivirusni tretman rekurentnog hepatitisa C (RHC). Vitamin D suplementacija povećava verovatnoću postizanja stabilnog virusološkog odgovora (SVR) nakon antivirusnog tretmana [153].

Dodavanje suplementacije vitaminom D 2000 IU/dan tokom 24 nedelje konvencionalnoj Peg/RBV terapiji tretman naivnim bolesnicima sa hroničnom HCV genotip 1

infekcijom značajno popravlja virusni odgovor, odnosno tok i ishod lečenja. Isto je ustanovljeno i za bolesnike sa genotipom 2 i 3 hronične hepatitis C infekcije [154, 155].

Suplementacija sa tri doze 120000 IU vitamina D3 (primena svake doze je jednom u dve nedelje) poboljšava postprandijalnu insulinsku senzitivnost kod bolesnika sa insulinskom rezistencijom [156].

Primena 4000 IU vitamina D3 na dan tokom 6 meseci povoljšava status vitamina D i smanjuje insulinsku rezistenciju (IR). Optimalna koncentracija vitamina D za smanjenje IR je 80-119 nmol/l [157].

Bolesnici sa alkoholnom cirozom jetre često pokazuju lošu adherenciju na primenjivane lekove. Zato pojedini autori smatraju efektivnijom suplementaciju vitaminom D koja se daje u jednoj velikoj dozi, sa dugim dejstvom leka. Poboljšanje statusa vitamina D dovodi do poboljšanja Child-Pugh skora [158].

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi nivo vitamina D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre
2. Ispitati metaboličku aktivnost kosti i mineralnu gustinu kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre
3. Utvrditi efekte suplementacije sa 1000 IU (internacionalnih jedinica) vitamina D3 na dan tokom godinu dana u odnosu na metaboličku aktivnost kosti i mineralnu gustinu kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre

2.2. OSNOVNE HIPOTEZE OD KOJIH SE U ISTRAŽIVANJU POLAZI

1. Kod dve trećine bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre postoji deficijencija vitamina D povezana sa stepenom disfunkcije jetre
2. Bolesnici sa alkoholnom cirozom jetre imaju poremećenu metaboličku aktivnosti kosti uz dominaciju smanjenog formiranja kosti i smanjenje mineralne gustine kosti
3. Suplementacija sa 1000 IU vitamina D3 na dan tokom godinu dana dovodi do poboljšanja metaboličke aktivnosti kosti i mineralne gustine kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre

3. MATERIJAL I METODE

3.1. UZORAK

U istraživanje je uključeno 70 bolesnika muškog pola sa dijagnozom alkoholne ciroze jetre postavljenom na osnovu klasičnih kliničkih kriterijuma. Doprinosni dijagnostički kriterijumi bili su prisustvo portne hipertenzije u vidu ezofago-gastričnih variksa ustanovljenih prilikom ezofagogastroduodenoskopije, kao i izmenjena morfološka struktura jetre karakteristična za cirozu konstatovana radiološki (ultrazvučnim pregledom i/ili kompjuterizovanom tomografijom abdomena). Uključivani su ambulantni i hospitalni bolesnici, ukoliko je njihovo fizičko i mentalno stanje to dozvoljavalo.

U istraživanje nisu uključivani bolesnici sa aktuelnim krvarenjem iz variksa jednjaka i želuca, bolesnici sa manifestnom hepatičkom encefalopatijom, hepatorenalnim sindromom, spontanim bakterijskim peritonitisom i septični bolesnici, bolesnici koji imaju hroničnu bolest jetre druge etiologije, kao i oni za koje je procenjeno da neće apstinirati u odnosu na uzimanje alkohola.

Takođe, nisu uključivani bolesnici sa malignitetima, hroničnom bubrežnom insuficijencijom, ekstrahepatičkim oboljenjima koja utiču na poremećaj metabolizma kosti i minerala, kao i bolesnici koji uzimaju preparate kalcijuma i D vitamina, bisfosfonate, kalcitonin, antivirusnu terapiju, antikonvulzive, antipsihotike, imunosupresive, heparin, i oni koji su u periodu od godinu dana pre uključivanja u studiju najmanje tri meseca bili na kortikosteroidnoj terapiji, ili aktuelno uzimaju navedene lekove.

Ovi bolesnici (primarni uzorak) su u radu nazvani: Grupa bolesnika koja je uključena u istraživanje (1).

3.2. DIZAJN ISTRAŽIVANJA

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna intervencijska studija sa primenom suplementacije vitaminom D u toku godinu dana kod bolesnika uključenih u istraživanje, i praćenjem efekata suplementacije na metabolizam kosti, mineralnu gustinu kosti i funkciju jetre. Primenjivan je holekalciferol 1000 IU/dan. Oblik leka je bilo ulje, kapi za oralnu primenu, 10 ml, 20000 IU/ml.

Bolesnici su imali četiri pregleda: prilikom uključivanja, potom posle tri, šest i dvanaest meseci od početka istraživanja. Pre ulaska u studiju popunjavali su informacioni pristanak.

3.3. PROMENE ISPITIVANE GRUPE - gubici bolesnika ("*drop out*")

Tokom prve hospitalizacije, nakon nje ili nakon prvog ambulantnog pregleda (P1) došlo je do smrtnog ishoda kod sedam bolesnika (10%). Od toga je kod tri bolesnika došlo do pojave naglog pogoršanja bolesti jetre - ACLF (*Acute on chronic liver failure*). Kod dva bolesnika nastupile su nekontrolisane komplikacije portne hipertenzije, od toga kod jednog abudantno variksno krvarenje, a kod drugog hepato-renalni sindrom tip 1. Jedan bolesnik je preminuo zbog posledica rupture umbilikalne hernije, a jedan je imao kardijalnu smrt.

Na drugu kontrolu se tri bolesnika nije javilo zbog nedostatka interesa za dalje istraživanje, a tri iz nepoznatih razloga (sa suspektnim nastavljanjem abusus alkohola). Ukupan gubitak bolesnika iznosio je 13.

Nakon drugog pregleda (P2) dolazi do smrtnog ishoda kod jednog bolesnika zbog pojave ACLF, a dva bolesnika odustaju od daljeg istraživanja. Gubitak je bio 3 bolesnika.

Nakon trećeg pregleda (P3) dolazi do smrtnog ishoda kod dva bolesnika pod slikom ACLF. Dva bolesnika se iz nepoznatih razloga nisu javili na četvrtu kontrolu. Gubitak je bio 4 bolesnika.

Ukupan gubitak bolesnika od početka istraživanja do četvrtog pregleda (P4) bio je dvadeset. U prethodnom tekstu je navedeno koliko je bolesnika stiglo do pojedinih tačaka studije.

Obzirom na veličinu uzorka, prvi, opservacioni deo, istraživanja odnosi se na Grupu bolesnika koja je uključena u istraživanje (1) i završila prvi predviđen pregled.

Pedeset bolesnika je završilo kompletno istraživanje po predviđenom protokolu i oni se zbog realizacije svih pregleda i ponovljenih merenja tokom celog perioda suplementacije vitaminom D posmatraju kao posebna grupa bolesnika koja je nazvana: Grupa bolesnika koja je završila istraživanje (2).

3.4. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

Na početku istraživanja izvršen je uvid u raniju medicinsku dokumentaciju, a od bolesnika su uzimani anamnestički podaci: glavne tegobe i sadašnja bolest, trajanje bolesti jetre, dosadašnje komplikacije bolesti jetre i dosadašnji broj hospitalizacija. Takođe su uzimani podaci o ranijim i udruženim bolestima, kao i lekovima koje bolesnik uzima. Lična anamneza je detaljno uzimana u odnosu na količinu, vrstu i period uzimanja alkoholnih pića, kao i period apstinencije (jedno alkoholno piće sadrži 10 g čistog alkohola, što je sadržano u 0,3 dl žestokog alkoholnog pića, 100 ml vina, 250 ml piva). Bolesnici su anketirani o navici pušenja, uzimanja kafe i fizičkoj aktivnosti koja je klasifikovana na umerenu (svaki dan hodanje bar dva km), rekreativnu (bicikl, trčanje, dva-tri puta nedeljno u trajanju od pola sata), i nepostojeću. Na osnovu pitanja o dnevnom unosu mleka i mlečnih proizvoda <0,5 l ili >0,5 l vršena je aproksimativna procena o unosu kalcijuma ishranom (250 ml mleka i oko 100g mlečnih proizvoda sadrže 300mg Ca). Bolesnici su se izjašnjavali o boravku na suncu tokom dana.

Fizikalnim pregledom procenjivano je opšte stanje bolesnika, prisustvo/odsustvo ikterusa, hemoragijskog sindroma, encefalopatije, ascitesa i perifernih edema, palpatorni nalaz na jetri i slezini. Mereni su obim trbuha, telesna visina i telesna težina, a za bolesnike bez ascitesa i edema izračunavan je indeks telesne mase - BMI (*Body mass index*).

Prilikom sva četiri pregleda (P) koji su predstavljali sledeće tačke studije:

- P1: uključivanje bolesnika i započinjanje suplementacije vitaminom D
- P2: pregled posle tri meseca suplementacije vitaminom D
- P3: pregled posle šest meseci suplementacije vitaminom D
- P4: pregled posle dvanaest meseci suplementacije vitaminom D

rađene su standardne laboratorijske analize, analize funkcije jetre, parametara metabolizma kosti i statusa vitamina D. Na početku (P1) i na kraju istraživanja (P4) vršeno je merenje mineralne gustine kosti. Prilikom svakog pregleda bolesnici su stratifikovani prema Child-Pugh klasifikaciji u klasu A, B i C.

3.4.1. Laboratorijske analize

Prilikom svakog od četiri pregleda vršeno je uzimanje uzorka venske krvi za laboratorijske analize.

Određivanje 25-hidroksi vitamina D [25(OH)D], parathormona (PTH), osteokalcina, CrossLaps-a vršeno je na automatizovanom aparatu Elecsys 2010 (ECLIA metoda) uz korišćenje komercijalnih setova firme COBAS-Roche Diagnostics. Na aparatu Architect c8000 firme Abbott sa originalnim reagensima firme Abbott određivane su serumske koncentracije: alkalne fosfataze (ALP); ukupnog i direktnog bilirubina; aspartat aminotransferaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT) i gamaglutamiltranspeptidaze (GGT), ureje i kreatinina, albumina, ukupnih proteina, gvožđa, kalcijuma (Ca), magnezijuma (Mg), fosfora (P), kalijuma (K), natrijuma (Na), hlora (Cl), glikemije i C reaktivnog proteina (CRP). Jonizovani kalcijum određivan je na aparatu Ilyte indirektnom metodom jon selektivne elektrode. Ukupni kalcijum je korigovan prema formuli: korigovani Ca (mmol/l) = izmereni Ca + (40 - albumini (g/l)) x 0,02.

Protrombinsko vreme (PT), aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (APTT), trombinsko vreme (TT) i fibrinogen (Clauss) određivani su koagulometrijski na aparatu: Automatizovani koagulometar (ACL9000) Instrumentation laboratory korišćenjem originalnih reagenasa iste firme. INR (International Normalised Ratio) odgovara dobijenom ratio (R) za PT obzirom da je za ACL aparat International Sensitivity Index = 1.

Sedimentacija eritrocita (SE) je određivana je metodom po Westergreenu, a kompletna krvna slika (KKS) kvantitativno na aparatu CELL-DYN Sapphire, firme Abbott.

Prilikom prvog pregleda, kod 30 bolesnika urađena je analiza polnih hormona (testosteron, estradiol, folikulostimulišući FSH i luteinizirajući LH hormon) imunometrijski CMIA metodom, a koncentracija IGF-1 određena je enzimskim imuno-esejem (EIA).

Serumske vrednosti 25(OH)D odražavaju status vitamina D, odnosno egzogeno uneti vitamin D2 i D3 i endogeno stvoreni vitamin D3. Referentne vrednosti su 30-150 nmol/l. Status vitamina D u radu je definisan kao adekvatan kada je serumska koncentracija 25(OH)D bila >80 nmol/l, a kao inadekvatan kada je bila <80 nmol/l. Stepeni inadekvatnosti vitamina D definisani su kao: insuficijencija 50-80 nmol/l, deficijencija <50 nmol/l, sa kategorijom blage 25-49 nmol/l, i objedinjenom kategorijom umereno teške i teške deficijencije <25 nmol/l [59, 72, 98, 99].

Metabolizam kosti procenjivan je na osnovu određivanja osteokalcina, kao markera formiranja kosti (referentne vrednosti 21-41 ng/ml), CrossLapsa kao markera razgradnje kosti (160-504 pg/ml). Određivan je i nivo parathormona (15-65 pg/ml), kao i serumska koncentracija minerala (kalcijuma, fosfora i magnezijuma).

3.4.2. Osteodenzitometrija

Osteodenzitometrija je rađena metodom dvostruke X zračne apsorpcionometrije (DXA) aparatom Lunar Prodigy, na regiji lumbalne kičme (L1-L4), vratu femura i regiji kuk ukupni.

SZO je 1994. definisala osteoporozu kao smanjenje vrednosti mineralne gustine kosti (*Bone Mineral Density*) BMD na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku od 2,5 SD ili veće u odnosu na prosečnu vrednost za mladu odraslu populaciju zdravih žena bele rase (T skor \leq -2.5) za žene u postmenopauzi svih etničkih grupa. Ovi kriterijumi prihvataju se i za muškarce starije od 50 godina

Kod muškaraca mlađih od 50 godina i premenopauzalnih žena bez osteoporotičnog preloma osteoporozu se definiše Z skorom ukoliko je on \leq -2.

T skor između -1 i -2.5 SD, a Z skor između -1 i -2 SD predstavlja osteopeniju, tj predstadijum osteoporoze, a vrednosti veće od -1 SD uredan nalaz mineralne gustine kosti [2,16,17].

Prisustvo ascitesa ne utiče na DXA određivanje mineralne gustine kosti, što je dokazano merenjem BMD putem DXA pre i posle paracenteze [21].

Merenje telesne visine rađeno je antropometrom po Martinu sa preciznošću od 0,1 cm, a telesna težina je merena medicinskom decimalnom vagom sa pokretnim tegovima sa preciznošću do 0,1 kg. Za bolesnike bez ascitesa i edema izračunavan je indeks telesne mase (*Body mass index*) koji predstavlja kvantitativni odnos telesne težine izražene u kg i telesne visine izražene u m². Podela telesne uhranjenosti prema BMI: podhranjenost <18,5 kg/m², normalna uhranjenost 18,5-24,9 kg/m², prekomerna telesna masa 25-30 kg/m², gojaznost >30 kg/m².

3.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA I PREZENTACIJA REZULTATA

Nakon obavljenog ispitivanja izvršena je sistematizacija i kategorizacija podataka i formirana je baza podataka za svaku ispitanu osobu u programu EXCEL for Windows.

Za statističku obradu podataka korišćen je programski paket IBM SPSS 20 Statistics.

Za matematičko-statističku obradu podataka korišteni su deskriptivni prametri, srednja vrednost, standardna devijacija, minimum i maksimum svih vrednosti, varijansa, interval poverenja, mere asimetrije (*Skewness*), mere spljoštenosti (*Kurtosis*), vrednosti testa Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk.

Korišćene su statističke metode za testiranje značajnosti razlike:

- χ^2 neparametrijski statistički model za procenu značajnosti razlike na osnovu učestalosti, koji je primenjen na atributivna ili numerička neparametrijska obeležja i
- Studentov t test za procenu značajnosti razlike parametrijskih varijabli, između dve srednje vrednosti dva niza rezultata.

Pri testiranju hipoteze koristila se kritična vrednost p, pri čemu p<0,05 ukazuje na postojanje značajnosti.

Kruskal-Wallis test korišćen je kao neparametrijski metod za testiranje više od dva nezavisna uzorka, a kao njegov parametrijski ekvivalent analiza varijanse ANOVA. Od univarijantnih postupaka korišćen je i Pirsonov koeficijent korelacije.

Od multivarijantnih postupaka korišćena je MANOVA analiza.

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE UKLJUČENA U ISTRAŽIVANJE

4.1.1. Opšte karakteristike ispitivanih bolesnika

U istraživanje je uključeno 70 bolesnika muškog pola obolelih od alkoholne ciroze jetre. U Child-Pugh klasi A bio je 31 bolesnik, u klasi B bilo je 23, a u klasi C 16 bolesnika.

4.1.1.1. Tok bolesti do uključivanja u istraživanje

Vreme od postavljanja dijagnoze i započinjanja lečenja ciroze jetre do momenta uključivanja u istraživanje bilo je u proseku 4 godine (0-20 godina). 64,3% (45/70) ispitanika imalo je ranije hospitalizacije zbog osnovne bolesti, prosečno 2,3 (1-9) po bolesniku. 24,3% (17/70) ispitanika je imalo ranija varikсна krvarenja. Prosečan broj variksnih krvarenja po bolesniku je bio 2,3 (1-9). Variksi jednjaka, variksi jednjaka i kardije, kao i variksi jednjaka i želuca su bili prisutni kod 92,8% (65/70) bolesnika. Kod 44 bolesnika bili su I i II stepena, a kod 21 bolesnika III i IV stepena. 58,6% (41/70) ispitanika je imalo ranije dekompenzacije bolesti. Prosečan broj dekompenzacija po bolesniku bio je 1,8 (1-4).

4.1.1.2. Navike bolesnika

Bolesnici su alkohol konzumirali u proseku 25 (10-50) godina, 200 (80-450) g/dan.

Bilo je 47,1% (30/70) pušača i 52,8% (37/70) nepušača. Kafu je konzumiralo 35,7% (25/70) bolesnika, a 64,3% (45/70) nije. Najveći broj bolesnika je bio umereno fizički aktivan, njih 64,3% (45/70). Rekreativno aktivnih je bilo 17,1% (12/70), a 18,6% (13/70) bolesnika nije imalo nikakav vid fizičke aktivnosti. 70,0% (49/70) bolesnika unosilo je mleko i mlečne proizvode u količini manjoj od 0,5 litara na dan, a 30,0% (21/70) u količini većoj od navedene. Na suncu su boravili u proseku 3 (0-10) sata dnevno.

4.1.1.3. Vitamin D

Prosečne vrednosti nivoa vitamina D (pod nivoom vitamina D podrazumeva se serumska koncentracija 25-hidroksivitamina D [25(OH)D] kod ispitivanih bolesnika iznosile su $46,73 \pm 30,70$ nmol/l.

Kolmogorov-Smirnov test potvrdio je da uzorci vitamina D slede normalnu raspodelu, $p=0,0567$.

4.1.1.4. Starosna dob, uzimanje alkohola i neke karakteristike bolesti jetre ispitivanih bolesnika

Prosečna starost bolesnika bila je $56,6 \pm 6,97$ godina. Prosečan Child Pugh skor iznosio je $7,53 \pm 2,44$. Prosečna vrednost indeksa telesne mase (BMI - *body mass index*) računata samo za bolesnike bez ascitesa i perifernih edema iznosila je $27,59 \pm 3,57$ kg/m². Trajanje ciroze

jetre pre uključivanja u istraživanje bilo je u proseku $4\pm 4,71$ godina. Alkohol su bolesnici u proseku uzimali $25\pm 10,29$ godina, $200\pm 104,93$ g/dan. Period apstinencije pre ulaska u istraživanje iznosio je prosečno $1,5\pm 2,42$ godine.

Svaka pojedinačna promenljiva sledi normalnu raspodelu.

Rezultati t testa uparenih uzoraka u odnosu na vitamin D za svaku pojedinačnu promenljivu iz celine: starosna dob, uzimanje alkohola i neke karakteristike bolesti jetre, prikazane su u tabeli 4.1.1.

4.1.1.5. Metabolizam kosti i minerala

Prosečne vrednosti osteokalcina u grupi ispitivanih bolesnika iznosile su $16,13\pm 10,86$ ng/ml, CrossLapsa $470,49\pm 341,92$ pg/ml, parathormona (PTH) $38,87\pm 18,10$ pg/ml, ukupnog kalcijuma (Ca) $2,20\pm 0,19$ mmol/l, jonizovanog kalcijuma $1,01\pm 0,07$ mmol/l, fosfora (P) $1,05\pm 0,19$ mmol/l, magnezijuma (Mg) $0,76\pm 0,14$ mmol/l.

Svaka pojedinačna promenljiva sledi normalnu raspodelu.

Rezultati t testa uparenih uzoraka u odnosu na vitamin D za svaku pojedinačnu promenljivu iz celine parametara metabolizma kosti i minerala prikazani su u tabeli 4.1.2.

4.1.1.6. Opšte laboratorijske analize

U odnosu na krvnu sliku dobijene su sledeće vrednosti: prosečan broj leukocita (Lkc) iznosio je $6,16\pm 2,3$ 10^3 /uL, eritrocita (Erc) $3,9\pm 0,71$ 10^6 /uL, trombocita (Trc) $135\pm 66,88$ 10^3 /uL, a srednja koncentracija hemoglobina (Hgb) $123,82\pm 19,03$ g/l.

U odnosu na funkciju bubrega prosečne vrednosti ureje iznosile su $5,43\pm 2,85$ mmol/l, kreatinina $76,44\pm 20,76$ μ mol/l, mokraćne kiseline (acidum uricum) $376\pm 121,88$ μ mol/l.

Prosečne vrednosti holesterola bile su $3,96\pm 1,28$ mmol/l, a triglicerida $1,03\pm 0,42$ mmol/l, šećera u krvi (ŠUK) $6,69\pm 3,20$ mmol/l.

Prosečne vrednosti sedimentacije eritrocita (SE) iznosile su $34\pm 23,38$ (mm/h), a C reaktivnog proteina (CRP) $15,67\pm 19,28$ mg/l.

Svaka pojedinačna promenljiva sledi normalnu raspodelu.

Rezultati t testa uparenih uzoraka u odnosu na vitamin D za svaku pojedinačnu promenljivu iz celine opštih laboratorijskih analiza prikazani su u tabeli 4.1.3.

4.1.1.7. Laboratorijske analize funkcije jetre

Prosečne vrednosti bilirubina iznosile su $40,84\pm 36,22$ μ mol/l, albumina $34,59\pm 8,28$ g/l, protrombinskog vremena (PV *ratio*) $1,31\pm 0,27$, ukupnih proteina (UP) $68,8\pm 10,43$ g/l, aspartat aminotransferaze (AST) $50,9\pm 36,96$ U/l, alanin aminotransferaze (ALT) $29,9\pm 18,10$ U/l, gama glutamil transferaze (GGT) $147,6\pm 213,76$ U/l, alkalne fosfataze (ALP) $97\pm 44,16$ U/l.

Svaka pojedinačna promenljiva sledi normalnu raspodelu.

Rezultati t testa uparenih uzoraka u odnosu na vitamin D za svaku pojedinačnu promenljivu iz celine laboratorijskih analiza funkcije jetre prikazani su u tabeli 4.1.4.

4.1.1.8. Parametri mineralne gustine kosti

Prosečna mineralna gustina kosti (BMD) na lumbalnoj kičmi (L1-L4) iznosila je $1,160\pm 0,19$ g/cm², na vratu femura $0,960\pm 0,15$ g/cm² i kuku ukupno $1,030\pm 0,15$ g/cm².

Prosečan T skor na lumbalnoj kičmi iznosio je $-0,52\pm 1,59$, na vratu femura $-0,81\pm 1,14$, na kuku ukupno $-0,46\pm 1,17$.

Prosečan Z skor na lumbalnoj kičmi iznosio je $-0,47 \pm 1,61$, na vratu femura $-0,04 \pm 1,08$, na kuku ukupno $0,07 \pm 1,07$.

Svaka pojedinačna promjenljiva sledi normalnu raspodelu.

Rezultati t testa uparenih uzoraka u odnosu na vitamin D za svaku pojedinačnu promjenljivu iz celine parametara mineralne gustine kosti prikazani su u tabeli 4.1.5.

Tabela 4.1.1. Starosna dob, uzimanje alkohola i neke karakteristike bolesti jetre u odnosu na vitamin D kod ispitivanih bolesnika

Promenljiva	Min.	Maks.	Sr. vrednost	St. devijacija	Varijansa	Kurtosis	Skewness	p
vitamin D 30-150 nmol/l	8.00	153.00	46.73	30.70	942.64	1.08	1.14	0.056
dob	38.20	77.30	56.63	6.97	48.62	0.23	0.05	0.012
Child score	5.00	14.00	7.53	2.44	5.96	-0.25	0.80	<0.001
trajanje cir jetre	0.00	20.00	4.37	4.71	22.23	2.32	1.56	<0.001
godine uzim alc	10.00	50.00	25.19	10.29	105.86	-0.50	0.39	<0.001
alc g/dan	80.00	450.00	200.14	104.93	11010.12	-0.27	0.87	<0.001
apstin god	0.00	14.00	1.48	2.42	5.84	11.23	2.92	<0.001
BMI (ascites=none)	22.03	37.55	27.59	3.57	12.76	1.10	1.05	<0.001

Tabela 4.1.2. Parametri metabolizma kosti i minerala u odnosu na vitamin D kod ispitivanih bolesnika

Promenljiva	Min.	Maks.	Sr. vrednost	St. devijacija	Varijansa	Kurtosis	Skewness	p
vitamin D 30-150 nmol/l	8.00	153.00	46.73	30.70	942.64	1.08	1.14	0.056
crosslaps 160-504 pg/ml	72.00	1679.00	470.49	341.92	116908.08	3.84	1.93	<0.001
osteokalcin 21-41 ng/ml	3.10	63.20	16.13	10.86	117.98	4.89	1.86	<0.001
PTH 15-65 pg/ml	6.00	89.70	38.87	18.10	327.77	0.43	0.72	<0.001
Ca ukupni 2.2-2.7 mmol/l	1.74	2.61	2.20	0.19	0.04	-0.26	0.11	<0.001
Ca jonizovani 0.85-1.20 mmol/l	0.83	1.18	1.01	0.07	0.00	0.61	0.02	<0.001
Ca korigovani	1.88	2.61	2.33	0.13	.016	1.690	-0.410	<0.001
P 0.81-1.45 mmol/l	0.69	1.52	1.05	0.19	0.03	-0.09	0.17	<0.001
Mg 0.73-1.06 mmol/l	0.41	1.43	0.76	0.14	0.02	5.90	1.23	<0.001

Tabela 4.1.3. Opšte laboratorijske analize u odnosu na vitamin D kod ispitivanih bolesnika

Promenljiva	Min.	Maks.	Sr. vrednost	St. devijacija	Varijansa	Kurtosis	Skewness	p
vitamin D 30-150 nmol/l	8.00	153.00	46.73	30.70	942.64	1.08	1.14	0.056
urea 2,5-7,5 mmol/l	1.30	19.00	5.43	2.85	8.15	7.45	2.28	<0.001
kreatinin 30-127 μ mol/l	50.00	152.00	76.44	20.76	430.97	3.13	1.81	<0.001
ŠUK 3.9-6.1 mmol/l	3.40	23.00	6.69	3.20	10.23	10.79	2.91	<0.001
ac uricum 208-428 μ mol/l	179.00	700.00	376.01	121.88	14854.36	-0.18	0.65	<0.001
holesterol do 5,2 mmol/l	1.29	7.60	3.96	1.28	1.64	0.03	0.50	<0.001
trigliceridi do 1.5 mmol/l	0.36	2.05	1.03	0.42	0.18	-0.52	0.48	<0.001
SE <15	3.00	120.00	33.94	23.38	546.72	2.13	1.40	0.013
CRP 0-5 mg/l	0.10	90.00	15.67	19.28	371.62	4.56	2.02	<0.001
leukociti 4-10 10^3 /uL	2.00	12.60	6.16	2.30	5.27	-0.19	0.35	<0.001
eritrociti 4,2-6 10^6 /uL	1.94	5.42	3.90	0.71	0.50	0.22	-0.22	<0.001
Hgb 130-160 g/l	92.00	166.00	123.82	19.03	362.13	-0.66	0.29	<0.001
Trombociti 140-400 10^3 /uL	29.00	397.00	135.74	66.88	4472.75	2.57	1.27	<0.001

Tabela 4.1.4. Laboratorijske analize funkcije jetre u odnosu na vitamin D kod ispitivanih bolesnika

Promenljiva	Min.	Maks.	Sr. vrednost	St. devijacija	Varijansa	Kurtosis	Skewness	p
vitamin D 30-150 nmol/l	8.00	153.00	46.73	30.70	942.64	1.08	1.14	0.056
AST 5-37 U/l	13.00	205.00	50.91	36.96	1366.17	7.14	2.43	NS
ALT 5-40 U/l	10.00	116.00	29.96	18.10	327.46	7.53	2.27	<0.001
ALP 30-115 U/l	38.00	250.00	97.01	44.16	1950.16	2.49	1.44	<0.001
GGT 1-55 U/l	13.00	1658.00	147.63	213.76	45692.24	36.70	5.43	<0.001
bilirubin 3-21 μ mol/l	6.00	213.00	40.84	36.22	1312.02	6.32	2.04	NS
UP 60-80 g/l	30.00	90.00	68.81	10.43	108.85	2.44	-1.03	<0.001
albumin 41-51 g/l	19.90	55.20	34.59	8.28	68.51	-0.40	0.30	<0.001
PV 0.83-1.30	0.87	2.22	1.31	0.27	0.07	2.77	1.46	0.044

Tabela 4.1.5. Karakteristike mineralne gustine kosti (BMD) u odnosu na vitamin D kod ispitivanih bolesnika

Promenljiva	Min.	Maks.	Sr. vrednost	St. devijacija	Varijansa	Kurtosis	Skewness	p
vitamin D 30-150 nmol/l	8.00	153.00	46.73	30.70	942.64	1.08	1.14	0.056
BMD L1-L4 g/cm ²	0.743	1.596	1.160	0.19	0.04	-0.103	0.443	<0.001
L1-L4 T skor	-4.0	3.1	-0.52	1.59	2.53	-0.071	0.461	<0.001
L1-L4 Z skor	-4.1	3.0	-0.47	1.61	2.58	0.041	0.378	<0.001
BMD femur vrat g/cm ²	0.658	1.300	0.960	0.15	0.02	-0.650	0.213	<0.001
Femur vrat T skor	-3.2	1.8	-0.81	1.14	1.29	-0.614	0.197	<0.001
Femur vrat Z skor	-2.0	2.5	-0.04	1.08	1.17	-0.422	0.357	<0.001
BMD kuk ukupni g/cm ²	0.687	1.400	1.030	0.15	0.02	-0.461	0.121	<0.001
Kuk ukupni T skor	-3.1	2.4	-0.46	1.17	1.37	-0.516	0.078	<0.001
Kuk ukupni Z skor	-2.0	2.8	0.07	1.07	1.15	-0.427	0.229	<0.001
BMD total body g/cm ²	1.035	1.469	1.221	0.12	0.015	-0.929	0.260	<0.001

4.1.2. Kategorije nivoa vitamina D

4.1.2.1. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D

Izvršena je podela 70 ispitanika u četiri grupe prema kategorijama nivoa vitamina D. Pod nivoom (serumskom koncentracijom) vitamina D podrazumeva se koncentracija 25-hidroksivitamina D [25(OH)D]. Rezultati su prikazani u tabeli 4.1.6.

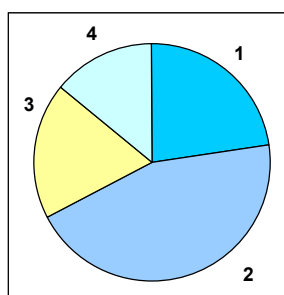
Na grafikonu 4.1.1. prikazan je broj i procenat ispitivanih bolesnika podeljenih u četiri grupe prema kategorijama nivoa vitamina D.

Iz tabele 4.1.6. i grafikona 4.1.1. se uočava da je u kategoriji bolesnika sa deficijencijom vitamina D (<50 nmol/l) bilo 67% bolesnika (44% u kategoriji blage a 23% u kategoriji umereno teške i teške deficijencije). 19% bolesnika je imalo insuficijenciju, a samo 14% adekvatan nivo vitamina D.

Tabela 4.1.6. Distribucija ispitivanih bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D

N = 70	Vitamin D			
	<50 nmol/l		>50 nmol/l	
	< 25 nmol/l umereno teška i teška deficijencija	25-49 nmol/l blaga deficijencija	50-80 nmol/l insuficijencija	> 80 nmol/l suficijencija
N	16	31	13	10
Ukupno	23%	44%	19%	14%
Sr. vrednost	15.56	35.77	66.69	104.60
Min.	8.00	25.00	50.00	82.00
Maks.	23.00	49.00	80.00	153.00
St.devijacija	4.68	8.07	9.90	20.13
Varijansa	21.86	65.18	98.06	405.38
Kurtosis	-0.90	-1.32	-1.25	3.52
Skewness	0.22	0.35	-0.40	1.59
p < 0.001				

*ANOVA



Legenda:

1	2	3	4
< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	50-80 nmol/l	> 80 nmol/l

Grafikon 4.1.1. Distribucija ispitivanih bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D

4.1.2.2. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara metabolizma kosti

U tabeli 4.1.7. prikazan je odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara metabolizma kosti kod ispitivanih bolesnika. Analizom varijanse (ANOVA) ustanovljena je statistička značajnost između kategorija vitamina D i ukupnog kalcijuma ($F(3,66)=5,31$; $p<0,001$), parathormona ($F(3,66)=3,61$; $p=0,02$) i CrossLapsa ($F(3,66)=3,81$; $p=0,01$).

Tabela 4.1.7. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara metabolizma kosti kod ispitivanih bolesnika

Vitamin D		PTH	osteokalc	crosslaps	Ca ukup	Ca jon	Ca corr	P	Mg
Umereno teška i teška deficijencija N = 16/70 (23%)	Sr. vrednost	49.88	16.08	680.75	2.06	1.02	2.28	1.01	0.77
	Min.	20.50	3.10	241.00	1.74	0.84	1.88	0.72	0.41
	Maks.	89.70	63.20	1679.00	2.40	1.18	2.54	1.34	1.43
	St. devijacija	23.04	16.90	496.32	0.19	0.10	0.17	0.16	0.22
	Varijansa	531.04	285.77	246331.40	0.03	0.01	0.03	0.03	0.05
Blaga deficijencija N = 31/70 (44%)	Sr. vrednost	37.67	15.64	455.39	2.20	1.00	2.34	1.06	0.77
	Min.	11.70	3.30	72.00	1.93	0.83	2.16	0.69	0.44
	Maks.	74.50	44.50	1467.00	2.61	1.10	2.61	1.52	1.04
	St. devijacija	16.17	8.14	279.10	0.19	0.05	0.11	0.20	0.13
	Varijansa	261.35	66.21	77897.11	0.03	0.00	0.01	0.04	0.02
Insuficijencija N = 13/70 (19%)	Sr. vrednost	36.30	13.52	283.23	2.31	1.01	2.38	1.06	0.78
	Min.	13.70	5.70	101.00	2.06	0.93	2.12	0.77	0.57
	Maks.	70.10	26.60	625.00	2.57	1.10	2.57	1.31	0.92
	St. devijacija	14.99	6.17	157.77	0.17	0.06	0.12	0.18	0.11
	Varijansa	224.64	38.04	24892.19	0.03	0.00	0.01	0.03	0.01
Suficijencija N = 10/70 (14%)	Sr. vrednost	28.29	21.14	424.30	2.24	1.00	2.29	1.11	0.73
	Min.	6.00	9.70	136.00	2.07	0.90	2.19	0.69	0.60
	Maks.	39.80	39.10	1028.00	2.35	1.11	2.36	1.31	0.85
	St. devijacija	10.14	10.88	245.96	0.09	0.07	0.05	0.18	0.08
	Varijansa	102.81	118.30	60494.90	0.01	0.00	0.00	0.03	0.01
p		0.02	NS	0.01	<.001	NS	NS	NS	NS

*ANOVA

Uočava se da su najveće vrednosti PTH kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D, a da sa porastom nivoa vitamina D opada nivo PTH. Srednje vrednosti PTH su u svim grupama, pa i u grupi bolesnika sa nivoom vitamina D < 25 nmol/l u okviru normalnih vrednosti.

Ukupni kalcijum je najniži kod bolesnika sa najnižim vrednostima vitamina D, a sa povećanjem vitamina D dolazi i do njegovog porasta. Najniže vrednosti ukupnog kalcijuma su kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D. U vrednostima korigovanog i jonizovanog kalcijuma nisu uočene promene u odnosu na kategorije nivoa vitamina D.

Vrednosti CrossLapsa opadaju sa porastom vitamina D, sem u kategoriji bolesnika sa suficijencijom vitamina D. Srednje vrednosti CrossLapsa su iznad gornje granice normale samo kod bolesnika koji imaju nivo vitamina D < 25 nmol/l.

4.1.2.3. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara funkcije jetre

U tabeli 4.1.8. prikazan je odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara funkcije jetre kod ispitivanih bolesnika. Analizom varijanse (ANOVA) ustanovljena je ustanovljena statistička značajnost između kategorija vitamina D i Child-Pugh skora ($F(3,66)=5,27$; $p=0,003$), albumina ($F(3,66)=5,12$; $p=0,003$) i GGT ($F(3,66)=3,0$; $p=0,04$).

Uočava se da je Child skor najveći kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D, a da opada sa povećanjem nivoa vitamina D.

Najniže vrednosti albumina su kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D. Sa povećanjem nivoa vitamina D dolazi i do porasta albumina.

Vrednosti GGT su najniže u kategoriji bolesnika sa blagom deficijencijom vitamina D.

Tabela 4.1.8. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara funkcije jetre kod ispitivanih bolesnika

Vitamin D		AST	ALT	ALP	GGT	bilirubin	PV	alb	Child score
Umereno teška i teška deficijencija N = 16/70 (23%)	Sr. vrednost	60.50	28.00	114.94	136.06	50.74	1.33	28.99	8.88
	Min.	30.00	11.00	51.00	17.00	12.90	1.03	19.90	6.00
	Maks.	173.00	58.00	250.00	370.00	125.00	1.81	39.70	12.00
	St. devijacija	36.61	13.97	56.10	104.29	34.42	0.20	5.49	1.86
	Varijansa	1340.27	195.20	3146.73	10876.06	1184.84	0.04	30.17	3.45
Blaga deficijencija N = 31/70 (44%)	Sr. vrednost	49.19	29.42	94.45	91.81	44.67	1.37	34.58	7.87
	Min.	15.00	10.00	44.00	13.00	7.00	0.87	20.00	5.00
	Maks.	205.00	116.00	244.00	334.00	213.00	2.22	52.00	14.00
	St. devijacija	43.98	21.78	43.50	77.15	42.71	0.32	8.40	2.80
	Varijansa	1934.23	474.38	1892.66	5952.83	1824.25	0.10	70.55	7.85
Insuficijencija N = 13/70 (19%)	Sr. vrednost	48.54	35.92	82.46	167.69	32.28	1.21	38.53	6.38
	Min.	13.00	16.00	43.00	23.00	6.00	0.93	24.30	5.00
	Maks.	97.00	89.00	133.00	591.00	89.00	1.83	53.00	11.00
	St. devijacija	28.41	18.34	27.35	171.14	29.78	0.24	7.66	1.76
	Varijansa	806.94	336.41	748.27	29287.40	886.75	0.06	58.73	3.09
Suficijencija N = 10/70 (14%)	Sr. vrednost	44.00	27.00	95.20	313.10	24.28	1.20	39.41	5.80
	Min.	21.00	15.00	38.00	42.00	9.00	1.00	30.00	5.00
	Maks.	91.00	43.00	174.00	1658.00	51.00	1.42	55.20	7.00
	St. devijacija	21.95	9.30	38.69	480.95	13.62	0.14	7.81	0.92
	Varijansa	482.00	86.44	1496.84	231312.10	185.63	0.02	61.04	0.84
p		NS	NS	NS	0.04	NS	NS	0.00	0.00

*ANOVA

4.1.2.4. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i drugih laboratorijskih parametara

Odnos između kategorija nivoa vitamina D i krvne slike, sedimentacije (SE) eritrocita i C reaktivnog proteina (CRP) kod ispitivanih bolesnika prikazan je u tabeli 4.1.9. Analizom varijanse (ANOVA) ustanovljena je statistička značajnost između kategorija vitamina D i CRP ($F(3,66)=4,69$; $p=0,005$) i kategorija vitamina D i broja eritrocita ($F(3,66)=3,07$; $p=0,03$). Između kategorija vitamina D i sedimentacije eritrocita ustanovljena je granična statistička značajnost ($F(3,66)=2,76$; $p=0,05$).

Uočava se da su najveće vrednosti CRP kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D, a da vrednosti CRP opadaju sa porastom nivoa vitamina D.

Konstatuje se porast broja eritrocita sa poboljšanjem nivoa vitamina D.

Sa porastom nivoa vitamina D opada i sedimentacija eritrocita, sem u u kategoriji insuficijencije vitamina D gde se uočava blago povećanje SE eritrocita.

Tabela 4.1.9. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i krvne slike, SE eritrocita i CRP kod ispitivanih bolesnika

Vitamin D		SE	Lkc	Erc	Hgb	Trc	CRP
umereno teška i teška deficijencija N = 16/70 (23%)	Sr. vrednost	46.75	7.1469	3.50	117.375	139.750	29.54
	Min.	15	3.87	2.30	93.0	71.0	1.4
	Maks.	120	11.00	4.30	140.0	282.0	90.0
	St. devijacija	25.583	2.01864	.58020	13.9660	60.6745	24.1489
	Varijansa	654.467	4.075	.337	195.050	3681.400	583.168
blaga deficijencija N = 31/70 (44%)	Sr. vrednost	27.77	5.6658	3.96	123.339	143.968	13.97
	Min.	7	2.00	2.48	92.0	33.0	0.1
	Maks.	80	10.00	5.20	166.0	397.0	87.4
	St. devijacija	18.395	2.01779	.66791	20.7410	80.5289	18.0083
	Varijansa	338.381	4.071	.446	430.190	6484.899	324.299
Insuficijencija N = 13/70 (19%)	Sr. vrednost	37.00	6.3777	3.95	131.000	129.000	10.00
	Min.	10	2.20	1.94	92.0	29.0	0.3
	Maks.	100	12.60	5.19	157.0	230.0	44.0
	St. devijacija	27.940	3.13807	0.88197	21.2838	62.3177	11.8883
	Varijansa	780.667	9.848	0.778	453.000	3883.500	141.331
Suficijencija N = 10/70 (14%)	Sr. vrednost	28.60	5.8450	4.29	126.300	112.610	6.06
	Min.	3	2.97	3.49	110.0	77.1	0.9
	Maks.	68	8.90	5.42	153.0	139.0	35.0
	St. devijacija	21.542	2.03886	.52512	16.0420	20.9584	10.3297
	Varijansa	464.044	4.157	.276	257.344	439.254	106.703
p		NS	NS	0.04	NS	NS	0.00

*ANOVA

4.1.2.5. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i mineralne gustine kosti

U tabeli 4.1.10. prikazan je odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara mineralne gustine kosti kod ispitivanih bolesnika. Nije ustanovljen signifikantan uticaj pojedinih kategorija nivoa vitamina D na mineralnu gustinu kosti kod ispitivanih bolesnika.

Tabela 4.1.10. Odnos između kategorija nivoa vitamina D i parametara mineralne gustine kosti kod ispitivanih bolesnika

Vitamin D		BMD L1-L4	L1L4 T	L1L4 Z	BMD fem vr	fem vrat T	fem vrat Z	BMD kuk uk	Kuk uk T	Kuk uk Z
umereno teška i teška deficijencija N = 16/70 (23%)	Sr. vrednost	1.19	-0.28	-0.15	1.00	-0.53	0.33	1.04	-0.42	0.21
	Min.	0.74	-4.00	-3.80	0.75	-2.50	-1.70	0.77	-2.50	-1.80
	Maks.	1.53	2.60	3.00	1.26	1.50	2.40	1.29	1.50	2.20
	St. devijacija	0.21	1.76	1.83	0.16	1.27	1.19	0.15	1.16	1.05
	Varijansa	0.04	3.11	3.33	0.03	1.62	1.41	0.02	1.36	1.10
blaga deficijencija N = 31/70 (44%)	Sr. vrednost	1.12	-0.79	-0.74	0.94	-0.97	-0.23	1.01	-0.54	-0.05
	Min.	0.80	-3.50	-4.10	0.73	-2.60	-2.00	0.81	-2.10	-1.60
	Maks.	1.54	2.70	2.30	1.30	1.80	2.50	1.40	2.40	2.80
	St. devijacija	0.17	1.43	1.51	0.15	1.15	1.12	0.15	1.16	1.07
	Varijansa	0.03	2.04	2.27	0.02	1.33	1.25	0.02	1.35	1.15
Insuficijencija N = 13/70 (19%)	Sr. vrednost	1.25	0.15	0.08	1.01	-0.49	0.12	1.09	-0.01	0.42
	Min.	0.94	-2.30	-2.30	0.77	-2.30	-1.60	0.81	-2.20	-1.70
	Maks.	1.60	3.10	3.00	1.17	0.80	1.20	1.29	1.50	1.80
	St. devijacija	0.20	1.66	1.57	0.13	1.03	0.97	0.15	1.15	1.06
	Varijansa	0.04	2.77	2.47	0.02	1.07	0.94	0.02	1.32	1.13
Suficijencija N = 10/70 (14%)	Sr. vrednost	1.10	-0.97	-0.84	0.92	-1.14	-0.23	0.97	-0.89	-0.24
	Min.	0.93	-2.40	-2.20	0.66	-3.20	-1.80	0.69	-3.10	-2.00
	Maks.	1.56	2.80	2.90	1.08	0.00	1.10	1.21	0.90	1.70
	St. devijacija	0.19	1.59	1.56	0.13	0.97	0.93	0.16	1.21	1.11
	Varijansa	0.04	2.52	2.42	0.02	0.94	0.86	0.03	1.47	1.24
p		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

*ANOVA

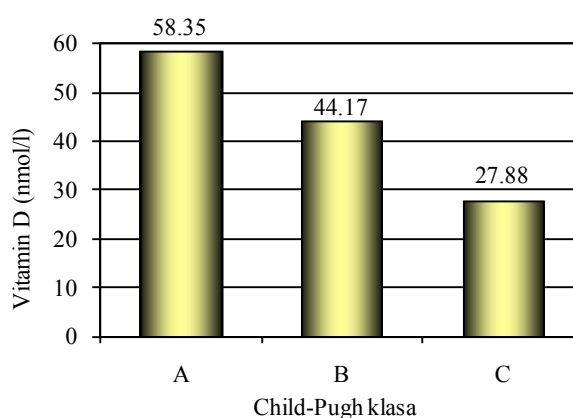
4.1.3. Serumska koncentracija vitamina D, biohemijskih markera metabolizma kosti i parathormona kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

4.1.3.1. Serumska koncentracija vitamina D kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Pod serumskom koncentracijom (nivoom) vitamina D podrazumeva se nivo 25-hidroksivitamina D [25(OH)D].

Kod bolesnika Child-Pugh klase A prosečan nivo vitamina D iznosio je $58,35 \pm 28$ nmol/l, kod bolesnika klase B $44,17 \pm 35,8$ nmol/l, a kod bolesnika klase C $27,88 \pm 14,3$ nmol/l.

Uočava se da je kod bolesnika u Child-Pugh klasi B i C prisutna deficijencija vitamina D (<50 nmol/l) pri čemu su najniže prosečne vrednosti vitamina D u Child-Pugh klasi C, što je statistički značajno, $F(2,67)=6,106$, $p=0,004$. Rezultati su prikazani u tabeli 4.1.11. i na grafikonu 4.1.2.



Grafikon 4.1.2. Srednje vrednosti nivoa vitamina D kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

Tabela 4.1.11. Srednje vrednosti nivoa vitamina D kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

Vitamin D (30-150 nmol/l)				
Child-Pugh klasa	Srednja vrednost	N	Standardna devijacija	%
A	58.35	31	28.047	44.3%
B	44.17	23	35.891	32.9%
C	27.88	16	14.320	22.9%
Total	46.73	70	30.702	100.0%

*ANOVA

4.1.3.2. Serumska koncentracija osteokalcina kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou osteokalcina

Na osnovu serumске koncentracije (nivoa) osteokalcina izvršena je podela bolesnika u tri grupe:

1. Grupa bolesnika koji su imali nivo osteokalcina ispod donje granice referentnih vrednosti <21 ng/ml (prosek 11,6 ng/ml). U njoj je bilo 77,14% (54/70) bolesnika.
2. Grupa bolesnika koji su imali nivo osteokalcina u okviru referentnih vrednosti 21-41 ng/ml (prosek 26,87 ng/ml). U njoj je bilo 18,57% (13/70) bolesnika.

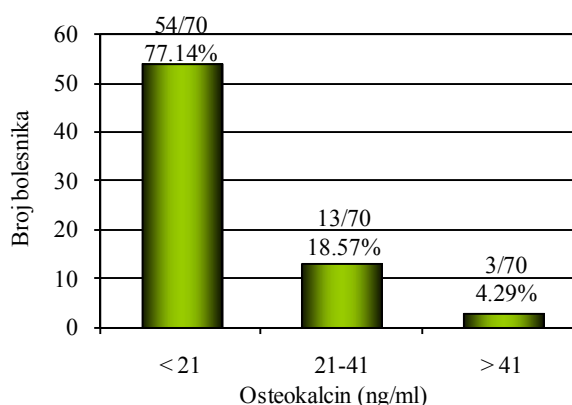
3. Grupa bolesnika koji su imali nivo osteokalcina iznad gornje granice normale, >41 ng/ml (prosek 51,2 ng/ml). U njoj je bilo 4,29% (3/70) bolesnika.

Uočava se da najveći broj bolesnika, 77,14% (54/70), imao nivo osteokalcina ispod donje granice referentnih vrednosti. Rezultati su prikazani na grafikonu 4.1.3.

Ako se posmatra grupa od 54 bolesnika koji su imali osteokalcin ispod donje granice normale, prema Kolmogorov-Smirnov testu postoji normalna raspodela ($p=0,200$), što nije slučaj kada se posmatra preostalih 16 bolesnika ($p=0,009$).

Kruskal-Wallisov test nezavisnih uzoraka pokazuje da statistička raspodela prema podeli osteokalcina na opsege nije ista ($p<0,05$).

Opseg vrednosti osteokalcina <21 ng/ml je statistički značajniji ($p<0,05$) od opsega vrednosti osteokalcina >21 ng/ml.

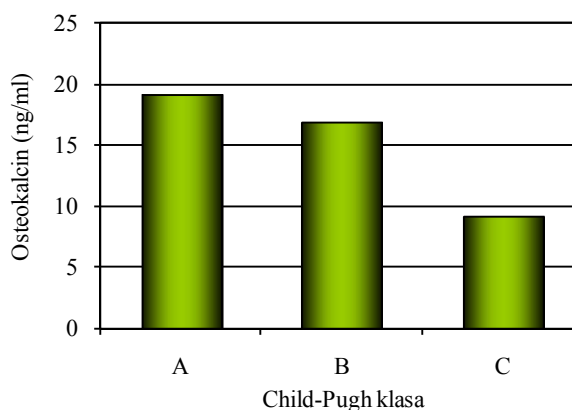


Grafikon 4.1.3 Broj bolesnika koji su imali nivo osteokalcina ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale

Nivo osteokalcina kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Kod bolesnika Child-Pugh klase A prosečan nivo osteokalcina bio je $19,2\pm 9,04$ ng/ml, kod bolesnika klase B $16,8\pm 13,52$ ng/ml, a kod bolesnika klase C $9,15\pm 6,24$ ng/ml.

Uočava se da su, kada se bolesnici podele po Child-Pugh klasama, srednje vrednosti nivoa osteokalcina kod bolesnika u svakoj Child-Pugh klasi ispod donje granice normale. Najniže srednje vrednosti nivoa osteokalcina su u grupi bolesnika Child-Pugh klase C, što je statistički značajno $F(2,67)=5,132$, $p=0,008$. Rezultati su prikazani u tabeli 4.1.12. i na grafikonu 4.1.4.



Grafikon 4.1.4. Srednje vrednosti nivoa osteokalcina kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Tabela 4.1.12. Srednje vrednosti nivoa osteokalcina kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Osteokalcin (21-41 ng/ml)				
Child-Pugh klasa	Srednja vrednost	N	Standardna devijacija	%
A	19.197	31	9.0414	44.3%
B	16.848	23	13.5211	32.9%
C	9.156	16	6.2442	22.9%
Total	16.130	70	10.8620	100.0%

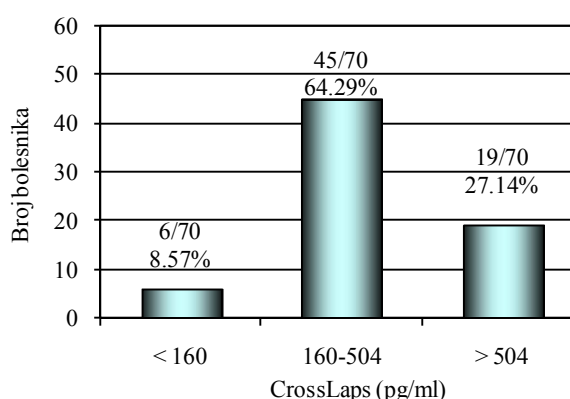
*ANOVA

4.1.3.3. Serumska koncentracija CrossLapsa kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou CrossLapsa

Na osnovu serumske koncentracije (nivoa) CrossLapsa izvršena je podela bolesnika u tri grupe:

1. Grupa bolesnika koji su imali nivo CrossLapsa ispod donje granice referentnih vrednosti <160 pg/ml, (prosek 116,67 pg/ml). U njoj je bilo 8,57% (6/70) bolesnika.
2. Grupa bolesnika koji su imali nivo CrossLapsa u okviru referentnih vrednosti 160-504 pg/ml, (prosek 335,09 pg/ml). U njoj je bilo 64,29% (45/70) bolesnika.
3. Grupa bolesnika koji su imali nivo CrossLapsa iznad gornje granice normale >504 pg/ml, (prosek 902,89 pg/ml). U njoj je bilo 27,14% (19/70) bolesnika.



Grafikon 4.1.5. Broj bolesnika koji su imali nivo CrossLapsa ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale

Na grafikonu 4.1.5. je prikazan broj bolesnika koji su imali nivo CrossLapsa ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale. Uočava se da je najveći broj bolesnika, 64,29% (45/70), imao nivo CrossLapsa u referentnim vrednostima.

Kruskal-Wallisov test nezavisnih uzoraka pokazuje da statistička raspodela nije ista, prema podeli CrossLapsa na opsege ($p < 0,05$).

Ako se gleda grupa od 45 bolesnika (CrossLaps 160 - 504 pg/ml) postoji značajnost prema Kolmogorov-Smirnov (K-S) testu, $p=0,184$ i Shapiro-Wilk (S-W) testu $p=0,063$. Za grupu bolesnika ($n=6$) sa vrednostima CrossLapsa <160 pg/ml prema K-S testu ($p=0,018$) i S-W testu ($p=0,038$) ne postoji značajnost. Za grupu bolesnika ($n=19$) koji imaju nivo CrossLaps >504 pg/ml prema K-S testu postoji značajnost $p=0,059$, a prema S-W testu ne postoji $p=0,010$.

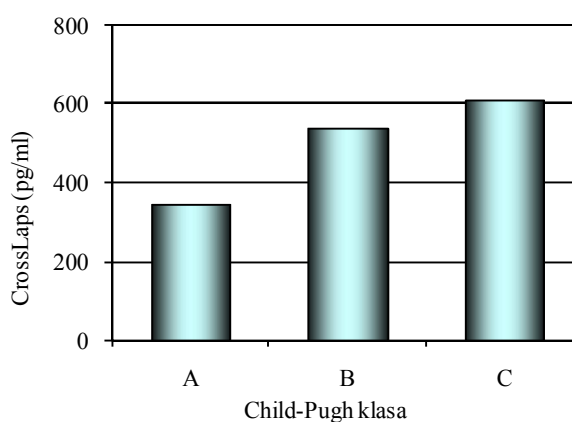
Pošto Kruskal-Wallisov test pokazuje da statističke raspodele nisu iste za opsege CrossLapsa <160 , 160-504 i >504 pg/ml, a test Kolmogorov-Smirnov da je statistička raspodela za opseg 160-504 normalna, može se reći da je opseg vrednosti Crosslapsa (160-504) statistički značajniji ($p < 0,05$) od ostala dva opsega.

Nivo CrossLapsa kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Kod bolesnika Child-Pugh klase A prosečan nivo CrossLapsa bio je $347,5 \pm 208$ pg/ml, kod bolesnika klase B $538,5 \pm 379$ pg/ml, a kod bolesnika klase C $610,8 \pm 425$ pg/ml.

Uočava se porast nivoa CrossLapsa od klase A prema klasi C, što je statistički značajno $F(2,67)=4,156$, $p=0,020$. Međutim, u Child-Pugh klasi B taj porast je iznosio svega $34,5$ pg/ml u odnosu na gornju granicu normale (koja iznosi 504 pg/ml), a bolesnici klase C su imali prosečan nivo CrossLapsa iznad gornje granice normale za 107 pg/ml.

U tabeli 4.1.13. i na grafikonu 4.1.6. su prikazane srednje vrednosti nivoa CrossLapsa kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.



Grafikon 4.1.6. Srednje vrednosti nivoa CrossLapsa kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

Tabela 4.1.13. Srednje vrednosti nivoa CrossLapsa kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Child-Pugh klasa	CrossLaps (160-504 pg/ml)			
	Srednja vrednost	N	Standardna devijacija	%
A	347.55	31	208.193	44.3%
B	538.52	23	379.327	32.9%
C	610.88	16	425.083	22.9%

*ANOVA

4.1.3.4. Serumska koncentracija PTH kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou PTH

Na osnovu serumske koncentracije PTH izvršena je podela bolesnika u tri grupe:

1. Grupa bolesnika koji su imali nivo PTH ispod donje granice referentnih vrednosti <15 pg/ml, (prosek $11,02$ pg/ml). U njoj je bilo $7,14\%$ ($5/70$) bolesnika
2. Grupa bolesnika koji su imali nivo PTH u okviru referentnih vrednosti $15-65$ pg/ml, (prosek $37,20$ pg/ml). U njoj je bilo $84,29\%$ ($59/70$) bolesnika.
3. Grupa bolesnika koji su imali nivo PTH iznad gornje granice normale >65 pg/ml, (prosek $78,45$ pg/ml). U njoj je bilo $8,57\%$ ($6/70$) bolesnika.

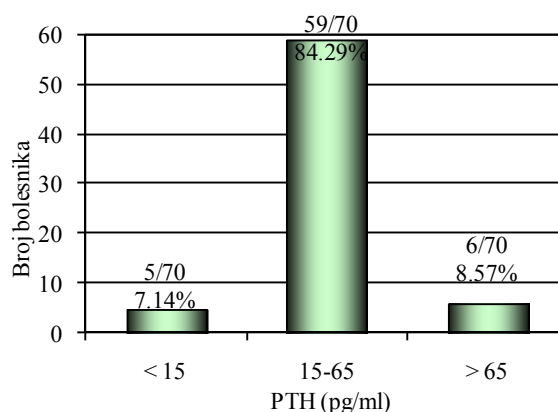
Na grafikonu 4.1.7. je prikazan broj bolesnika koji su imali nivo PTH ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale. Uočava se da je najveći broj bolesnika, 84,29% (59/70), imao nivo PTH u referentnim vrednostima.

U tabeli 4.1.14. je prikazan broj bolesnika koji su imali nivo PTH ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale.

U tabeli 4.1.15. su prikazane srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika sa blagom i umereno teškom i teškom deficijencijom vitamina D

Uočava se da su bolesnici sa deficijencijom vitamina D imali srednje vrednosti nivoa PTH u granicama normale.

Četrdeset sedam bolesnika je imalo deficijenciju vitamina D, a samo kod njih pet (5/47), odnosno 10,64%, je PTH bio iznad gornje granice normale (>65 pg/ml) sa prosečnim vrednostima 80,12 pg/ml. Ostali bolesnici sa deficijencijom vitamina D imali su PTH u referentnom opsegu, sa prosečnim vrednostima 41,83 pg/ml.



Grafikon 4.1.7. Broj bolesnika koji su imali nivo PTH ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale.

Tabela 4.1.14. Broj bolesnika koji su imali nivo PTH ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale.

PTH (15-65 pg/ml)				
PTH	Srednja vrednost	N	Standardna devijacija	%
< 15	11.020	5	2.9252	7.1%
15 - 65	37.203	59	12.2828	84.3%
> 65	78.450	6	8.8371	8.6%
Total	38.869	70	18.1045	100.0%

*ANOVA

Tabela 4.1.15. Srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika sa blagom i umereno teškom i teškom deficijencijom vitamina D

	Vitamin D	N	%	Srednja vrednost
PTH	umereno teška i teška deficijencija	16	23%	49.88
	blaga deficijencija	31	44%	37.67

*ANOVA

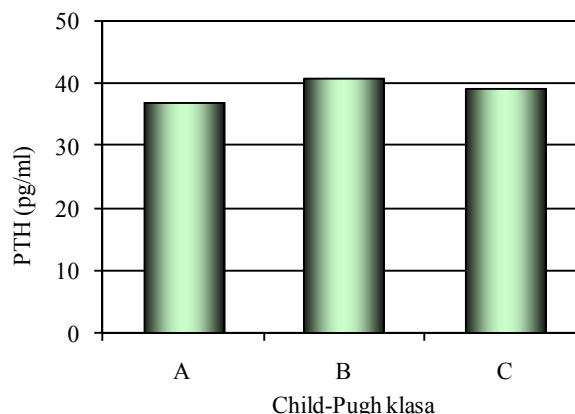
Nivo PTH kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Kod bolesnika Child-Pugh klase A prosečni nivo PTH iznosio je 37,15±16,69 pg/ml, kod bolesnika klase B 40,99±19 pg/ml, a kod bolesnika klase C 39,15±20,18 pg/ml. Nije dokazana statistička značajnost u razlici nivoa PTH prema Child-Pugh klasama bolesnika, $F(2,67)=0,293$, $p=0,747$.

Tabela 4.1.16. Srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

PTH (15-65 pg/ml)				
Child-Pugh klasa	Srednja vrednost	N	Standardna devijacija	%
A	37.15	31	16.696	44.3%
B	40.99	23	19.004	32.9%
C	39.15	16	20.186	22.9%
Total	38.87	70	18.1045	100.0%

*ANOVA



Grafikon 4.1.8. Srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

Na grafikonu 4.1.8. su prikazane srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

U tabeli 4.1.16. su prikazane srednje vrednosti nivoa PTH kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

4.1.4. Međusobni odnosi vitamina D, biohemijskih markera metabolizma kosti, PTH i mineralne gustine kosti

4.1.4.1. Korelacije ispitivanih varijabli (Pirsonova korelaciona analiza)

Korelacije vitamina D

Ustanovljena je negativna korelacija vitamina D sa: PTH $r=-0,33$, $p<0,01$; CrossLapsom $r=-0,25$, $p<0,05$; Child-Pugh skorom $r=-0,43$, $p<0,01$; bilirubinom $r=-0,27$, $p<0,05$; PV ratio $r=-0,24$, $p<0,05$; i godinama uzimanja alkohola $r=-0,36$, $p<0,01$.

Ustanovljena je pozitivna korelacija vitamina D sa: kalcijumom $r=0,30$, $p<0,05$; albuminima $r=0,40$, $p<0,01$; boravkom na suncu $r=0,53$, $p<0,01$ i fizičkom aktivnošću $r=0,45$, $p<0,01$

Nije ustanovljena značajna korelacija vitamina D sa parametrima mineralne gustine kosti. U tabeli 4.1.17. prikazan je međusobni odnos pojedinih ispitivanih parametara.

Korelacije osteokalcina

Ustanovljena je negativna korelacija između osteokalcina i BMD, T i Z skora:

BMD L1-L4 $r=-0,29$, $p<0,05$; BMD vrat femura $r=-0,37$, $p<0,01$; BMD kuk ukupni $r=-0,41$, $p<0,01$.

T skor L1-L4 $r=-0,29$, $p<0,05$; T skor vrat femura $r=-0,38$, $p<0,01$; T skor kuk ukupni $r=-0,41$, $p<0,01$.

Z skor L1-L4 $r=-0,24$, $p<0,05$; Z skor vrat femura $r=-0,34$, $p<0,01$; Z skor kuk ukupni $r=-0,39$, $p<0,01$.

Najjača povezanost je između osteokalcina i BMD, T i Z skora u regiji vrata femura i kuka ukupno. Rezultati su prikazani u tabeli 4.1.18.

Ustanovljena je pozitivna korelacija osteokalcina sa: CrossLapsom $r=0,46$, $p<0,01$ PTH $r=0,24$, $p<0,05$; ukupnim proteinima $r=0,30$, $p<0,05$.

Ustanovljena je negativna korelacija osteokalcina sa: Child skorom $r=-0,36$, $p<0,01$; bilirubinom $r=-0,39$, $p<0,01$; PV $r=-0,32$, $p<0,01$; AST $r=-0,39$, $p<0,01$; ALT $r=-0,33$, $p<0,01$.

Tabela 4.1.17. Korelaciona matrica međusobnog odnosa pojedinih ispitivnih faktora

Promenljiva	Vitamin D	Child score	Osteokalcin	CrossLaps	PTH	Ca uk	Bilirubin	Albumin	PV	God uzim alkohola	
Child score	r	-.433**									
	p	.000									
Osteokalcin	r	.138	-.356**								
	p	.253	.002								
CrossLaps	r	-.246*	.307**	.466**							
	p	.040	.010	.000							
PTH	r	-.326**	.022	.238*	.219						
	p	.006	.854	.048	.068						
Ca uk	r	.300*	-.654**	.210	-.207	-.159					
	p	.012	.000	.081	.085	.188					
Bilirubin	r	-.267*	.703**	-.399**	.165	.008	-.478**				
	p	.026	.000	.001	.171	.946	.000				
Albumin	r	.404**	-.760**	.236	-.361**	-.082	.730**	-.497**			
	p	.001	.000	.053	.003	.505	.000	.000			
PV	r	-.242*	.755**	-.317**	.155	-.164	-.495**	.630**	-.542**		
	p	.044	.000	.008	.200	.175	.000	.000	.000		
God uzim alkohola	r	-.358**	.168	-.134	.083	.148	-.029	.111	.033	-.033	
	p	.002	.165	.268	.492	.222	.811	.359	.792	.784	
Boravak na suncu	r	.530**	-.330**	.153	-.114	-.276*	.259*	-.229	.344**	-.159	-.288*
	p	.000	.005	.207	.348	.021	.030	.056	.004	.188	.015

** Korelacija je značajna na nivou 0.01

* Korelacija je značajna na nivou 0.05

Tabela 4.1.18. Korelacija osteokalcina sa parametrima mineralne gustine kosti.

Promenljiva	Osteokalc	BMD L1L4	L1L4 T	L1L4 Z	BMD fem vr	fem vrat T	fem vrat Z	BMD kuk uk	Kuk uk T	
BMD L1L4	r	-.287*								
	p	.018								
L1L4 T	r	-.296*	.997**							
	p	.014	.000							
L1L4 Z	r	-.244*	.960**	.959**						
	p	.045	.000	.000						
BMD fem vr	r	-.371**	.554**	.547**	.457**					
	p	.002	.000	.000	.000					
fem vrat T	r	-.381**	.547**	.544**	.457**	.995**				
	p	.001	.000	.000	.000	.000				
fem vrat Z	r	-.343**	.545**	.541**	.535**	.934**	.932**			
	p	.005	.000	.000	.000	.000	.000			
BMD kuk uk	r	-.408**	.544**	.536**	.424**	.923**	.926**	.831**		
	p	.001	.000	.000	.000	.000	.000	.000		
Kuk uk T	r	-.413**	.525**	.521**	.414**	.906**	.920**	.817**	.994**	
	p	.001	.000	.000	.001	.000	.000	.000	.000	
Kuk uk Z	r	-.393**	.558**	.552**	.514**	.891**	.897**	.907**	.953**	.950**
	p	.001	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000

** Korelacija je značajna na nivou 0.01

* Korelacija je značajna na nivou 0.05

Korelacije CrossLapsa

Ustanovljena je negativna korelacija CrossLapsa sa: vitaminom D $r=-0,25$, $p<0,05$; L1-L4 Z skorom $r=-0,24$, $p<0,05$; i albuminima $r=-0,36$, $p<0,01$.

Ustanovljena je pozitivna korelacija CrossLapsa sa: osteokalcinom $r=0,46$, $p<0,01$; alkalnom fosfatazom $r=0,44$, $p<0,01$; i Child skorom $r=0,307$, $p<0,01$.

Nije ustanovljena značajna korelacija CrossLapsa sa parametrima mineralne gustine kosti.

Korelacije PTH

Ustanovljena je negativna korelacija PTH sa: vitaminom D $r=-0,33$, $p<0,01$; boravkom na suncu $r=-0,28$, $p<0,05$.

Ustanovljena je pozitivna korelacija PTH sa: osteokalcinom $r=0,24$, $p<0,05$; alkalnom fosfatazom $r=0,25$, $p<0,05$; periodom apstinencije od alkohola $r=0,36$, $p<0,01$.

Nije ustanovljena značajna korelacija PTH sa parametrima mineralne gustine kosti.

4.1.4.2. Korelacije ispitivanih varijabli (Linearni regresioni model)

Regresiona analiza PTH, CrossLapsa i osteokalcina u odnosu na vitamin D

Regresionom analizom ustanovljena je značajna korelacija između vitamina D i PTH ($r^2=0,107$, $p=0,006$), slabija između vitamina D i CrossLapsa ($r^2=0,060$, $p=0,040$), a nije utvrđena korelacija između vitamina D i osteokalcina ($r^2=0,019$, $p=0,253$). Rezultati su prikazani u tabelama 4.1.19. - 4.1.21.

Linearna korelacija između vitamina D i PTH ukazuje na porast PTH pri opadanju nivoa vitamina D. Linearna korelacija između vitamina D i CrossLapsa takođe ukazuje na porast CrossLapsa pri opadanju nivoa vitamina D. Ne postoji korelacija između vitamina D i osteokalcina. Rezultati su prikazani na grafikonu 4.1.9.

Tabela 4.1.19. Regresiona analiza PTH u odnosu na Vitamin D

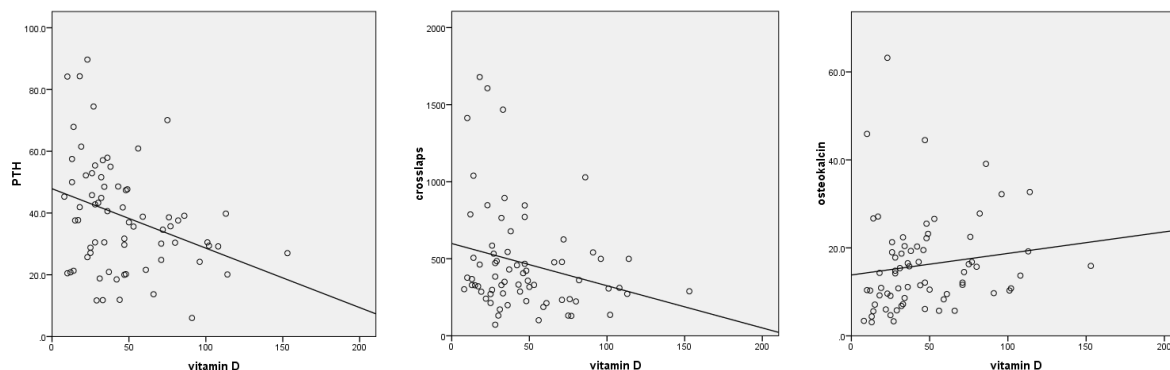
PTH (D vitamin)			Koficijenti		t	p
r	r ²	vitamin D	B	Standardna greška		
0.326	0.107	vitamin D	-0.193	0.068	-2.848	0.006
		konstanta	47.864	3.771	12.693	

Tabela 4.1.20. Regresiona analiza CrossLaps-a u odnosu na vitamin D

crosslaps (vitamin D)			Koficijenti		t	p
r	r ²	vitamin D	B	Standardna greška		
0.246	0.060	vitamin D	598.40	73.04	8.19	0.040
		konstanta	-2.74	1.31	-2.09	

Tabela 4.1.21. Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na vitamin D

osteokalcin (vitamin D)			Koficijenti		t	p
r	r ²	vitamin D	B	Standardna greška		
0.138	0.019	vitamin D	13.84	2.37	5.84	0.253
		konstanta	47.864	3.771	12.693	



Grafikon 4.1.9. Linearna korelacija između:

a) vitamina D i PTH; b) vitamina D i CrossLapsa; c) vitamina D i osteokalcina

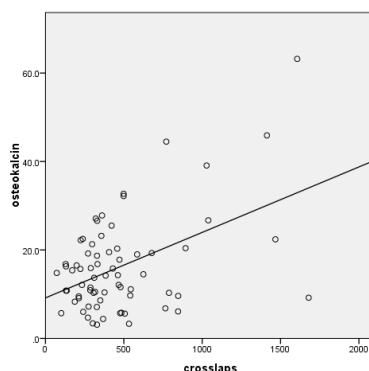
Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na CrossLaps

Regresionom analizom ustanovljena je značajna korelacija između CrossLapsa i osteokalcina ($r^2=0,217$, $p=0,000$) Linearna korelacija između CrossLapsa i osteokalcina ukazuje da pri porastu jednog, raste i drugi parametar.

U tabeli 4.1.22. prikazana je regresiona analiza osteokalcina u odnosu na CrossLaps. Na grafikonu 4.1.10. prikazana je linearna korelacija između CrossLapsa i osteokalcina.

Tabela 4.1.22. Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na CrossLaps

osteokalcin (crosslaps)			Koefficienti		t	p
			B	Standardna greška		
r	r^2	crosslaps	9.164	1.977	4.634	0.000
0.466	0.217	konstanta	0.015	0.003	4.344	



Grafikon 4.1.10. Linearna korelacija između CrossLapsa i osteokalcina.

Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na mineralnu gustinu kosti (BMD)

Regresionom analizom ustanovljena je značajna korelacija između osteokalcina i BMD lumbalne kičme ($r^2=0,082$, $p=0,018$), između osteokalcina i BMD vrata femura ($r^2=0,138$, $p=0,020$), između osteokalcina i BMD ukupnog kuka ($r^2=0,166$, $p=0,001$). Rezultati su prikazani u tabelama 4.1.23. - 4.1.25. Linearna korelacija između osteokalcina i sva tri BMD ukazuju na značaj obrnute povezanosti ispitivanih parametara. Rezultati su prikazani na grafikonu 4.1.11.

Tabela 4.1.23. Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na BMD L1-L4

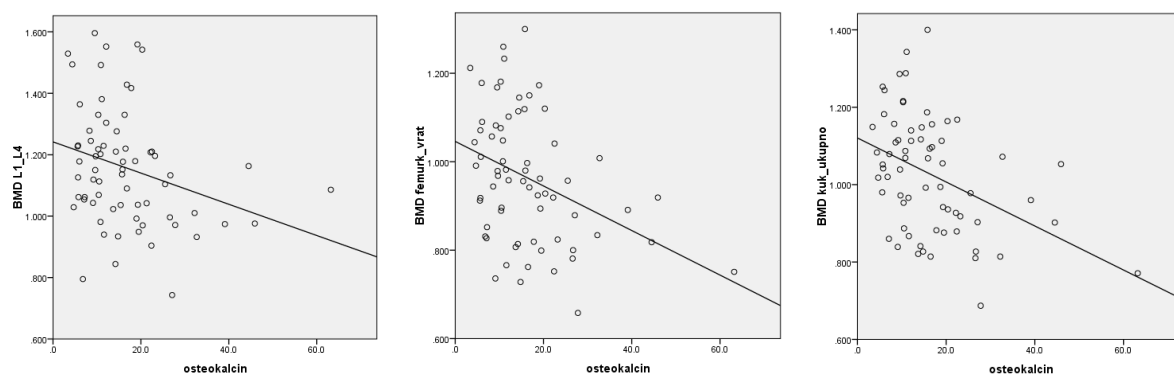
osteokalcin (BMD L1L4)			Koefficienti		t	p
			B	Standardna greška		
r	r^2	osteokalcin	1.242	0.041	30.167	0.018
0.287	0.082	konstanta	-0.005	0.002	-2.429	

Tabela 4.1.24. Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na BMD vrata femura

osteokalcin (BMD femur vrat)			Koefficienti		t	p
			B	Standardna greška		
r	r^2	osteokalcin	1.046	0.031	34.011	0.020
0.371	0.138	konstanta	-0.005	0.002	-3.220	

Tabela 4.1.25. Regresiona analiza osteokalcina u odnosu na BMD ukupnog kuka

osteokalcin (BMD kuk ukupni)			Koefficienti		t	p
			B	Standardna greška		
r	r^2	osteokalcin	1.121	0.031	36.082	0.001
0.408	0.166	konstanta	-0.006	0.002	-3.599	

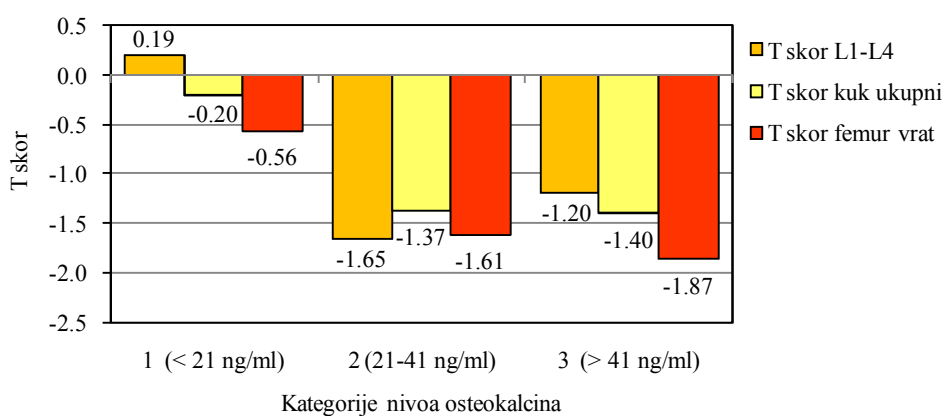


Grafikon 4.1.11. Linearna korelacija između: a) osteokalcina i BMD lumbalne kičme; b) osteokalcina i BMD vrata femura; c) osteokalcina i BMD ukupnog kuka

Uticaj osteokalcina na vrednosti T skora kičme i kuka

Na grafikonu 4.1.12. su prikazani prosečni T skorovi u odnosu na vrednosti nivoa osteokalcina kod ispitivanih bolesnika.

Grupa bolesnika sa nivoom osteokalcina ispod donje granice normale označena je brojem 1, grupa sa nivoom osteokalcina u granicama referentnih vrednosti označena je brojem 2, a grupa sa nivoom osteokalcina iznad gornje granice normale označena je brojem 3. U grupi bolesnika sa najnižim vrednostima osteokalcina uočavaju se najbolji T skorovi. Uočava se sniženje T skorova sa povećanjem nivoa osteokalcina. U grupi bolesnika sa vrednostima osteokalcina iznad gornje granice normale konstatuje se najlošiji T skor, i to na regiji vrata femura.



Grafikon 4.1.12. Prikaz prosečnih T skorova prema nivou osteokalcina kod ispitivanih bolesnika

Analizom varijanse dobijena je statistička značajnost između osteokalcina i T skora kuka: femur vrat $F=6,409$, $p=0,003$, kuk ukupni $F=6,856$, $p=0,002$. Nije dobijena značajnost između osteokalcina i T skora lumbalne kičme $F=1,898$, $p=0,158$.

Povezanost osteokalcina i uzimanja alkohola

Analizom varijanse (ANOVA) ustanovljena je povezanost između nivoa osteokalcina i dneve količine uzetog alkohola (g/dan), $F=8,627$, $p<0,05$. Nije ustanovljena povezanost između nivoa osteokalcina i dužine uzimanja alkohola u godinama, $F=0,570$, $p=0,453$.

4.1.5. Polni hormoni i IGF-1 kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

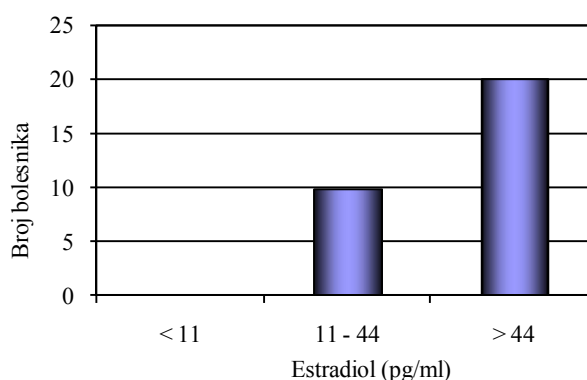
Kod 30 od ukupno 70 bolesnika sa alkoholnom cirozom (AC) jetre određene su serumske koncentracije estradiola, testosterona, folikulostimulirajućeg (FSH), luteinizirajućeg (LH, odnosno ICSH) hormona i faktora rasta sličnog insulinu (IGF-1, eng. *insulin like growth factor*).

4.1.5.1. Estradiol kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou estradiola

Na osnovu određenih vrednosti estradiola u odnosu na granice referentnih vrednosti bolesnici su podeljeni u tri kategorije:

1. <11 pg/ml: nijedan bolesnik
2. 11-44 pg/ml: 33,3% (10/30) bolesnika
3. >44 pg/ml: 66,7% (20/30) bolesnika



Grafikon 4.1.13. Broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti estradiola ispod, u okviru i iznad gornje granice normale

Na grafikonu 4.1.13. je prikazan broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti estradiola ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale.

Uočava se da je najveći broj bolesnika imao estradiol iznad gornje granice normale, kao i da nijedan bolesnik nije imao estradiol ispod donje granice referentnih vrednosti.

Nivo estradiola kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

U tabeli 4.1.26. prikazane su srednje vrednosti estradiola kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase.

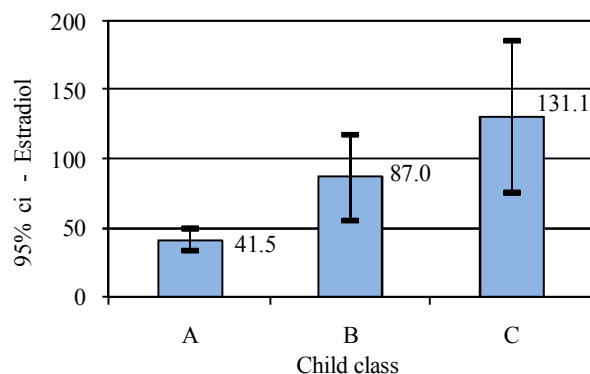
Tabela 4.1.26. Srednje vrednosti estradiola kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	St. greška	95% Interval poverenja		Min.	Maks.
					Donja gr.	Gornja gr.		
A	13	41,54	12,407	3,441	34,04	49,04	25	65
B	9	87,02	40,874	13,625	55,60	118,44	32	143
C	8	131,13	66,044	23,350	75,91	186,34	55	227
Total	30	79,07	54,553	9,960	58,70	99,44	25	227

*Kruskal Wallis test

Uočava se da su srednje vrednosti estradiola iznad gornje granice normale kod bolesnika Child-Pugh klase B i C. Najveće vrednosti estradiola prisutne su kod bolesnika Child-Pugh klase C, što je statistički značajno, $\chi^2=15,369$, $p<0,01$.

Na Grafikonu 4.1.14. prikazana je različitost srednjih vrednosti estradiola kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase.



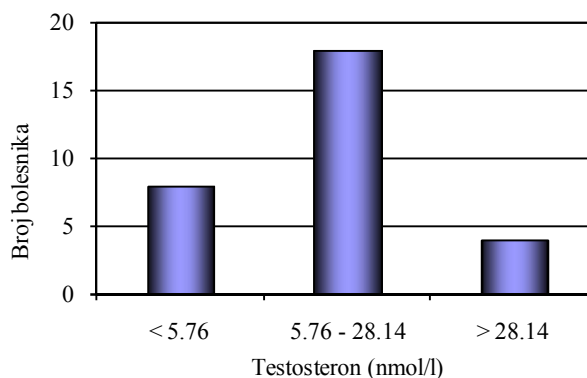
Grafikon 4.1.14. Srednje vrednosti nivoa estradiola kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

4.1.5.2. Testosteron kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou testosterona

Na osnovu određenih vrednosti testosterona u odnosu na granice referentnih vrednosti bolesnici su podeljeni u tri kategorije:

1. $<5,76$ nmol/l: 26,7% (8/30) bolesnika
2. $5,76-28,14$ nmol/l: 60,0% (18/30) bolesnika
3. $>28,14$ nmol/l: 13,3% (4/30) bolesnika



Grafikon 4.1.15. Broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti testosterona ispod, u okviru i iznad gornje granice normale

Na grafikonu 4.1.15. je prikazan broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti testosterona ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale. Uočava se da je najveći broj bolesnika imao testosteron u granicama referentnih vrednosti.

Nivo testosterona kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

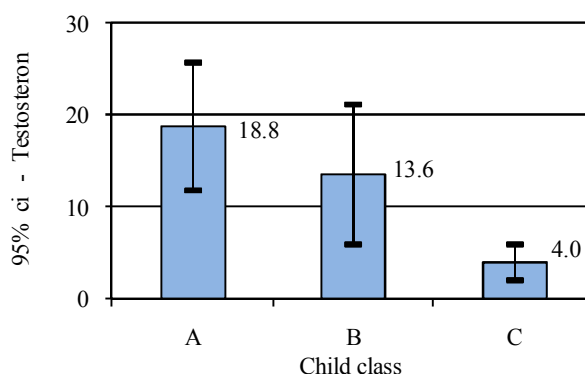
U tabeli 4.1.27. prikazane su srednje vrednosti testosterona kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase. Uočava se da su najniže srednje vrednosti

testosterona prisutne kod bolesnika Child-Pugh klase C, što je statistički značajno, $\chi^2=14,110$, $p<0,01$. Na grafikonu 4.1.16. Prikazana je različitost srednjih vrednosti testosterona kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase.

Tabela 4.1.27. Srednje vrednosti testosterona kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	St. greška	95% Interval poverenja		Min.	Maks.
					Donja gr.	Gornja gr.		
A	13	18,79	11,552	3,204	11,808	25,770	5,54	46,36
B	9	13,65	9,891	3,297	6,044	21,249	2,78	34,61
C	8	3,96	2,287	0,809	2,052	5,876	1,79	8,24
Total	30	13,29	11,003	2,009	9,185	17,401	1,79	46,36

*Kruskal Wallis test



Grafikon 4.1.16. Srednje vrednosti nivoa testosterona kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

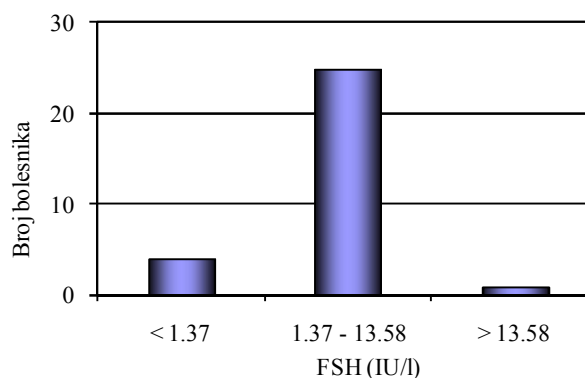
4.1.5.3. FSH kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou FSH

Na osnovu određenih vrednosti FSH u odnosu na granice referentnih vrednosti bolesnici su podeljeni u tri kategorije:

1. $<1,37$ IU/l: 13,3% (4/30) bolesnika
2. $1,37-13,58$ IU/l: 83,3% (25/30) bolesnika
3. $>13,58$ IU/l: 3,3% (1/30) bolesnika

Na grafikonu 4.1.17. je prikazan broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti FSH ispod donje granice normale. u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale. Uočava se da je najveći broj bolesnika imao FSH u granicama referentnih vrednosti

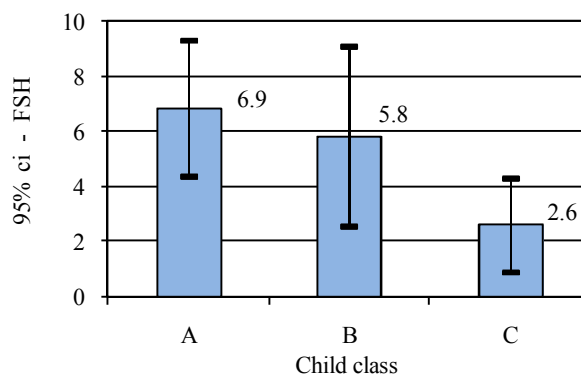


Grafikon 4.1.17. Broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti FSH ispod, u okviru i iznad gornje granice normale

Nivo FSH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

U tabeli 4.1.28. prikazane su srednje vrednosti FSH kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podjeljenih u Child-Pugh klase. Uočava se da su najniže srednje vrednosti FSH prisutne kod bolesnika Child-Pugh klase C, što je statistički značajno, $\chi^2=7,777$, $p<0,05$.

Na grafikonu 4.1.18. Prikazana je različitost srednjih vrednosti FSH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase



Grafikon 4.1.18. Srednje vrednosti nivoa FSH kod bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

Tabela 4.1.28. Srednje vrednosti FSH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	St. greška	95% Interval poverenja		Min.	Maks.
					Donja gr.	Gornja gr.		
A	13	6,85	4,096	1,136	4,378	9,329	2,14	18,09
B	9	5,82	4,258	1,419	2,550	9,096	1,33	13,20
C	8	2,60	2,073	0,733	0,866	4,333	0,37	5,71
Total	30	5,41	4,018	0,734	3,909	6,911	0,37	18,09

*Kruskal Wallis test

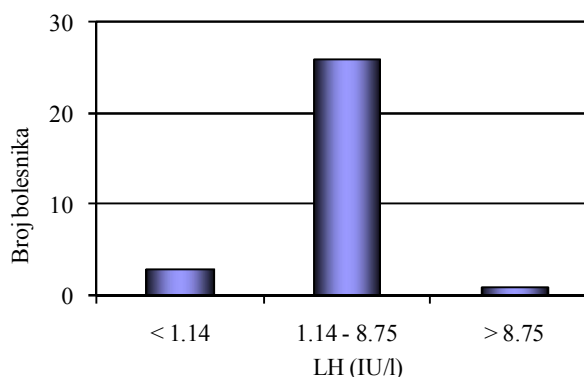
4.1.5.4. LH (ICSH) kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou LH (ICSH)

Na osnovu određenih vrednosti LH (ICSH) u odnosu na granice referentnih vrednosti bolesnici su podjeljeni u tri kategorije:

1. $<1,14$ IU/l: 10,0% (3/30) bolesnika
2. $1,14-8,75$ IU/l: 86,7% (26/30) bolesnika
3. $>8,75$ IU/l: 3,3% (1/30) bolesnika

Na grafikonu 4.1.19. je prikazan broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti LH (ICSH) ispod donje granice normale, u okviru referentnih vrednosti i iznad gornje granice normale. Uočava se da je najveći broj bolesnika imao LH (ICSH) u granicama referentnih vrednosti



Grafikon 4.1.19. Broj bolesnika sa AC jetre koji su imali vrednosti LH (ICSH) ispod, u okviru i iznad gornje granice normale

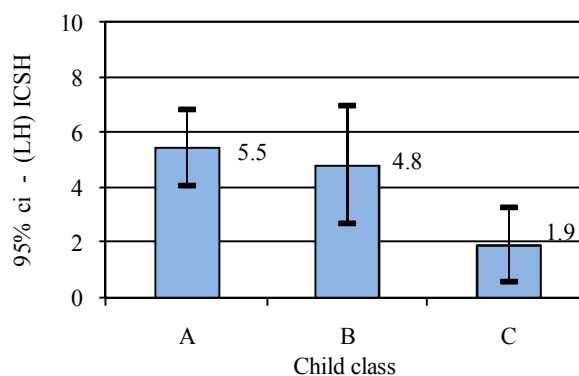
Nivo LH (ICSH) kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

U tabeli 4.1.29. prikazane su srednje vrednosti LH (ICSH) kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podjeljenih u Child-Pugh klase. Uočava se da su najniže srednje vrednosti LH (ICSH) prisutne kod bolesnika Child-Pugh klase C, što je statistički značajno, $\chi^2=8,931$, $p<0,05$. Na grafikonu 4.1.20. Prikazana je različitost srednjih vrednosti FSH kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

Tabela 4.1.29. Srednje vrednosti LH (ICSH) kod ispitivanih bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	St. greška	95% Interval poverenja		Min.	Maks.
					Donja gr.	Gornja gr.		
A	13	5,46	2,268	0,629	4,092	6,834	2,01	10,23
B	9	4,82	2,780	0,926	2,681	6,954	1,61	8,53
C	8	1,93	1,609	0,569	0,586	3,278	0,11	3,99
Total	30	4,33	2,668	0,487	3,331	5,324	0,11	10,23

*Kruskal Wallis test



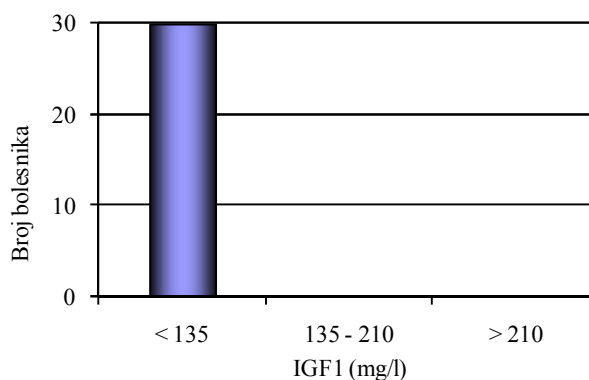
Grafikon 4.1.20. Srednje vrednosti nivoa LH (ICSH) kod bolesnika podjeljenih u Child-Pugh klase

4.1.5.5. IGF-1 kod ispitivanih bolesnika podjeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Grupisanje bolesnika prema nivou IGF-1

Na osnovu određenih vrednosti IGF-1 u odnosu na granice referentnih vrednosti bolesnici su podjeljeni u tri kategorije:

1. <135 mg/l: 100% (30/30) bolesnika, srednje vrednosti IGF-1 29.78 mg/l
2. 135-210 mg/l: 0 bolesnika
3. >210 mg/l: 0 bolesnika



Grafikon 4.1.21. Broj bolesnika sa AC jetre i njihove vrednosti IGF-1, u odnosu na granice normale za IGF-1.

Na grafikonu 4.1.21. je prikazan broj bolesnika sa AC jetre prema referentnim vrednostima za IGF-1. Uočava se da su svi bolesnici imali IGF-1 ispod donje granice normale.

Nivo IGF-1 kod ispitivanih bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

U tabeli 4.1.30. prikazane su srednje vrednosti IGF-1 kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase. Ne postoji statistička značajnost između posmatranih grupa, $\chi^2=5,507$, $p>0,05$.

Tabela 4.1.30. Srednje vrednosti IGF-1 kod ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	Min	Maks.
A	13	39,00	19,13	13	64
B	9	25,22	9,65	13	46
C	8	19,94	7,63	12	32
Ukupno	30	29,78	16,20	12	64

*Kruskal Wallis test

4.1.6. Mineralna gustina kosti kod ispitivanih bolesnika

4.1.6.1. Osteoporoza

Kod 68 bolesnika urađena je DXA. Na osnovu kriterijuma SZO i ISCD kod muškaraca < od 50 godina dijagnoza osteopenije i osteoporoze postavljena je na osnovu vrednosti Z skora, a kod muškaraca starijih od 50 godina na osnovu vrednosti T skora. Osteopenija je konstatovana ukupno kod 42,65% (29/68), a osteoporoza kod 14,71% (10/68) bolesnika.

Od 10 bolesnika sa osteoporozom, kod 6 (60%) su promene bile na LS kičmi.

U tabeli 4.1.31. su prikazani parametri sa mogućim uticajem na razvoj i patofiziološku sliku bolesti kosti u alkoholnoj cirozi jetre. Statistička značajnost dobijena je jedino za osteokalcin. Uočava se njegov porast u bolestima kosti. Nije dokazana statistički značajna razlika između nivoa vitamina D, Child skora, životne dobi, trajanja bolesti jetre, uzimanja alkohola, indeksa telesne mase, drugih parametara metabolizma kosti i minerala, polnih hormona i IGF-1 između bolesnika koji imaju normalnu kost i onih sa osteopenijom i osteoporozom.

Tabela 4.1.31. Parametri sa mogućim uticajem na razvoj i patofiziološku sliku bolesti kosti u alkoholnoj cirozi jetre.

N = 70	normalna kost			osteopenija i osteoporoza			
	Sr vrednost	Maks.	Min.	Sr vrednost	Maks.	Min.	p
starosna dob	55.8	65.9	46.4	57.3	77.3	38.2	NS
Child skor	7.54	12	5	7.38	14	5	NS
trajanje bolesti jetre (god)	4.6	15.00	0.00	4.3	20.00	0.00	NS
godine uzimanja alc	24.4	48	10	25.3	50	10	NS
alkohol g/dan	192.5	450	80	203.5	400	80	NS
BMI kg/m ²	27.7	36.00	22.03	27.3	41.47	19.22	NS
vitamin D (30-50 nmol/l)	54.11	153	8	42.90	114	10	NS
osteokalcin (21-41 ng/ml)	11.6	22.5	3.4	19.9	63.2	4.7	0.01
CrossLaps (160-504 pg/ml)	431.4	1679	101	499.8	1606	72	NS
PTH (15-65 pg/ml)	37.5	84.3	6.0	38.5	89.7	11.7	NS
Ca uk (2,2-2,7 mmol/l)	2.18	2.57	1.87	2.21	2.61	1.74	NS
Ca jon (0,85-1,20 mmol/l)	1.00	1.13	.85	1.00	1.18	.83	NS
Ca corr	2.31	2.57	1.88	2.34	2.61	2.02	NS
P (0,81-1,45 mmol/l)	1.06	1.34	.77	1.05	1.52	.69	NS
Mg (0,73 -1,06 mmol/l)	.74	1.43	.44	.78	1.04	.41	NS
FSH (1,37-13,58 IU/l)	4.61	9.14	.37	5.04	13.20	1.33	NS
LH (1,14-8,75 IU/l)	4.09	10.23	.11	4.08	8.53	1.61	NS
Estradiol (11-44 pg/ml)	75.02	225.00	25.00	88.81	227.00	30.00	NS
Testosteron (5,76-28,14 nmol/l)	16.94	46.36	1.79	11.81	34.61	2.78	NS
IGF-1 (135-210 mg/l)	29.50	64.00	11.50	32.31	64.00	12.00	NS

*ANOVA

4.1.6.2. Karakteristike mineralne gustine kosti

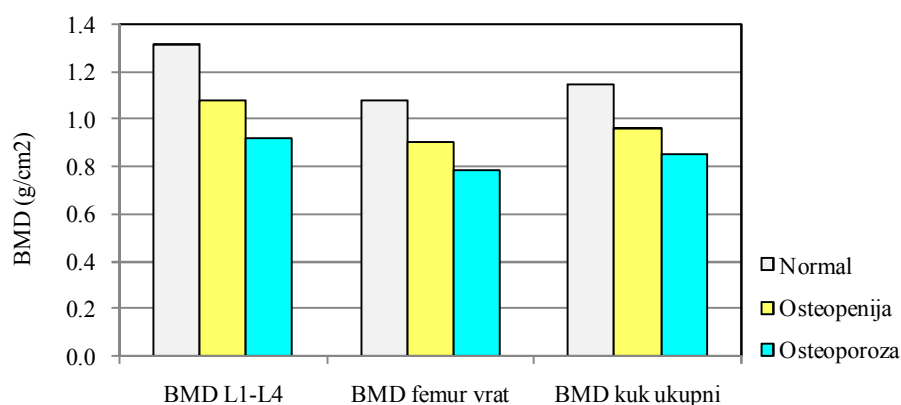
Srednje vrednosti BMD lumbalne kičme, vrata femura i ukupnog kuka statistički se značajno međusobno razlikuju kako kod bolesnika sa normalnom kosti, tako i kod onih sa osteopenijom i osteoporozom. Najniži BMD kod sve tri grupe bolesnika konstatuje se na vratu femura, sledi BMD na kuku ukupno, a najveća mineralna gustina kosti registruje se na lumbalnoj kičmi.

Rezultati su prikazani u tabeli 4.1.32. i na grafikonu 4.1.22.

Tabela 4.1.32. Srednje vrednosti BMD (g/cm^2) na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku, kod ispitivanih bolesnika sa normalnom kosti (1), osteopenijom (2) i osteoporozom (3)

	N	Sr.vrednost	St. devijacija	St. greška	95% Interval poverenja		p	
					Donja gr.	Gornja gr.		
BMD L1L4	1	28	1.314	0.152	0.028	1.255	1.373	p<0.001
	2	31	1.085	0.110	0.019	1.044	1.125	
	3	9	0.921	0.112	0.037	0.834	1.007	
BMD femur vrat	1	28	1.080	0.102	0.019	1.040	1.119	p<0.001
	2	30	0.907	0.107	0.019	0.866	0.947	
	3	9	0.786	0.0838	0.027	0.721	0.850	
BMD kuk ukupni	1	28	1.152	0.102	0.019	1.112	1.192	p<0.001
	2	30	0.961	0.105	0.019	0.921	1.000	
	3	9	0.855	0.095	0.031	0.782	0.929	

*ANOVA



Grafikon 4.1.22. Srednje vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku, kod ispitivanih bolesnika sa normalnom kosti, osteopenijom i osteoporozom

4.2. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE ZAVRŠILA ISTRAŽIVANJE

Od ukupno 70 bolesnika uključenih u istraživanje, svega deo je stigao do pojedinih tačaka studije, a pedeset bolesnika je završilo istraživanje po predviđenom protokolu i oni se zbog realizacije ponavljanih merenja posmatraju kao posebna grupa bolesnika. Iz Child-Pugh klase A istraživanje je završilo 26 bolesnika, 17 iz klase B i 7 iz klase C. Kod tih bolesnika sprovedena su sva četiri predviđena klinička pregleda sa pratećim laboratorijskim analizama i dva predviđena DXA pregleda (na početku i na kraju istraživanja)

4.2.1. Kategorije nivoa vitamina D u odnosu na prvi (početni) i četvrti (završni) pregled ispitivanih bolesnika

4.2.1.1. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom prvog pregleda

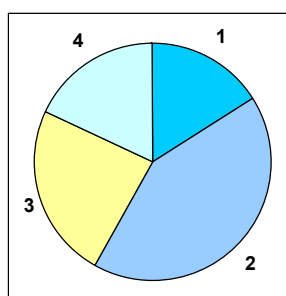
Izvršena je podela 50 ispitanika koji su završili istraživanje u četiri grupe prema kategorijama nivoa vitamina D što je prikazano u Tabeli 4.2.1.

Pod nivoom (serumskom koncentracijom) vitamina D podrazumeva se koncentracija 25-hidroksivitamina D [25(OH)D]. Uočava se da je 58,0% (29/50) bolesnika imalo deficijenciju vitamina D, 24,0% (12/50) insuficijenciju, a svega 18,0% (9/50) bolesnika je imao optimalan status vitamina D, odnosno suficijenciju. Rezultati su prikazani na grafikonu 4.2.1.

Tabela 4.2.1. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom prvog pregleda

N = 50	Vitamin D			
	<50 nmol/l		>50 nmol/l	
	< 25 nmol/l umereno teška i teška deficijencija	25-49 nmol/l blaga deficijencija	50-80 nmol/l insuficijencija	> 80 nmol/l suficijencija
grupa	1	2	3	4
n	8	21	12	9
%	16.0%	42.0%	24.0%	18.0%
Min.	8.00	25.00	50.00	82.00
Maks.	19.00	49.00	80.00	153.00
Sr. vrednost	13.50	36.24	66.75	106.11
St. devijacija	3.59	8.23	10.34	20.75
Varijansa	12.86	67.79	106.93	430.36
Kurtosis	-0.46	-1.39	-1.45	3.17
Skewness	0.00	0.21	-0.41	1.45
p	<0.001			

* ANOVA



Legenda:

1	2	3	4
< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	50-80 nmol/l	> 80 nmol/l

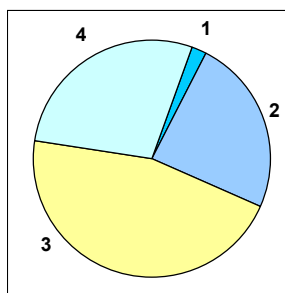
Grafikon 4.2.1. Distribucija ispitivanih bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom prvog pregleda

4.2.1.2. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom četvrtog pregleda

Nakon suplementacije vitaminom D u trajanju od godinu dana, prilikom četvrtog (završnog) pregleda u istraživanju, ponovo je izvršeno grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D. Uočava se da se nakon godinu dana suplementacije vitaminom D smanjuje broj bolesnika sa deficijencijom vitamina D, i da on sada iznosi 26,0% (13/50). Rezultati su prikazani u tabeli 4.2.2. i na grafikonu 4.2.2.

Tabela 4.2.2. Grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom četvrtog pregleda

N = 50	Vitamin D			
	<50 nmol/l		>50 nmol/l	
	< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	50-80 nmol/l	> 80 nmol/l
	umereno teška i teška deficijencija	blaga deficijencija	insuficijencija	suficijencija
grupa	1	2	3	4
n	1	12	23	14
%	2.0%	24.0%	46.0%	28.0%
Min.	12.00	32.00	52.00	84.00
Maks.	12.00	49.00	78.00	173.00
Sr. vrednost	12.00	40.00	62.17	112.07
St. devijacija		4.95	8.38	23.91
Varijansa	0.00	24.55	70.24	571.61
Kurtosis		0.10	-0.87	2.02
Skewness		0.48	0.50	1.25
p	<0.001			



Legenda:

1	2	3	4
< 25 nmol/l	25-49 nmol/l	50-80 nmol/l	> 80 nmol/l

Grafikon 4.2.2. Distribucija ispitivanih bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D prilikom četvrtog pregleda

4.2.2. Promene nivoa vitamina D tokom istraživanja

4.2.2.1. Promene nivoa vitamina D prema sprovedenim pregledima

Početna srednja vrednost nivoa vitamina D za celu grupu ispitanika (N=50) koji su završili ispitivanje iznosila je 52,50 nmol/l.

Posle tri meseca suplementacije vitaminom D (P2), u odnosu na početni nivo došlo je do porasta nivoa vitamina D na 74,86 nmol/l (razlika P2 i P1 je 22,36 nmol/l).

Posle šest meseci suplementacije, porast i dalje postoji, ali je manji, naime razlika između P3 i P2 iznosi svega 10,34 nmol/l. Ukupni porast od P1 do P3 iznosi 32,7 nmol/l. U P3 je postignuta vršna vrednost nivoa vitamina D (85,20 nmol/l).

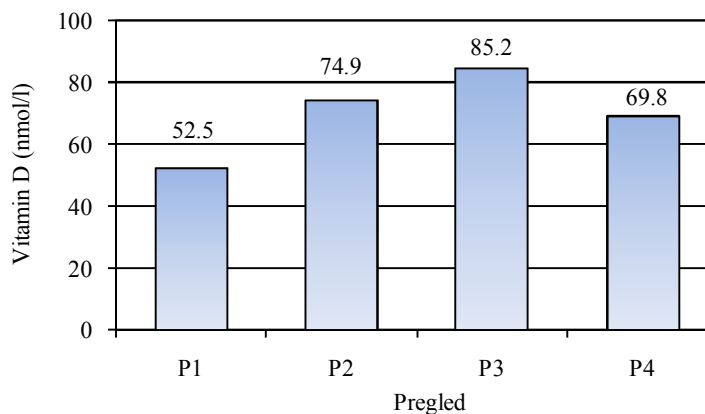
Nakon toga, između P3 i P4 u razmaku od šest meseci nastupa pad u srednjim vrednostima vitamina D od 15,38 nmol/l.

Ukupan porast od P1 do P4 iznosi 17,32 nmol/l. Ukupno procentualno povećanje srednje vrednosti iznosi 32,99% (tabela 4.2.3 i grafikon 4.2.3.).

Tabela 4.2.3. Promena srednjih vrednosti nivoa vitamina D prema sprovedenim pregledima

Vitamin D (30-150 nmol/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
pregled 1	52.50	Pregledi	%	
pregled 2	74.86	P1/P2	42.59	< 0.001
pregled 3	85.20	P2/P3	13.81	< 0.001
pregled 4	69.82	P3/P4	-18.05	0.004
Ukupno povećanje srednje vrednosti		P1/P4	32.99	< 0.001

*MANOVA – ponovljena merenja



Grafikon 4.2.3. Srednje vrednosti nivoa vitamina D prema sprovedenim pregledima

4.2.2.2. Promene nivoa vitamina D u odnosu na početne kategorije njegovog nivoa

Kod bolesnika koji su imali početni nivo vitamina D < 80 nmol/l postoji porast nivoa vitamina D između prvog (P1) i četvrtog pregleda (P4).

Porast nivoa vitamina D kod bolesnika koji su bili u kategoriji umereno teške i teške deficijencije između P1 i P4 iznosi 53,5 nmol/l, kod bolesnika u klasi blaže deficijencije iznosi 23,47 nmol/l, kod bolesnika u klasi insuficijencije porast je 13,17 nmol/l, a kod bolesnika u klasi suficijencije postoji pad u vrednostima vitamina D za 23,67 nmol/l. Uočava se da je najveći porast kod bolesnika koji su imali najniže početne vrednosti vitamina D.

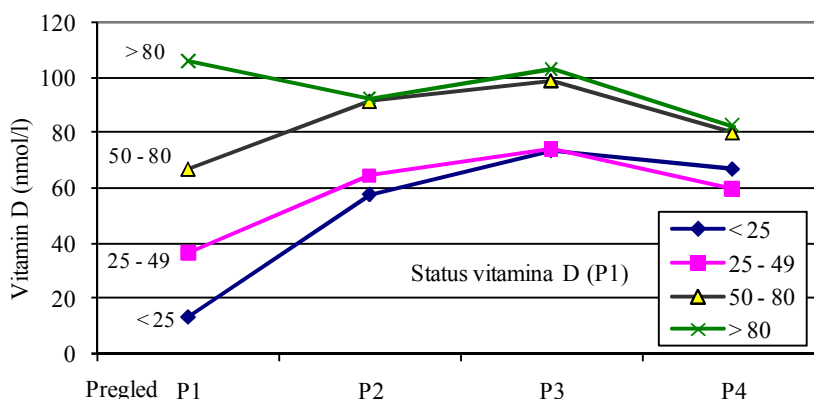
Vršna vrednost nivoa vitamina D kod svih bolesnika koji su imali početne vrednosti < 80 nmol/l postignuta je posle šest meseci suplementacije (u P3), nakon čega dolazi do opadanja nivoa vitamina D. Shodno tome, i razlika između P3 i P1 je veća nego razlika P4 i P1. Razlika P3 i P1 kod bolesnika sa umereno teškom i teškom deficijencijom iznosi 60,25 nmol/l, kod bolesnika sa blagom deficijencijom iznosi 37,86 nmol/l, a kod bolesnika sa insuficijencijom iznosi 32,17 nmol/l.

Ukupna promena srednje vrednosti nivoa vitamina D posmatrano u odnosu na početne kategorije vitamina D iznosi 79,85% u grupi bolesnika sa početnim nivoom vitamina D < 25 nmol/l, 39,31% u grupi bolesnika sa početnim nivoom vitamina D 25-50 nmol/l, 16,48% u grupi bolesnika sa početnim nivoom vitamina D 50-80 nmol/l i -28,71 kod bolesnika sa početnim nivoom > 80 nmol/l.

Uočava se da suplementacija vitaminom D dovodi do najvećeg ukupnog procenta porasta kod bolesnika koji su imali početno najniži nivo vitamina D, a da se kod većih početnih vrednosti vitamina D dobija manji ukupni procenat porasta. Izuzetak je grupa bolesnika koja je imala početni nivo vitamina D > 80 nmol/l, kod koje postoji negativna ukupna promena srednjih vrednosti.

Na grafikonu 4.2.4. je prikazana promena nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda prema kategorijama početnog nivoa. Uočava se vrh koji je postignut posle šest meseci suplementacije vitaminom D.

U tabeli 4.2.4. su prikazane srednje vrednosti nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda prema kategorijama početnog nivoa, kao i promene srednjih vrednosti.



Grafikon 4.2.4. Promena nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda prema kategorijama početnog nivoa

Tabela 4.2.4. Srednje vrednosti nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda prema kategorijama početnog nivoa i ukupna promena srednje vrednosti

Podela	Pregledi				Promena srednje vrednosti		
	P1	P2	P3	P4	P1/P2 (%)	P1/P3 (%)	P1/P4 (%)
Vitamin D (nmol/l)							
<25	13.50	57.88	73.75	67.00	76.68	81.69	79.85
25-49	36.24	64.29	74.10	59.71	43.63	51.09	39.31
50-80	66.75	91.42	98.92	79.92	26.99	32.52	16.48
>80	106.11	92.56	103.00	82.44	14.64	3.02	-28.71

4.2.2.3. Promene nivoa vitamina D kod ispitivanih bolesnika podeljenih prema Child-Pugh klasifikaciji

Kod svih ispitivanih bolesnika sa AC jetre (N=50) podeljenih u Child-Pugh klase, nakon jednogodišnje suplementacije vitaminom D konstatovan je porast nivoa vitamina D u odnosu na početne vrednosti.

Kod bolesnika klase A razlika u nivou vitamina D između P4 i P1 iznosi 9,96 nmol/l, kod bolesnika klase B razlika iznosi 22,12 nmol/l, a kod bolesnika klase C 33 nmol/l. Uočava se da je najveći porast nivoa vitamina D kod bolesnika Child-Pugh klase C, koji su početno imali najniže vrednosti vitamina D.

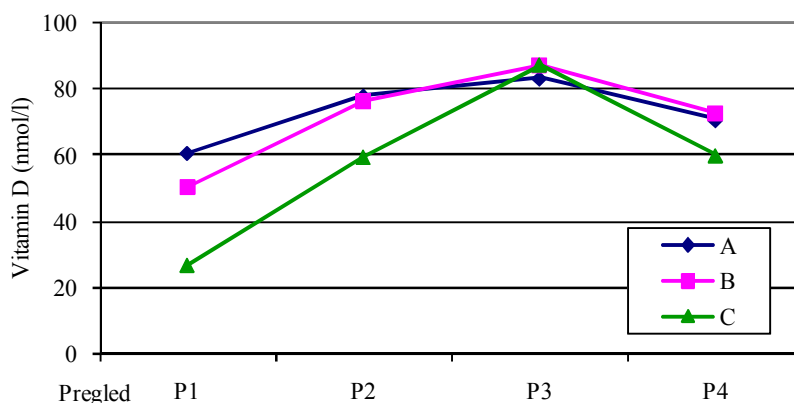
Tabela 4.2.5. Srednje vrednosti nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase, i ukupna promena srednje vrednosti.

Child Pugh klase	Pregledi				Povećanje srednje vrednosti		
	P1	P2	P3	P4	P1/P2 (%)	P1/P3 (%)	P1/P4 (%)
A	60.73	78.00	83.27	70.69	22.14	27.07	14.09
B	50.53	76.47	87.35	72.65	33.92	42.15	30.45
C	26.71	59.29	87.14	59.71	54.95	69.35	55.27

Međutim, vrh porasta je kod svih bolesnika postignut u P3 (posle šest meseci od početka suplementacije), kada su vrednosti nivoa vitamina D najviše i nakon kojih one počinju da opadaju. Te maksimalne vrednosti kod bolesnika klase A iznose 83,27 nmol/l, kod klase B 87,32 nmol/l i kod klase C 87,14 nmol/l. Shodno tome, i razlika u nivou vitamina D

između P3 i P1 je veća nego razlika P4 i P1 i iznosi za klasu A 22,54 nmol/l, za klasu B 36,82 nmol/l i za klasu C 60,43 nmol/l.

U tabeli 4.2.5. i na grafikonu 4.2.5. su prikazane vrednosti nivoa vitamina D kod bolesnika podeljenih u Child Pugh klase u odnosu na sva četiri pregleda. Na grafikonu se jasno uočava vršna vrednost koja je postignuta posle šest meseci suplementacije vitaminom D.



Grafikon 4.2.5. Promena nivoa vitamina D od prvog (P1) do četvrtog (P4) pregleda kod bolesnika podeljenih u Child-Pugh klase

4.2.3. Uticaj suplementacije vitaminom D na parametre metabolizma kosti

Multivarijantnom analizom varijanse testirana je značajnost interakcije između vitamina D i svake posmatrane promenljive u vremenu. Za svaku promenljivu tabelarno su prikazane srednje vrednosti, odnos srednjih vrednosti prema sprovedenim pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Grafički su prikazane promene u srednjim vrednostima svake promenljive i vitamina D prilikom sva četiri sprovedena pregleda.

4.2.3.1. Osteokalcin

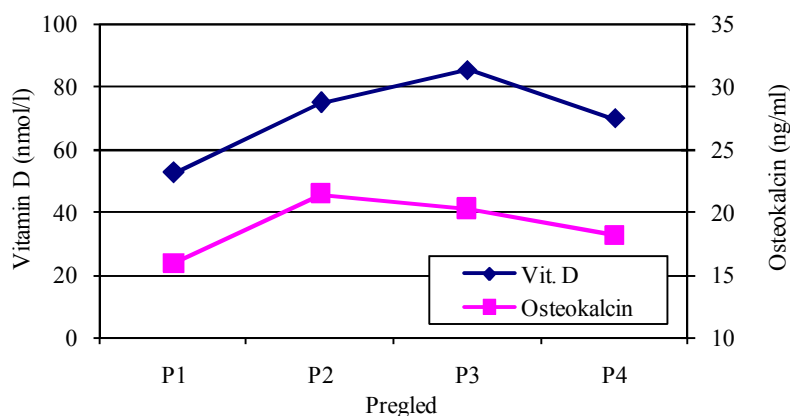
Postoji značajna interakcija između vitamina D i osteokalcina, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Najveći porast početno niskih vrednosti osteokalcina koje su iznosile 15,94 ng/ml postignut je u P2, nakon tri meseca suplementacije vitaminom D. Nivo osteokalcina je porastao za 5,48 ng/ml. Blago smanjenje postignutih vrednosti (-1,15 ng/ml) uočava se u P3, a značajno smanjenje (-2,14 ng/ml) između P3 i P4. Konstatuje se pozitivna razlika vrednosti P1/P4 od 2,19 ng/ml, odnosno pozitivna ukupna promena srednjih vrednosti od 13,75%.

Međutim, kako početne, tako i završne srednje vrednosti nivoa osteokalcina nalaze se ispod donje granice normale (<21 ng/ml). Samo u P2 nivo osteokalcina ulazi u referentne vrednosti, ali neznatno premašuje donju granicu normale i iznosi 21,42 ng/ml. Sve promene su statistički signifikantne.

U tabeli 4.2.6. su prikazane srednje vrednosti osteokalcina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Na grafikonu 4.2.6. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i osteokalcina prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.6. Srednje vrednosti vitamina D i osteokalcina prilikom sva četiri pregleda

Tabela 4.2.6. Srednje vrednosti osteokalcina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti

Osteokalcin (21-41 ng/ml)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
pregled 1	15.94	Pregledi	%	
pregled 2	21.42	P1/P2	34.39	< 0.001
pregled 3	20.27	P2/P3	-5.41	0.019
pregled 4	18.13	P3/P4	-10.52	< 0.001
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	13.75	0.001

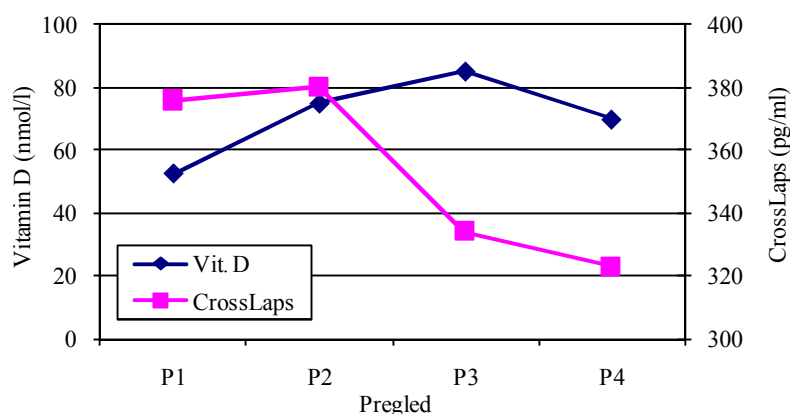
*MANOVA ponovljena merenja

4.2.3.2. CrossLaps

Postoji značajna interakcija između vitamina D i CrossLapsa, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,036$.

Početne srednje vrednosti nivoa CrossLapsa iznosile su 375,92 pg/ml. Prilikom drugog pregleda (P2), nakon tri meseca suplementacije vitaminom D, uočava se blagi porast vrednosti CrossLapsa od 4,16 pg/ml (1,1%), da bi potom one počele da opadaju proporcionalno redosledu pregleda, u P3 za 46 pg/ml, u P4 za 11,02 pg/ml, tako da je ukupna razlika između P1 i P4 -52,86 pg/ml. Ukupna promena srednje vrednosti iznosi -14,06 %. Srednje vrednosti nivoa CrossLapsa u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti (160-504 pg/ml), a promene nisu statistički značajne.

Na grafikonu 4.2.7. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i CrossLapsa prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.7. Srednje vrednosti vitamina D i CrossLapsa prilikom sva četiri pregleda.

U tabeli 4.2.7. su prikazane srednje vrednosti CrossLapsa prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Tabela 4.2.7. Srednje vrednosti CrossLapsa prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

CrossLaps (160-504 pg/ml)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	375.92	P1/P2	1.11	NS
pregled 2	380.08	P2/P3	-12.10	NS
pregled 3	334.08	P3/P4	-3.30	NS
pregled 4	323.06	P1/P4	-14.06	NS
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-14.06	NS

*MANOVA ponovljena merenja

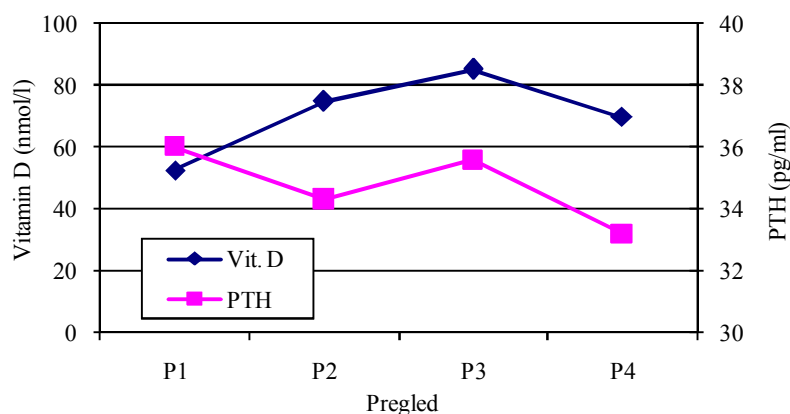
4.2.3.3. Parathormon (PTH)

Postoji značajna interakcija između vitamina D i PTH, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne vrednosti PTH iznosile su 36,01 pg/ml. Prvo smanjenje vrednosti PTH konstatuje se u P2 nakon tri meseca suplementacije vitaminom D i iznosi -1,7 pg/ml. Blagi porast postignutih vrednosti, od 1,26 pg/ml uočava se u P3, a potom nastupa smanjenje od -2,37 pg/ml u P4. Konstatuje se negativna ukupna razlika između P1 i P4 od -2,81 pg/ml, odnosno negativna ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 koja iznosi -7,78%.

Srednje vrednosti nivoa PTH u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti (15-65 pg/ml).

Na grafikonu 4.2.8. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i PTH prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.8. Srednje vrednosti vitamina D i PTH prilikom sva četiri pregleda

Tabela 4.2.8. Srednje vrednosti PTH prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti

PTH (15-65 pg/ml)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	36.01	P1/P2	-4.72	< 0.001
pregled 2	34.31	P2/P3	3.67	0.011
pregled 3	35.57	P3/P4	-6.64	0.003
pregled 4	33.20	P1/P4	-7.78	0.021
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-7.78	0.021

*MANOVA ponovljena merenja

U tabeli 4.2.8. su prikazane srednje vrednosti PTH prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

4.2.3.4. Kalcijum (Ca)

Postoji značajna interakcija između vitamina D i korigovanog kalcijuma, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

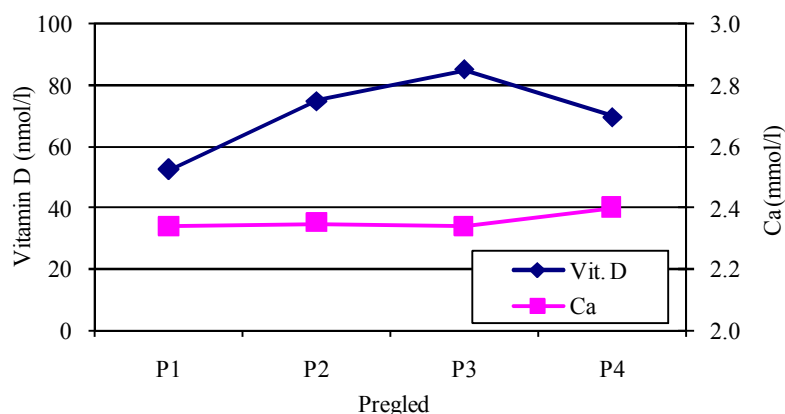
Početne srednje vrednosti korigovanog kalcijuma bile su 2,34 mmol/l. U P2 se konstatuje porast od 0,01 mmol/l i isto toliko smanjenje u P3. U P4 se uočavaju najveće vrednosti koje iznose 2,40 mmol/l, te se uočava pozitivna razlika između P1 i P4 od 0,06 mmol/l. Konstatuje se pozitivna ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 od 2,88%. Srednje vrednosti nivoa korigovanog kalcijuma u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti (2,2-2,7 mmol/l).

U tabeli 4.2.9. su prikazane srednje vrednosti korigovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.9. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i korigovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda

Tabela 4.2.9. Srednje vrednosti korigovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Ca (2,2-2,7 mmol/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
pregled 1	2.34	Pregledi	%	
pregled 2	2.35	P1/P2	0.74	< 0.001
pregled 3	2.34	P2/P3	-0.65	0.009
pregled 4	2.40	P3/P4	2.79	0.002
Ukupno povećanje srednje vrednosti		P1/P4	32.99	0.003

*MANOVA – ponovljena merenja



Grafikon 4.2.9. Srednje vrednosti vitamina D i korigovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda

Srednje vrednosti jonizovanog kalcijuma (Ca^{++}) se u sva četiri merenja nalaze u okviru referentnih vrednosti (0,85-1,20 mmol/l). Promene u jonizovanom kalcijumu su minimalne. Početna srednja vrednost jonizovanog kalcijuma (zaokruženo na dve decimale) iznosi 1,01 mmol/l, toliko je i u P2 i P3, a u P4 je 1,02 mmol/l. Međutim, računajući na tri decimale, vrednosti su 1,009 mmol/l u P1, 1,013 u P2, 1,012 u P3 i 1,018 u P4. Između P2 i P1 postoji porast od 0,004 mmol/l, a između P4 i P1 postoji porast od 0,009 mmol/l.

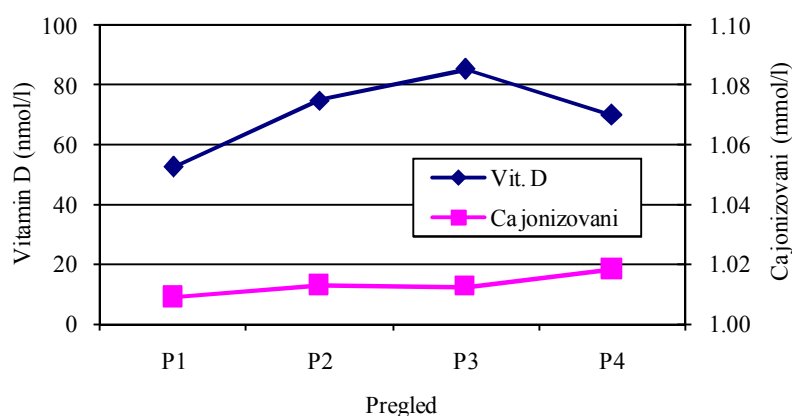
U tabeli 4.2.10. su prikazane srednje vrednosti jonizovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Na grafikonu 4.2.10. prikazane su srednje vrednosti vitamina D i jonizovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda. Dinamika promena Ca^{++} u potpunosti sledi dinamiku promena korigovanog Ca.

Tabela 4.2.10. Srednje vrednosti jonizovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Ca jonizovani (0,85-1,20 mmol/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	1.009			
pregled 2	1.013	P1/P2	0.396	< 0.001
pregled 3	1.012	P2/P3	-0.099	0.007
pregled 4	1.018	P3/P4	0.593	0.002
Ukupno povećanje srednje vrednosti		P1/P4	0.892	0.003

*MANOVA – ponovljena merenja



Grafikon 4.2.10. Srednje vrednosti vitamina D i jonizovanog kalcijuma prilikom sva četiri pregleda

4.2.3.5. Fosfor

Postoji značajna interakcija između vitamina D i fosfora, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne srednje vrednosti fosfora bile su 1,064 mmol/l. U P2 se konstatuje porast od 0,043 mmol/l. Od P2 prema P4 nastaje postepeno snižavanje nivoa fosfora, ali se konstatuje se pozitivna ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 od 0,038%.

Srednje vrednosti nivoa fosfora u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti (0,81-1,45 mmol/l).

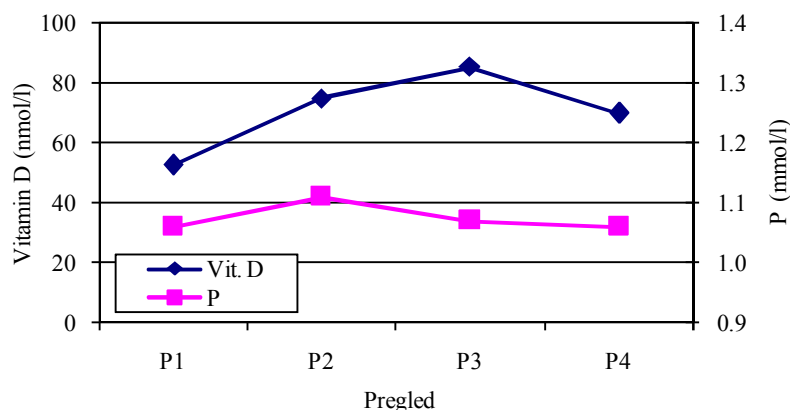
Na grafikonu 4.2.11. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i fosfora prilikom sva četiri pregleda.

U tabeli 4.2.11. su prikazane srednje vrednosti fosfora prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Tabela 4.2.11. Srednje vrednosti fosfora prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti

P (0,81-1,45 mmol/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	1.064			
pregled 2	1.107	P1/P2	4.041	< 0.001
pregled 3	1.066	P2/P3	-3.757	0.007
pregled 4	1.065	P3/P4	-0.094	0.002
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	0.038	0.003

*MANOVA ponovljena merenja



Grafikon 4.2.11. Srednje vrednosti vitamina D i fosfora prilikom sva četiri pregleda.

4.2.3.6. Magnezijum

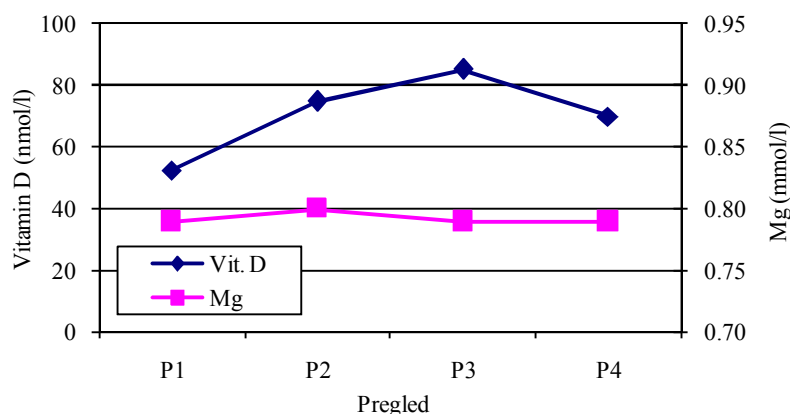
Postoji značajna interakcija između vitamina D i magnezijuma (Mg), kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne srednje vrednosti magnezijuma bile su 0,785 mmol/l. U P2 se konstatuje porast od 0,014 mmol/l. Od P2 prema P4 nastaje postepeno snižavanje nivoa magnezijuma, ali ne dolazi do pada ispod početnih vrednosti. Konstatuje se pozitivna ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 od 0,255%.

Srednje vrednosti nivoa magnezijuma u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti (0,73-1,06 mmol/l).

U tabeli 4.2.12. su prikazane srednje vrednosti magnezijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Na grafikonu 4.2.12. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i magnezijuma prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.12. Srednje vrednosti vitamina D i magnezijuma prilikom sva četiri pregleda.

Tabela 4.2.12. Srednje vrednosti magnezijuma prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

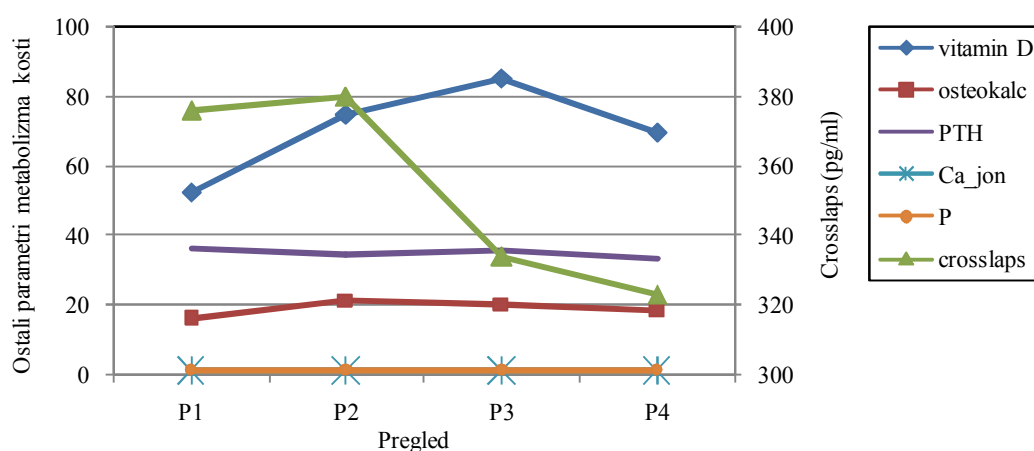
Mg (0,73-1,06 mmol/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	0.785	P1/P2	1.758	< 0.001
pregled 2	0.799	P2/P3	-1.027	0.007
pregled 3	0.791	P3/P4	-0.455	0.002
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	0.255	0.003

*MANOVA ponovljena merenja

4.2.3.7. Međusobni uticaj vitamina D, jonizovanog kalcijuma, CrossLapsa, osteokalcina, fosfora i PTH u odnosu na ponavljana merenja

Multivarijantnom analizom varijanse testirana je interakcija između vitamina D, PTH, markera metabolizma kosti, jonizovanog kalcijuma i fosfora u odnosu na ponavljana merenja. Utvrđeno je da:

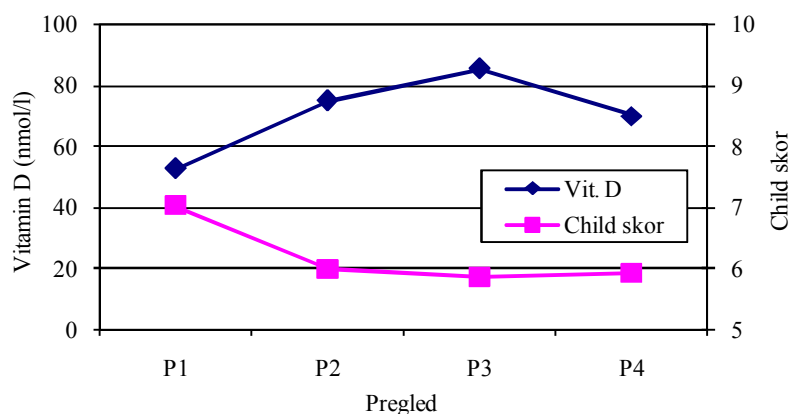
- Postoji značajna interakcija između pregleda i grupe svih parametara
- Postoji međusobna interakcija između vitamina D, jonizovanog kalcijuma, Crosslapsa, osteokalcina, i fosfora. Značajnost interakcije je jednaka za sve parametre, $p < 0,001$.
- Ne postoji značajnost interakcije između PTH sa ostalih pet parametara (vitamin D, jonizovani kalcijum, CrossLaps, osteokalcin, i fosfor). Značajnost interakcije je $p = 0,142$.



Grafikon 4.2.13. Interakcija između vitamina D, PTH, markera metabolizma kosti, jonizovanog kalcijuma i fosfora u odnosu na sprovedene preglede

4.2.4. Uticaj suplementacije vitaminom D na funkciju jetre

Tokom perioda suplementacije vitaminom D zapaža se opadanje Child-Pugh skora sa početnih 7,02 u P1, preko 5,98, zatim 5,86 i 5,92 u P4, redom. Pri tome, najizraženiji pad je između P1 i P2 tokom prvih tri meseca suplementacije vitaminom D. (Grafikon 4.2.14.)



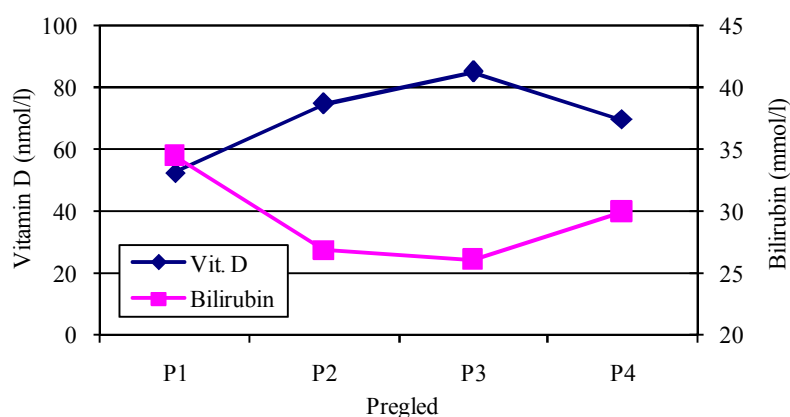
Grafikon 4.2.14. Srednje vrednosti vitamina D i Child-Pugh skora prilikom sva četiri pregleda.

4.2.4.1. Bilirubin, albumini, PV ratio

Bilirubin

Postoji značajna interakcija između vitamina D i bilirubina, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne vrednosti bilirubina iznosile su $34,49 \mu\text{mol/l}$. Prvo smanjenje vrednosti bilirubina konstatuje se u P2 nakon tri meseca suplementacije vitaminom D i iznosi $7,67 \mu\text{mol/l}$. Ono je ujedno i najveće, jer sledeće smanjenje vrednosti između P2 i P3 iznosi svega $0,71 \mu\text{mol/l}$. Između P3 i P4 nivo bilirubina raste, odnosno razlika P3 i P4 je negativna i iznosi $-3,85 \mu\text{mol/l}$. Uprkos tendenciji fluktuacije vrednosti, promene nisu velike, a svakako u P4 postoji pad u odnosu na početne vrednosti od $4,53 \mu\text{mol/l}$, odnosno negativna ukupna promena srednje vrednosti od $-13,13\%$.



Grafikon 4.2.15. Srednje vrednosti vitamina D i bilirubina prilikom sva četiri pregleda.

Tabela 4.2.13. Srednje vrednosti bilirubina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti

Bilirubin ($3-21 \mu\text{mol/l}$)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	34.49			0.005
pregled 2	26.82	P1/P2	-22.23	
pregled 3	26.11	P2/P3	-2.66	
pregled 4	29.96	P3/P4	14.75	
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-13.13	0.051

*MANOVA ponovljena merenja

Srednje vrednosti nivoa bilirubina u sva četiri merenja nalaze se iznad referentnih vrednosti (3-21 $\mu\text{mol/l}$).

U tabeli 4.2.13. su prikazane srednje vrednosti bilirubina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Na grafikonu 4.2.15. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i bilirubina prilikom sva četiri pregleda.

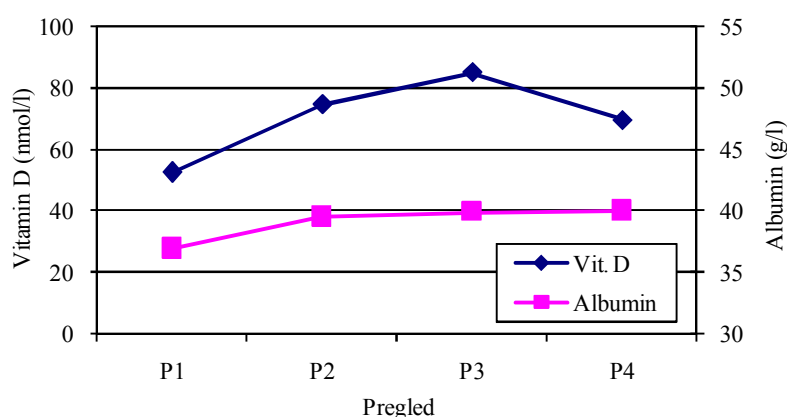
Albumin

Postoji značajna interakcija između vitamina D i albumina, kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne vrednosti albumina iznosile su 36,94 g/l. Nakon toga se zapaža tendencija porasta. Prvi porast nivoa albumina konstatuje se u P2 nakon tri meseca suplementacije vitaminom D i iznosi 2,63 g/l. On je ujedno i najveći, jer su sledeći porasti na nivou manjem od 1 g/l, odnosno porast između P2 i P3 iznosi svega 0,34 g/l, a između P3 i P4 0,13 g/l. Promene zaista nisu velike, ali u P4 svakako postoji porast u odnosu na početne vrednosti od 3,1 g/l, odnosno postoji pozitivna ukupna promena srednje vrednosti od 8,41%.

Srednje vrednosti nivoa albumina u sva četiri merenja nalaze se ispod, ali blizu donje granice referentnih vrednosti.

U tabeli 4.2.14. su prikazane srednje vrednosti albumina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.16. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i albumina prilikom sva četiri pregleda



Grafikon 4.2.16. Srednje vrednosti vitamina D i albumina prilikom sva četiri pregleda

Tabela 4.2.14. Srednje vrednosti albumina prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti

Albumini (41-51 g/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	36.94			
pregled 2	39.57	P1/P2	7.13	< 0.001
pregled 3	39.91	P2/P3	0.86	0.008
pregled 4	40.04	P3/P4	0.33	0.003
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	8.41	0.001

*MANOVA ponovljena merenja

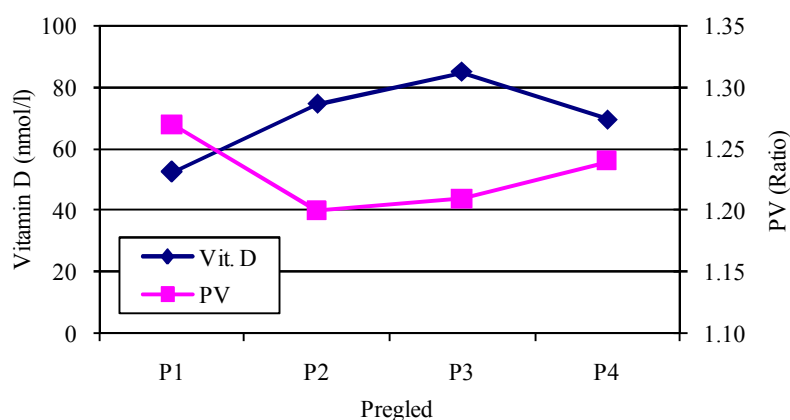
Protrombinsko vreme (PV) - (ratio)

Postoji značajna interakcija između vitamina D i PV *ratio* kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početni *ratio* za protrombinsko vreme iznosio je 1,27. Jedino smanjenje uočava se u P2 (posle tri meseca suplementacije vitaminom D) i iznosi 0,07. Potom se PV *ratio* produžava

između P2 i P3 za 0,01; a između P3 i P4 za 0,03. Međutim, ipak se između P1 i P4 uočava poboljšanje PV (smanjenje *ratia*) za 0,03, odnosno ukupno -2,53%.

Na grafikonu 4.2.17. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i *ratia* za protrombinsko vreme prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.17. Srednje vrednosti vitamina D i *ratia* za protrombinsko vreme prilikom sva četiri pregleda.

U tabeli 4.2.15. su prikazane srednje vrednosti *ratia* za protrombinsko vreme prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

Tabela 4.2.15. Srednje vrednosti *ratia* za protrombinsko vreme prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

PV (<i>ratio</i>)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	1.27			
pregled 2	1.20	P1/P2	-5.51	< 0.001
pregled 3	1.21	P2/P3	0.40	0.007
pregled 4	1.24	P3/P4	2.74	0.002
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-2.53	0.003

*MANOVA ponovljena merenja

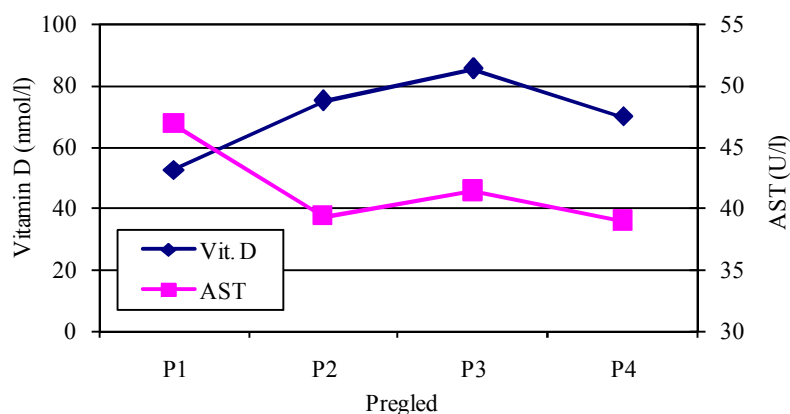
4.2.4.2. AST, ALT, ALP, GGT

AST

Postoji značajna interakcija između vitamina D i AST kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne vrednosti AST iznosile su 46,80 U/l. U P2 (nakon tri meseca suplementacije vitaminom D) uočava se pad koji iznosi 7,47 U/l. Nakon toga, između P2 i P3 nastupa porast za 2,06 U/l, a između P3 i P4 pad za 2,43 U/l. Uprkos fluktuaciji, između P1 i P4 postoji smanjenja vrednosti AST za 7,84 U/l. Ukupna promena srednje vrednosti je -16,75, ali nije statistički signifikantna.

U tabeli 4.2.16. su prikazane srednje vrednosti AST prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.18. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i AST prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.18. Srednje vrednosti vitamina D i AST prilikom sva četiri pregleda.

Tabela 4.2.16. Srednje vrednosti AST prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

AST (5-37 U/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	46.80			0.017
pregled 2	39.33	P1/P2	-15.96	
pregled 3	41.39	P2/P3	5.24	
pregled 4	38.96	P3/P4	-5.87	
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-16.75	0.220

*MANOVA ponovljena merenja

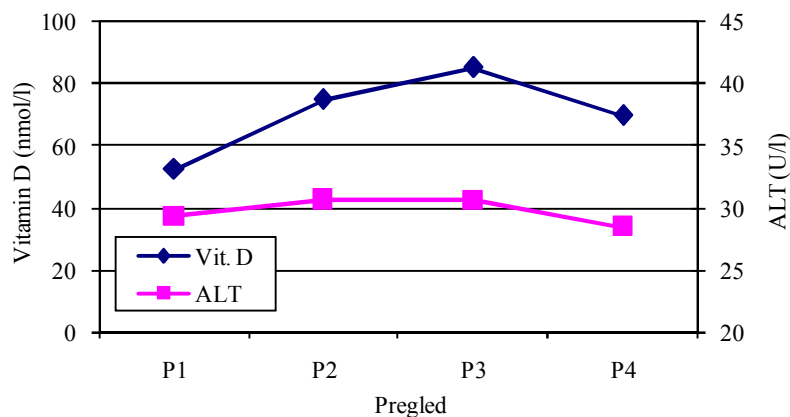
ALT

Postoji značajna interakcija između vitamina D i ALT kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Tabela 4.2.17. Srednje vrednosti ALT prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

ALT (5-40 U/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	29.36			< 0.001
pregled 2	30.70	P1/P2	4.56	
pregled 3	30.62	P2/P3	-0.26	
pregled 4	28.50	P3/P4	-6.92	
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-2.93	0.012

*MANOVA ponovljena merenja



Grafikon 4.2.19. Srednje vrednosti vitamina D i ALT prilikom sva četiri pregleda.

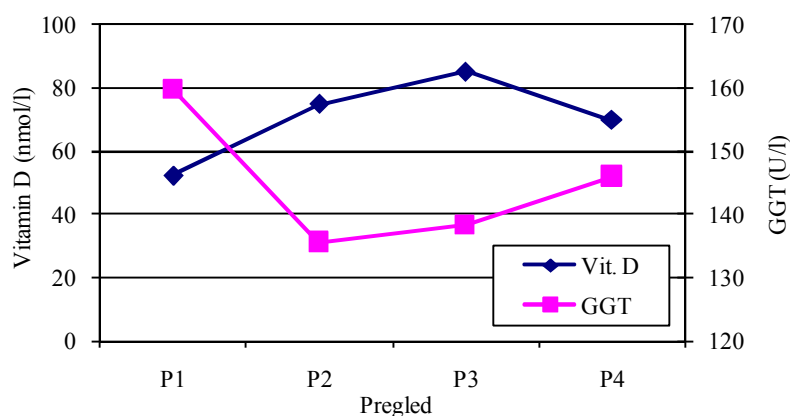
Promene u vrednostima ALT su minimalne. Početne vrednosti ALT iznose 29,36 nmol/l. U P2, nakon tri meseca suplementacije vitaminom D dolazi do blagog porasta ALT od 1,34 U/l, potom je između P2 i P3 takođe minimalan porast od 0,08 U/l, a između P3 i P4 dolazi do pada ALT od 2,12 U/l. Postoji pad P1-P4 od 0,86 U/l, odnosno ukupna promena srednjih vrednosti od -2,93%.

U tabeli 4.2.17. su prikazane srednje vrednosti ALT prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.19. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i ALT prilikom sva četiri pregleda.

GGT

Ne postoji značajna interakcija između vitamina D i GGT kao posmatrane promenljive u vremenu.

Početne vrednosti GGT iznosile su 159 U/l. Između P1 i P2 (posle tri meseca suplementacije vitaminom D) registruje se pad u vrednostima od 24,3 U/l. Potom između P2 i P3 nastupa porast nivoa GGT od 2,74 U/l, i još veći između P3 i P4 koji iznosi 7,76 U/l. Ipak, između P1 i P4 postoji pad GGT koji iznosi 13,8 U/l, odnosno postoji ukupna negativna promena srednje vrednosti koja iznosi -8,63%. Promene nisu statistički značajne.



Grafikon 4.2.20. Srednje vrednosti vitamina D i GGT prilikom sva četiri pregleda.

Tabela 4.2.18. Srednje vrednosti GGT prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

GGT (1-55 U/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
		Pregledi	%	
pregled 1	159.84			
pregled 2	135.54	P1/P2	-15.20	NS
pregled 3	138.28	P2/P3	2.02	NS
pregled 4	146.04	P3/P4	5.61	NS
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	-8.63	NS

*MANOVA ponovljena merenja

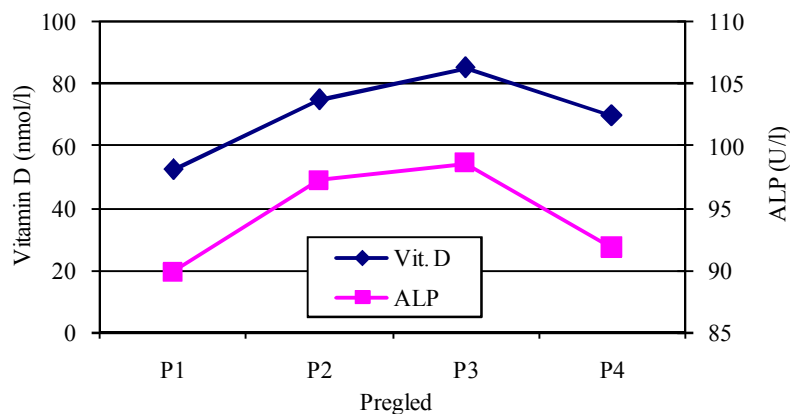
U tabeli 4.2.18. su prikazane srednje vrednosti GGT prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.20. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i GGT prilikom sva četiri pregleda.

ALP

Postoji značajna interakcija između vitamina D i ALP kao posmatrane promenljive u vremenu $p < 0,001$.

Početne vrednosti ALP su bile 89,82 U/l. Uočava se porast od 7,4 U/l u P2, dalji porast između P2 i P3 od 1,43 U/l. Od P3 do P4 registruje se pad od 6,81 U/l. Ukupna promena od P1 do P4 je porast ALP od 2,02 U/l. Ukupna promena srednje vrednosti je porast 2,25 %.

U tabeli 4.2.19. su prikazane srednje vrednosti ALP prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti. Na grafikonu 4.2.21. su predstavljene srednje vrednosti vitamina D i ALP prilikom sva četiri pregleda.



Grafikon 4.2.21. Srednje vrednosti vitamina D i ALP prilikom sva četiri pregleda.

Tabela 4.2.19. Srednje vrednosti ALP prilikom sva četiri pregleda, odnos srednjih vrednosti prema pregledima i ukupna promena srednje vrednosti.

ALP (30-115 U/l)				
Pregled	Srednja vrednost	Odnos srednjih vrednosti prema pregledima		p
pregled 1	89.82	Pregledi	%	
pregled 2	97.22	P1/P2	8.25	< 0.001
pregled 3	98.65	P2/P3	1.47	0.030
pregled 4	91.84	P3/P4	-6.91	< 0.001
Ukupna promena srednje vrednosti		P1/P4	2.25	0.007

*MANOVA ponovljena merenja

4.2.5. Uticaj suplementacije vitaminom D na mineralnu gustinu kosti

Analizirajući razliku između mineralne gustine kosti (BMD) određene DXA metodom na početku (P1) i na kraju istraživanja (P4), uočeno je da je na lumbalnoj kičmi došlo do poboljšanja BMD za 0,87%. Najveće pogoršanje nastalo je na kosti sa startno najnižim BMD, odnosno vratu femura i iznosi -1,87%. Na regiji kuka takođe je došlo do pogoršanja BMD, odnosno procenat promene je -1,65%.

U tabelama 4.2.20 - 4.2.22. prikazane su srednje vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre (N=50), prilikom prvog i kontrolnog DXA pregleda. Prikazana je i razlika između kontrolnog i prvog pregleda, kao i procenat promene srednjih vrednosti. Na grafikonima 4.2.22. - 4.2.24. prikazane su srednje vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku prilikom prvog i kontrolnog DXA pregleda.

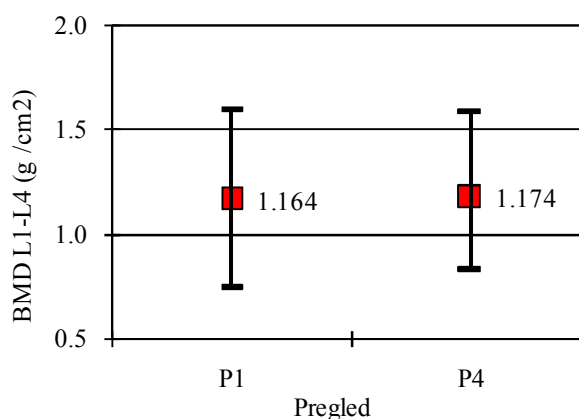
U tabelama 4.2.23. - 4.2.28. prikazane su razlike u srednjim vrednostima T i Z skorova na lumbalnoj kičmi, vratu femura i regiji kuk ukupni između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda. Na grafikonima 4.2.25. - 4.2.27. prikazane su srednje vrednosti T skorova lumbalne kičme, vrata femura i regije kuk ukupni, prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda.

Najveća razlika između P1 i P4, odnosno pogoršanje T skora je na regiji ukupnog kuka (-0,99), potom na regiji vrata femura (-0,13), dok je na lumbalnoj kičmi poboljšanje

(0,11). Jedino pogoršanje Z skora je na regiji vrata femura (-0,24), dok je na lumbalnoj kičmi najveće poboljšanje koje iznosi 0,47, a na regiji ukupnog kuka poboljšanje Z skora je bitno manje i iznosi 0,01.

Tabela 4.2.20. Razlika u BMD lumbalne kičme između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda i procenat promene srednjih vrednosti

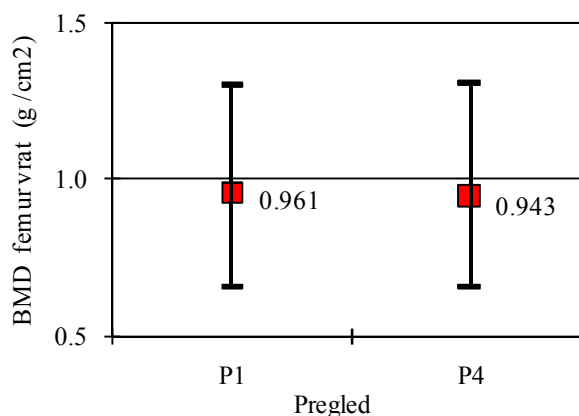
BMD L1-L4 (g/cm ²)	P1	P4	Razlika P4 - P1	Procenat promene srednjih vrednosti
Srednja vrednost	1.164	1.174	0.010	0.87
Standardna devijacija	0.196	0.199	0.003	
minimum	0.743	0.833	0.090	
maksimum	1.596	1.594	-0.002	



Grafikon 4.2.22. Srednje vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Tabela 4.2.21. Razlika u BMD vrata femura između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda i procenat promene srednjih vrednosti

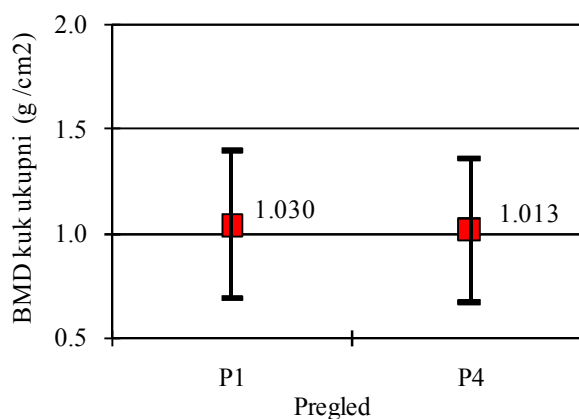
BMD femur vrat (g/cm ²)	P1	P4	Razlika P4 - P1	Procenat promene srednjih vrednosti
Srednja vrednost	0.961	0.943	-0.018	-1.87
Standardna devijacija	0.153	0.146	-0.007	
minimum	0.658	0.658	0.000	
maksimum	1.300	1.308	0.008	



Grafikon 4.2.23. Srednje vrednosti BMD na vratu femura prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Tabela 4.2.22. Razlika u BMD na regiji kuk ukupni, između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda i procenat promene srednjih vrednosti

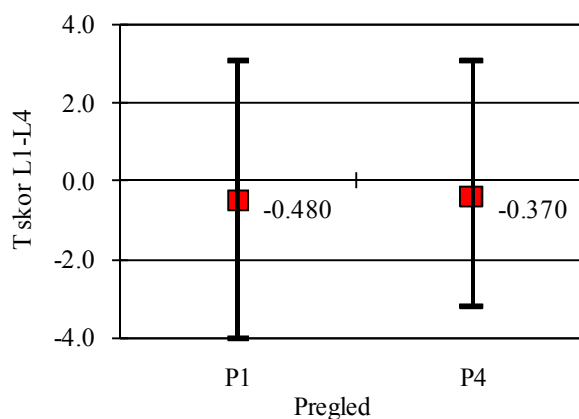
BMD kuk ukupni (g/cm ²)	P1	P4	Razlika P4 - P1	Procenat promene srednjih vrednost
Srednja vrednost	1.030	1.013	-0.017	-1.65
Standardna devijacija	0.165	0.163	-0.002	
minimum	0.687	0.670	-0.017	
maksimum	1.400	1.362	-0.038	



Grafikon 4.2.24. Srednje vrednosti BMD na regiji kuk ukupni, prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Tabela 4.2.23. Razlika u T skoru lumbalne kičme između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

T skor L1-L4	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	-0.48	-0.37	0.11
Standardna devijacija	1.64	1.66	0.03
minimum	-4.00	-3.20	0.80
maksimum	3.10	3.10	0.00



Grafikon 4.2.25. Srednje vrednosti T skora na lumbalnoj kičmi prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Tabela 4.2.24. Razlika u Z skoru lumbalne kičme između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

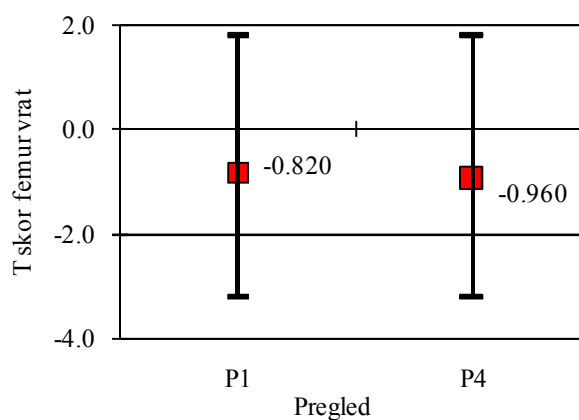
Z skor L1-L4	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	-0.44	0.03	0.47
Standardna devijacija	1.63	1.91	0.29
minimum	-3.80	-4.00	-0.20
maksimum	3.00	3.10	0.10

Tabela 4.2.25. Razlika u T skoru vrata femura između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

T skor femur vrat	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	-0.82	-0.96	-0.13
Standardna devijacija	1.18	1.13	-0.05
minimum	-3.20	-3.20	0.00
maksimum	1.80	1.80	0.00

Tabela 4.2.26. Razlika u Z skoru vrata femura između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Z skor femur vrat	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	0.08	-0.16	-0.24
Standardna devijacija	1.16	1.09	-0.08
minimum	-2.00	-2.00	0.00
maksimum	2.80	2.70	-0.10



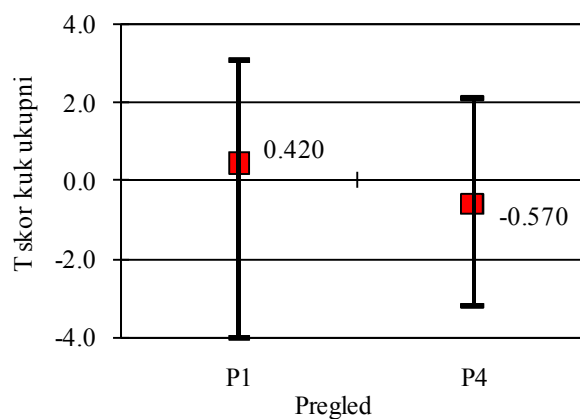
Grafikon 4.2.26. Srednje vrednosti T skora na vratu femura prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Tabela 4.2.27. Razlika u T skoru ukupnog kuka između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

T skor kuk ukupni	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	0.42	-0.57	-0.99
Standardna devijacija	1.82	1.25	-0.57
minimum	-4.00	-3.20	0.80
maksimum	3.10	2.10	-1.00

Tabela 4.2.28. Razlika u Z skoru ukupnog kuka između prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

Z skor kuk ukupni	P1	P4	Razlika P4 - P1
Srednja vrednost	0.08	0.10	0.01
Standardna devijacija	1.16	0.33	-0.83
minimum	-2.00	-0.50	1.50
maksimum	2.80	1.20	-1.60



Grafikon 4.2.27. Srednje vrednosti T skora na regiji kuk ukupni prilikom prvog (P1) i kontrolnog (P4) DXA pregleda

5. DISKUSIJA

5.1. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE UKLJUČENA U ISTRAŽIVANJE

5.1.1. Status vitamina D u alkoholnoj cirozi jetre

Sprovedenim prospektivnim intervencijskim istraživanjem obuhvaćeni su bolesnici sa alkoholnom cirozom jetre. Inicijalno je uključeno 70 bolesnika kod kojih je započet protokol istraživanja, odnosno određen status vitamina D, metabolizam kosti i mineralna gustina kosti, kao i testovi funkcije jetre. Bolesnici su stratifikovani prema Child-Pugh klasifikaciji u klasu A (n=31), B (n=23), C (n=16). Prosečne vrednosti vitamina D kod bolesnika klase A bile su 58,4 nmol/l, klase B 44,2 nmol/l i klase C 27,8 nmol/l.

Bolesnici su podeljeni i u četiri grupe na osnovu nivoa vitamina D. U grupi suficijencije vitamina D (> 80 nmol/l) nalazilo se 14% bolesnika, insuficijenciju (50-80 nmol/l) je imalo 19% (13/70), blagu deficijenciju (25-49 nmol/l) 44% (31/70) a umereno tešku i tešku deficijenciju (< 25 nmol/l) 23% (16/70) bolesnika. Ukupno gledajući, deficijencija vitamina D (< 50 nmol/l) bila je zastupljena u 67% (47/70) bolesnika. Prosečne vrednosti vitamina D za celu grupu (n=70) bile su 46,73 nmol/l.

Rezultati su slični literaturnim, ali nisu potpuno uporedivi, jer je većina istraživača imala nehomogenu grupu, odnosno ispitivali su status vitamina D kod hroničnih bolesti jetre neholestatske, ali mešane etiologije, i kod bolesnika oba pola.

Tako su na primer Fisher i Fisher u grupu bolesnika sa hroničnim neholestatskim bolestima jetre mešane etiologije uključili 51% bolesnika sa cirozom jetre, od toga 72% alkoholnih ciroza. Kod bolesnika sa cirozom jetre ustanovili su deficijenciju vitamina D u 86,3%. Prosečne vrednosti vitamina D prema Child-Pugh klasi A/B/C su bile 45,8/32,4/22,7 nmol/l. U odnosu na celu grupu bolesnika sa hroničnim bolestima jetre 68% bolesnika je imalo deficijenciju vitamina D (< 50 nmol/l), a insuficijenciju (50-80 nmol/l) 23% [59].

Artech i saradnici konstatuju da je u hroničnim bolestima jetre deficijencija vitamina D prisutna kod 92% bolesnika, a da su najteže deficijencije prisutne u cirozi jetre. Konstatovali su da je ciroza nezavisan faktor za deficijenciju vitamina D mada nije dokazano da je to povezano isključivo sa sintetskom funkcijom jetre, nego se ističe značaj i drugih doprinosnih faktora koji prate ovo oboljenje (loša ishrana, nedovoljno izlaganje suncu, smanjeno kretanje, upotreba kortikosteroida ...) [60].

Stokes vrlo zanimljivo navodi da, iako je jasno dokazana asociranost između bolesti jetre i statusa vitamina D, postoji nedoumica da li deficijencija vitamina D povećava rizik za nastanak i težinu bolesti jetre, ili bolest jetre uzrokuje deficijenciju vitamina D [123].

Malhalm i saradnici su poredili status vitamina D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom (AC) jetre i primarnom bilijarnom cirozom jetre (PBC). U prvoj grupi je 85% bolesnika imalo vitamin D < 50 nmol/l, a u drugoj 60%. U AC je 55% bolesnika imalo vitamin D < 25 nmol/l a u PBC 16%. U obe grupe je vitamin D bio niži proporcionalno Child-Pugh skoru. Zaključili su da je deficijencija vitamina D povezana sa stepenom disfunkcije jetre prema Child-Pugh klasifikaciji, a ne sa etiologijom ciroze [124].

Mada, Monegal i saradnici su ustanovili da alkoholne ciroze Child-Pugh klase C imaju najniže vrednosti vitamina D u ispitivanoj grupi od 58 bolesnika sa cirozom jetre prijavljenih

za transplantaciju jetre, u kojoj je bilo 6 bolesnika sa PBC, 14 sa AC jetre i 38 posthepatitisnih ciroza [159].

Miroliac i saradnici takođe konstatuju da stepen deficijencije vitamina D korelira sa težinom i progresijom bolesti prema Child-Pugh i MELD skor. Navode pozitivnu korelaciju između vitamina D i albumina, hemoglobina i trombocita, a negativnu sa INR i bilirubinom. Predlažu proveru statusa vitamina D i suplementaciju kod svih bolesnika sa hroničnim bolestima jetre [98].

Analizirajući parametre funkcije jetre prema kategorijama nivoa vitamina D, sprovedenim istraživanjem su ustanovljene najviše vrednosti Child-Pugh skora u kategoriji bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D, dok sa porastom nivoa vitamina D dolazi do opadanja Child-Pugh skora. Najniže vrednosti vitamina D ustanovljene su kod bolesnika Child-Pugh klase C kod kojih postoji i značajna zastupljenost deficijencije vitamina D.

Konstatovana je i pozitivna korelacija vitamina D sa albuminima, a negativna sa bilirubinom i protrombinskim vremenom, kao i Child-Pugh skorom. Dobijeni rezultati su kompatibilni sa rezultatima drugih autora [60, 98, 124].

Ustanovljena je negativna korelacija vitamina D sa godinama uzimanja alkohola. Alkohol snižava nivo aktivnog oblika vitamina D $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tako što izaziva smanjenje ekspresije hepatičke hidrosilaze vitamina D (CYP27A1) a indukuje aktivnost enzima CYP24A1 koji u bubrezima razlaže $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ do kalcitrične kiseline. Sa kliničkog aspekta dugotrajna, hronična zloupotreba alkohola dovodi do lošeg nutritivnog statusa bolesnika, zbog smanjenog unosa hrane (uključujući smanjen unos vitamina i drugih mikronutrienata). Zapostavljanje zdravog načina života kod ove populacije podrazumeva i smanjeno kretanje, smanjeno izlaganje suncu, pušenje cigareta i drugo [27].

Istraživanjem su ustanovljene najviše vrednosti CRP-a u kategoriji bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D, dok sa porastom nivoa vitamina D dolazi do njegovog opadanja. Tako se ponaša i sedimentacija eritrocita. Kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D najniži je i broj eritrocita, koji raste sa povećanjem vitamina D.

Dobijeni rezultati vezani za markere inflamacije mogu se objasniti time što se u bolesnoj jetri, narušenoj dugotrajnim uzimanjem alkohola, stvaraju brojni inflamatorni citokini i tumor nekrotični faktori. Zbog edema zida creva smanjena je apsorpcija nutrienata a povećana bakterijska translokacija u krvotok, aktivira se monocitno-makrofagni sistem i javlja se stanje hronične inflamacije [40, 42].

Drugo, uočeno paralelno opadanje CRP i Child skora sa porastom vitamina D može se objasniti time da se kao kontrabalans narušenoj imunološkoj ravnoteži u bolesnoj jetri postavlja imunomodulatorno dejstvo vitamina D koje se odvija na dva načina, preko uticaja na urođeni i na stečeni imunitet.

Poznato je da vitamin D povećava fagocitnu aktivnost makrofaga i NK (*Natural killer*) ćelija, inhibira diferencijaciju i maturaciju antigen prezentujućih dendritičnih ćelija, utiče na direktan dodir ovih ćelija sa T limfocitima, te na taj način utiče na vrstu imunološkog odgovora. Dendritične ćelije pod uticajem vitamina D indukuju stvaranje supresornih T ćelija koje mogu inhibirati Th1 ćelijski dogovor i imaju ulogu u razvoju imune tolerancije. Vitamin D suprimira proliferaciju Th1 i Th17 ćelija kao i produkciju njihovih citokina, a inhibitorno utiče na diferencijaciju i maturaciju B limfocita. Dakle, imunomodulatorni efekti vitamina D na stečeni imunološki sistem rezultat su njegovog direktnog delovanja na proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu T limfocita (posebno T-helper) i B-limfocita [160].

Za broj eritrocita (a i njihov volumen, što nije obuhvaćeno istraživanjem) bitan je dovoljan unos folata, B vitamina, gvožđa i drugih mikronutrienata. Neadekvatna ishrana, inapetencija, smanjeno kretanje, nedovoljno izlaganje suncu, uzimanje alkohola su već pomenuti faktori koji figuriraju u malnutriciji kod ovih bolesnika [48].

Istraživanjem je ustanovljena negativna korelacija vitamina D sa PTH i CrossLapsom. Negativna korelacija vitamina D i PTH je očekivana. Na osnovu porasta PTH se i definiše adekvatnost vitamina D, odnosno koji je nivo vitamina D potreban da suprimira porast PTH i spreči razgradnju kosti putem sekundarnog hiperparatireoidizma. Danas je prihvaćeno stanje adekvatnosti kod nivoa $25(\text{OH})\text{D} > 75 \text{ nmol/l}$, zbog dokazanog pozitivnog efekta na koštano-mišićni sistem, [54, 96, 97] mada se granicom adekvatnosti može se smatrati i nivo $25(\text{OH})\text{D}$ od 80 nmol/l [59, 72, 98, 99].

Osim što su utvrdili negativnu korelaciju između nivoa $25(\text{OH})\text{D}$ i PTH, Chapuy i saradnici su konstatovali da se stabilan plato nivoa PTH nalazi pri vrednostima $25(\text{OH})\text{D} > 78 \text{ nmol/l}$ [161].

Serumski PTH u većini studija negativno korelira sa $25(\text{OH})\text{D}$ sa koeficijentom korelacije između 0,2 i 0,3. U sprovedenom istraživanju koeficijent korelacije je bio 0,33 što govori o konzistentnosti dobijenih rezultata sa rezultatima drugih autora [161-164].

Istraživanjem je ustanovljena negativna korelacija vitamina D i CrossLapsa.

Vitamin D ima veliku ulogu u normalnom kuplovanju procesa remodeliranja kosti, delujući i na osteoblastnu i na osteoklastnu funkciju. Pospešuje diferencijaciju osteoblasta i mineralizaciju osteoida. Stimuliše i ekspresiju RANKL-a, a inhibira produkciju osteoprotegerina od strane osteoblasta, promovirajući osteoklastogenezu. Međutim, kod alkoholne ciroze jetre dejstva vitamina D se prepliću sa brojnim drugim činiocima koji takođe utiču na metabolizam kosti.

Korelaciju vitamina D sa CrossLapsom stoga ne treba tumačiti odvojeno od korelacije sa PTH, jer u sklopu deficijencije vitamina D dolazi do porasta PTH, pri čemu taj porast može biti i u okviru normalnih vrednosti, ali dovoljan da se ubrza metabolizam kosti, što se može ogledati u okvirima normalnih ili povišenih vrednosti izabranih biohemijskih pokazatelja koštanog metabolizma.

U okviru navedenog ne sme se zanemariti ni pozitivna korelacija osteokalcina sa CrossLapsom što sve ukazuje na kuplovan proces metabolizma kosti.

Dobijena pozitivna korelacija vitamina D i kalcijuma se može tumačiti osnovnim fiziološkim mehanizmima regulacije metabolizma kalcijuma i kalcemičnim dejstvima vitamina D [66].

U radu nije dokazana značajna korelacija vitamina D i mineralne gustine kosti mada se u literaturi navodi da je serumski nivo $25\text{-hidroksivitamina D}$ direktno povezan sa mineralnom gustinom kosti, koja je maksimalna kada je nivo vitamina D 100 nmol/l [68, 69]. Ovaj fenomen se takođe može objasniti uticajem drugih faktora koji utiču na metabolizam kosti, a prisutni su u alkoholnoj cirozi jetre.

5.1.2. Metabolizam kosti u alkoholnoj cirozi jetre

Sprovedenim istraživanjem je utvrđeno sniženje nivoa osteokalcina kod većine ispitanika, uz normalne vrednosti nivoa CrossLapsa (izuzev kod najtežih oblika bolesti jetre, odnosno Child-Pugh C alkoholne ciroze), na osnovu čega implicira da kod ispitivanih bolesnika postoji izmenjen režim metabolisanja kosti, sa dominantnim smanjenjem formiranja kosti.

Sprovedenim istraživanjem je utvrđen značaj dnevne količine alkohola u odnosu na nivo osteokalcina. Alkohol ima jasan supresivni efekat na formiranje kosti uz manje naglašen ali prisutan supresivni efekat na resorpciju kosti. Bolesnici koji zloupotrebljavaju alkohol imaju snižen nivo osteokalcina u skladu sa smanjenim formiranjem kosti. Brojni literaturni podaci takođe ukazuju na sniženo formiranje kosti kod alkoholičara (sa ili bez ciroze jetre), što je naročito potkrepljeno histomorfometrijskim studijama [27, 29, 31, 165, 166].

Većina autora se slaže da se u ovoj populaciji bolesnika radi o *low turn-over* metaboličkoj aktivnosti kosti, mada se pregledom literature u pogledu razgradnje kosti kod alkoholičara, uočavaju i izvesne kontroverze. Naime, navodi se da razgradnja kosti kod alkoholičara može biti normalna, smanjena ili povećana [167, 168].

Može se reći da pojam *low i high turnover* ne odražavaju sve značajne karakteristike metaboličke aktivnosti kosti. On u suštini treba da kvantifikuje nivo ukupne metaboličke aktivnosti kosti koja sadrži dve kvalitativne komponente, a to su proces razgradnje i proces stvaranja kosti. Kod postmenopauzne osteoporoze evidentno se radi o *high turnover-u* sa jasno ubrzanom i razgradnjom i formiranjem kosti uz dominaciju razgradnje kosti. Kod alkoholne osteodistrofije to nije slučaj, jer je nedvosmisleno smanjeno formiranje kosti, dok se nivo razgradnje kosti ne može sa sigurnošću definisati, pogotovo što se u istraživanjima koriste različiti pokazatelji osteoklastne aktivnosti. Osim toga, za razumevanje patofizioloških mehanizama metaboličkih bolesti kostiju potrebni su i drugi podaci kao što su: frekvencija iniciranja novih ciklusa remodeliranja, prostor remodeliranja, propagacija BMU, vremensko trajanje osteoklastne i osteoblastne aktivnosti. Generalno se može konstatovati da alkoholnu cirozu jetre karakteriše neuravnoteženost metaboličke aktivnosti kosti usled jasno snižene osteoblastne aktivnosti, odnosno formiranja kosti, što za posledicu ima smanjenje BMD.

Alvisa-Negrin i saradnici [33] su poredili promene u nivou vitamina D, PTH, osteokalcina i CrossLapsa kod alkoholičara (sa i bez ciroze jetre) tokom perioda apstinencije od šest meseci. Ustanovili su da je kod apstinencije došlo do značajnog porasta u nivou osteokalcina i vitamina D, a da je CrossLaps imao nesignifikantan trend porasta, kao i PTH. Smatraju da značajan porast osteokalcina praćen relativno malim porastom CrossLapsa ukazuje da tokom perioda apstinencije nije nastupilo samo značajno povećanje formiranja kosti, nego (u izvesnoj meri) i povećanje njene razgradnje. Navode postojeće kontroverze i nekonzistentne rezultate vezane za razlaganje kosti kod alkoholičara i u AC jetre [29], uz opšte prihvaćene i jasne stavove o smanjenom formiranju kosti kod ovih bolesnika.

U novijim istraživanjima smanjenje metabolizma kosti i koštane mase kod alkoholičara tumači se i inhibicijom funkcije osteoblasta sklerostinom, koji je endogeni inhibitor WNT/ β -kateninskog puta, te na taj način inhibira funkciju osteoblasta, njihovu diferencijaciju i preživljavanje. Posledica je smanjenje metabolizma kosti i koštane mase [169].

Osim modulacije Wnt signalnog puta ukazuje se i na značaj apoptoze osteocita i oksidativnog stresa [27].

Smanjeno formiranje kosti konstatovano istraživanjem moglo bi se delimično objasniti i visoko zastupljenom deficijencijom vitamina D zbog čega verovatno izostaje efekat aktivnog oblika ovog vitamina na proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta i efekat na mineralizaciju kosti [63].

Već je bilo reči o uticaju alkohola na metabolizam vitamina D putem delovanja na enzimski sistem citohroma [27].

U sprovedenom istraživanju kod svih bolesnika vrednosti IGF-1 bile su višestruko ispod donje granice normale. Slično su dobili i drugi autori. Nije uočena razlika u vrednostima IGF-1 prema Child-Pugh klasama ciroze, što ukazuje da je IGF-1 rani marker hepatocelularnog funkcionalnog kapaciteta [47].

Pojedini autori ustanovili su značajno niže vrednosti IGF-1 kod dekompenzovanih ciroza [170].

Nivo IGF-1 u koštanom tkivu zavisi od lokalne produkcije potentnijeg IGF-1, ali i od IGF-a sintetisanog u jetri i putem krvi dopremljenog u kost. Obzirom da IGF-1 stimuliše proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta, kao i produkciju kolagena u funkciono zrelih osteoblastima, sigurno je da deficit IGF-1 koji je u radu ustanovljen kod svih bolesnika sa cirozom jetre utiče na smanjenje formiranja kosti.

U sprovedenom istraživanju ustanovljeno je snižavanje nivoa osteokalcina proporcionalno težini ciroze (najniže vrednosti su bile u Child-Pugh grupi C), mada su prosečne vrednosti osteokalcina kod bolesnika u svakoj Child-Pugh klasi bile ispod donje granice normale. Ustanovljena je negativna korelacija osteokalcina sa Child-Pugh skorom, bilirubinom, protrombinskim vremenom, AST i ALT. To bi se moglo objasniti preplitanjem zloupotrebe alkohola i progresivnog oštećenja jetre.

Gonzales-Reimers i saradnici su u svom istraživanju sklerostina kod hroničnih alkoholičara sa cirozom jetre takođe dobili progresiju poremećaja metabolizma kosti proporcionalno težini ciroze, te konstatuju da je za promene u metabolizmu kosti i koštanoj masi kod hroničnih alkoholičara oštećenje funkcije jetre izgleda značajnije i od samog alkohola [169].

Monegal i saradnici su takođe dobili snižen osteokalcin, proporcionalan težini ciroze jetre, na osnovu čega su zaključili da funkcija osteoblasta opada progresivno sa pogoršanjem bolesti jetre. Međutim, dobili su i povišen urinarni hidroksiprolin, takođe kod najtežih ciroza, što bi ukazivalo na povećanu resorpciju kosti, ali nalaz uzimaju sa rezervom jer urinarni hidroksiprolin nije specifičan indikator resorpcije kosti u cirozi jetre [159].

Drugi autori su ustanovili da je kod bolesnika sa cirozom jetre (mešane, ali dominantno alkoholne etiologije) snižen nivo osteokalcina, nezavisno od Child-Pugh skora i etiologije bolesti. Takođe su konstatovali smanjeno formiranje kosti u cirozi jetre [171].

Kontra navedenom, Crawford i saradnici ne nalaze promene nivoa osteokalcina u odnosu na težinu ciroze, ali utvrđuju porast urinarnog slobodnog urinarnog deoksipiridinolina, kao i kost specifične ALP sa progresijom težine ciroze. Na osnovu navedenog autori konstatuju da se sa težinom ciroze ubrzava metabolizam kosti, odnosno raste *bone turn-over*, nezavisno od etiologije ciroze jetre [21].

U sprovedenom istraživanju je konstatovana pozitivna korelacija osteokalcina sa CrossLapsom i PTH, korelacija sa vitaminom D i kalcijumom je bila bez značaja, a negativna korelacija ustanovljena je sa BMD lumbalne kičme, vrata femura i kuka, što se razlikuje od rezultata Pietschmanna i saradnika koji su kod bolesnika sa cirozom jetre dobili pozitivnu korelaciju osteokalcina sa vitaminom D i korigovanim kalcijumom, ali nisu dobili značajnu korelaciju osteokalcina sa PTH i mineralnim sadržajem kosti (BMC) [171].

Zanimljivo je da u sprovedenom istraživanju od svih ispitivanih parametara jedino osteokalcin korelira sa mineralnom gustinom kosti.

Dobijena negativna korelacija osteokalcina sa mineralnom gustinom kosti (najznačajnija na kuku) se mora razmatrati u kontekstu međusobnog uticaja svih parametara metabolizma kosti. Naime osteokalcin ima pozitivnu korelaciju sa PTH i CrossLapsom što bi govorilo o povezanosti procesa formiranja i razgradnje kosti. Pozitivna korelacija osteokalcina sa PTH mogla bi se objasniti inicijalnim dejstvom PTH na osteoblaste, pre nego što se tim putem indukuje osteoklastna aktivnost.

Iako nije dobijena značajna korelacija osteokalcina sa vitaminom D i kalcijumom, niti korelacija vitamina D sa mineralnom gustinom kosti, ne može se prenebregnuti gore istaknuto razmišljanje o uticaju deficijencije vitamina D na formiranje kosti preko dejstva na osteoblaste, kao i razmišljanje o negativnom dejstvu alkohola na metabolizam vitamina D.

Zašto je korelacija osteokalcina najjača sa BMD na kuku? Crawford [21] uz najveću zastupljenost osteoporoze na lumbalnoj kičmi konstatuje da je vitamin D snažan prediktor BMD na kuku, a Monegal [159] ustanovljava da hronična konzumacija alkohola i terminalna faza bolesti jetre imaju simultani loš efekat na kortikalnu kost (kuk). Očito je da se prepliću dejstvo alkohola, oštećenje jetre i nizak vitamin D u procesu smanjenog formiranja kosti sa lošim simultanim efektom na kortikalnu kost.

Ovo može biti potkrepljeno dobijenim rezultatima koji ukazuju na negativnu korelaciju CrossLapsa sa vitaminom D, kao i negativnu korelaciju PTH sa vitaminom D.

Visok nivo korelacije osteokalcina i CrossLapsa postoji kako u fiziološkim uslovima, tako i u brojnim metaboličkim bolestima kosti. I u cirozi jetre, bez obzira na narušavanje ravnoteže režima metaboličke aktivnosti kosti, ova relacija je još uvek prisutna. Tome doprinosi i činjenica što osteokalcin odražava delom i ukupnu metaboličku aktivnost kosti jer se pri razgradnji kosti oslobađa iz organske potke. Da bi se zaista procenio nivo prave osteoblastne aktivnosti potreban je specifičan pokazatelj koji ne sadrži komponentu prisutne razgradnje kosti kao što je na primer P1NP (N-terminalni propeptid prokolagena tipa 1).

Ukoliko bi se osteokalcin posmatrao kao ukupan pokazatelj metaboličke aktivnosti kosti, prema dobijenoj korelaciji sa BMD sniženje osteokalcina reflektuje povećan/ normalan BMD, što bi moglo značiti da situacija kada je metabolizam kosti na nižem nivou ne potencira razgradnju kosti. Porast nivoa osteokalcina odražava ubrzanje metabolizma kosti i gubitak koštane mase. To je u radu dokazano višefaktorskom analizom varijanse, poređenjem kategorija nivoa osteokalcina i T skorova lumbalne kičme, vrata femura i kuka ukupno, kada je utvrđeno da vrednost T skora opada već normalizacijom vrednosti osteokalcina (nivoom u okviru referentnih vrednosti), kao i povećanjem nivoa osteokalcina iznad gornje granice referentnih vrednosti. Sa povećanjem nivoa osteokalcina uočava se pogoršanje T skorova vrata femura u kuka, a izostaje statistički značajna povezanost sa BMD lumbalne kičme.

Obzirom da je kod 77% ispitivanih bolesnika osteokalcin ispod donje granice normale, a da je on u negativnoj korelaciji sa BMD, većina ispitanika je verovatno u jednom stabilnom stanju usporenog metabolizma kosti, sa dominantno smanjenim formiranjem kosti.

Kod alkoholne ciroze jetre, akceptiranjem svega navedenog može se smatrati da je osteoblastna aktivnost bitno smanjena uticajem brojnih faktora. Kao što je već pomenuto, to su dejstvo samog alkohola, deficijencija vitamina D, sniženje nivoa IGF-1, pa i verovatan uticaj faktora koji u radu nisu ispitivani, kao što su na primer sklerostin, OPG i RANKL. Na osteoblaste verovatno inhibitorno deluju i brojni toksični produkti koji se akumuliraju u bolesnoj jetri. Negativna korelacija osteokalcina sa bilirubinom mogla bi imati tumačenje u prihvatanju bilirubina kao inhibitora faktora rasta osteoblasta [9].

Iako to nije predmet sprovedenog istraživanja, analizirajući radove koji involviraju uticaj K vitamin zavisne karboksilacije osteokalcina na metabolizam kosti, moglo bi se razmišljati i o sledećoj problematici: u disfunkciji jetre postoji smanjeno stvaranje K vitamin zavisnih faktora protrombinskog kompleksa. Obzirom na u radu dobijenu negativnu korelaciju vitamina D i osteokalcina sa protrombinskim vremenom, koliko na dobijene vrednosti osteokalcina ima uticaja vitamin K?

Humane intervencijske studije dokazale su da vitamin K poboljšava BMD kod osoba sa osteoporozom, kao i da smanjuje incidencu fraktura. Dokazano je sinergističko dejstvo vitamina K i vitamina D na BMD [172, 173].

Ono što se mora pomenuti u daljem diskutovanju o metabolizmu kosti u alkoholnoj cirozi jetre je dejstvo medijatora zapaljenja, citokina i faktora rasta. U alkoholnoj cirozi jetre postoji aktivacija monocitno makrofagnog sistema. Značajno su povećane serumske koncentracija TNF- α , IL-1 β i IL-6 [27, 42].

Proinflamatorni osteoklastogeni citokini su TNF- α i IL-1. Na prekursore osteoklasta deluje i IL-17. IL-6 deluje na zrele osteoklaste [43, 44]. U alkoholnoj cirozi jetre postoji i povećanje grupe tumor nekrotišućih faktora koji pripadaju RANKL, RANK i osteoprotegerin (OPG) osovini [25, 26].

Svi navedeni faktori deluju direktno ili indirektno na osteoklastogenezu i osteoklastnu aktivnost. Međutim, iako po jedinici remodeliranja kosti postoji neto deficit koštane mase, verovatno broj BMU nije bitno povećan, odnosno nije povećana frekvencija stvaranja novih BMU, pa je ukupni gubitak kosti relativno mali u odnosu na postmenopauzalnu osteoporozu.

Tokom dosadašnje diskusije objašnjeno je smanjeno formiranje kosti u alkoholnoj cirozi jetre. Međutim, kao što je malopre navedeno, iz bolesne jetre emituju se i brojni

proosteoklastogeni činioci sa uplivom na razgradnju kosti. Nasuprot tome, bolesna jetra se hipotetički delom i bori protiv indukovanja povećane razgradnje kosti, tako što na primer T i B ćelije u jetri, kao i jetreni fibroblasti stvaraju osteoprotegerin koji delom suprimira ekscesivni gubitak kosti. Potom, u cirozi jetre je povećan nivo estradiola. Ako posmatramo dejstvo estrogena na osteoblaste, ono je svakako stimulatívno [25, 26].

U sprovedenom istraživanju je 66,7% bolesnika imalo nivo estradiola iznad gornje granice normalnih vrednosti, 33,3% bolesnika je imalo estradiol u referentnim vrednostima, a nijedan bolesnik nije imao estradiol ispod donje granice normale.

Estrogen redukuje životni ciklus osteoklasta i produžava životni vek osteoblasta. Kod žena deficitarnih u estrogenu osteoklasti prave dublje resorptivne kavitete koje osteoblasti ne mogu u potpunosti da popune. Nastaje negativni balans u remodeliranju kosti. Kombinacija povećanja broja BMU (jedinica remodeliranja kosti) i negativnog balansa remodeliranja je osnova rapidnog smanjenja koštane mase koje prati postmenopauzalni period. Tokom života žene gube oko 50% vršne kancellazne (spongiozne) kosti i 35% vršne kortikalne koštane mase. Alkohol može povećati efekat estrogena, tako što dovodi do povećanja cirkulišućeg nivoa ovog hormona ili tako što povećava broj estrogenskih receptora u ćelijama kosti [174].

Hronični alkoholičari muškog pola imaju paletu endokrinih poremećaja koji uključuju neplodnost, gonadalnu atrofiju i feminizaciju, delom zbog povećanog stvaranja estrogena i sniženog testosterona. Testosteron se konvertuje u estrogen u perifernim tkivima uključujući kost putem enzima aromataze. Alkohol povećava aktivnost ovog enzima i indukuje povećanje broja receptora za estrogen u ćelijama kosti.

Hepatička aromatizacija androgena u estogene takođe je povećana dejstvom alkohola. Na animalnom modelu utvrđeno je povećanje estrogenskih, a smanjenje androgenih receptora u citosolu hepatocita [175].

Iako je istraživanjem konstatovano da ispitivani bolesnici imaju višak estrogena (koji na lokalnom nivou deluje putem modulacije faktora rasta i citokina tako što povećava sekreciju IGF-1, osteoprotegerina i TGF β , a smanjuje sekreciju TNF α , IL-1 i IL-6) koji prema svemu do sada navedenom deluje kost-protektivno, on ne može kod svih bolesnika u potpunosti da kompenzuje povećanu aktivnost osteoklasta, koja je najverovatnije deklanširana imunološkim putem, medijatorima emitovanim iz cirotično izmenjene jetre.

George i saradnici su ustanovili da bolesnici sa cirozom jetre i povišenim estrogenom imaju normalan BMD [47].

Kod većine ispitivanih bolesnika konstatovane su normalne vrednosti testosterona, te svakako treba u izvesnoj meri akceptirati i njegov anabolički efekat na kost. Međutim, visoko je značajna razlika smanjenja vrednosti testosterona a povećanja vrednosti estrogena od Child-Pugh klase A prema klasi C. Napredovanjem težine bolesti dolazi do produbljivanja hipogonadizma, što se reflektuje i na hipofiznu sekreciju LH (ICSH) i FSH čije su prosečne vrednosti normalne, ali značajno opadaju sa težinom ciroze, što je utvrđeno istraživanjem.

Hipogonadizam kod bolesnika muškog pola sa alkoholnom (i drugom) cirozom jetre konstatuje većina autora [21, 47, 159].

Sprovedenim istraživanjem konstatovano je da je 84,29% ispitivanih bolesnika imalo PTH u granicama normale. PTH je bio normalan i u grupi bolesnika sa deficitarnom vitaminom D, osim kod pet (10,64%) bolesnika kod kojih je bio iznad gornje granice normale.

Kada je izvršena podela bolesnika na osnovu kategorija nivoa vitamina D ustanovljena je statistička značajnost sa nivoom PTH, naime najveće vrednosti PTH konstatovane su kod bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D (< 25 nmol/l), dok je sa porastom nivoa vitamina D uočeno opadanje nivoa PTH. Interesantno, srednje vrednosti PTH su čak i u grupi bolesnika sa najnižim nivoom vitamina D bile u okviru normalnih vrednosti.

U grupi bolesnika sa najnižim vrednostima vitamina D registrovane su najniže vrednosti ukupnog kalcijuma, koje rastu sa povećanjem nivoa vitamina D. U vrednostima

korigovanog i jonizovanog kalcijuma nisu uočene promene. Uočeno je i da vrednosti CrossLapsa opadaju sa porastom vitamina D, sem u kategoriji suficijencije vitaminom D. Srednje vrednosti CrossLapsa su bile iznad gornje granice normale samo kod bolesnika koji su imali nivo vitamina D < 25 nmol/l.

Sprovedenim istraživanjem nije dokazana značajna korelacija između PTH, kalcijuma, magnezijuma i fosfora. Vrednosti jonizovanog kalcijuma, fosfora i magnezijuma kod ispitivanih bolesnika bile su u granicama normale. U drugom delu istraživanja koji će kasnije biti komentarisano, multivarijantnom analizom ustanovljeno je da postoji značajan međusobni uticaj vitamina D, jonizovanog kalcijuma, CrossLapsa, osteokalcina, i fosfora, a da ne postoji značajnost interakcije između PTH i ostalih pet parametara. Dobijeni rezultati su konzistentni sa radovima drugih autora [59, 98].

Fisher i Fisher su konstatovali da je sekundarni hiperparatireoidizam relativno redak, u njihovom uzorku bio je prisutan u 13 % bolesnika sa deficijencijom vitamina D u hroničnim neholestatskim bolestima jetre [59].

Miroliaee i saradnici nisu uočili razliku u serumskoj koncentraciji PTH između bolesnika sa i bez ciroze, niti razliku prema Child-Pugh klasi. PTH iznad gornje granice normale imalo je svega 5,7% u grupi ciroza i 8,3% bolesnika sa CLD bez ciroze. Nije bilo značajne razlike u serumskom nivou albumina, kalcijuma i fosfata između bolesnika koji su imali povišen ili suprimiran PTH u odnosu na one sa normalnim PTH. Kao objašnjenje za normalan ili nizak PTH u izraženoj deficijenciji vitamina D autori daju mogućnost VDR polimorfizma sa mogućnošću indukovanja supresije PTH sekrecije [98].

Progresijom deficijencije vitamina D, paratireoidne žlezde bi trebale biti maksimalno stimulisane u smislu nastanka sekundarnog hiperparatireoidizma. Međutim, odustvo značajnog porasta PTH kod vitamin D deficijencije naziva se vitamin D-PTH paradoks i pretpostavlja se da joj je uzrok VDR polimorfizam.

Pojedini autori opisuju snižen nivo magnezijuma kao uzrok često normalnog PTH i kod nivoa 25(OH)D manjeg od 50 nmol/l. Defekt u PTH sintezi kod deficita magnezijuma je nejasan ali može biti asociran sa smanjenom aktivnošću enzima potrebnih za regulaciju sinteze PTH. Mogu biti involvirani i drugi mehanizmi, kao što je transkripcija PTH gena i stabilnost PTH mRNA. Abnormalnost može biti prisutna i na nivou kalcijum senzitivnih receptora koji su glavni fokus u kontroli ekspresije PTH. Možda je kod deficijencije vitamina D potrebna koplesimentacija kalcijumom, magnezijumom i vitaminom D [70,176].

U svakom slučaju, kod bolesnika sa deficijencijom vitamina D a bez sekundarnog hiperparatireoidizma, potencijalni gubitak koštane mase je izazvan i drugim mehanizmima.

5.1.3. Mineralna gustina kosti u alkoholnoj cirozi jetre

Kod 68 bolesnika urađena je DXA. Na osnovu kriterijuma SZO i ISCD osteopenija je konstatovana kod 42,65% (29/68), a osteoporoza kod 14,71% (10/68) bolesnika, što je kompatilno i sa podacima drugih autora sažetim u preglednoj studiji Lopez-Larramone [177].

Lopez-Larramona i saradnici [177] konstatuju da prevalenca patološkog BMD kod bolesnika sa alkoholnom bolešću jetre (ALD) varira u rađenim studijama, jer su u istraživanja najčešće uključivani bolesnici sa hroničnim bolestima jetre (CLD) različite etiologije, kao i različit broj bolesnika obolelih od ciroze jetre, takođe mešane etiologije, i bolesnici oba pola.

Studije koje su ispitivale BMD kod bolesnika sa CLD mešane etiologije, a koje su uključivale i bolesnike sa ALD, kao i obolele od ciroze jetre različite etiologije (uključujući i AC) su studije koje su sproveli: Crawford 2003. [21]; Sokhi 2004. [178]; George 2009. [47]; Loria 2010. [179]; Mahmoudi 2011. [49]; i Alcade-Vargas 2012. godine [180]. Epilog navedenih istraživanja je da različite etiologije CLD nemaju značajnog uticaja na konstatovano smanjenje BMD. Utvrđen je sledeći procenat osteopenije i osteoporoze:

40%/31% (Crawford); 34.6%/11.5% (Sokhi); 68% ukupno (George); 26%/14% (Loria); 44%/14,6% (Mahmoudi); 40%/23% (Alcade-Vargas). Osteopenija je objedinjeno bila prisutna 26-44%, a osteoporoza 11.5-31% uz izuzetak Georgove studije gde je gledano ukupno sniženje BMD koje je iznosilo 68% [21, 47, 49, 178, 179, 180].

Carey i saradnici su 2003. poredili bolesnike referisane za transplantaciju jetre obolele od HCV, HCV+AC i AC jetre. Osteopenija i osteoporoza bile su prisutne u grupi bolesnika sa HCV (36,8%/28,1%), u grupi HCV+ALD (41%/13,8%), a najmanje izražene u AC (26,7%/18,3%). Prosečni T skorovi na lumbalnoj kičmi bili su značajno niži kod bolesnika sa HCV nego kod bolesnika sa AC, što prema posmatranim grupama bolesnika iznosi -1,43/-1,07/-0,87 [181].

Lopez-Larramona [177] sačinjava i pregled studija koje su ispitivale BMD kod alkoholičara sa alkoholnom cirozom jetre. Autori tih studija su Alvisa-Negrin 2009. godine [33] i Gonzalez-Reimers 2011. godine [34, 36]. Dobijeni procenat osteoporoze iznosi 11,7-15,5%.

Kod bolesnika sa alkoholnom (i drugom) cirozom jetre važno je proceniti i rizik od fraktura, mada do sada nema dostupnih specifičnih, multicentričnih studija u kojima je korišćen FRAX (*Fracture Risk Assessment Tool*) u populaciji bolesnika sa CLD [182].

Nije predmet istraživanja, ali se mora spomenuti da je koštani status pre transplantacije jetre prediktivan za gubitak mineralne gustine kosti posle transplantacije jetre. Konstatovano je da mineralna gustina kosti opada tokom prvih tri do šest meseci nakon transplantacije jetre, a potom (tokom dve godine) raste na nivo pre transplantacije, dok kasnije može i da nadmaši pretransplantacioni nivo. Verovatnoća pojave fraktura u posttransplantacionom periodu je 6-65% i one su najčešće tokom prve dve godine posle transplantacije [159, 178, 183, 184].

U sprovedenom istraživanju, od 10 bolesnika sa osteoporozom, kod 6 (60%) su promene bile na LS kičmi. To je konzistentno sa radovima drugih autora [21, 47, 49, 159].

Međutim, posmatrajući srednje vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi, vratu femura i kuku, kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre koji imaju normalnu kost, osteopeniju i osteoporozu, uočeno je da su najniže normalne, kao i najniže patološke vrednosti izmerene na vratu femura, što je slično podacima koje su dobili Crawford [21] i Monegal [159]. Crawford uz najveću zastupljenost osteoporoze na lumbalnoj kičmi konstatuje da je vitamin D snažan prediktor BMD na kuku, a Monegal ustanovljava da hronična konzumacija alkohola i terminalna faza bolesti jetre imaju simultani loš efekat na kortikalnu kost (kuk).

U sprovedenom istraživanju, razmatrani su parametri sa mogućim uticajem na razvoj i patofiziološku sliku bolesti kosti u alkoholnoj cirozi jetre. U okviru navedenih faktora razmatrani su životna dob, Child-Pugh skor, trajanje ciroze jetre, godine uzimanja alkohola, dnevna količina alkohola, indeks telesne mase, vitamin D, osteokalcin, CrossLaps, PTH, ukupni, korigovani i jonizovani Ca, P, Mg, testosteron, estradiol, FSH, LH, IGF-1. Jedina statistički značajna razlika između bolesnika sa normalnom i sniženom mineralnom gustinom kosti bila je u nivou osteokalcina koji je bio viši kod bolesnika sa osteopenijom i osteoporozom u odnosu na one sa normalnom kosti.

U prethodnom poglavlju, odnosno diskusiji o metabolizmu kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre, razmatrana je negativna korelacija osteokalcina sa BMD, koja je protumačena činjenicom da osteokalcin odražava delom i ukupnu metaboličku aktivnost kosti i da njegove niske vrednosti reflektuju smanjen metabolizam i smanjenu razgradnju kosti.

Sada se kod bolesnika sa osteopenijom i osteoporozom konstatuju statistički značajno veće vrednosti nivoa osteokalcina. Uočavaju se (iako statistički nesignifikantno) i povišene vrednosti CrossLapsa, ali na krajnje niskom nivou aktivnosti, bitno drugačije nego kod postmenopauzalne osteoporoze. Dakle, zaista se i u ovom kontekstu osteokalcin može delom

sagledati i kao pokazatelj ukupne metaboličke aktivnosti kosti, koja se na izvestan način ubrzava u osteoporozu.

Međutim, interesantno je konstatovati da su srednje vrednosti osteokalcina i kod bolesnika sa normalnim skeletom i kod bolesnika sa osteopenijom i osteoporozom, ispod donje granice normale. Srednje vrednosti CrossLapsa su kod obe grupe bolesnika u granicama normale. Navedeno ponovo ukazuje na smanjeno formiranje kosti u alkoholnoj cirozi jetre, odnosno iz kojeg god ugla se dobijeni rezultati posmatraju, neosporno je da se radi o *low turn-over* koštanom metabolizmu. To je u suprotnosti sa većinom studija koje proučavaju hepatičku osteodistrofiju uopšteno, kod hroničnih bolesti jetre različite etiologije [21, 170, 185].

Međutim, potvrda o smanjenom formiranju kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre, nalazi se u starim, egzaktnim histomorfometrijskim studijama. U ovim radovima se konstatuje da smanjena aktivnost osteoblasta udružena sa normalnom funkcijom osteoklasta ima glavnu ulogu u patogenezi alkoholne osteoporoze, odnosno vodi do smanjenja mase kosti sa stanjenjem trabekula [31, 118, 186].

Peris i saradnici 1992. godine konstatuju da alkohol vrši direktnu depresiju formiranja kosti, a da bi nizak nivo vitamina D bi mogao biti doprinosni faktor u osteopeniji koja se javlja u hroničnom alkoholizmu [187].

Isti autori dve godine kasnije objavljuju rezultate dvogodišnje longitudinalne *follow-up* studije sa ciljem evaluacije efekta apstinencije na košanu masu i metabolizam minerala u grupi muškaraca hroničnih alkoholičara uključenih u program rehabilitacije. Na početku, lumbalni BMD, osteokalcin i vitamin D su bili značajno niži kod alkoholičara nego kod zdravih kontrola. Lumbalni i BMD na vratu femura su kod alkoholičara porasli posle 2 godine apstinencije. Lumbalni i femoralni BMD su opali kod kontrola. Nivo osteokalcina porastao je posle 1 godine i posle 2 godine apstinencije. Nisu zapažene značajne promene u 25(OH)D, PTH, testosteronu i kortizolu. Prisustvo i težina bolesti jetre nisu bili u korelaciji sa promenama u koštanjoj masi. Porast osteokalcina kod apstinenata, bez udruženih promena sa drugim hormonima, prema ovim autorima podržava hipotezu da alkohol deluje štetno na formiranje kosti [32].

Alvisa-Negrin i saradnici su 2009. godine objavili rezultate istraživanja kojim su ispitivali mineralnu gustinu kosti kod alkoholičara (sa i bez ciroze jetre) i ustanovili da bolesnici sa AC jetre imaju generalno niži BMD u odnosu na bolesnike bez ciroze jetre. Autori su tokom šestomesečnog praćenja ustanovili značajnu razliku u BMD kod apstinenata i bolesnika koji su nastavili sa konzumacijom alkohola, na regiji desne ruke, karlice i ukupnom telesnom BMD [33].

Činjenica je da je hepatička osteodistrofija paleta brojnih međusobno povezanih faktora gde su uključena dva bitna, u zdravom stanju (a u bolesti još više) metabolički burno aktivna organa kao što su jetra i kost. Iako se u citiranim radovima to jasno ne uočava, pretpostavka je da u bolestima jetre način i količina smanjenja koštane mase zavise i od etiologije bolesti, naime da li je holestatska ili parenhimatozna. Ako je ciroza jetre parenhimatozna, da li je virusna, metabolička ili alkoholna. Ističe se značaj dužine trajanja i težine bolesti jetre, dobi i pola bolesnika, genetskih i imunoloških faktora, dijetarnog deficita i malnutricije, smanjenog kretanja, hipogonadizma, primene kortikosteroida i pojedinih drugih lekova.

Diskutabilno je odsustvo statističke značajnosti većine u radu ispitivanih faktora koji doprinose osteoporozu. Moguće da odsustvu razlike između bolesnika sa normalnim skeletom i grupe bolesnika sa osteopenijom i osteoporozom doprinosi značajna homogenost uzorka u odnosu na pol (muškarci), životna dob (srednja), fizička aktivnost (umerena), zbirno gledajući kod svih ispitanika prosečno normalan testosteron uz prosečno povišen estrogen, odsustvo upotrebe kortikosteroida i drugih lekova sa efektom na kost, ujednačen BMI (kategorija

predgojaznosti), ujednačen Child skor i trajanje bolesti jetre, nivo vitamina D (donja granica insuficijencije prema gornjoj granici deficijencije), ujednačen nivo minerala i PTH (granice referentnih vrednosti).

Iako nije dokazana značajnost razlike u dnevnoj količini alkohola, obzirom na prethodno dobijenu povezanost ovog faktora sa nivoom osteokalcina, visoko je suspektan upliv samog alkoholizma, mada se najverovatnije radi o kliničkoj kombinaciji faktora ciroze i alkoholizma, bez obzira na odusutvo statističke značajnosti razlike.

Važna je i konstatacija Chakkalakala koji osim što ukazuje da je kod bolesti kosti indukovane alkoholom suprimirano formiranje kosti, govori da ono tek vremenom dovodi do smanjenja mase kosti i povećanja frakturnog rizika (nakon 10-20 godina asimptomatskog perioda) [24].

Disocijacija nalaza dobijenih u istraživanju i dostupnih studija je dakle najverovatnije zbog neusklađenosti homogenosti grupa, kao što je ustanovio i Lopez-Larromona [177] jer mahom u sve studije o hepatičkoj osteodistrofiji bivaju uključeni bolesnici sa hroničnim bolestima jetre i cirozom jetre različite etiologije, a što je naročito značajno, uključuju se bolesnici oba pola.

Studije koje (kao i u sprovedenom istraživanju) nisu našle usklađenost težine skeletalnog deficita i težine ciroze jetre prema Child-Pugh klasifikaciji su studije Pietschmanna, Bagura i Chena [171, 188, 189].

George i saradnici takođe ne nalaze povezanost BMD i težine ciroze jetre (mešane etiologije), a obzirom da se radi o bolesnicima mlađim od 50 godina zaključuju da je potrebna rana evaluacija hepatičke osteodistrofije. Nizak BMD utvrđen je u 68% bolesnika, a kao delimično objašnjenje za ovako visok procenat autori navode da su ispitivani bolesnici bili Indijci, koji inače imaju niži BMD u odnosu na belce. Lumbalna kičma je bila načešće i najteže zahvaćeno mesto. Deficijencija vitamina D bila je prisutna kod 92% bolesnika, hipogonadizam kod 41%. Kod bolesnika sa normalnim BMD registrovan je povećan estrogen. PTH je bio normalan kod 87% bolesnika. IGF-1 je kod svih bolesnika bio ispod normale za dob, a značajno snižen kod niskog BMD. Nivo osteokalcina je bio snižen (kod 68%), a urinarni DPD/kreatinin odnos povećan (kod 79%) što ukazuje na smanjeno formiranje kosti sa dominacijom povećane resorpcije [47].

Mahmoudi i saradnici [49] su ispitivali bolesnike sa kompenzovanom virusnom i alkoholnom cirozom jetre. Smatraju da su dobili nižu prevalencu osteoporozе (ukupno 14,6%) u odnosu na procenjenу ukupnu prevalencu osteoporozе kod neholestatskih bolesti (12-55% prema Collier 2007. [1]), a kao razlog tome navode dobru funkciju jetre kod ispitanika, jer su bili Child-Pugh klasa A. Nisu dobili ni asocijaciju između perioda uzimanja alkohola zato što su bolesnici bili u dužem periodu apstinencije. Prevalenca osteoporozе bila je veća na lumbalnoj kičmi (11%) nego na vratu femura (4%). Očekivano veća incidenca bila je kod žena, a u odnosu na etiologiju ciroze nije bilo razlike [49].

Crawford i saradnici su konstatovali trend pogoršavanja BMD sa pogoršavanjem stepena težine ciroze jetre između Child-Pugh klase A i B, bez značajnih promena u BMD između Child-Pugh klase B i C. Zaključuju da se sa težinom ciroze ubrzava metabolizam kosti, odnosno raste *bone turnover*, nezavisno od etiologije ciroze jetre. Ustanovili su da su faktori koji značajno koreliraju sa BMD: vitamin D sa BMD na vratu femura, ukupnom kuku i *total body*, a PTH sa BMD kuk ukupni. BMI i IGF-1 nisu korelirali ni sa jednom regijom merenja BMD niti sa težinom ciroze. Multipla regresiona analiza potvrdila je da su markeri metabolizma kosti BALP i DPD značajni prediktori BMD posebno na lumbalnoj kičmi, a da je vitamin D snažan prediktor BMD na kuku. Kod muškaraca je snižen testosteron značajni prediktor niskog BMD na svim mestima [21].

Monegal i saradnici su sprovedeli istraživanje kod bolesnika sa cirozom jetre (6 PBC, 14 ALC i 38 posthepatitisnih) prijavljenih za transplantaciju jetre. 43% je imalo osteoporozу, sa

značajno nižim BMD na lumbalnoj kičmi nego na vratu femura. Alkoholne ciroze i Child-Pugh klasa C su imali najniži BMD na vratu femura. Osteokalcin je bio niži u odnosu na kontrole, a urinarni hidroksiprolin povišen. Sniženi su bili nivoi 25(OH)D, 1,25(OH)2D i PTH. Alkoholne ciroze Child-Pugh klase C su imale najniži 25(OH)D. Muškarci sa cirozom su imali značajno niži testosteron u odnosu na kontrole. Nivo testostona i gonadotropina (FSH, LH) je bio u korelaciji sa Child-Pugh klasom, ali hormonalni status nije bio u vezi sa koštanom masom. Uprkos niskom vitaminu D, Monegalova konstatuje da su težina i etiologija bolesti jetre glavni faktori rizika za nastanak poremećaja metabolizma kosti i gubitka kosti. Ističe da je pre transplantacije jetre obavezno korigovati deficijenciju vitamina D [159].

Giouleme i saradnici konstatuju da je stepen osteopenije povezan sa težinom, ali ne i sa etiologijom ciroze, a da je u cirozi jetre *high-turnover* osteoporoza [170].

U alkoholnoj cirozi jetre postoje značajne imune alteracije i povećano stvaranje inflamatornih citokina koji mogu biti uključene u sistemske manifestacije ciroze jetre kao što je gubitak koštane mase kod ovih bolesnika.

Diez-Ruiz i saradnici su sa ciljem ispitivanja uloge imunih promena u patogenezi osteoporoze u AC jetre, sprovedli istraživanje u koje su uključili 33 muškarca sa AC jetre. Osteoporoza je dijagnostikovana kod 39,4%, po C-P klasama: A 30%, B 23%, C 70%. Ustanovili su smanjenu serumsku koncentraciju IGF-1, a povećanu D-Pyr urinarnu ekskreciju u odnosu na zdrave kontrole, na osnovu čega su zaključili da je u AC *high bone turnover* osteoporoza, kao što je kod virusnih ciroza. U odnosu na cilj istraživanja, zaključili su da gubitak koštane mase u AC može biti povezan sa perzistentnom aktivacijom celularnog imuniteta, a ističu i da u njihovom istraživanju gubitak koštane mase u AC ne može da se tumači samo sniženom osteoplastnom, nego i povećanom osteoklastnom aktivnošću, obzirom na povećane markere koštane razgradnje [185].

Uz akceptiranje sniženog BMD treba razmišljati i o elementima čvrstine, odnosno snage kosti, čijim poremećajem dolazi do smanjenja kvaliteta kosti, ali to zahteva dopunska ispitivanja koja nisu predmet ovog istraživanja [190].

5.1.4. Promene grupe bolesnika uključenih u istraživanje - Gubici bolesnika ("*drop out*")

Nakon prvog pregleda (P1) došlo je do smrtnog ishoda kod sedam bolesnika (10%, 7/70). Od toga je kod tri bolesnika došlo do pojave naglog pogoršanja bolesti jetre - ACLF (*Acute on chronic liver failure*). Njihov prosečan Child-Pugh (C-P) skor je bio 10, a prosečan vitamin D 22,3 nmol/l. Kod dva bolesnika nastupile su nekontrolisane komplikacije portne hipertenzije, od toga kod jednog abudantno varikozno krvarenje (C-P skor 14, vitamin D 32 nmol/l), a kod drugog hepato-renalni sindrom tip 1 (C-P skor 11, vitamin D 18 nmol/l). Jedan bolesnik je preminuo zbog posledica rupture umbilikalne hernije (C-P skor 9, vitamin D 10 nmol/l), a jedan je imao kardijalnu smrt (C-P skor 10, vitamin D 13 nmol/l). Za sve preminule bolesnike prosečan C-P skor je bio 10.57, a prosečan vitamin D 20 nmol/l.

Rezultati su kompatibilni sa podacima koje su dobili drugi autori, u smislu pozitivne korelacije stepena deficijencije vitamina D i težine ciroze jetre [59, 60, 98, 124]. Vrlo su zanimljiva novija istraživanja koja sugerišu da bi se vitamin D mogao koristiti kao prediktor portne hipertenzije i mortaliteta kod ciroze jetre [150, 151].

Na drugu kontrolu (P2) se tri bolesnika nije javilo zbog nedostatka interesa za dalje istraživanje, a tri iz nepoznatih razloga (sa suspektim nastavljanjem abusus alkohola). Ukupan gubitak bolesnika iznosio je 13.

Nakon druge vizite (P2) dolazi do smrtnog ishoda kod jednog bolesnika zbog pojave ACLF (C-P skor 10, vitamin D 36 nmol/l), a dva bolesnika odustaju od daljeg istraživanja.

Nakon treće vizite (P3) dolazi do smrtnog ishoda kod dva bolesnika, kod oba zbog ACLF, oba su imala C-P skor 12, jedan od njih je imao perzistentnu deficijenciju vitamina D (36 nmol/l), a drugi je od početka istraživanja dostigao vrednost od 102 nmol/l. Dva bolesnika se iz nepoznatih razloga nisu javili na četvrtu kontrolu.

Ukupan gubitak bolesnika od početka istraživanja (P1, N=70) do četvrte kontrole (P4 N=50) bio je dvadeset (20/70), odnosno 28,57%. Smrtnih ishoda bilo je deset (10/70), odnosno 14,28%.

Komplijansa bolesnika je bila 83,33% (50/60).

5.2. GRUPA BOLESNIKA KOJA JE ZAVRŠILA ISTRAŽIVANJE

5.2.1. Suplementacija vitaminom D

Prilikom prvog pregleda (P1), a nakon određivanja statusa vitamina D, kod svih bolesnika uključenih u istraživanje (n=70) započeta je suplementacija vitaminom D3, odnosno holekalciferolom 1000 IU/dan. Primena je bila terapijska i preventivna, u trajanju od godinu dana. Određivanje serumske koncentracije 25(OH)D, parametara koštanog metabolizma i funkcije jetre rađeno je prilikom sva četiri predviđena pregleda, a određivanje mineralne gustine kosti (BMD) na početku i na kraju istraživanja.

Obzirom na smanjivanje broja bolesnika uključenih u istraživanje, rezultati suplementacije vitaminom D tumačeni su samo kod 50 bolesnika koji su završili kompletan protokol istraživanja.

Gubitke bolesnika u prospektivnim intervencijskim studijama sa suplementacijom vitamina D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre imali su i drugi autori.

Malhalm i saradnici [158] konstatuju da bolesnici sa alkoholnom cirozom jetre često pokazuju lošu adherenciju na primenjivane lekove. Zato autori smatraju efektivnijom suplementaciju vitaminom D koja se daje u jednoj velikoj dozi, sa dugim dejstvom leka. U istraživanje su uključili bolesnike sa alkoholnom cirozom i deficijencijom vitamina D, kod kojih je 25(OH)D bio < 25 nmol/l. Cilj je bio da vide efekat primene 300000 IU singl oralne doze vitamina D2 i D3, tokom praćenja 0,7,30 i 90-og dana nakon tretmana. U D2 grupu uključili su 23 bolesnika. Tokom studije su u ovoj grupi imali tri smrtna ishoda, a sa gubitkom zbog neadekvatne komplijanse studiju je završilo 65% bolesnika (16/23).

U D3 grupu uključili su 13 bolesnika, jednog su odmah isključili zato što je povratio lek, imali su jedan smrtni ishod, a ostali se nisu javili na kontrolu, tako da je 4 od 12 bolesnika završilo kompletan studijski protokol (33,33%).

Kod obe grupe dobili su porast 25(OH)D na nivo > 50 nmol/, ali je vitamin D3 bio efektivniji u normalizaciji nivoa 25(OH)D u prolongiranom vremenskom periodu. Poboljšanje statusa vitamina D dovelo je do poboljšanja C-P skora, odnosno funkcije jetre, ali su tokom vizita primetili da inicijalni stepen disfunkcije jetre ima ulogu u stepenu porasta 25(OH)D nakon tretmana. Održavanje 25(OH)D > 50 nmol/l tokom celog studijskog perioda bilo je kod svih bolesnika Child-Pugh A i B, a kod klase C na pojedinim tačkama studije [158].

Sličan dizajn studije sprovedli su Romagnoli i saradnici [191] kod starijih osoba ženskog pola, ali bez ciroze i bez značajnijih bolesti. Osim iste doze i dva ista preparata kao kod Malhalma [158], autori su imali i dve grupe koje su parenteralno primale takođe 300000 IU D2 ili D3 i.m. Autori konstatuju da i.m. davanje ne podiže adekvatno serumsku koncentraciju 25(OH)D, moguće zato što to nije fiziološki put unosa ovog vitamina. Kao drugo tumačenje daju mogućnost da je 60 dana praćenja nakon parenterane primene kratak period da bi se uočile signifikantne promene u nivou 25(OH)D. Navodi da su prethodna istraživanja sa i.m. primenom 600000 IU holekalciferola kod osoba sa deficijencijom

vitamina D normalizovala serumski nivo 25(OH)D tek nakon 12 meseci. Kod i.m. primene autori su postigli bolje rezultate sa holekalciferolom nego sa ergokalciferolom, a najbolje rezultate dala je per os primena holekalciferola. Kao prednost singl doze takode se navode komplijansa i adherencija na lek [191].

Prve suplemetacione studije datiraju još iz sedamdesetih godina prošlog veka.

Tako su Lundy i saradnici još 1977. godine bolesnicima sa alkoholnom masnom bolešću jetre, potom grupi kompenzovanih i dekompenzovanih alkoholnih ciroza davali 1200 IU holekalciferola na dan tokom sedam dana, što je kod svih ispitanika dovelo do značajnog poboljšanja statusa 25(OH)D, a bilo je relevantno porastu koji je dobijen jednokratnom primenom injekcije holekalciferola. Na taj način su dokazali da postoji normalna intestinalna apsorpcija holekalciferola čak i u uznapredovaloj alkoholnoj cirozi jetre, kao i da se osteomalacija i smanjenje mase kosti kod alkoholne ciroze teško može objasniti oštećenom 25-hidroksilacijom vitamina D u jetri [116].

Obzirom na povezanost statusa vitamina D sa težinom, tokom i prognozom hroničnih bolesti jetre, u centru interesovanja je postizanje optimalnog, adekvatnog, odnosno poželjnog statusa ovog vitamina kod ovih bolesnika.

Stavovi o suplementaciji vitaminom D kod hroničnih bolesti jetre, a posebno u cirozi jetre još uvek nisu jasno definisani.

Lim i Chalasani ističu činjenicu da bolesnici sa hroničnim bolestima jetre i cirozom jetre imaju insuficijenciju/deficijenciju vitamina D. U početku je vladalo opšte mišljenje da su tome podložniji oni sa holestatskim bolestima jetre, ali sada je evidentno da se snižen nivo 25(OH)D konstatuje i kod parenhimskih bolesti jetre, kao što su ALD, NAFLD i hronični hepatitis C, što pogoršava klinički tok ovih bolesti. Međutim, aktuelni vodiči nemaju jasno definisane stavove o potrebi određivanja statusa vitamina D kod hepatoloških bolesnika, kao i o terapiji njegovog deficita. Autori navode da je njihova praksa da periodično određuju status vitamina D kod ovih bolesnika i ukoliko je serumski nivo 25(OH)D < 75 nmol/l vrše suplementaciju sa 5000 IU vitamina D3 na dan, ili sa 50000 vitamina D2 ili D3 jednom nedeljno tokom tri meseca, a potom primenjuju 1000 IU/dan u neodređenom vremenskom periodu [121].

Rode i saradnici navode da uprkos dobro poznatoj činjenici o prisustvu deficijencije vitamina D u hroničnim bolestima jetre (CLD) nema prospektivnih studija koje determinišu odgovor na standardnu suplementaciju vitaminom D. Autori su ispitivali prevalencu deficijencije vitamina D u CLD različite etiologije i stadijuma (41% ciroza), evaluirali da li serumski nivo 25(OH)D korelira sa težinom bolesti jetre i determinisali odgovor na suplementacionu terapiju vitaminom D (1000 IU vitamina D2 ili 2000 IU vitamina D3 na dan). Deficijenciju vitamina D je imalo 64% bolesnika. Ukupni porast u vrednostima 25(OH)D za deficijentne bolesnike iznosio je 60% tokom perioda praćenja od 4 meseca. Autori smatraju da bi se veći i konzistentniji porast u 25(OH)D nakon suplementacije mogao bi se dobiti poboljšanjem komplijanse, većim suplementacionim dozama i dužim tretmanom [152].

Bitetto i saradnici konstatuju da je vitamin D deficijencija čest nalaz kod bolesnika transplantiranih zbog ESLD (*End stage liver disease*) kao posledice hronične HCV infekcije. Rekurencija hepatitisa C na graftu je skoro univerzalna, aproksimativno 1/3 takvih bolesnika razvije graft cirozu u okviru pet godina od transplantacije. Autori su sprovedli istraživanje sa ciljem da se odredi uticaj statusa vitamina D i suplementacije vitaminom D u predikciji SVR (*sustained virologic response*) kod rekurentnog hepatitisa C (RHC). Status vitamina D određivan je kod svih bolesnika pre započinjanja antivirusne terapije (INFα i ribavirin tokom 48 nedelja). Suplementacija je sprovedena nezavisno od statusa vitamina D, sa 800 IU vitamina D3/dan kod 15 od 42 bolesnika, sa preliminarno utvrđenim ciljem da se kod njih spreči dalji, već postojeći gubitak kosti. Autori su zaključili da je deficijencija vitamina D

prediktor nepovoljnog odgovora na antivirusni tretman RHC, a da suplementacija vitaminom D povećava verovatnoću postizanja SVR [153].

Abu-Mouch i saradnici su sprovedli istraživanje sa ciljem da odrede da li dodavanje vitamina D kao potentnog imunomodulatora poboljšava odgovor na antivirusnu terapiju kod bolesnika sa genotipom 1 hroničnog hepatitisa C. Prva grupa bolesnika bila je lečena konvencionalnom Peg/RBV terapijom uz vitamin D3 2000 IU/dan, a druga grupa bolesnika nije primala vitamin D. Virusna količina, uznapredovala fibroza i suplementacija vitaminom D bili su snažno i nezavisno povezani sa SVR (nedektabilnom HCV-RNA 24 nedelje posle tretmana). Ustanovljeno je da dodavanje vitamina D konvencionalnoj Peg/RBV terapiji tretman naivnim bolesnicima sa hroničnom HCV genotip 1 infekcijom značajno popravlja virusni odgovor [154].

Nime i Abu-Mouch su primenili istu dozu suplementacije vitaminom D, uz konvencionalnu Peg/RBV terapiju kod bolesnika sa genotipom 2 i 3 hroničnog hepatitisa C, i takođe su dobili značajno poboljšanje toka i ishoda lečenja [155].

Primenom suplementacije vitaminom D takođe je ustanovljeno poboljšanje postprandijalne insulinske senzitivnosti i smanjenje insulinske rezistencije [156, 157].

Bjelaković i saradnici su uvidom u Cochran biblioteku, MEDLINE, EMBASE, LILACS, Science Citation Index-Expanded i Conference Proceedings Citation Index-Science (do februara 2012.) analizirali 159 randomiziranih kliničkih studija koje su komparirale primenu bilo kog oblika vitamina D u bilo kojoj dozi i trajanju, na bilo koji način administriranja, u odnosu na placebo, ili u odnosu na odsustvo intervencije. Cilj je bio odrediti efekte suplementacije vitaminom D na prevenciju mortaliteta kod odraslih zdravih osoba ili odraslih osoba u stabilnoj fazi bolesti. Ustanovili su da jedino suplementacija vitaminom D3 značajno smanjuje mortalitet, za razliku od vitamina D2, alfa-kalcidiola i kalcitriola. Nisu uočili signifikantnu razliku u mortalitetu kod studija sa ciljem primarne ili onih sa sekundarnom prevencijom, potom između studija koje su uključivale bolesnike sa početnim nivoom $25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/l}$ ili $> 50 \text{ nmol/l}$, kao ni između studija koje su uključivale ambulantne bolesnike komparirano sa onim koje su uključivale institucionalizovane. Takođe nije bilo razlike u studijama sa ili bez kalcijuma, potom sa dozom suplementacije vitaminom D $< 800 \text{ IU/dan}$ ili $> 800 \text{ IU/dan}$, kao ni u onim koje su uključivale samo bolesnike jednog ili oba pola. Ustanovili su da vitamin D kombinovano sa kalcijumom povećava rizik od nefrolitijaze, a alfa-kalcidiol i kalcitriol povećavaju rizik od hiperkalcemije [192].

5.2.2. Efekti suplementacije vitaminom D na poboljšanje statusa vitamina D

Bolesnici koji su se javili na sva četiri predviđena pregleda ($n=50$) na početku istraživanja imali su prosečne vrednosti vitamina D prema Child-Pugh klasi A/B/C 60,7/50,5/26,7 nmol/l. Prosečne vrednosti vitamina D za celu grupu ($n=50$) bile su 52,50 nmol/l. Deficijencija vitamina D u ovoj grupi bolesnika bila je prisutna u 58% (29/50). Inicijalno veće vrednosti vitamina D kod ovih bolesnika u odnosu na grupu od svih 70 uključenih bolesnika, mogle bi indirektno ukazati na njihovo bolje zdravstveno stanje iz čega je proistekla i bolja komplijansa.

Kod cele grupe bolesnika koji su završili istraživanje ($n=50$) suplementacija sa 1000 IU vitamina D na dan vršena je tokom godinu dana. Ukupni porast nivoa vitamina D [$25(\text{OH})\text{D}$] od P1 do P3 (posle šest meseci suplementacije) iznosio je 32,7 nmol/l. Nakon toga, između P3 i P4 u razmaku od šest meseci nastupa pad u srednjim vrednostima vitamina D od 15,38 nmol/l. Ukupan porast od P1 do P4 iznosio je 17,32 nmol/l. Ukupno procentualno povećanje srednje vrednosti iznosilo je 32,99%.

Kod svih ispitivanih bolesnika sa AC jetre (n=50) podeljenih u Child-Pugh klase, nakon jednogodišnje suplementacije vitaminom D konstatovan je porast nivoa vitamina D u odnosu na početne vrednosti. Najveći porast nivoa vitamina D bio je kod bolesnika Child-Pugh klase C, koji su početno imali najniže vrednosti vitamina D. Vrh porasta je postignut u P3 (posle šest meseci od početka suplementacije), kada su vrednosti nivoa vitamina D bile najviše i nakon kojih one počinju da opadaju. Te maksimalne vrednosti kod bolesnika klase A iznose 83,27 nmol/l, kod klase B 87,32 nmol/l i kod klase C 87,14 nmol/l. Shodno tome, i razlika između P3 i P1 je veća nego razlika P4 i P1 i iznosi za klasu A 22,54 nmol/l, za klasu B 36,82 nmol/l i za klasu C 60,43 nmol/l.

U odnosu na grupisanje bolesnika prema kategorijama nivoa vitamina D ustanovljeno je da kod bolesnika koji su imali početni nivo vitamina D < 80 nmol/l postoji porast vitamina D između P1 i P4. On kod bolesnika koji su bili u kategoriji umereno teške i teške deficijencije iznosi 53,5 nmol/l, kod bolesnika u klasi blaže deficijencije iznosi 23,47 nmol/l, a kod bolesnika u klasi insuficijencije 13,17 nmol/l. Kod bolesnika u klasi suficijencije (vitamin D > 80 nmol/l) postoji pad u vrednostima vitamina D za 23,67 nmol/l. Uočava se da je najveći porast kod bolesnika koji su imali najniže početne vrednosti vitamina D.

Vršna vrednost nivoa vitamina D kod svih bolesnika koji su imali početne vrednosti <80 nmol/l postignuta je posle šest meseci suplementacije, nakon čega dolazi do opadanja nivoa vitamina D. Shodno tome, i razlika između P3 i P1 je veća nego razlika P4 i P1. Razlika P3 i P1 kod bolesnika sa umereno teškom i teškom deficijencijom iznosi 60,25 nmol/l, kod bolesnika sa blagom deficijencijom iznosi 37,86 nmol/l, a kod bolesnika sa insuficijencijom iznosi 37,86 nmol/l.

U radu je dokazano da porast serumskog 25(OH)D zavisi od bazalnih vrednosti 25(OH)D, shodno navodima Lipsa i saradnika [66].

U studiji Rodea i saradnika oralna suplementacija vitaminom D rezultovala je porastom 25(OH)D za 41% kod blage, a sa 141% porasta kod teške deficijencije [152].

Ono što je izuzetno interesantno u sprovedenom istraživanju je da se u P3 (posle šest meseci suplementacije vitaminom D), kod apsolutno svih ispitivanih bolesnika sa početnim nivoom vitamina D < 80 nmol/l, dostiže vršna vrednost nivoa vitamina D, a da potom dolazi do njegovog pada. Treba obratiti pažnju da su vrednosti postignute u P3, vrednosti koje su sasvim blizu, ili u potpunosti odgovaraju adekvatnosti nivoa vitamina D. Da li to znači da organizam ipak putem fiziološkog per os unosa uzima iz ponude samo onoliko koliko mu je potrebno?

Da li smanjenje vrednosti nivoa vitamina D od 23,67 nmol koje je uočeno od P1 do P4 (negativni procenat promene srednjih vrednosti od -28,71%) kod bolesnika sa početnim nivoom vitamina D > 80 nmol/l signalizira da osobama koje su saturisane vitaminom D nije potrebna preventivna suplementacija vitaminom D, jer ostaje (barem laboratorijski) bez efekta?

Ima i kontra mišljenja. Rode i saradnici su utvrdili da su bolesnici sa CLD koji su inicijalno imali dovoljnost vitamina D, te nisu dobijali suplementaciju, tokom srednjeg praćenja od četiri meseca imali pad u vrednostima 25(OH)D za 25% u odnosu na početne vrednosti [152].

Opadanje nivoa vitamina D tokom suplementacije koje je uočeno od P3 do P4 bi se možda moglo tumačiti gubitkom adherencije na lek iako se konstatuje kod svih bolesnika, koji su pri tome disciplinovano dolazili na kontrole. Bilo bi interesantno videti kretanje nivoa vitamina D na sredini posmatranog šestomesečnog perioda (P3-P4), odnosno u devetom mesecu od početka istraživanja, na tački koja nije bila predviđena studijskim protokolom.

Opadanje nivoa vitamina D tokom suplementacije od P3 do P4, ipak bi se najrealnije moglo tumačiti sezonskim varijacijama, jer iako su bolesnici uključivani konsektivno, u periodu od oktobra 2011. godine do marta 2013. godine, većina je uključena u periodu

zima/rano proleće te je i završno određivanje analiziranih parametara vršeno u periodu smanjene insolacije.

Ako bi razmatrali teoriju narušene 25-hidroksilacije vitamina D u jetri, rezultati dobijeni istraživanjem argumentovano mogu da joj se suprotstave. Prvo: najveći porast nivoa vitamina D postignut je u P3 (posle šest meseci suplementacije) kod bolesnika Child-Pugh klase C, i to porast sa početnih 26,71 nmol/l do nivoa 87,14 nmol/l, dakle bolesnici su uneti vitamin D sasvim dobro hidroksilirali u jetri i uspeali da podignu njegov nivo na odlične vrednosti. Znači da su samo "bili gladni" vitamina D. Zašto? To su najteži bolesnici sa cirozom jetre koji svakako imaju inapetenciju i smanjen unos hrane uključujući mikronutrijente, odnosno vitamine i minerale. Drugo, zbog slabosti, malaksalosti, ascitesa, teško se kreću i verovatno vrlo malo izlaze na sunce. Ako imaju žutilo, i apsorpcija vitamina D preko kože je manja. Zbog edema zida creva u sklopu portne hipertenzije, smanjena je i apsorpcija nutrienata.

Ipak, pojedini autori imaju rezultate koji mogu da opovrgnu navedeno razmišljanje. Petta i sradnici su kod bolesnika sa genotipom 1 hroničnog hepatitisa C imunohemijski određivali tkivnu ekspresiju hepatičke 25-hidroksilaze vitamina D (CYP27A1 i CYP2R1) i ustanovili da je nivo CYP27A1 direktno povezan sa nivoom 25(OH)D, a inverzno sa stepenom nekroinflamacije. Smatraju da je nizak nivo 25(OH)D uzrokovan redukovanom tkivnom ekspresijom CYP27A1. Nizak nivo vitamina D povezan je sa težinom fibroze i lošim odgovorom na antivirusnu terapiju [129].

Posmatrajući celu ispitivanu grupu bolesnika, nezavisno od podele u Child-Pugh klase, uočava se da su i bolesnici koji su bili u kategoriji umereno teške i teške deficijencije vitamina D, sa prosečnim početnim nivoom vitamina D od 13,5 nmol/l, u P3 dostigli nivo od 73,75 nmol/l, dakle svi su jednako dobro apsorbovali i u jetri metabolisali uneti vitamin D.

Sve do sada navedeno implicira neophodnost suplementacije kod svih bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre koji imaju nivo vitamina D < 80 nmol/l.

Obzirom na postizanje vršne vrednosti nivoa vitamina D posle šest meseci suplementacije, kao i na činjenicu da je ta vršna vrednost potpuno optimalna, a da nakon nje nastaje pad nivoa vitamina D, postavlja se pitanje da li suplementaciju istom dozom treba nastavljati posle šest meseci ili načiniti individualnu procenu za svakog bolesnika, kako navode Lim i Chalasani [121], a što se zapravo čini najprihvatljivijim modelom.

Što se tiče doze suplementacije vitaminom D, na osnovu istraživanjem konstatovanog postizanja optimalnog, adekvatnog nivo vitamina D primenom 1000 IU holekalciferola na dan postavlja se pitanje da li bi manja doza bila tako delotvorna?

Da li bi se primenom veće doze suplementacije dostigla vršna vrednost vitamina D ranije? Koliko često bi se kod većih doza suplementacije vitaminom D bolesnici morali kontrolisati (da bi se na vreme uočili klinički i laboratorijski znaci eventualne intoksikacije vitaminom D)?

U citiranim intervencijskim studijama sa suplementacijom vitamina D kod bolesnika sa cirozom jetre i hroničnim bolestima jetre korišćene su različite doze vitamina D, sa različitim ritmom primene, kao i različitom dužinom primene leka. Takođe se razlikuje i predviđen ritam praćenja bolesnika [121, 152, 154, 155, 158].

Rezultati sprovedenog istraživanja ukazuju da je primenjena doza od 1000 IU holekalciferola na dan kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre optimalna, u periodu od minimum šest meseci, kod svih koji imaju početni nivo vitamina D < 80 nmol/l, ali da je nakon toga potrebna individualizacija terapije.

U intervencijskim studijama sa suplementacijom vitaminom D koje su rađene u opštoj populaciji, mahom kod osoba starije životne dobi, takođe su korišćene različite doze suplementacije. Lips je između primene vitamina D u dozi od 400 IU i od 800 IU na dan, tokom godinu dana, dobio malu razliku porasta nivoa vitamina D između ispitivanih grupa

bolesnika (uz pad PTH za 15%). Posle tri meseca suplementacije postignut je plato porasta [163].

Himmelstein, je sproveo suplementacionu studiju sa vitaminom D kod starih osoba dozom od 2000 IU/dan tokom 6 nedelja. Došlo je do značajnog porasta 25(OH)D, bez promena u vrednostima PTH, što bi se moglo objasniti bazalno većim vitaminom D [193].

Chel je sproveo suplementacionu studiju kod psihogerijatrijskih bolesnika, prosečne starosti 85 godina. Bazalni 25(OH)D je bio < 30 nmol/l kod 95% ispitanica. Tokom 12 nedelja prva grupa lečena UV zračenjem, druga grupa je primala 400 IU holekalciferola/dan, treća placebo. Obe tretirane grupe imale su porast 25(OH)D posle tri meseca na 60 nmol/l, a pad PTH za 30% [194].

Isti autor 2008. godine kod starih lica sa bazičnim 25(OH)D < 50 nmol/l sprovodi suplementaciju u trajanju od četiri meseca sa oralnim dozama vitamina D3 1: 600 IU/dan, 2: 4200 IU/nedeljno, 3: 18000 IU/mesečno i 4: placebo. Posle četiri meseca 25(OH)D raste po navedenim intervencionalnim grupama na 69,9 nmol/l - 67,2 nmol/l - 53,1 nmol/l. Srednja serumska koncentracija PTH pala je za 23%. Markeri koštanog metabolizma (BALP i CX) se nisu promenili [195].

Dawson-Hughes je sprovela trogodišnje istraživanje kod zdravih osoba starosne dobi 65 i više godina koje je podelila u dve grupe: 1. suplementacija sa 700 IU/d holekalciferola i 500mg Ca, 2. grupa placebo. Na početku su muškarci imali 25(OH)D 82,5 nmol/l, na kraju prosečan porast za 29,5 nmol/l, žene bazalno 71,75 nmol/l, porast za 40 nmol/l. To je sličan porast kao što je dobijen u našem istraživanju (oko 30 nmol/l) ali su kod pomenutih autora veće inicijalne vrednosti 25(OH)D (pri čemu su i osobe sa 25(OH)D > 80 nmol/l imale porast početnog nivoa), manja je suplementaciona doza vitamina D a kombinovana je sa primenom Ca, duži je intervencijski period i radi se o zdravim ljudima [196].

5.2.3. Efekti suplementacije vitaminom D na metabolizam kosti

Posmatrajući srednje vrednosti nivoa osteokalcina prilikom sva četiri pregleda i odnos srednjih vrednosti prema pregledima uočava se da je najveći porast bazično niskih vrednosti osteokalcina postignut u P2, nakon tri meseca suplementacije vitaminom D. Blago smanjenje postignutih vrednosti uočava se u P3, a značajno smanjenje (-10.5%) između P3 i P4. Konstatuje se pozitivna ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 od 13.75%.

Međutim, kako početne, tako i završne srednje vrednosti nivoa osteokalcina nalaze se ispod donje granice normale. Samo u P2 nivo osteokalcina ulazi u referentne vrednosti, ali neznatno premašuje donju granicu normale.

Posmatrajući srednje vrednosti nivoa CrossLapsa prilikom sva četiri pregleda, kao i odnos srednjih vrednosti prema pregledima, prilikom drugog pregleda (posle tri meseca suplementacije vitaminom D) uočava se blagi porast vrednosti CrossLapsa (od 1,1 %), da bi potom one počele da opadaju, tako da je ukupna promena srednje vrednosti negativna i iznosi -14.06. Srednje vrednosti nivoa CrossLapsa u sva četiri merenja nalaze se u okviru referentnih vrednosti.

Iz navedenog implicira da suplementacija vitaminom D brzo, već tokom prva tri meseca, dovodi do promena u metabolizmu kosti koje se odražavaju u poboljšanju ili normalizaciji odnosa formiranja i razgradnje kosti. Naime, inicijalno značajno snižen osteokalcin signifikantno raste i dostiže donju granicu normale, a inicijalno normalan CrossLaps opada, iako nesignifikantno i u okviru referentnih vrednosti. Obzirom na srednje vrednosti osteokalcina i CrossLapsa, sve se to odvija na relativno niskom nivou aktivnosti.

Dakle, suplementacija vitaminom D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre dovodi do poboljšanja odnosa formiranja i razgradnje kosti, što bi rezultiralo boljim odnosom na nivou pojedinačne BMU, ali bez stvaranja novih ciklusa remodelovanja, odnosno stvaranje

novih BMU nije uvećano, nego suprimirano, tako da i promene u koštanoj masi tokom jednogodišnje suplementacije vitaminom D ne mogu biti spektakularne, obzirom na vreme potrebno da se "napuni" jedna BMU. Metabolizam kosti, je (kao što je već ranije razmatrano, analizirajući markere metabolizma kosti) u alkoholnoj cirozi stalno na niskom nivou, sa dominantno smanjenim formiranjem, ali očito u izvesnoj meri i smanjenom razgradnjom kosti.

Mnogi autori su kod zloupotrebe alkohola ustanovili supresivan efekat na formiranje kosti, ali navode i manje naglašen, ali prisutan supresivni efekat i na razgradnju kosti [165, 166, 167].

Promena (poboljšanje ili normalizacija) odnosa formiranja i razgradnje kosti tokom suplementacije vitaminom D je verovatno uzrokovano dejstvom vitamina D i na osteoblastnu i na osteoklastnu aktivnost.

Poboljšanje formiranja kosti ne bi se moglo tumačiti isključivo suplementacijom vitaminom D. Treba akceptirati i uticaj apstinencije od alkohola što je bio uslov za ulazak i ostanak u istraživanju. Takođe se tokom perioda suplementacije vitaminom D registruje i značajno poboljšanje funkcije jetre, kojim bi, verovatno putem smanjenja nekroinflamacije i smanjenja aktivacije monocitno makrofagnog sistema, moglo doći do smanjenja oslobađanja citokina i drugih medijatora proosteoklastogene aktivnosti, a povećanja proosteoblastnih faktora rasta.

Dakle, ne sme se zanemariti uticaj same alkoholne ciroze jetre, kako u inicijalno smanjenom, tako i potom poboljšanom formiranju kosti. Neki autori smatraju da je za promene u metabolizmu kosti i koštanoj masi kod hroničnih alkoholičara oštećenje funkcije jetre izgleda značajnije i od samog alkohola [169].

Sprovedenim istraživanjem, u P2 (posle tri meseca suplementacije vitaminom D) se zapaža i pad nivoa PTH za svega 1,7 pg/ml. Blagi porast postignutih vrednosti, od 1,26 pg/ml uočava se u P3, a potom nastupa smanjenje od 2,37 pg/ml u P4. Konstatuje se negativna ukupna razlika između P1 i P4 od -2,81 pg/ml, odnosno ukupna promena srednje vrednosti P1/P4 od -7,78%. Ne uočava se jasna pravilnost dinamike promena, sem očekivanog pada PTH koji nastupa sa poboljšanjem vitamina D koje je najbrže i najveće između P1 i P2 (prva tri meseca suplementacije). Padu PTH u P2 verovatno doprinosi i povećanje ukupnog i jonizovanog kalcijuma koje se takođe konstatuje u P2. Fosfor i magnezijum najveći porast pokazuju takođe u P2.

Važno je napomenuti da se srednje vrednosti PTH, Ca, Mg i P u sva četiri pregleda nalaze u okviru referentnih vrednosti.

Multivarijantnom analizom ponovljenih merenja utvrđeno je da postoji značajna interakcija između sprovedenih pregleda i grupe svih parametara metabolizma kosti. Ustanovljeno je da postoji međusobna interakcija između vitamina D, jonizovanog kalcijuma, CrossLapsa, osteokalcina, i fosfora. Značajnost interakcije je jednaka za sve parametre, $p < 0.001$. Ono što je interesantno, ustanovljeno je da ne postoji značajnost interakcije između PTH sa ostalih pet parametara (vitamin D, jonizovani kalcijum, crosslaps, osteokalcin, i fosfor). To bi bilo u skladu sa nepostojanjem pravilnosti dinamike kretanja PTH tokom suplementacije vitaminom D.

Suplementacione studije sa vitaminom D koje govore o povezanosti promena vitamina D i PTH, mahom su rađene kod starih i institucionalizovanih osoba. Sugerišu različite procenete u padu PTH proporcionalno povećanju vitamina D, ali uglavnom dozama suplementacije koje su manje nego u sprovedenom istraživanju. Zanimljivo je da i kod pomenute populacije tokom prva tri meseca dolazi do značajnog porasta vitamina D ako je suplementacija rađena na terenu njegove deficijencije, i konsekutivnog pada PTH i do 30% [194, 195].

Ako serumski PTH padne za više od 15-20% nakon suplementacije vitaminom D to može ukazati na klinički značajnu deficijenciju vitamina D koja vodi do gubitka kosti i osteoporoze. Stepenn smanjenja serumskog nivoa PTH nakon suplementacije vitaminom D zavisi od stepena deficijencije vitamina D [66].

Pojedini autori nisu dobili promene u PTH nakon suplementacije vitaminom D što bi se moglo objasniti početno većim vitaminom D [193].

5.2.4. Efekti suplementacije vitaminom D na koštanu masu

U sprovedenom istraživanju, posle godinu dana suplementacije vitaminom D, na lumbalnoj kičmi došlo do poboljšanja BMD za 0.87% (razlika P1 i P4 je 0,010 g/cm²). Najveće pogoršanje nastalo je na kosti sa startno najnižim BMD, odnosno vratu femura i iznosi -1.87 % (razlika P1 i P4 je -0,018 g/cm²). Na regiji kuka takođe je došlo do pogoršanja BMD, odnosno procenat promene je -1.65% (razlika P1 i P4 -0,017 g/cm²).

Grupa japanskih autora je primenjivala kalcitriol kod 34 bolesnice sa PBC i pratila efekte suplementacije na BMD lumbalne kičme. Promena BMD na lumbalnoj kičmi tokom godinu dana je iznosila 0,1% u tretiranoj grupi i -3,1% u kontrolnoj grupi [197].

Isti autori su primenjivali kalcitriol i kod 76 bolesnika oba pola obolelih od posthepatitisnih ciroza jetre i ustanovili da je kod tretiranih bolesnika muškog pola došlo do prosečnog godišnjeg poboljšanja BMD na lumbalnoj kičmi od 1,1%, a u kontrolnoj grupi je ustanovljeno pogoršanje od -0,4%. Kod žena su promene bile još izraženije, naime godišnja promena BMD je i u tretiranoj grupi imala negativan predznak (-0,5%), a u kontrolnoj grupi godišnja promena je iznosila -2,3% [198].

Mobarhan i saradnici su 1984. sprovedli istraživanje kod 56 bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre, od kojih je 32% imalo sniženu gustinu kosti i snižen nivo 25(OH)D, sa ciljem komparacije efikasnosti vitamina D2 i 25(OH)D u terapiji metaboličkih bolesti kosti. Na kraju studije, u grupi bolesnika bez suplementacije vitaminom D došlo je do lakog, a u grupama sa suplementacijom do značajnog porasta serumskog 25(OH)D. Gustina kosti se kod bolesnika bez suplementacije nije promenila, a značajno je porasla u obe grupe sa suplementacijom vitaminom D. Kontrolnom biopsijom kosti i statičkom histomorfometrijom notirano je poboljšanje u remodeliranju kosti. Autori su konstatovali i da je osteoporoza dominantan oblik metaboličkih bolesti kostiju u alkoholnoj cirozi jetre i sugerisali suplementaciju vitaminom D [117].

Iako mnogi aspekti suplementacije vitaminom D kod bolesnika sa alkoholnom hepatičkom osteodistrofijom nisu razjašnjeni, na eksperimentalnom modelu [199] je dokazano da uspostavljanje zadovoljavajuće saturacije vitaminom D dovodi do smanjenja frekvence iniciranja novih BMU. Ovaj efekat smanjuje prostor remodeliranja i usporava neto gubitak koštanog tkiva po ciklusu remodeliranja koji je bio prisutan pre suplementacije vitaminom D. Pored toga, vitamin D stimuliše diferenciranje preosteoblasta u zrele, funkcionalno potentne ćelije koje stvaraju osteoid, kontrolišu mineralizaciju organske potke i globalno povećavaju formiranje kosti. Obzirom da se populacija preosteoblasta zbog ubrzanog sazrevanja smanjuje, redukuje se i sinteza proosteoklastnih faktora (RANKL) koji se prvenstveno luče iz ovih, a ne zrelih ćelija osteoblastne loze. Zbog smanjene osteoklastogeneze histomorfometrijski se konstatuje i redukcija površine osteoklasta, što dovodi do depresije osteoklastne aktivnosti.

Iako su poznati veoma intenzivni proosteoklastni efekti vitamina D, pri suplementaciji vitaminom D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre, ispoljavaju se značajna antiresorptivna dejstva. Očigledno se tokom suplementacije vitaminom D značajno menja režim metabolisanja kosti od početnog deficita kosti po BMU do približno uravnoteženog odnosa razgrađene i novostvorene kosti po ciklusu remodeliranja. Međutim, zbog smanjenih

prostora remodeliranja, prirast koštane mase je mali i spor, tako da se u toku jednogodišnjeg ispitivanja i ne može očekivati značajni porast BMD.

Dawson-Hughes i saradnici su u velikom uzorku zdravih osoba oba pola starijih od 65 godina, tokom tri godine vršili suplementaciju sa 700 IU holekalciferola na dan (uz 500mg Ca), i posle prve godine uočili su poboljšanje BMD u odnosu na kontrolnu grupu na svim određivanim regijama, ali je posle druge i treće godine ostala značajna razlika samo u *total body* BMD [196].

Lips [66] sublimira nekoliko studija u kojima je praćen efekat suplementacije vitaminom D na BMD. Većina tom analizom obuhvaćenih studija sprovedena je kod postmenopauzalnih žena, različitim dozama suplementacije vitaminom D i u različitim periodima godine, pri čemu su konstatovane različite godišnje promene BMD.

Tako je na primer suplementacija sa 800 IU vitamina D tokom zimskih meseci dovela kod zdravih postmenopauzalnih žena do porasta BMD na lumbalnoj kičmi, u odnosu na kontrolnu grupu [200]. Potom je, takođe kod postmenopauzalnih žena komparirana suplementacija vitaminom D sa 100 IU prema 700 IU/dan, i uočeno je da je u grupi koja je primala veće doze vitamina D bio manji gubitak koštane mase na vratu femura nego u grupi sa manjom dozom suplementacije (-1% prema -2,5%) [201].

Lips citira i studiju u kojoj je manja doza suplementacije vitaminom D (400 IU/dan) dovela je do povećanja BMD na vratu femura za 1,9% posle godinu dana, a za 2,2% posle dve godine [202], dok je u Qualyos studiji, suplementacija sa 800 IU vitamina D na dan i 1,2 g Ca/dan dovela je do povećanja BMD na regiji kuk ukupni za više od 6% kod starijih žena [203].

U studiji u koju su bili uključeni bolesnici oba pola sa značajnom insuficijencijom vitamina D, kod kojih je primenjivana suplementacija visokim dozama vitamina D, BMD je značajno porastao na lumbalnoj kičmi (za 4,1%) i i vratu femura (4,9%) [204].

Rezultati citiranih studija sugerisali bi veći efekat suplementacije vitaminom D na kortikalnu nego na trabekularnu kost. Međutim, u sprovedenom istraživanju pozitivna godišnja promena srednje vrednosti BMD dobijena je na lumbalnoj kičmi, a pogoršanje BMD na vratu femura i kuku. Naravno, rezultati nisu u potpunosti uporedivi jer se osnovne grupe ispitanika razlikuju po polu i zdravstvenom stanju.

Još jednom treba pomenuti istraživanje Monegalove i saradnika koji su konstatovali da alkoholne ciroze i Child-Pugh klasa C imaju najniži BMD na vratu femura, [159] kao I Crawforda i saradnika koji su utvrdili da je vitamin D snažan prediktor BMD na kuku kod bolesnika sa hroničnim bolestima jetre [21].

Porast u BMD na vratu femura posle suplementacije vitaminom D može zavisiti i od genetskih karakteristika VDR [205].

Porast BMD nakon suplementacije vitaminom D može se objasniti boljom mineralizacijom ekscesivnog osteoida u slučaju prethodno postojeće teže deficijencije vitamina D, potom smanjem funkcije paratireoidne žlezde odnosno smanjivanjem nivoa PTH i usporavanjem metabolizma kosti. Ovo poslednje je rezultat popunjavanja koštanih prostora nastalih remodeliranjem i povećanjem sekundarne mineralizacije pri čemu raste proporcija kosti sa velikim BMC u odnosu na kost sa nižim BMC. Smanjenje metabolizma kosti u određenom vremenskom intervalu dovodi i do smanjenja gubitka kosti. Porast BMD je najveći tokom prve godine suplementacije vitaminom D.

Lips zaključuje da je deficijencija vitamina D i sekundarni hiperparatireoidizam čest kod starijih osoba, ne samo kod tradicionalno rizičnih grupa kao što su ljudi vezani za kuću ili insitucionalizovani bolesnici sa frakturama kuka, nego i kod ostalih starijih osoba i postmenopauzalnih žena. Ubrzan metabolizam kosti uzrokovan sekundarnim hiperparatireoidizmom je praćen snižavanjem koštane mase i do 10%, što je delom reverzibilno, a delom ireverzibilno. Ubrzan metabolizam kosti može doprineti patogenezi

frakture kuka ili drugih fraktura. Suplementacija vitaminom D poboljšava status vitamina D, koriguje sekundarni hiperparatireoidizam, usporava koštani metabolizam i povećava BMD [66].

5.2.5. Efekti suplementacije vitaminom D na funkciju jetre

Tokom suplementacije vitaminom D ustanovljeno je poboljšanje funkcije jetre. Tako ukupna promena srednje vrednosti za bilirubin iznosi -13,13%, za protrombinsko vreme -2,53%, za albumin +8,41 %, za AST -16,75%, za ALT -2,93%, a za GGT -8,63%.

Kada se rezultati posmatraju u apsolutnim vrednostima uočavaju se dve činjenice. Prvo, inicijalno nije postojalo veliko odstupanje od normale u vrednostima bilirubina, albumina, protrombinskog vremena, AST-a i ALT-a. Drugo, postignute promene takođe nisu velike, ali su neosporno značajne i ukazuju na poboljšanja ispitivanih vrednosti, što se reflektuje i na smanjenje prosečnog Child-Pugh skora sa 7,02 u P1 na 5,92 u P4. Dobijeni nalazi upravo i odgovaraju alkoholnoj cirozi jetre i bitno su drugačiji od onih koji postoje na primer kod alkoholnog steato-hepatitisa, ili ciroza druge etiologije.

Savić i saradnici [206] su u retrospektivnoj studiji koja je uključivala 237 hospitalizovanih bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre, konstatovali da kod ovih bolesnika dominantna klinička slika odgovara manifestacijama i komplikacijama portne hipertenzije: variksi, varikсно krvavljenje, ascites i njegove posledice. U toj studiji 68% bolesnika je bilo hospitalizovano zbog kliničke slike i komplikacija portne hipertenzije, a svega 32% je lečeno sa dominantnom kliničkom slikom hepatičke insuficijencije. Prosečne vrednosti AST bile su 71,52; ALT-a 37,74, a prosečan Child-Pugh skor 8,03.

Obzirom da su u aktuelno istraživanje uključivani i ambulantni, a ne samo hospitalizovani bolesnici, prosečan Child-Pugh skor je bio 7,53 u grupi svih uključenih bolesnika, a u grupi bolesnika koji su završili istraživanje početni prosečni Child-Pugh skor je bio 7,02. U svakom slučaju, podaci su konzistentni sa citiranim istraživanjem.

Malhalm i saradnici ustanovili su da je poboljšanje statusa vitamina D dovelo je do poboljšanja funkcije jetre, pri čemu je inicijalni stepen disfunkcije jetre imao ulogu u stepenu porasta 25(OH)D nakon tretmana [158].

To se delom razlikuje od rezultata dobijenih sprovedenim istraživanjem, u kome je najveći porast 25(OH)D tokom suplementacije vitaminom D zabeležen upravo kod bolesnika Child-Pugh klase C. Treba istaći da je u sprovedenom istraživanju kao oblik suplementacije korišćen isključivo holekalciferol, sa drugim režimom primene, te se rezultati ne mogu u potpunosti porediti sa rezultatima citiranih autora.

Kao što je već navedeno, u sprovedenom istraživanju kod svih ispitivanih bolesnika sa AC jetre podeljenih u Child-Pugh klase, nakon jednogodišnje suplementacije vitaminom D konstatovan je porast nivoa vitamina D u odnosu na početne vrednosti.

Najveći porast nivoa vitamina D bio je kod bolesnika Child-Pugh klase C, koji su početno (u odnosu na bolesnike klase A i B) imali najniže vrednosti nivoa vitamina D (26,71 nmol/l). Razlika između P1 i P3 iznosi za klasu A 22,54 nmol/l, za klasu B 36,82 nmol/l i za klasu C 60,43 nmol/l.

Maksimalne dostignute vrednosti nivoa vitamina D postignute u P3, posle šest meseci suplementacije kod bolesnika klase A iznose 83,27 nmol/l, kod klase B 87,32 nmol/l i kod klase C 87,14 nmol/l.

Potrebno je još jednom istaći da ovi rezultati govore protiv teorije narušene 25-hidroksilacije vitamina D u jetri, a da ukazuju na smanjeno snabdevanje organizma vitaminom D, kao što je ranije objašnjeno. Lundy i saradnici su slično ustanovili još sedamdesetih godina prošlog veka [116].

Iz navedenog implicira da najveću korist od suplementacije vitaminom D imaju upravo bolesnici sa najvećim oštećenjem jetre i najnižim vrednostima nivoa vitamina D. Poboľšanjem funkcije jetre poboljšava se i opšte zdravlje bolesnika i unapređuje njihov kvalitet života.

6. ZAKLJUČCI

Deficijencija vitamina D koja postoji kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre može imati značajan uticaj na razvoj hepatičke osteodistrofije. Smatra se da poboljšanje statusa vitamina D ima pozitivan efekat na metabolizam kosti i koštanu masu kod ovih bolesnika. Stavovi o suplementaciji vitaminom D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre nisu jasno definisani.

Osnovni cilj istraživanja je bio utvrđivanje efekata suplementacije vitaminom D na metabolizam kosti i koštanu masu kod ovih bolesnika.

Na osnovu dobijenih rezultata, njihove obrade i sistematizacije, može se smatrati da su ostvareni ciljevi i potvrđene hipoteze od kojih se pošlo u istraživanju. Shodno tome, mogu se doneti sledeći zaključci:

1. Kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre postoji značajna zastupljenost deficijencije vitamina D. Nivo 25(OH)D < 50 nmol/l prisutan je kod 67% ovih bolesnika.
2. Step deficiencije vitamina D progredira sa pogoršanjem disfunkcije jetre. Najniže vrednosti nivoa vitamina D ustanovljene su kod bolesnika Child-Pugh klase C.
3. Hepatička osteodistrofija je komplikacija alkoholne ciroze jetre i karakteriše je neuravnoteženost metaboličke aktivnosti kosti usled snižene osteoblastne aktivnosti što progresivno dovodi do smanjenja koštane mase.
4. Kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre je dominantno smanjenje formiranja kosti
5. Pogoršanjem disfunkcije jetre kod ovih bolesnika dolazi do smanjenja inicijalno niskog nivoa osteokalcina kao biohemijskog markera formiranja kosti
6. Pogoršanjem disfunkcije jetre kod ovih bolesnika dolazi do povećanja inicijalno normalnog nivoa CrossLapsa kao biohemijskog markera razgradnje kosti
7. Povećanje razgradnje kosti koje postoji u najtežim oblicima alkoholne ciroze jetre je na relativno niskom nivou aktivnosti
8. Kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre i deficijencijom vitamina D sekundarni hiperparatireoidizam je prisutan kod malog broja bolesnika
9. Parathormon se ne može smatrati značajnim činiocem koji utiče na razvoj hepatičke osteodistrofije kod alkoholne ciroze jetre.
10. Nisu dokazane promene parathormona u odnosu na stepen disfunkcije jetre
11. Smanjenje koštane mase u okviru hepatičke osteodistrofije prisutno je kod značajnog broja bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre

12. Najniže vrednosti mineralne gustine kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre kod kojih su prisutne osteopenija i osteoporoza konstatuju se na regiji vrata femura
13. Kod ispitivanih bolesnika koji ne ispunjavaju dijagnostičke kriterijume za osteopeniju i osteoporozu, najniže vrednosti mineralne gustine kosti konstatuju se takođe na regiji vrata femura
14. Suplementacija sa 1000 IU vitamina D na dan dovodi do značajnog povećanja nivoa 25(OH)D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre
15. Najveći porast 25(OH)D konstatuje se kod bolesnika sa inicijalno najnižim nivoom 25(OH)D
16. Poboljšanje statusa vitamina D dovodi do poboljšanja funkcije jetre. Sa porastom nivoa vitamina D dolazi do opadanja Child-Pugh skora.
17. Poboljšanje statusa vitamina D dovodi do promene režima metaboličke aktivnosti kosti kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre
18. Poboljšanje statusa vitamina D dovodi do signifikantnog povećanja osteokalcina kao markera formiranja kosti, iako postignute vrednosti ostaju ispod donje granice normale
19. Poboljšanje statusa vitamina D dovodi do smanjenja CrossLapsa kao markera razgradnje kosti, ali postignute vrednosti ostaju u okviru granica normale, a smanjenje nivoa CrossLapsa nije statistički signifikantno
20. Nakon jednogodišnje suplementacije vitaminom D i poboljšanja statusa vitamina D konstatuje se poboljšanje mineralne gustine kosti na lumbalnoj kičmi.
21. Na vratu femura i kuku gde je konstatovana inicijalno niža mineralna gustina kosti, došlo je do njenog daljeg smanjenja, uprkos poboljšanom statusu vitamina D
22. Obzirom na brojne dokazane pozitivne efekte vitamina D neophodno je njegovo određivanje kod svih bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre
23. Preporučuje se suplementacija vitaminom D kod svih bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre koji imaju nivo 25(OH)D < 80 nmol/l
24. Tokom suplementacije vitaminom D kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre potrebne su tromesečne kontrole nivoa vitamina D i individualizacija doze suplementacije nakon postizanja optimalnog nivoa 25(OH)D
25. Promene u metabolizmu kosti detektuju se već tokom prva tri meseca suplementacije, te se i za njihovo praćenje preporučuje tromesečni ritam kontrola
26. Promene u koštanoj masi odvijaju se sporije, te se može preporučiti sledeće:
 - neophodno je inicijalno određivanje mineralne gustine kosti kod postavljanja dijagnoze alkoholne ciroze jetre.
 - kod sprovođenja suplementacije vitaminom D nakon inicijalnog DXA pregleda sledeći se preporučuje nakon jedne do dve godine.

7. LITERATURA

- [1] Collier J. Bone Disorders in Chronic Liver Disease. *Hepatology* 2007; 46:1271-1278.
- [2] Guanabens N, Pares A. Liver and bone. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2010; 503:84-94.
- [3] Ćurić N. 2005. Patofiziološki aspekti metabolizma kosti u hipertireoidizmu. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet. Univerzitet u Novom Sadu.
- [4] Caetano-Lopes J, Canhao H, Fonseca JE. Osteoblast and bone formation. *Acta Reum Port* 2007; 32:103-110.
- [5] Schaffler MB, Kennedy OD. Osteocyte Signaling in Bone. *Curr Osteoporos Rep* 2012; 10:118-125.
- [6] Boyce BF, Rosenberg E, de Papp AE, Duong LT. The osteoclasts, bone remodelling and treatment of metabolic bone disease. *Eur J Clin Invest* 2012; 42(12):1332-1341.
- [7] Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006; 203:2673-2687.
- [8] WHO. Prevention and management of osteoporosis. Report of a WHO scientific group (WHO, Geneva, 2003)
- [9] Rouillard S, Lane NE. Hepatic Osteodystrophy. *Hepatology* 2001; 33(1):301-307.
- [10] Szulc P, Arlot M, Chapuy MC, Duboeuf F, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undecarboxylated osteocalcin correlates with hip bone mineral density in elderly women. *J Bone Miner Res* 1994; 9:1591-1595.
- [11] Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 1993; 91:1769-1774.
- [12] Čepelak I, Čvorišćec D. Biokemijski biljezi pregradnje kostiju – pregled. *Biochemia Medica* 2009; 19(1):17-35.
- [13] Marcus M, Vrkić N, Getaldić-Švarc B. Analitička procjena komercijalnog teksta za određivanje koncentracije P1NP. *Biochemia Medica* 2006; 16(2):178-90.
- [14] Kovacev-Zavisc B, Icin T, Novakovic-Paro J, Medic-Stojanoska M, Mitrovic M, Tomic-Nagic D, Bajkin I, Curic N, Dolga M, Kovacev N. Biochemical bone markers as predictors of excessive bone turnover suppression during osteoporosis treatment with bisphosphonates. *J Mol Biomark Diagn* 2013; <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9929.S10-001>
- [15] Leslie WD, Bernstein CN, Leboff MS. AGA Technical Review on Osteoporosis in Hepatic Disorders. *Gastroenterology* 2003; 125:941-966.
- [16] WHO. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of WHO Study Group. World Health Organization technical report series, 1994; 843:1-129.
- [17] Binkley N, Bilezikian JP, Kendler DL, Leib ES, Lewiecki EM, Petak SM. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2005 Position Development Conference. *J Clin Densitom* 2006; 9(1):4-14.
- [18] Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94:646-50.
- [19] Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry. *JAMA* 2002; 288(15):1889-1897.
- [20] Baddoura R, Awada H, Okais J, Salamoun M, Ayoub G, Ziadé N, El Hajj-Fuleihan G. An audit of bone densitometry practice with reference to ISCD, IOF and NOF guidelines. *Osteoporos Int* 2006; 17:1111-5.
- [21] Crawford BA, Kam C, Donaghy AJ, McCaughan GW. The heterogeneity of bone disease in cirrhosis: a multivariate analysis. *Osteoporosis Int* 2003; 14: 987-994.
- [22] Walker-Bone K. Recognizing and treating secondary osteoporosis. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8:480-492.
- [23] Watts NB, Adler RA, Bilezikian JP, Drake MT, Eastell RE, Orwoll ES, Finkelstein JS. Osteoporosis in Men: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1802-1822.
- [24] Chakkalakal D. 2005. Alcohol-induced bone loss and deficient bone repair. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29(12):2077-2090.

- [25] Valdecasas-Campelo EG, Gonzales-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, De la Vega-Prieto MJ, Milena-Abril A, Sanchez-Perez MJ, Martinez-Riera A, De los Ageles Gomez-Rodriguez M. Serum osteoprotegerin and RANKL levels in chronic alcoholic liver disease. *Alcohol and Alcoholism* 2006; 41(3):261-266.
- [26] Nachbandi I., Van der Merwe S.W. Current understanding of osteoporosis associated with liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6:660-670.
- [27] Maurel DB, Boisseau N, Benhamou CL, Jaffre C. Alcohol and bone: review of dose effects and mechanisms. *Osteoporos Int* 2012; 23:1-16.
- [28] Shankar K, Liu X, Singhal R, Chen JR, Nagarajan S, Badger T, Ronis M. Chronic Ethanol Consumption Leads to Disruption of Vitamin D3 Homeostasis Associated with Induction of Renal 1,25 Dihydroxyvitamin D3-24-Hydroxylase (CYP24A1). *Endocrinology* 2008; 149(4):1748-1756.
- [29] Turner RT. Skeletal Response to Alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24(11):1693-1701.
- [30] Malik P, Gasser RW, Kemmler G, Moncayo R, Finkenstedt G, Kirz M, Fleischhacker WW. Low Bone Mineral density and Impaired Bone Metabolism in Young Alcoholic Patients Without Liver Cirrhosis: A Cross-Sectional Study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2009; 33(2):375-381.
- [31] Diamond T, Stiel D, Lunzer M, Wilkinson M, Posen S. Ethanol reduces bone formation and may cause osteoporosis. *Am J Med* 1989; 86:282-288.
- [32] Peris P, Pares A, Guanabes N, Del Rio L, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Monegal A, Caballeira J, Rodes J, Munoz-Gomez J. Bone mass improves in alcoholics after 2 years of abstinence. *J Bone Miner Res* 1994; 9:1607-1612.
- [33] Alvisa-Negrin J, Gonzalez-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, Garcia-Valdecasas-Campelo E, Aleman-Valls MR, Pelazas-Gonzalez R et al. Osteopenia in alcoholics: effect of alcohol abstinence. *Alcohol Alcohol* 2009; 44:468-475.
- [34] Gonzalez-Reimers E, Alvisa-Negrin J, Santolaria-Fernandez F, Ros-Vilamajo R, Martin-Gonzalez MC, Hernandez-Betancor I, Garcia-Valdecasas-Campelo E, Gonzalez-Diaz A. Prognosis of osteopenia in chronic alcoholics. *Alcohol* 2011; 45:227-238.
- [35] Santolaria F, Gonzalez-Reimers E, Perez-Manzano JL, Milena A, Gomez Rodriguez MA, Gonzalez-Diaz A, de la Vega M, Martinez-Riera A. Osteopenia assessed by body composition analysis is related to malnutrition in alcoholic patients. *Alcohol* 2000; 22:147-157.
- [36] Gonzalez-Reimers E, Alvisa-Negrin J, Santolaria-Fernandez F, Martin-Gonzalez MC, Hernandez-Betancor I, Fernandez-Rodriguez CM, Vina-Rodriguez J, Gonzalez-Diaz A. Vitamin D and Nutritional Status are Related to Bone Fractures in Alcoholics. *Alcohol and Alcoholism* 2011; 46(2):148-155.
- [37] Mi Jin Kim, Myung Suk Shim, Moon Kyu Kim, Yeon Lee, Young Goo Shin, Choon Hee Chung, Sang Ok Kwon. Effect of Chronic Alcohol Ingestion on Bone Mineral Density in Males without Liver Cirrhosis. *The Korean Journal of Internal Medicine* 2003; 18:174-180.
- [38] Tucker KL, Jugdaohsingh R, Powell JJ, Qiao N, Hannan MT, Sripanyakorn S, Cupples A, Kiel DP. Effects of beer, wine and liquor intakes on bone mineral density in older men and women. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1188-1196.
- [39] Macdonald HM. Alcohol and recommendations for bone health: should we still exercise caution? *Am J Clin Nutr* 2009; 89:999-1000.
- [40] Park BJ, Lee YJ, Lee HR. Chronic liver inflammation: Clinical implications beyond alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20(9):2168-2175.
- [41] Gao B, Bataller R. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and New Therapeutic Targets. *Gastroenterology* 2011; 141:1572-1585.
- [42] Diez Ruiz A, Santos Perez JL, Lopez Martinez G, Calvin J, Gil Extremera B, Gutierrez Gea F. Tumour necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 in alcoholic cirrhosis. *Alcohol and Alcoholism* 1993; 28(3):319-323.
- [43] Lemmers A, Moreno C, Gustot T, Marechal R, Degre D, Demetter P, et al. The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 49:646-657.
- [44] Mikosch P. Alcohol and bone. *Wien Med Wochenschr* 2014; 164:15-24.
- [45] Fabrega E, Orive A., Garcia-Suarez C., Garcia-Unzueta M., Amado JA., Pons-Romero F. Osteoprotegerin and RANKL in alcoholic liver cirrhosis. *Liver Int* 2005; 25:305-310.
- [46] Giljević, Zlatko (2008) Značenje stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH) na koštanu masu u štakorskom modelu osteoporoze i u bolesnika sa smanjenom mineralnom gustoćom kosti. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu. STR 13-36.

- [47] George J, Ganesh HK, Acharya S, et al. Bone mineral density and disorders of mineral metabolism in chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15(28):3516-3522.
- [48] DiCecco SR, Francisco-Ziller N. Nutrition in Alcoholic Liver Disease. *Nutrition in Clinical Practice* 2006; 21:245-254.
- [49] Mahmoudi A, Sellier N, Reboul-Marty J, Chales G, Lalatonne Y, Bourcier V, et al. Bone mineral density assessed by dual-energy X-ray absorptiometry in patients with viral or alcoholic compensated cirrhosis. A prospective study. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2011; 35:731-737.
- [50] Collier JD, Ninkovic M, Compston JE. Guidelines on the management of osteoporosis associated with chronic liver disease. *Gut* 2002; 1(50):1-9.
- [51] American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association medical position statement: osteoporosis in hepatic disorders. *Gastroenterology* 2003; 125:937-940.
- [52] Recommandations professionnelles: surveillance des malades atteints de cirrhose non compliquée et prévention primaire des complications. Haute Autorité de santé; sep 2007.
- [53] Naumović N. Fiziološki značaj vitamina D. *Med Pregl* 2010; LXIII(5-6): 301-304.
- [54] Holick MF, Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266-281.
- [55] Tangpricha V, Koutkia P, Rieke SM, Chen TC, Perez AA, Holick MF. Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1478-1483.
- [56] Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease. *Journal of Hepatology* 2012; 57:897-909.
- [57] Christakos S, Dhawan P, Benn B, Porta A, Hediger M, Oh G.T, Jeung E-B, Zhong Y, Ajibade D, Dhawan K, Joshi S. Vitamin D, Molecular Mechanism of Action. *Ann N.Y. Acad Sci* 2007; 1116:340-348.
- [58] Ebert R, Schutze N, Adamski J, Jakob F. Vitamin D signaling is modulated on multiple levels in health and disease. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2006; 248:149-159.
- [59] Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5(4):513-520.
- [60] Artech J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in Chronic Liver Disease. *Dig Dis Sci* 2010; 55:2624-2628.
- [61] Holick MF. Vitamin D: Evolutionary, Physiological and Health Perspectives. *Current Drug Targets* 2011; 12:4-18.
- [62] Pappa H.M, Bern E, Kamin D, Grand R. Vitamin D status in gastrointestinal and liver disease. *Current Opinion in Gastroenterology* 2008; 24:176-183.
- [63] Van Driel M, van Leeuwen JPTM. Vitamin D endocrine system and osteoblasts. *BoneKey Reports* 3, Article number: 493 (2014), doi:10.1038/bonekey.2013.227
- [64] Lisse TS, Chun RF, Rieger S, Adams JS, Hewison M. Vitamin D activation of functionally distinct regulatory miRNAs in primary human osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2013; 28:1478-1488.
- [65] Lian JB, Stein GS, van Wijnen AJ, Stein JL, Hassan MQ, Gaur T et al. MicroRNA control of bone formation and homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:212-227.
- [66] Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocrine Rev* 2001; 22:477-501.
- [67] Lips P, Pluijm SMF, Smit JH, van Schoor NM. Vitamin D status and the threshold for secondary hyperparathyroidism in the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *Bone* 2005; 36 (suppl):s141.
- [68] Boonen S, Bischoff-Ferrari HA, Cooper C et al. Addressing the musculoskeletal components of fracture risk with calcium and vitamin D: a review of the evidence. *Calcif Tissue Int* 2006; 78:257-270.
- [69] Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxyvitamin D levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *The Am J Med* 2004; 116:634-639.
- [70] Sahota O, Munday MK, San P, Godber IM, Hosking DJ. Vitamin D insufficiency and the blunted PTH response in established osteoporosis: the role of magnesium deficiency. *Osteoporos Int* 2006; 17:1013-1021.
- [71] Plotnikoff GA, Quigley JM. Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. *Mayo Clin Proc* 2003; 78:1463-1470.
- [72] Heaney RP. Vitamin D in Health and Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3:1535-1541.
- [73] Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res* 2000; 87:214-220.

- [74] Cantorna MT, Mahon BD. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229:1136-1142.
- [75] Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26:662-687.
- [76] Bishoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willet W, Staehlin H, Bazemore M, Zee R, Wong J. Fall prevention by vitamin D treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Med Assoc* 2004; 291:1999-2006.
- [77] Bishoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Zhang Y, Karlson EW, Dawson-Hughes B. Higher 25-hydroxyvitamin D levels are associated with better lower extremity function in both active and inactive adults ≥ 60 years of age. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:752-758.
- [78] Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, Shoenfeld Y, Lerchbaum E, Llewellyn DJ, Kienreich K, Soni M. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews* 2013; (12):976-989.
- [79] Li YC. Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. *J Cell Biochem* 2003; 88:327-321.
- [80] Zitterman A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92:39-48.
- [81] Chiu KC, Chu A, Go VLW, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:820-825.
- [82] Liu PT, Stenger S, Li H, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311:1770-1773.
- [83] Samuel S, Sitrin M. Vitamin D role in cell proliferation and differentiation. *Nutrition Reviews* 2008; 66(2):116-124.
- [84] Diaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D3 and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res.* 2000; 60:2304-2312.
- [85] Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovannucci E, Wei M, Holick MF. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97:179-94.
- [86] Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, Hollis BW, Fuchs CS, Stampfer MJ, Willett WC. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:451-459.
- [87] Munger KL, Zhang SM, O Reilly E, Hernan MA, Olek MJ, Willett WC, Ascherio A. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 62(1):60-65.
- [88] Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Womens Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50:72-77.
- [89] Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SV. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358:1500-1503.
- [90] Pappa HM, Gordon CM, Saslowsky TM, Zholudev A, Horr B, Shih MC, Grand RJ. Vitamin D status in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Pediatrics* 2006; 118:1950-1961.
- [91] Tajika M, Matsuura A, Nakamura T, Suzuki T, Sawaki A, Kato T, Hara K, Ookubo K, Yamao K, Kato M, Muto Y. Risk factors for vitamin D deficiency in patients with Crohns disease. *J Gastroenterol* 2004; 39:527-533.
- [92] Crews M, Lally J, Gardner-Sood P, Howes O, Bonaccorso S, Smith S, Murray RM, Di Forti M, Gaughran F. Vitamin D deficiency in first episode psychosis. A case-control study. *Schizophrenia Research* 2013; 150(2):533-537.
- [93] Mersch PP, Middendorp HM, Bouhuys AL, Beersma DG, van den Hoofdakker RH. Seasonal affective disorder and latitude: a review of the literature. *J Affect Disord* 1999; 53:35-48.
- [94] Black PN, Scragg R. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and pulmonary function in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Chest* 2005; 128:3792-3798.
- [95] Lips P. Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2004; 89-90:611-614.
- [96] Vieth R. What is the optimal vitamin D status for health? *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2006; 92:26-32.

- [97] Holick MF, Binkley N, Bischoff-Ferrari H, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad H, Weaver CM. The endocrine society's clinical guidelines. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011; 96(7): 1911-1930.
- [98] Miroliaee A, Nasiri-Toosi M, Khalilzadeh O, Esteghamati A, Abdollahi A, Mazloumi M. Disturbances of parathyroid hormone–vitamin D axis in non-cholestatic chronic liver disease: a cross-sectional study. *Hepatol Int* 2010; 4:634–640.
- [99] Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporosis Int* 2005; 16:713-716
- [100] Rosen CJ. Vitamin D Insufficiency. *N Engl J Med* 2011; 364:248-254.
- [101] Ginde AA, Liu MC, Camargo CA Jr. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. *Arch Intern Med* 2009; 169:626-32.
- [102] Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr* 2003; 22:142-146.
- [103] IOM (Institute of Medicine) Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: Institute of Medicine, 2011 (<http://www.iom.edu/vitaminD>.)
- [104] DRI (Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D), Report Brief november 2010, Revised March 2011. (<http://www.iom.edu/vitaminD>.)
- [105] Vieth R. Why the optimal requirement for vitamin D₃ is probably much higher than what is officially recommend for adults. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90:575-579.
- [106] Wagonfeld JB, Nemchausky BA, Bolt M, Horst JV, Boyer JL, Rosenberg IH. Comparison of vitamin D and 25-hydroxy-vitamin-D in the therapy of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1976; 2(7982):391-394.
- [107] Long RG, Varghese Z, Meinhard EA, Skinner RK, Wills MR, Sherlock S. Parenteral 1,25-dihydroxycholecalciferol in hepatic osteomalacia. *Br Med J* 1978; 1(6105):75-77.
- [108] Compston JE, Horton LW, Thompson RP. Treatment of osteomalacia associated with primary biliary cirrhosis with parenteral vitamin D₂ or oral 25-hydroxyvitamin D₃. *Gut* 1979; 20(2):133-6.
- [109] Compston JE, Crowe JP, Wells IP, Horton LW, Hirst D, Merrett AL, Woodhead JS, Williams R. Vitamin D prophylaxis and osteomalacia in chronic cholestatic liver disease. *Dig Dis Sci* 1980; 25(1):28-32.
- [110] Kaplan MM, Goldberg MJ, Matloff DS, Neer RM, Goodman DB. Effect of 25-hydroxyvitamin D₃ on vitamin D metabolites in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1981; 81(4):681-685.
- [111] Herlong HF, Recker RR, Maddrey WC. Bone disease in primary biliary cirrhosis: histologic features and response to 25-hydroxyvitamin D. *Gastroenterology* 1982; 83(1):103-8.
- [112] Matloff DS, Kaplan MM, Neer RM, Goldberg MT, Bitman W, Wolfe HJ. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis: effects of 25-hydroxyvitamin D treatment. *Gastroenterology* 1982; 83:97-102.
- [113] Davies M, Mawer EB, Klass HJ, Lumb GA, Berry JL, Warnes TW. Vitamin D deficiency, osteomalacia, and primary biliary cirrhosis. Response to orally administered vitamin D₃. *Dig Dis Sci* 1983; 28(2):145-53.
- [114] Floreani A, Zappala F, Fries W, Naccarato R, Plebani M, D'Angelo A, Chiaramonte M. A 3-year pilot study with 1,25-dihydroxyvitamin D, calcium, and calcitonin for severe osteodystrophy in primary biliary cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 1997; 24(4):239-244.
- [115] Levy S, Lindor KD. Management of osteoporosis, fat-soluble vitamin deficiencies, and hyperlipidemia in primary biliary cirrhosis. *Clinics in Liver Disease* 2003; 7(4):901-910.
- [116] Lundy B, Sørensen OH, Hilden M, Lund B. The Hepatic Conversion of Vitamin D in Alcoholics with Varying Degrees of Liver Affection. *Acta Medica Scandinavica* 1977; 202(1-6):221-224.
- [117] Mobarhan SA, Russell RM, Recker RR, Posner DB, Iber FL, Miller P. Metabolic bone disease in alcoholic cirrhosis: a comparison of the effect of vitamin D, 25-hydroxyvitamin D, or supportive treatment. *Hepatology* 1984; 4(2):266-273.
- [118] Lalor BC, France MW, Powell D, Adams PH, Counihan TB. Bone and Mineral Metabolism and Chronic Alcohol Abuse. *An International Journal of Medicine* 1986; 59(2):497-511.
- [119] Diamond T, Stiel D, Mason R, Lissner D, Bikle D, Wilson S, Posen S. Serum vitamin D metabolites are not responsible for low turnover osteoporosis in chronic liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69(6):1234-1239.
- [120] Gonzalez-Calvin JL, Garcia-Sanchez A, Bellot V, Munoz-Torres M, Raya-Alvarez E, Salvatierra-Rios D. Mineral metabolism, osteoblastic function and bone mass in chronic alcoholism. *Alcohol and Alcoholism* 1993; 28(5):571-579.

- [121] Lim LY, Chalasani N. Vitamin D Deficiency in Patients with Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14:67-73.
- [122] Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney RP. Risk assesment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:6-18.
- [123] Stokes C, Volmer D, Grunhage F, Lammert F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int* 2013; 33(3):338-352.
- [124] Malham M, Jørgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol* 2011; 17:922–925.
- [125] Cheng JB, Motola DL, Mangelsdorf DJ, Russell DW. De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(39):38084–93.
- [126] Strushkevich N, Usanov SA, Plotnikov AN, Jones G, Park HW. Structural analysis of CYP2R1 in complex with vitamin D₃. *Journal of Molecular Biology* 2008; 380(1):95–106.
- [127] Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* 2010; 376(9736):180–188.
- [128] Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, et al. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV–HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol* 2011; 55:756–761.
- [129] Petta S, Camma C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 51:1158-1167.
- [130] Bitetto D, Fattovich G, Fabris C, Ceriani E, Falletti E, Fornasiere E, et al. Complementary role of Vitamin D deficiency and the Interleukin-28B rs12979860 C/T polymorphism in predicting antiviral response in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 53:1118-1126.
- [131] Stein EM, Strain G, Sinha N, Ortiz D, Pomp A, Dakin G, et al. Vitamin D insufficiency prior to bariatric surgery: risk factors and a pilot treatment study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 71:176–183.
- [132] Hyppönen E, Boucher BJ, Berry DJ, Power C. 25-hydroxy vitamin D, IGF-1, and metabolic syndrome at 45 years of age: a cross-sectional study in the 1958 British Birth Cohort. *Diabetes* 2008; 57:298–305.
- [133] Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, Arcaro G. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D₃ concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17(7):517-524.
- [134] Jablonski KL, Jovanovich A, Holmen J, Targher G, McFann K, Kendrick J, Chonchol M. Low 25-hydroxyvitamin D level is independently associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; (23):792-798.
- [135] Zuniga S, Firrincieli D, Housset C, Chignard N. Vitamin D and the vitamin D receptor in liver pathophysiology. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 2011; 35:295-302.
- [136] Nemere I, Safford SE, Rohe B, DeSouza MM, Farach-Carson MC. Identification and characterization of 1,25D₃-membrane-associated rapid response, steroid (1,25D₃MARRS) binding protein. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89(90):281-285.
- [137] Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Kikuchi K, Shibuya A, Miyakawa H, et al. Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol* 2009; 50:1202-1209.
- [138] Fan L, Tu X, Zhu Y, Zhou L, Pfeiffer T, Feltens R, et al. Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in the Chinese. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20:249-255.
- [139] Halmos B, Szalay F, Cserniczky T, Nemesanszky E, Lakatos P, Barlage S, et al. Association of primary biliary cirrhosis with vitamin D receptor BsmI genotype polymorphism in a Hungarian population. *Dig Dis Sci* 2000; 45:1091-1095.
- [140] Vogel A, Strassburg CP, Manns MP. Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002; 35:126-131.
- [141] Springer JE, Cole DE, Rubin LA, Cauch-Dudek K, Harewood L, Evrovski J, et al. Vitamin D-receptor genotypes as independent genetic predictors of decreased bone mineral density in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2000; 118:145-151.
- [142] Shen L. Vitamin D controls T cell activation: implication for causal association between vitamin D deficiency and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 52:1864.
- [143] Arababadi MK, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, Hassanshahi G, Rezvani ME. Association of exon 9 but not intron 8 VDR polymorphisms with occult HBV infection in south-eastern Iranian patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25:90-93.

- [144] Huang YW, Liao YT, Chen W, Chen CL, Hu JT, Liu CJ, et al. VDR receptor gene polymorphisms and distinct clinical phenotypes of hepatitis B carriers in Taiwan. *Genes Immun* 2010; 11:87-93.
- [145] Falletti E, Bitteto D, Fabris C, Cussigh A, Fontanini E, Fornasiere E, et al. VDR-receptor gene polymorphisms and hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16:3016-3024.
- [146] Seubwai W, Wongkham C, Puapairoj A, Khuntikeo N, Wongkham S. Overexpression of vitamin D receptor indicates a good prognosis for cholangiocarcinoma: implications for therapeutics. *Cancer* 2007; 109:2497-2505.
- [147] D'Aldebert E, Biyeyeme Bi Mve MJ, Mergey M, Wendum D, Firrincieli D, Coilly A, et al. Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. *Gastroenterology* 2009; 136:1435-1443.
- [148] Han S, Li T, Ellis E, Strom S, Chiang JY. A novel bile acid activated vitamin D receptor signaling in human hepatocytes. *Mol Endocrinol* 2010; 24:1151-1164.
- [149] Honjo Y, Sasaki S, Kobayashi Y, Misawa H, Nakamura H. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its receptor inhibit the chenodeoxycholic acid-dependent transactivation by farnesoid X receptor. *J Endocrinol* 2006; 188:635-643.
- [150] Trepo E, Ouziel R, Pradat P, Momozawa Y, Quertinmont E, Gervy C, et al. Marked 25-hydroxyvitamin D deficiency is associated with poor prognosis in patients with alcoholic liver disease. *Journal of Hepatology* 2013; 59:344-350.
- [151] Putz-Bankuti C, Pilz S, Stojakovic T, Scharnagl H, Pieber TR, Trauner M, Obermayer-Pietsch B, Stauber RE. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver Int* 2012; 32(5):845-851.
- [152] Rode A, Furlanos S, Nicoll A. Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 2010; 34:618-620.
- [153] Bitteto D, Fabris C, Fornasiere E, Pipan C, Fumolo E, Cussigh A, et al. Vitamin D supplementation improves response to antiviral treatment for recurrent hepatitis C. *Transplant International* 2011; 24(1):43-50.
- [154] Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, Zeina AR, Assy N. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naive patients. *World J Gastroenterol* 2011; 17(47):5184-5190.
- [155] Nime A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naive patients. *World J Gastroenterol* 2012; 18(8): 800-805.
- [156] Nagpal J, Pande JN, Bhartia A. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D₃ supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men. *Diabet Med* 2009; 26:19-27.
- [157] von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient – a randomised, placebocontrolled trial. *Br J Nutr* 2010; 103:549-555.
- [158] Malham M, Jorgensen SP, Lauridsen AL, Ott P, Glerup H, Dahlerup JF. The effect of a single oral megadose of vitamin D provided as either ergocalciferol (D₂) or cholecalciferol (D₃) in alcoholic liver cirrhosis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2012; 24(2):172-178.
- [159] Monegal A, Navasa M, Guanabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Rimola A, Rodes J, Monoz-Gomez J. Osteoporosis and bone mineral metabolism disorders in cirrhotic patients referred for orthotopic liver transplantation. *Calcif Tissue Int* 1997; 60 (2):148-154.
- [160] Radović J, Marković D, Veličkov A, Đorđević B, Stojnev S. Imunomodulatorno dejstvo vitamina D. *Acta Medica Medianae* 2012;51(4):58-64.
- [161] Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Heraberg S, Meuhier PJ. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in an Adult Normal Population. *Osteoporos Int* 1997; 7:439-443.
- [162] Lips P, van Ginkel FC, Jongen MJM, Rubertus A, van der Vijgh WJF, Netelenbos JC. Determinants of vitamin D status in patients with hip fracture and elderly control subjects. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:1005-1010.
- [163] Lips P, Wiersinga A, van Ginkel FC, Jongen MJM, Netelenbos JC, Hackeng WHL, Delmas PD, van der Vijgh WJF. The effect of vitamin D supplementation on vitamin D status and parathyroid function in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:644-650.
- [164] Ooms ME, Lips P, Roos JC, van der Vijgh WJF, Popp-Snijders C, Bezemer PD, Bouter LM. Vitamin D status and sex hormone binding globulin: determinants of bone turnover and bone mineral density in elderly women. *J Bone Miner Res* 1995; 10:1177-1184.

- [165] Crilly RG, Anderson C, Hogan D, Delaquerrière-Richardson L. Bone histomorphometry, bone mass, and related parameters in alcoholic males. *Calcif Tissue Int* 1988; 43(5):269-276.
- [166] Santori C, Ceccanti M, Diacinti D, Attilia ML, Toppo L, D'Erasmo E, Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Prastaro A, Carnevale V, Minisola S. Skeletal turnover, bone mineral density, and fractures in male chronic abusers of alcohol. *J Endocrinol Invest* 2008; 31(4):321-326.
- [167] Preedy VR, Sherwood RA, Akpoguma CI, Black D. The urinary excretion of the collagen degradation markers pyridinoline and deoxypyridinoline in an experimental rat model of alcoholic bone disease. *Alcohol Alcohol* 1991; 26(2):191-198.
- [168] Dai J, Lin D, Zhang J, Habib P, Smith P, Murtha J, Fu Z, Yao Z, Qi Y, Keller ET. Chronic alcohol ingestion induces osteoclastogenesis and bone loss through IL-6 in mice. *J Clin Invest* 2000; 106:887-895.
- [169] González-Reimers E, Martín-González C, de la Vega-Prieto MJ, Pelazas-González R, Fernández-Rodríguez C, López-Prieto J, Alvisa-Negrín J, Santolaria-Fernández F. Serum Sclerostin in Alcoholics: A Pilot Study. *Alcohol and Alcoholism* pp. 1-5, 2013 doi: 10.1093/alcac/ags136
- [170] Giouleme OI, Vyzantiadis TA, Nikolaidis NL, Vasiliadis TG, Papageorgiou AA, Eugenidis NP, Harsoulis FI. Pathogenesis of osteoporosis in liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2006; 53(72):938-943.
- [171] Pietschmann P, Resch H, Muller C, Woloszczuk W, Willvonseder R. Decreased serum osteocalcin levels in patients with liver cirrhosis. *Bone and Mineral* 1990; 8:103-108.
- [172] Zitterman A. Effects of vitamin K on calcium and bone metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4(6):483-7.
- [173] Weber P. Vitamin K and bone health. *Nutrition* 2001; 17(10):880-887.
- [174] Turner RT, Sibonga JD. Effects of Alcohol Use and Estrogen on Bone. <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh25-4/276-281.htm>, maj 2014.
- [175] Chung KW. Effects of chronic ethanol intake on aromatization of androgens and concentration of estrogen and androgen receptors in rat liver. *Toxicology* 1990; 62(3):285-95.
- [176] Sahota O, Munday MK, San P, Godber IM, Lawson N, Hosking DJ. The relationship between vitamin D and parathyroid hormone: calcium homeostasis, bone turnover, and bone mineral density in postmenopausal women with established osteoporosis. *Bone* 2004; 35(1):312-9.
- [177] Lopez-Larramona G, Lucendo AJ, Gonzales-Delgado L. Alcoholic liver disease and changes in bone mineral density. *Rev Esp Enferm Dig* 2013; 105(10):609-621.
- [178] Sokhi RP, Anantharaju A, Kondaveeti R, Creech SD, Islam KK, van Thiel D. Bone mineral density among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl* 2004; 10:648-53.
- [179] Loria I, Albanese C, Giusto M, Galtieri PA, Giannelli V, Lucidi C, et al. Bone disorders in patients with chronic liver disease awaiting liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42:1191-3.
- [180] Alcalde-Vargas A, Pascasio-Acevedo JM, Gutiérrez-Domingo I, García-Jiménez R, Sousa-Martín JM, Ferrer-Ríos MT, et al. Prevalence and characteristics of bone disease in cirrhotic patients under evaluation for liver transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44:1496-8.
- [181] Carey EJ, Balan V, Kremers WK, Hay JE. Osteopenia and osteoporosis in patients with end-stage liver disease caused by hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transpl* 2003; 9(11):1166-1173
- [182] www.shef.ac.uk/FRAX/tool.jsp
- [183] Ninkovic M, Skingle SJ, Bearcroft PWP, Bishop N, Alexander GJM, Compston JE. Incidence of vertebral fracture in the first three months following orthotopic liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12:931-935.
- [184] Guichelaar MM, Kendall R, Malinchoc M, et al. Bone mineral density before and after OLT: long-term follow-up and predictive factors. *Liver Transpl* 2006; 12:1390-1402.
- [185] Diez-Ruiz A, Garcia-Saura P, Garcia-Ruiz P, Gonzales-Calvin J, Gallego-Rojo F, Fuchs D. Bone mineral density, bone turnover markers and cytokines in alcohol-induced cirrhosis. *Alcohol and Alcoholism* 2010; 45(5):427-430.
- [186] Chappard D, Plantard B, Petitjean M, Alexandre C, Riffat G. Alcoholic Cirrhosis and Osteoporosis in Men: A Light and Scanning Electron Microscopy Study. *J Stud Alcohol* 1991; 52:269-274.
- [187] Peris P, Pares A, Guanabens N, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Caballeira J, Rodes J, Munoz-Gomez J. Reduced spinal and femoral bone mass and deranged bone mineral metabolism in chronic alcoholics. *Alcohol and Alcoholism* 1992; 27(6):619-625.
- [188] Bagur A, Mautalen C, Findor J, Sorda J, Somoza J. Risk factors for the development of vertebral and total skeleton osteoporosis in patients with primary biliary cirrhosis. *Calcif Tissue Int* 1998; 63(5):385-390.

- [189] Chen CC, Wang SS, Jeng FS, Lee SD. Metabolic bone disease of liver cirrhosis: is it parallel to the clinical severity of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11(5):417-421.
- [190] Hogan HA, Sampson HW, Cashier E, Ledoux N. Alcohol consumption by young actively growing rats: a study of cortical bone histomorphometry and mechanical properties. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21(5):809-16.
- [191] Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Fassino V, Mazzei F, D'Erasmus E, et al. Short and long term variations in serum calcitropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (vitamin D2) or cholecalciferol (vitamin D3) in the elderly. *J Clin Metab* 2008; 93:3015-3020.
- [192] Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Whitfield K, Wetterslev J, Simonetti RG, Bjelakovic M, Gluud C. Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jan 10; 1:CD007470. doi: 10.1002/14651858.CD007470.pub3.
- [193] Himmelstein S, Clemens TL, Rubin A, Lindsay R. Vitamin D supplementation in elderly nursing home residents increases 25-OHD but not 1,25(OH)2D. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:701-706.
- [194] Chel VGM, Ooms ME, Popp-Snijders C, Pavel S, Schothorst AA, Meulemans CCE, Lips P. Ultraviolet irradiation corrects vitamin D deficiency and suppresses secondary hyperparathyroidism in the elderly. *J Bone Miner Res* 1998; 13:1238-1242.
- [195] Chel V, Wijnhoven HA, Smit JH, Ooms M, Lips P. Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporos int* 2008; 19(5):663-671.
- [196] Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age and older. *N Engl J Med* 1997; 337:670-676.
- [197] Shiomi S, Masaki K, Habu D, Takeda T, Nishiguchi S, Kuroki T, Ochi H. Calcitriol for bone loss in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol* 1999; 34:241-245.
- [198] Shiomi S, Masaki K, Habu D, Takeda T, Nishiguchi S, Kuroki T, Tanaka T, Ochi H. Calcitriol for bone loss in patients with cirrhosis of the liver. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999; 14:547-552.
- [199] Anderson PH, Sawyer R, Moore AJ, May BK, O'Loughlin PD, Morris HA. Vitamin D depletion induces RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone loss in a rodent model. *Journal of bone and mineral research* 2008;23(11):1789-1797.
- [200] Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA, Harris S, Sokoll LJ, Falconer J. Effect of vitamin D supplementation on wintertime and overall bone loss in healthy postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1991; 115:505-512.
- [201] Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE, Falconer G, Green CL. Rates of bone loss in postmenopausal women randomly assigned to one of two dosages of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:1140-1145.
- [202] Ooms ME, Roos JC, Bezemer PD, van der Vijgh WJF, Bouter LM, Lips P. Prevention of bone loss by vitamin D supplementation in elderly women: a randomized double-blind trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1052-1058.
- [203] Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzet B, Arnaud S, Delmas PD, Meunier PJ. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *N Engl J Med* 1992; 327:1637-1642.
- [204] Adams JS, Kantorovich V, Wu C, Javanbakht M, Hollis BW. Resolution of vitamin D insufficiency in osteopenic patients results in rapid recovery of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2729-2730.
- [205] Graafmans WC, Lips P, Ooms ME, van Leeuwen JPTM, Pols HAP, Uitterlinden AG. The effect of vitamin D supplementation on the bone mineral density of the femoral neck is associated with vitamin D receptor genotype. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1241-1245.
- [206] Savić Ž, Vračarić V, Hadnadev Lj, Petrović Z, Damjanov D. Iskustvo u lečenju nekih komplikacija portne hipertenzije kod alkoholne ciroze jetre. *Vojnosanitetski preglad* 2011; 68(11):903-1006.

8. P R I L O Z I

Prilog broj 1.

INFORMACIJA ZA BOLESNIKE O UČEŠĆU U ISTRAŽIVANJU

Poštovani,

U toku je istraživanje na Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju i na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Vojvodine, u Novom Sadu.

Obzirom da je kod Vas utvrđeno postojanje alkoholne ciroze jetre, postoji mogućnost da imate i smanjenu masu kostiju što bi moglo dovesti do eventualnih spontanih preloma kostiju, ili preloma pri mnogo manjem povređivanju nego kod zdravih osoba, pa Vas molim da pažljivo pročitate sledeći tekst.

Postoje načini da se kod Vas analizom uzorka krvi ustanovi nivo D vitamina i da shodno njegovom nivou počnete da uzimate nadoknadu ovog vitamina lekom u obliku kapi.

Analiza uzorka krvi bila bi rađena i u cilju određivanja stanja aktivnosti vaših kostiju (da li kod Vas postoji smanjeno stvaranje ili povećano razgrađivanje kostiju).

Oba ova vađenja krvi bila bi radjena uporedo sa vađenjem krvi za analize koje ukazuju na funkciju Vaše jetre, a koje ste i inače u tom cilju radili/ili ćete raditi (osim u početku istraživanja) posle tri meseca, šest meseci i godinu dana, uključujući i gastroenterološke kontrole koje se i inače najčešće sprovode u tim terminima.

Ukoliko se Vaša bolest jetre pogorša i iskomplikuje iz bilo kojih drugih razloga, bićete pregledani i/ili primljeni u bolnicu nezavisno od vremena gore navedenih predviđenih pregleda i nezavisno od učešća u ovom istraživanju.

Na početku istraživanja i posle godinu dana od uzimanja preporučene terapije D vitaminom bila bi Vam određena gustina kosti, potpuno bezbolno, postojećim aparatom u Specijalističkoj polikliničkoj endokriološkoj ambulanti.

Na kraju istraživanja videli bismo da li je primena D vitamina kod Vas dovela do poboljšanja stanja Vaših kostiju i da li ćemo Vam i dalje u životu savetovati primenu ovog leka.

Vaše učešće u ovom istraživanju je dobrovoljno, ne nudimo nikakvu materijalnu nadoknadu, a prihvat ćemo i Vašu eventualnu odluku da istupite iz istraživanja u bilo kom periodu. Svi podaci koje dobijemo tokom istraživanja ostaće anonimni, odnosno bez navođenja Vašeg imena i ličnih podataka.

Ispitivanje sprovodi dr Željka Savić, magistar medicinskih nauka, gastroenterolog i hepatolog, zaposlena na Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu.

Sve dodatne informacije možete dobiti od pomenute doktorke.

Istraživač: Dr Željka Savić

Prilog broj 2.

TEKST INFORMATIVNOG PRISTANKA BOLESNIKA

Pročitao sam tekst o svrsi i načinu istraživanja koje se izvodi na Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju i na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Vojvodine, u Novom Sadu.

Detaljno sam razgovarao sa doktorkom koja sprovodi istraživanje i smatram da sam dobio sve podatke koji me zanimaju i mogu da potvrdim sledeće:

Rečeno mi je da je moje učešće dobrovoljno i da odluka o učestvovanju u istraživanju neće imati uticaja na odnos lekara prema meni, niti će remetiti predviđeno lečenje moje bolesti jetre.

Rečeno mi je da se istraživanje radi da bi se ustanovilo stanje mojih kostiju pre i posle uzimanja D vitamina u predviđenom vremenu.

Rečeno mi je da ne očekujem materijalnu, samo eventualnu zdravstvenu korist od istraživanja.

Rečeno mi je će svi dobijeni podaci biti anonimni i da moj identitet neće biti otkriven.

Rečeno mi je da iz istraživanja mogu da istupim dobrovoljno u svakom momentu, bez posledica po moje lečenje.

U potpunosti sam razumeo sve predočene podatke i slažem se da učestvujem u istraživanju

Potpis bolesnika:

Adresa:

Broj telefona: