

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

JOSIPA DOMAZET BUGARIN, dr. med.

**POVEZANOST VITAMINA D I ISHODA LIJEČENJA COVID-19
BOLESNIKA U JEDINICI INTENZIVNOG LIJEČENJA**

DOKTORSKI RAD

Split, 2024.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

JOSIPA DOMAZET BUGARIN, dr. med.

**POVEZANOST VITAMINA D I ISHODA LIJEČENJA COVID-19
BOLESNIKA U JEDINICI INTENZIVNOG LIJEČENJA**

DOKTORSKI RAD

Split, 2024.

Doktorski rad izrađen je na Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje-Jedinica intenzivnog liječenja COVID-19 bolesnika.

Voditelj rada: doc. dr.sc. Lenko Šarić, dr.med.

Hvala mom prijatelju i mentoru doc.dr.sc. Lenku Šariću, dr.med. Ne stane u zahvalu sve što mu želim reći, a i ne smijem jer kaže: “bez emocija se piše”.

Našoj prijateljici i briljantnom umu dr.sc. Svjetlani Došenović, dr.med.

Najveće hvala svim kolegama i prijateljima iz COVID JIL-a kao i onima koji su nesebično ponudili svoju pomoć u teškim trenucima.

Mojoj obitelji, uvijek i na svemu.

POPIS KRATICA

ACE 2 receptor	Angiotenzin-konvertirajući enzim 2 receptor
ALI	<i>Engl. Acute lung injury</i> ; Akutna ozljeda pluća
AST	Aspartat aminotransferaza
ALT	Alanin aminotransferaza
ARDS	<i>Engl. Acute respiratory distress syndrome</i> ; Akutni respiratorni distres sindrom
COVID-19	Koronavirusna bolest 2019
CRP	C-reaktivni protein
CT	Kompjuterizirana tomografija
ECMO	<i>Engl. Extracorporeal membrane oxygenation</i> ; Izvantjelesna membranska oksigenacija
HFNC	<i>Engl. High-flow nasal cannula</i> ; Nosna kanila visokog protoka
IJ	Internacionalna jedinica
JIL	Jedinica intenzivnog liječenja
MERS-CoV	<i>Engl. Middle East respiratory syndrome coronavirus</i> ; Bliskoistočni respiratorni sindrom
NIH	<i>Engl. National Institutes of Health</i> ; Nacionalni institut za zdravlje
NIV	Neinvazivna ventilacija
PCT	Prokalcitonin
RNA	Ribonukleinska kiselina
RT-PCR	<i>Engl. Real-time reverse transcription–polymerase chain reaction</i> ; Lančana reakcija polimeraze u stvarnom vremenu
SARS-CoV-2	<i>Engl. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i> ; Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2
SpO ₂	Zasićenje periferne krvi kisikom
SOFA	<i>Engl. Sequential Organ Failure Assessment</i> ; Ljestvica za procjenu zatajenja organa
UVB	Ultraljubičasto B-zračenje
VDR	Vitamin D receptor
WHO	<i>Engl. World Health Organization</i> ; Svjetska zdravstvena organizacija
1,25(OH) ₂ D	1,25-dihidroksikolekalciferol (kalcitrol)
25(OH)D	25-hidroksikolekalciferol (kalcifediol)

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. KORONAVIRUSI	2
1.1.1. SARS-CoV-2 VIRUS	3
1.2. COVID-19 BOLEST	4
1.2.1. PATOFIZIOLOGIJA COVID-19 BOLESTI.....	4
1.2.2. KLINIČKA SLIKA COVID-19 BOLESTI	8
1.2.3. ČIMBENICI RIZIKA RAZVOJA TEŠKE COVID-19 BOLESTI	9
1.2.4. DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE COVID-19 BOLESTI	11
1.3. VITAMIN D	13
1.3.1. METABOLIZAM VITAMINA D	13
1.3.2. FUNKCIJA VITAMINA D	16
1.3.3. NEDOSTATAK VITAMINA D.....	17
1.3.4. NADOKNADA VITAMINA D.....	18
1.3.5. NEŽELJENI UČINCI VITAMINA D.....	20
1.3.6. VITAMIN D I COVID-19	21
2. CILJEVI RADA I HIPOTEZE	23
3. MATERIJALI I METODE	26
3.1. ISPITANICI.....	27
3.2. INTERVENCIJA	27
3.2.1. RANDOMIZACIJA I ZASLIJEPLJIVANJE.....	28
3.3. ISHODI.....	29
3.4. STATISTIČKA OBRADA I VELIČINA UZORKA	30
3.5. ETIČKO ODOBRENJE.....	31
3.6. STRATEGIJA PRETRAŽIVANJA LITERATURE	31
4. REZULTATI.....	34
4.1. VITAMIN D I TRAJANJE MEHANIČKE RESPIRACIJSKE POTPORE.....	37
4.2. VITAMIN D I SEKUNDARNI ISHODI.....	37
4.3. USPOREDBA BOLESNIKA S NORMALNIM RAZINAMA VITAMINA D	43
4.4. PREGLED LITERATURE O NADOKNADI VITAMINA D U JIL-U	49
5. RASPRAVA	51

5.1.	OGRANIČENJA ISTRAŽIVANJA	58
6.	ZAKLJUČAK	61
7.	SAŽETAK	63
8.	SUMMARY	65
9.	LITERATURA	68
10.	PRILOZI	83
10.1.	Prilog 1	84
10.2.	Prilog 2	85
11.	ŽIVOTOPIS	89

1. UVOD

1.1. KORONAVIRUSI

Koronavirusi su velika skupina RNA virusa koja uzrokuje bolesti kod životinja i ljudi. Mogu uzrokovati respiratorne, crijevne, jetrene ili neurološke simptome s promjenjivom težinom. Ime su dobili na osnovu karakterističnog izgleda poput krune. Imaju najveći genom od svih RNA virusa okružen membranom s glikoproteinskim šiljcima.

Pripadaju obitelji *Coronaviridae* (lat.) i dijele se u četiri podgrupe: alfa (α), beta (β), gama (γ) i delta (δ) (1). Ljudski koronavirusi, otkriveni prvi put 1960.-tih godina kod pacijenata s kliničkom slikom prehlade, pripadaju alfa ili beta skupini (engl. *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* ili MERS-CoV; engl. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* ili SARS-CoV i SARS-CoV-2)(2).

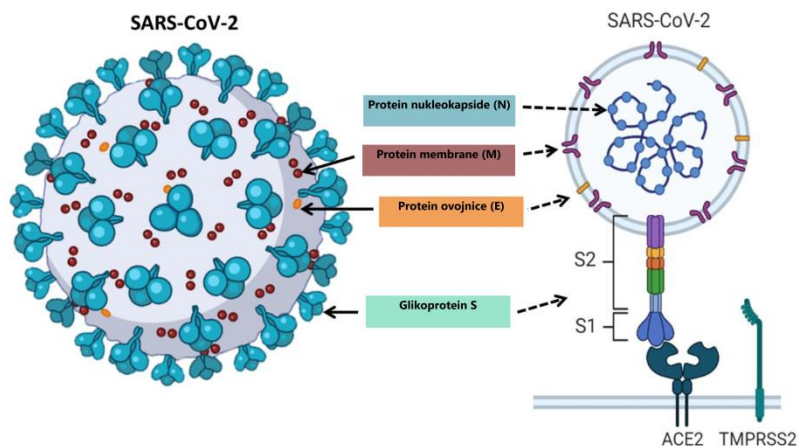
Iako se dugo smatralo da mogu uzrokovati bolesti isključivo među životinjama, oblici virusa su kroz povijest uzrokovali značajne epidemije i u ljudskoj populaciji. Prekretnica je bila 2002. godine kada je u kineskoj provinciji Guangdong došlo do izbijanja epidemije teškog akutnog respiratornog sindroma (engl. *Severe Acute Respiratory Syndrome*, SARS) (3). Oboljeli su imali akutnu ozljedu pluća (engl. *Acute lung injury*, ALI) s razvojem akutnog respiratornog distres sindroma (engl. *Acute Respiratory Distress Syndrome*, ARDS) i multiorganskog zatajenja. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO) zabilježeno je više od 8000 zaraženih s oko 800 smrtnih slučajeva. Sljedeća epidemija bila je uzrokovana MERS-CoV virusom 2012. godine na Bliskom istoku i zabilježeno je oko 2500 zaraženih s preko 400 smrtnih slučajeva (4).

Krajem 2019. godine kineska vlada obavijestila je WHO o nekoliko slučajeva upale pluća nepoznate etiologije. Epidemija je započela s tržnice plodova mora Hunan u gradu Wuhan u Kini i brzo je zarazila više od 50 ljudi (1). Navedeno je rezultiralo epidemijom u cijeloj Kini, a u ožujku 2020. WHO je proglasio globalnu pandemiju. U veljači 2020. WHO je nazvala bolest COVID-19, što je skraćena od koronavirusne bolesti, a virus koji ju je uzrokovao nazvan je SARS-CoV-2 virusom. Do prosinca 2023. WHO je prijavila 773,119,173 slučajeva COVID-19 bolesti uz 6,990,067 smrtnih slučajeva od iste.

1.1.1. SARS-CoV-2 VIRUS

SARS-CoV-2 virus je jednolančani RNA virus tipične strukture kao i ostali koronavirusi i sadrži četiri strukturalna proteina: glikoprotein S koji nalikuje na šiljak (engl. *spike S*), protein membrane (M), protein ovojnice (E) i protein nukleokapside (N). Uloga glikoproteina S je posredovanje u vezanju virusa s receptorima na membrani stanica domaćina. Protein membrane (M) definira oblik virusne ovojnice. Protein E kao najmanji od sva četiri strukturalna proteina sudjeluje u procesu sastavljanja i umnažanja virusa, dok je N protein jedini vezan za virusnu RNA i ima ključnu ulogu prilikom replikacije virusa u stanici domaćina (5). Struktura SARS-CoV-2 virusa kao i način ulaska u stanicu domaćina vezanjem S1 podjedinice virusa na ACE2 receptor stanice domaćina prikazani su na Slici 1.

Glikoprotein S je građen od dvije velike podjedinice S1 i S2. Podjedinica S1 uključuje N-terminalnu domenu (NTD), C-terminalnu domenu 1 (CTD1) i C-terminalnu domenu 2 (CTD2). Na S1-podjedinici smještene su i tri receptor-vezujuće domene (engl. *Receptor binding domain*, RBD) koje su odgovorne za prepoznavanje receptora angiotenzin-konvertirajućeg enzima 2 (ACE2) koji se nalazi na membranama stanica domaćina i služi kao mjesto gdje će doći do povezivanja virusne čestice sa stanicom domaćina (1, 6). Transmembranska serin proteaza tipa 2 (TMPRSS2), prisutna u stanici domaćinu, potiče unos virusa cijepanjem ACE2 receptora i aktiviranjem SARS-CoV-2 S proteina (7). ACE2 receptori su najrasprostranjeniji na membranama stanica pneumocita u plućima, enterocita u crijevima te sekretornim stanicama u nosu zbog čega su ova tkiva kod pacijenata koji imaju simptome bolesti COVID-19 najviše pogođena (8).



Slika 1. Prikaz strukture SARS-CoV-2 virusa i ulaz u stanicu domaćina putem ACE2 receptora i S1 podjednice S proteina. (Reproducirano i prilagođeno iz Kumar i sur.) (6)

U početku pandemije sumnjalo se da je riječ o zoonozi koja se u prvom redu prenosi na ljude sa životinja. Vrlo brzo se pokazalo da je interhumani prijenos glavni put infekcije (9). Kapljični put prijenosa je najčešći, uz mogućnost prijenosa aerosolom, direktnim kontaktom sa sluznicom nakon dodira zaraženih površina ili feko-oralnim putem (10). Srednja vrijednost (interkvartilni raspon, IQR) inkubacijskog perioda za razvoj COVID-19 bolesti nakon izlaganja SARS-CoV-2 virusu je oko 5 (2–7) dana (7).

1.2. COVID-19 BOLEST

1.2.1. PATOFIZIOLOGIJA COVID-19 BOLESTI

Epitel gornjeg dišnog sustava je mjesto primarnog ulaska SARS-CoV-2 virusa. Za razliku od virusa influence čije djelovanje je uglavnom ograničeno na stanice dišnih puteva, SARS-CoV-2 virus ulazi, između ostalog, i u kardiocite i endotelne stanice (11).

Nakon ulaska SARS-CoV-2 virusa u ljudski organizam već prije navedenim putevima, virus se veže za receptore (ACE2) i ulazi u stanice domaćina endocitozom ili fuzijom membrane (12). Transmembranska serin proteaza tipa 2 (TMPRSS2), prisutna u stanici domaćina, potiče unos

virusa cijepanjem ACE2 i aktiviranjem SARS-CoV-2 S proteina (7, 13). Unutar stanice domaćina virus se replicira i transkripcijom formira nove RNA lance koji potom translacijom u citoplazmi dovode do sinteze novih proteina (12). Novostvorene virusne čestice egzocitozom izlaze iz stanice spremne za ulaz u susjedne stanice domaćina. Ova faza traje nekoliko dana, a imunološki odgovor domaćina je ograničen, iako su osobe visoko infektivne za okolinu (12).

U sljedećoj fazi dolazi do migracije virusa iz nosnog epitela u gornje dišne putove. Zbog zahvaćenosti gornjih dišnih putova bolest se manifestira simptomima povišene temperature, malaksalosti i suhog kašlja. Imunološki odgovor tijekom ove faze dovodi do oslobađanja interferona (IFN- β i IFN- λ) iz stanica zaraženih virusom (14). U većine pacijenata bolest ne napreduje dalje od ove faze budući da je pojačani imunološki odgovor dovoljan da spriječi daljnje širenje infekcije.

U otprilike 20% pacijenata bolest napreduje do sljedeće faze i razvijaju se ozbiljniji simptomi kako virus napada alveolarne epitelne stanice tipa II (pneumociti tipa II). Pneumociti, kao odgovor na virus, oslobađaju brojne upalne čimbenike kao što su interleukini (IL-1, IL-6, IL-8, IL-120 i IL-12), faktor nekroze tumora- α (TNF- α), IFN- λ i IFN- β , CXCL-10 (engl. *chemokine ligand 10*), monocitni kemoatraktantni protein-1 (MCP-1) i makrofagni upalni protein-1 α (MIP-1 α) (12). Na Slici 2. prikazan je opisani patofiziološki mehanizam djelovanja SARS-CoV-2 virusa.

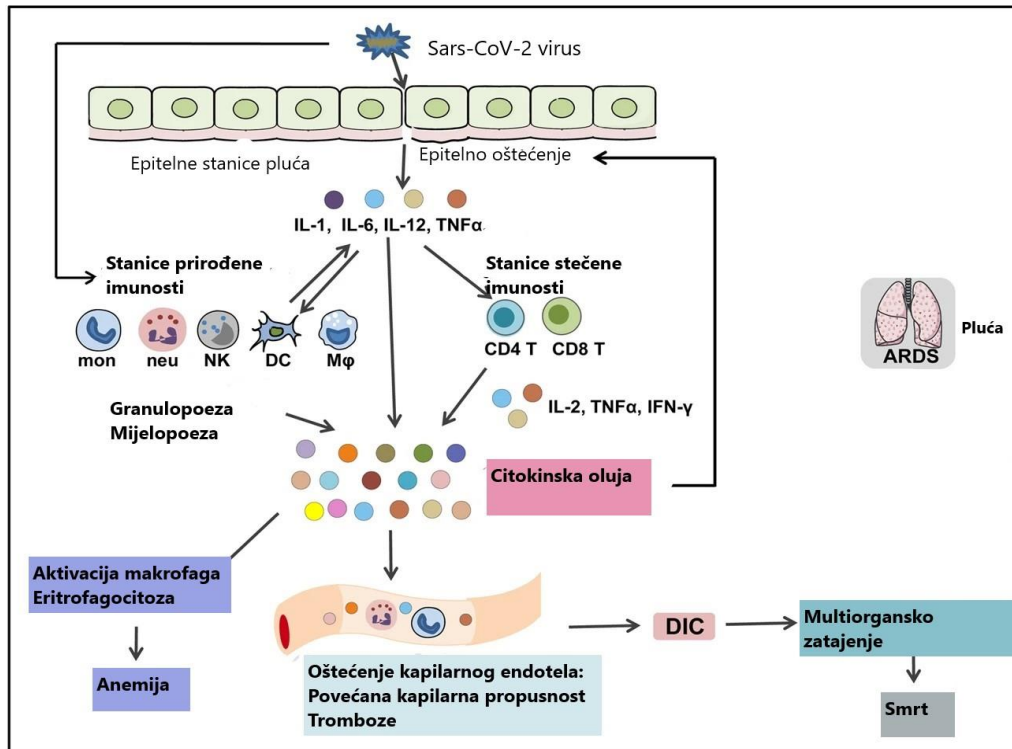
Navedena reakcija je poznata kao „citokinska oluja“. Riječ je o aktivaciji kaskade citokina koja samu sebe stimulira zbog nereguliranog odgovora imunološkog sustava na različite okidače, dovodeći do sustavne upalne reakcije, pretjerane aktivacije upalnih stanica i produkcije proupalnih citokina (15). Proupalni citokini djeluju kemotaktički na neutrofile, CD4 pomoćne T stanice i CD8 citotoksične T stanice, koje migriraju u virusom zahvaćene stanice/tkiva/organe kao odgovor domaćina na virus. Njihova migracija u pneumocite tipa II dovodi do disfunkcije epitelno-endotelne barijere (16). Na patohistološkim uzorcima preminulih od COVID-19 bolesti mogu se vidjeti difuzna zadebljanja i infiltracija alveolarnih zidova mononuklearnim stanicama, makrofazi u alveolarnim prostorima te endotelitis.

Kao posljedica razvijaju se intersticijski mononuklearni upalni infiltrati i edem pluća što rezultira pojavom tzv. izgleda „mliječnog stakla“ na CT snimkama. Edem pluća ispunjava alveolarne prostore te se formiraju hijaline membrane stvarajući sliku ranog ARDS-a (7, 17). Oštećenja

endotelne barijere, poremećen prijenos kisika kroz alveolarno-kapilarnu membranu te otežana difuzija kisika dovode do slike teške COVID-19 bolesti uz insuficijenciju disanja i ARDS kao jednog od najčešćih razloga smrti kod ove bolesti (7, 18).

Oštećenja endotela mogu dovesti i do aktivacije koagulacijskih faktora i njihove potrošnje, potičući pretjeranu sintezu trombina, inhibirajući fibrinolizu i aktivirajući sustav komplementa, čime dolazi do tromboinflamacije, mikrovaskularne disfunkcije i protombotskog stanja (19, 20). Kod teško bolesnih pacijenata ovo dovodi do dodatnih komplikacija u smislu plućnih embolija, dubokih venskih tromboza, ishemijskih moždanih udara, infarkta miokarda i sistemskih arterijskih tromboza (17, 21). Pacijenti s teškim oblikom COVID-19 bolesti često imaju znakove povećane sklonosti zgrušavanju krvi kao što su: visoka koncentracija D-dimera u cirkulaciji, povišene vrijednosti fibrinogena, produljeno protrombinsko vrijeme (PV) i aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) te trombocitopenija (22-24). Koncentracije D-dimera značajno su više u bolesnika s teškim oblikom COVID-19 nego u ostalih pacijenata u Jedinicama intenzivnog liječenja ili bolesnika s teškom upalom pluća koja nije povezana s COVID-19 (25, 26).

Razvoj virusne sepse, definiran kao po život opasna disfunkcija organa uzrokovana nereguliranim odgovorom domaćina na infekciju, dodatno pridonosi multiorganskom zatajenju (27).



Slika 2. Patofiziološki mehanizmi SARS-CoV-2 virusa. SARS-CoV-2 ulazi u epitelne stanice dišnih putova ili imunološke stanice putem vezanja na ACE2 receptore uzrokujući oštećenje tkiva i oslobađanje upalnih citokina što dovodi do različitih kliničkih manifestacija bolesti. NK-prirodne stanice ubojice; DC-dendritičke stanice; IL- interleukini; INF-interferoni; DIC-diseminirana intravaskularna koagulopatija. (Reproducirano i prilagođeno iz Yang i sur.) (28)

1.2.2. KLINIČKA SLIKA COVID-19 BOLESTI

Nakon inkubacijskog perioda dolazi do razvoja različitih kliničkih manifestacija COVID-19. Smatra se da će se u 97,5% osoba koje razviju simptome bolesti to dogoditi unutar 11,5 dana od infekcije (29). SARS-CoV-2 može izazvati raznovrsnu kliničku sliku, od asimptomatske infekcije ili blage respiratorne bolesti do slike akutnog respiracijskog zatajenja ili drugih teških komplikacija sa smrtnim ishodom (30).

Najčešći simptomi COVID-19 bolesti uključuju febrilitet (70–90%), suhi kašalj (60–86%), dispneju (53–80%), umor (38%), mialgije (15–44%), gastrointestinalne simptome poput mučnine, povraćanja ili proljeva (15–39%), glavobolju (7–23%), slabost (25%) i rinoreju (7%). Također može doći do olfaktorne i gustatorne disfunkcije koja se bilježi u 64–80% bolesnika, kao i drugih neuroloških simptoma (30).

Američki nacionalni institut za zdravlje (engl. *National Institutes of Health*, NIH) izdao je smjernice za klasifikaciju COVID-19 bolesti (7). Hrvatske nacionalne smjernice su sukladne NIH-ovim smjernicama i prema njima se razlikuje pet kategorija:

1. Asimptomatska infekcija - bolesnik bez kliničkih simptoma i znakova bolesti. Infekcija virusom SARS-CoV-2 potvrđena je laboratorijski (pozitivnim specifičnim molekularnim testom);
2. Blagi oblik bolesti - bolesnik sa simptomima nekomplikirane infekcije dišnog sustava koji može imati vrućicu, opću slabost, glavobolju, mialgije, hunjavicu, grlobolju i/ili kašalj;
3. Srednje teški oblik bolesti - bolesnik s težim simptomima bolesti i/ili pneumonijom (radiološki potvrđena), ali bez kriterija za tešku pneumoniju, bez potrebe za nadomjesnom terapijom kisikom ($SpO_2 > 94\%$ na sobnom zraku);
4. Teški oblici bolesti - bolesnik s teškom (obostranom) pneumonijom uz najmanje jedan od slijedećih znakova: frekvencija disanja > 30 udisaja/min, respiratorna insuficijencija ili potreba za nadomjesnom terapijom kisikom ($SpO_2 \leq 94\%$ na sobnom zraku), $PaO_2/FiO_2 \leq 200$ mmHg (31). Navedeni omjer se još naziva i Horowitz indeks, a označava omjer parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi mjenjenog u milimetrima žive (mmHg) naspram postoka udahnutog kisika (31). U zdravih osoba vrijednosti se kreću između 350-450 mmHg;

5. Kritični oblik bolesti - odrasli bolesnik ili dijete s kriterijima za ARDS (Berlinski kriteriji), odnosno sepsu, septični šok, sa/bez akutne disfunkcije drugih organskih sustava (šok, zatajenje bubrega, koagulopatija, poremećaj svijesti) (31).

Brojne su izvan plućne manifestacije bolesti. Neke od njih uključuju akutnu bubrežnu ozljedu (engl. *Acute kidney injury*, AKI) i akutnu ozljedu miokarda (21, 32). Najčešće promjene u laboratorijskim nalazima u hospitaliziranih bolesnika su limfopenija (83%), povišeni upalni markeri poput C-reaktivnog proteina (> 60%) te povišene vrijednosti LDH (50–60%), ALT (25%) i AST (33%). Također se bilježe smanjene razine albumina (75%) (33). Gastrointestinalni simptomi kao što su proljev, mučnina, povraćanje, anoreksija i bolovi u trbuhu su uobičajeni (34). Neurološki problemi variraju od nespecifičnih kao smetenost i zbunjenost do specifičnih kao što su konvulzije ili cerebrovaskularni poremećaji (34).

1.2.3. ČIMBENICI RIZIKA RAZVOJA TEŠKE COVID-19 BOLESTI

U bolesnika kod kojih nastaje teški oblik COVID-19 bolesti zamijećeni su neki zajednički čimbenici rizika. Starija životna dob (> 60 godina) razmatrana je kao rizični faktor za razvoj težeg oblika bolesti, a posebno se istakla u razlikovanju blagog tijeka bolesti i onog sa smrtnim ishodom (35). Retrospektivno istraživanje Zhou i sur. istaknulo je višu životnu dob kao rizični faktor smrtnog ishoda (24).

Muški spol je u većini istraživanja istaknut kao rizični čimbenik razvoja teške bolesti (36, 37). Spomenuta studija Zhou i sur. pokazala je smrtnost u ženskoj populaciji od 30% naspram 70% u muškoj populaciji (24). Istraživanje Ambrosino i sur. provedeno u Italiji pokazalo je također veću prevalenciju teškog oblika COVID-19 u mušaraca (36, 37).

Pretilost s indeksom tjelesne mase većim od 30 (engl. *Body Mass Index*, BMI) također spada u veoma rizične čimbenike razvoja teškog oblika COVID-19 pa i povećane smrtnosti (37). Prema podacima objavljenim u Italiji, u travnju 2020. godine od 1290 preminulih čak 10% je bilo pretilo (36). U Velikoj Britaniji, kroz ožujak 2020. godine čak 60,9% pretilih bolesnika liječenih u jedinici intenzivnog liječenja je preminulo (36). Pretilost potiče disregulaciju imunog sustava koja je

karakteristika COVID-19 bolesti (36). U skladu s navedenim kod pretilih bolesnika pronađene su više razine proupalnih citokina (36).

Prisutni komorbiditeti kao što su kardiovaskularne bolesti, šećerna bolest, imunološke i reumatološke bolesti, imunodeficijencija, maligne bolesti, kronična plućna bolest, kronična bubrežna bolest su svi razmatrani kao čimbenici rizika (36, 38). Najčešći komorbiditet je hipertenzija (36).

Sve je veći broj dokaza koji ukazuju da specifični čimbenici ili životni stil mogu predisponirati određene skupine većem riziku od zaraze COVID-19 u usporedbi s drugima (37). Među njima se ističu pušenje, necijepljeni pacijenti i kronični alkoholizam (38).

Nedostatak vitamina D je jedan od dokazanih čimbenika povezanih s povećanim rizikom razvoja akutne respiratorne bolesti, a pokazalo se isto i s COVID-19 bolesti (39-41).

Osim čimbenika rizika zamjećeni su prediktori nepovoljnog ishoda bolesti među kojima se izdvajaju:

1. $SpO_2 < 94\%$ na sobnom zraku uz radiološki potvrđene opsežne konsolidacije plućnog parenhima (nepovoljni P/F omjer tj. Horowitz Index pri prijemu sukladno Berlinskoj deklaraciji o ARDS-u) (42, 43);
2. Viši SOFA zbroj (engl. *Sequential Organ Failure Assessment Score*) pri prijemu. SOFA zbroj se koristi za predviđanje ishoda liječenja kod kritično oboljelih bolesnika. Procjenjuje stupanj disfunkcije šest sustava: kardiovaskularnog, središnjeg živčanog sustava, respiratornog, jetrenog, bubrežnog i koagulacijskog sustava. Stupanj disfunkcije boduje se od 0 do 4 uzimajući pritom najnepovoljnije vrijednosti za određeno razdoblje (44);
3. Laboratorijski markeri (povišeni upalni markeri, LDH, AST, D-dimeri, feritin uz izraženu limfopeniju i sniženu koncentraciju albumina) (45).

SARS-CoV-2 tijekom vremena mutira stvarajući različite varijante. Takve mutacije utječu na njegovu infektivnost, kliničku sliku i težinu bolesti kao i odgovor na lijekove i postojeće cijeplivo (46).

1.2.4. DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE COVID-19 BOLESTI

Zlatni standard za dokazivanje akutne infekcije SARS-CoV-2 je lančana reakcija reverzne transkripcije-polimeraze u stvarnom vremenu (RT-PCR) iz uzoraka virusa dobivenih brisom nazofarinksa (47). Brzi antigenski testovi imaju ulogu u brzjoj trijaži akutno bolesnih osoba, budući da su brži od klasičnog RT-PCR testiranja, ali nema dovoljno kvalitetnih istraživanja da bi se potvrdio jednak učinak testiranja u kliničkom okruženju kao i u pretkliničkim istraživanjima. Dodatno ograničenje njihove primjene je da imaju nisku osjetljivost (48). Što se tiče seroloških pretraga, nije dokazana njihova dijagnostička važnost kod COVID-19 bolesti u kliničkom okruženju (48).

Tijekom pandemije terapijski pristup bolesti se mjenjao kao i sam virus, no i dalje se osnova liječenja bazira na ublažavanju simptoma, sprječavanju komplikacija i napredovanja bolesti te simptomatskom i potpornom liječenju, uključujući mjere intenzivnog liječenja za teže oboljele. Značajnu ulogu u simptomatskom liječenju ima nadomjesna terapija kisikom. Postoji više randomiziranih kontroliranih kliničkih studija o određenoj učinkovitosti pojedinih antivirusnih i imunomodulacijskih lijekova ili kombinacije lijekova za liječenje COVID-19 i s vremenom su se smjernice o upotrebi navedenih lijekova mijenjale (49).

Ovisno o težini kliničke slike modaliteti liječenja su:

1. Bolesnici koji ne zahtijevaju suplementaciju kisika i nemaju rizičnih čimbenika za razvoj teže kliničke slike bolesti ne zahtijevaju specifičnu terapiju, dok se u bolesnika s čimbenicima rizika za razvoj težeg oblika bolesti preporuča primijeniti jedan od dostupnih antivirusnih ili imunomodulirajućih lijekova (kombinacija nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid®, Remdesivir®), kombinacija monoklonskih protutijela tixagevimab i cilgavimab (Evusheld®). Svim hospitaliziranim bolesnicima preporuča se profilaktička primjena niskomolekularnog heparina;
2. U bolesnika kojima je potrebna suplementacija kisikom (nosne vile ili maska sa spremnikom do protoka od 16 litara/minuti) uz navedeno treba razmotriti primjenu kortikosteroidne terapije (deksametazon);
3. U bolesnika kojima je potrebna suplementacija visokim protokom kisika (engl. *high-flow nasal cannula*, HFNC, ili neinvazivna mehanička ventilacija, NIV) treba primijeniti

kortikosteroidnu terapiju uz prije navedene terapijske mogućnosti, a može se razmotriti primjena antagonista interleukina 6 (Tocilizumab®, Olumiant®);

4. U bolesnika kojima je potrebna izvantjelesna potpora cirkulaciji (engl. *Extracorporeal membrane oxygenation*, ECMO) preporučuje se sva prethodno navedena terapija;

5. U bolesnika kojima je potrebna invazivna mehanička respiracijska potpora treba razmotriti primjenu sve navedene terapije uz protektivnu mehaničku ventilaciju definiranu Berlinskom deklaracijom za akutni respiratorni distress sindrom (ARDS).

Do danas, najbolja terapija je prevencija zaraze cijepljenjem protiv SARS-CoV-2 virusa. Tijekom 2020. godine razvijeno je više vrsta cijepljiva i programi cijepljenja su pokrenuti širom svijeta sa ciljem prevencije bolesti i ublažavanja kliničke slike zaraženih (50).

1.3. VITAMIN D

Otkako je nobelovac Adolf Otto Reinhold Windaus 1930.-tih godina identificirao kemijsku strukturu vitamina D na temeljima prijašnjih saznanja nekoliko znanstvenika, nije prestao interes za novim istraživanjima ovog vitamina ili hormona (51). Otkriće 25-hidroksikolekalciferola (25(OH)D) ili kalcifediola te 1,25-dihidroksikolekalciferola (1,25(OH)₂D) ili kalcitriola dalo je uvid u izuzetno složeni metabolizam vitamina D reguliran u bubregu što ga je svrstalo u red steroidnih hormona (52). Otkriće receptora vitamina D (engl. *Vitamin D receptor*, VDR) u gotovo svim tkivima i stanicama ljudskog tijela potvrdilo je njegovu hormonsku funkciju i važnu ulogu u brojnim fiziološkim procesima (53).

1.3.1. METABOLIZAM VITAMINA D

Danas je vitamin D grupni naziv za vitamine topive u mastima, odnosno izraz vitamin D trebao bi se koristiti kao opći izraz za opisivanje svih steroida koji kvalitativno pokazuju biološku aktivnost kolekalciferola (54). Naziv vitamin D₃ se može koristiti kao sinonim za kolekalciferol, a vitamin D₂ za ergokalciferol (54). Aktivni oblik vitamina D u ljudskom organizmu naziva se kalcitriol ili 1,25-dihidroksikolekalciferol. Dva osnovna izvora vitamina D su egzogeni unos ili endogena produkcija. Egzogeni unos može biti hranom (biljke su izvor vitamina D₂, a masne ribe izvor su vitamina D₃) ili suplementacijom. Vitamini D₂ i D₃ se komercijalno sintetiziraju u svrhu nadomjesne terapije ili se hrana obogaćuje njima (55). Endogena sinteza vitamina D₃ u koži služi kao najvažniji izvor.

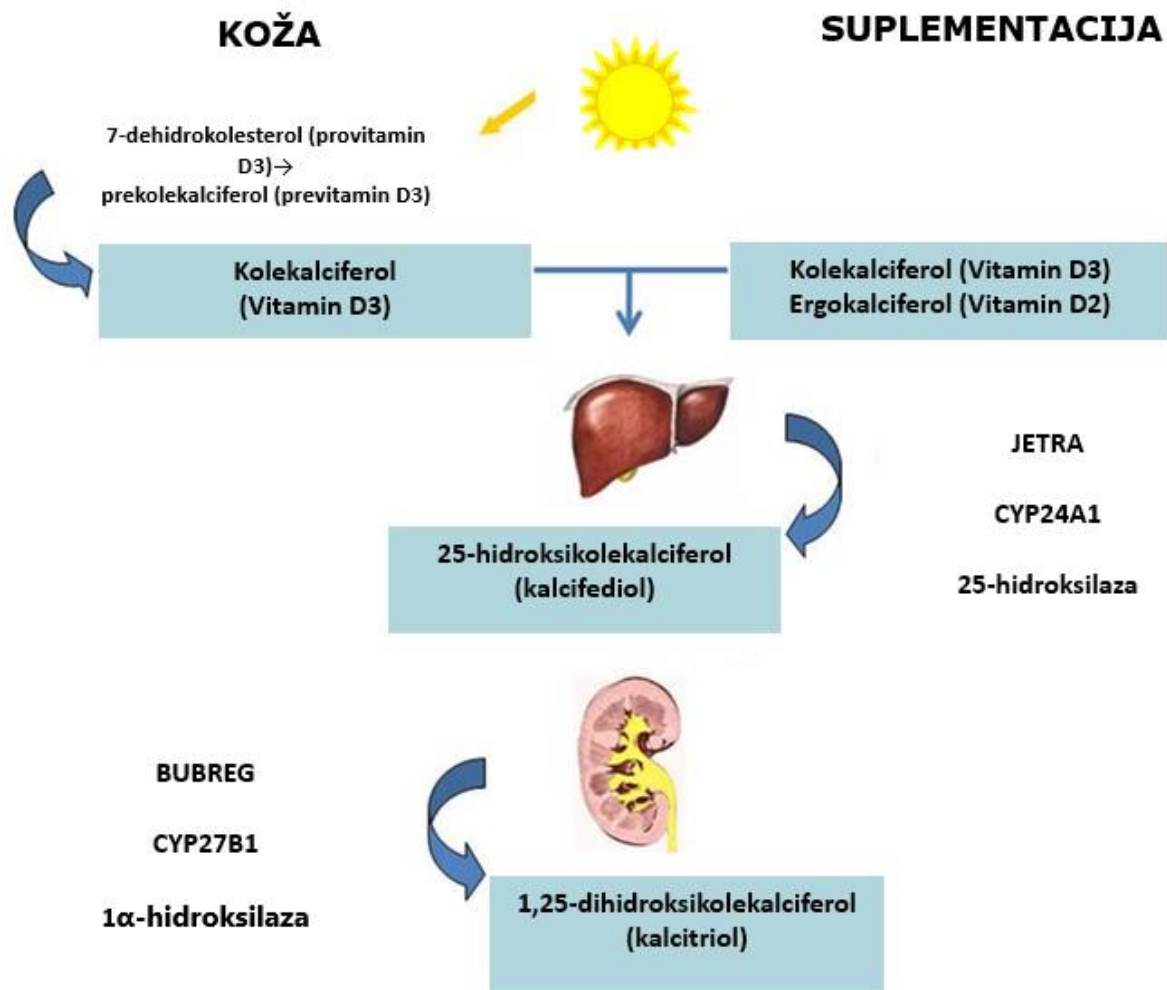
Vitamin D se zbog svog nastanka naziva i “sunčani vitamin”. Glavni dio metabolizma i sinteze vitamina D se odvija u koži pod djelovanjem sunčevog ultraljubičastog B zračenja (engl. *ultraviolet-B radiation*, UVB) valne duljine od 280-315 nm. Djelovanjem UVB zračenja na 7-dehidrokolesterol (7DHC – provitamin D₃) nastaje prekolekalciferol (previtamin D₃). Potom termalnom izomerizacijom iz previtamina D₃ nastaje vitamin D₃ (kolekalciferol) (56, 57). U razdoblju od tri dana 50% stvorenog previtamina D₃ izomerizira u vitamin D₃. Izlaganje ultraljubičastom zračenju u 25% minimalne eritemske doze (MED) četvrtine površine kože (lice, šake, ruke) smatra se da proizvede ekvivalente od 1000 internacionalnih jedinica (IJ) vitamina D

(58). Čimbenici kao što su dob, boja kože (sadržaj melanina), godišnje doba, vrijeme, zemljopisna širina, nadmorska visina, doba dana, odjeća, korištenje kreme za sunčanje i tip kože mogu utjecati na navedenu sintezu čineći je manjom ili višom (59). Dio vitamina D₃ stvorenog na ovaj način sekvestrira se i pohranjuje u masnom tkivu za kasniju uporabu i zbog toga imamo brz postprandijalni pad koncentracije vitamina D u plazmi kao i niže koncentracije kod pretilih osoba (60).

Vitamin D₃ stvoren u koži ulazi u cirkulaciju gdje se vezan za DBP (engl. *vitamin D binding protein*) transportira do jetre i prolazi proces prve hidroksilacije na citokromu 24A1 (CYP24A1). Djelovanjem jetrenog enzima 25-hidroksilaze, vitamin D₃ (kolekalciferol) pretvara se u 25-hidroksikolekalciferol (25(OH)D-kalcifediol) koji je glavni cirkulirajući oblik vitamina D (61). On odražava status vitamina D u organizmu (suficijenciju/ insuficijenciju/ deficienciju/ tešku deficienciju) jer mu je poluživot u plazmi 2 tjedna i upravo njegovu koncentraciju određujemo kada želimo doznati status vitamina D u organizmu (62).

Druga hidroksilacija događa se u bubregu na atomu C-1 pod djelovanjem mitohondrijskog enzima 1 α -hidroksilaze i pri tome nastaje aktivni oblik vitamina D, 1,25-dihidroksikolekalciferol (1,25(OH)₂D- kalcitriol). Smatra se da je za hidroksilaciju u bubregu odgovoran citokrom 27B1 (CYP27B1). Bubrežne tubularne stanice sadrže osim 1 α -hidroksilaze i 24 α -hidroksilazu, koja hidroksilacijom 25(OH)D proizvodi neaktivni metabolit 24,25(OH)₂D koji se izlučuje urinom (63). Navedeni metabolizam vitamina D prikazan je na Slici 3.

1,25(OH)₂D, koji ima poluživot od samo četiri do osam sati, aktivni je spoj jer stupa u interakciju s VDR kako bi izvršio svoju fiziološku funkciju i regulirao vlastitu razinu putem mehanizma negativne povratne sprege. Regulacija aktivnosti 1 α -hidroksilaze uglavnom ovisi o koncentraciji paratiroidnog hormona (PTH), serumskog kalcija, fosfora i faktora rasta fibroblasta 23 (FGF23). Aktivni oblik vitamina D ima različite učinke na ciljna tkiva, ali prvenstveno djeluje u crijevima, kostima i bubrezima (57).



Slika 3. Prikaz metabolizma vitamina D u ljudskom organizmu. Djelovanjem UVB sunčevog zračenja na 7DHC u koži nastaje prekolekalciferol, a potom kolekalciferol. Endogeno stvoreni kolekalciferol kao i suplementacijom unesen kolekalciferol ili ergokalciferol u jetri se hidroksiliraju do 25-hidroksikolekalciferola (glavni cirkulirajući oblik). Drugom hidroksilacijom u bubregu proizvodi se aktivni oblik 1,25-dihidroksikolekalciferol. (Reproducirano i prilagođeno iz Vuolo i sur.) (64)

1.3.2. FUNKCIJA VITAMINA D

Aktivnost vitamina D u tijelu objašnjava se prisutnošću VDR-a u većini tkiva: koža, skeletni mišići, gušterača, imunološke stanice, mozak, masno tkivo, dojke, krvožilno tkivo, kao i u brojnim stanicama raka i ljudske posteljice.

Održavanje homeostaze kalcija i fosfata spada u najvažniju funkciju vitamina D. Na pasivan način potiče mineralizaciju kostiju potičući apsorpciju crijevnog kalcija i fosfata te reapsorpciju bubrežnog tubularnog kalcija. Bez vitamina D, apsorbira se samo 10 -15% kalcija iz prehrane i oko 60% fosfora. Bez odgovarajućih razina kalcija i fosfora, smanjena je mineralizacija kolagena što može dovesti do rahitisa u djece i do osteomalacije u odraslih. Također, u slučaju potrebe za kalcijem, vitamin D potiče mobilizaciju kalcija iz kostiju (65). Mnoga su istraživanja pokazala povezanost između niskih koncentracija vitamina D i povećanog rizika prijeloma i padova kod starijih osoba (66).

Dostupnošću staničnih kultura brojna su in vitro istraživanja otkrila ulogu vitamina D u karcinogenezi. Aktivni oblik vitamina D inhibira rast stanica raka, kao i prisutnost VDR receptora na njima (67). Upala je ključni rani korak u kaskadi karcinogeneze za mnoge vrste raka, a imunomodulatorna uloga vitamina D da potiče protuupalne učinke na stanice raka snižavanjem proupalnih putova, kao što je ciklooksigenaza-2 (COX-2), može doprinijeti inhibiciji rasta malignih stanica (68).

Vitamin D ima protektivan učinak na kardiovaskularni sustav putem hormonskog sustava renin-angiotenzin, kroz suzbijanje upale ili izravnim djelovanjem na stanice srca i stijenke krvnih žila (69).

Veliki broj istraživanja pokazao je da postoji povezanost između nedostatka vitamina D i povećane učestalosti dijabetesa tipa I i II (70).

Kod raznih gastroenteroloških bolesti, kao što su Chronova bolest, sindrom kratkog crijeva i neliječena celijakija te onih bolesti koje zahvaćaju tanko crijevo i gušteraču pokazana je veća potreba za vitaminom D i kalcijem (71).

Vitamin D je izuzetno važan za funkciju prirodene i stečene imunosti. Kada se makrofagi (i stanice epitelne barijere) susreću s patogenima, sintetiziraju 1,25-dihidroksikolekalciferol i reguliraju gene odgovorne za proizvodnju različitih antimikrobnih proteina koji su važni za prirodni imunološki odgovor na infekciju (72). Također, smanjuje stopu replikacije virusa i inhibira sintezu proupalnih citokina (73, 74). Istraživanja su pokazala da bolesnici s niskim razinama vitamina D imaju 64% veći rizik za razvoj izvanbolničke pneumonije, kao i veću incidenciju sepse i smrtnosti (75-77).

Akutne infekcije dišnog sustava i dalje su jedan su od glavnih uzroka globalnog morbiditeta i mortaliteta u današnjem svijetu. Snižene razine vitamina D uobičajene su kod akutnih respiratornih bolesti dok brojna opservacijska istraživanja povezuju niske razine vitamina D s većim rizikom razvoja akutnih respiratornih bolesti teže kliničke slike (78-81).

1.3.3. NEDOSTATAK VITAMINA D

Procjenjuje se da više od milijardu ljudi diljem svijeta, skoro 15% svjetske populacije, ima niske koncentracije vitamina D (65, 82). Prema smjernicama Američkog endokrinološkog društva, a sukladno i hrvatskim smjernicama, nedostatak vitamina D (deficijencija) definira se kao koncentracija niža od 50 nmol/L (20 ng/mL) (83, 84). Prema istim smjernicama, vrijednosti vitamina D između 50-70 nmol/l (21-29 ng/mL) definirane su kao insuficijencija vitamina D, a one niže od 30 nmol/L (10 ng/mL) kao teški nedostatak (teška deficijencija) (84).

Rizične skupine za hipovitaminozu D uključuju osobe s nedovoljnim izlaganjem suncu (osobito dojenčad) i osobe koje žive na prostorima veće zemljopisne širine (iznad 40° zemljopisne širine) (83, 85, 86). Hrvatska je smještena iznad 35° zemljopisne širine, točnije od 42° do 46° sjeverne zemljopisne širine, što onemogućava stvaranje vitamina D u koži pri izlaganju suncu od listopada do ožujka, a hrana u Hrvatskoj uobičajeno se ne obogaćuje vitaminom D (86). Prehrambene navike stanovništva Hrvatske ne uključuju konzumaciju značajnih količina masne ribe, a propisivanje suplementacije vitaminom D je jako rijetko (83).

Nanošenje sredstava za zaštitu od sunca sa zaštitnim faktorom 30 smanjuje proizvodnju vitamina D za 95%, a osobe tamnije puti moraju se izložiti suncu 3-5 puta dulje da bi proizvele količinu

vitamina D kao osobe svijetle puti (87). Trudnice, dojilje kao i pretile osobe imaju povećan rizik hipovitaminoze D (83, 88).

Specifična stanja povezana s nedostatkom vitamina D uključuju sindrome malapsorpcije poput celijakije, barijatrijske kirurgije, sindroma kratkog crijeva i cistične fibroze (65). Lijekovi koji induciraju jetrene enzime kao što su antikonvulzivi i neki antibiotici, mogu ubrzati razgradnju vitamina D i tako dovesti do njegovog nedostatka (57, 83).

Nedostatak vitamina D je uobičajen kod kritično oboljelih s prevalencijom od 40-70% (89). Većina bolesnika primljenih u jedinice intenzivnog liječenja je vitamin D deficijentna zbog nekog predisponirajućeg faktora ili komorbiditeta (89). Metabolizam vitamina D je disreguliran kod kritično oboljelih zbog smanjene sinteze i pojačanog gubitka vitamina D u slučaju jetrene ili bubrežne disfunkcije ili oštećene crijevne apsorpcije (78).

1.3.4. NADOKNADA VITAMINA D

Većina potreba za vitaminom D dolazi iz izlaganja sunčevim zrakama, ali je jako teško preporučiti jedinstvenu dozu izlaganja suncu koja bi bila učinkovita za sve i zadovoljila godišnje potrebe za vitaminom D. Značaj unosa vitamina D hranom manje je izražen jer hrana koja sadrži vitamin D općenito nije svakodnevni dio većine prehrambenih obrazaca. U Sjedinjenim Američkim Državama i Kanadi mlijeko je obogaćeno vitaminom D, kao i neki krušni proizvodi, sokovi od naranče, žitarice, jogurti i sirevi. U Europi većina zemalja ne obogaćuje mlijeko vitaminom D jer je 1950-ih godina došlo do izbijanja trovanja vitaminom D kod male djece, što je rezultiralo zakonima koji zabranjuju obogaćivanje hrane vitaminom D. Švedska i Finska danas obogaćuju mlijeko, a mnoge europske zemlje dodaju vitamin D u žitarice, kruh i margarin (65). Osim prevencije manjka vitamina D u zdravoj populaciji, rizičnim skupinama za deficijenciju vitamina D preporučuje se nadoknada (83).

Uobičajeni oblici nadoknade vitamina D su:

1. Kolekalciferol ili vitamin D3, kao najčešći oblik nadoknade. Dostupan je u obliku kapi za oralnu primjenu, intramuskularnih pripravaka, kapsula, tableta ili kao nazalni sprej varijabilnih koncentracija (90).

2. Ergokalciferol ili vitamin D2, biljnog podrijetla i nije prirodno prisutan u ljudskom organizmu.

3. Kalcitriol ili 1,25-dihidroksikolekaciferol, aktivni oblik vitamina D, uglavnom indiciran kod hipokalcijemije i hipoparatiroidizma te kroničnog bubrežnog zatajenja (91).

Preporukama Nacionalne medicinske akademije (engl. *National Academy of Medicine*, NAM) i Endokrinološkog društva (engl. *Endocrine Practice Guideline Committee*) koje su sukladne smjernicama Hrvatskog društva za kliničku prehranu, zdravoj populaciji savjetuje se unos od 400 IJ vitamina D na dan kod djece do godinu dana, 600 IJ vitamina D na dan za osobe u dobi od 1 do 70 godina te 800 IJ vitamina D na dan za starije od 70 godina (83, 84).

Kod pacijenata u riziku od manjka vitamina D preporuča se unos od 1000 IJ vitamina D na dan u djece do godinu dana, 1500 IJ-2000 IJ vitamina D na dan za odrasle osobe, kao i trudnice i dojilje. Dopuštena gornja granica unosa definirana je kao 4000 IJ vitamina D na dan. Pretiloj djeci i odraslima te djeci i odraslima koji koriste lijekove koji utječu na metabolizam vitamina D preporuka je dati najmanje dva do tri puta veće doze od preporučenih za njihovu dobnu skupinu kako bi se zadovoljile potrebe tijela za vitaminom D (83, 84).

Preporuke za nadoknadu vitamin D deficitarnih osoba su sljedeće:

1. Za djecu do godine dana starosti 2000 IJ vitamina D na dan ili 50000 IJ vitamina D jednom tjedno kroz 6-8 tjedana i potom doza održavanja od 400-1000 IJ na dan.

2. Odraslim osobama 6000 IJ vitamina D na dan ili 50000 IJ vitamina D jednom tjedno kroz 6-8 tjedana uz dozu održavanja od 1500 IJ-2000 IJ na dan.

3. Pretilim odraslim osobama i osobama koje koriste lijekove koji utječu na metabolizam vitamina D doza je dva do tri puta veća, to jest od 6000-10000 IJ vitamina D na dan.

Prema navedenim smjernica maksimalna sigurna dnevna doza vitamina D ne bi trebala prelaziti 10000 IJ na dan (84, 92-96).

1.3.5. NEŽELJENI UČINCI VITAMINA D

Do suviška vitamina D ne može doći zbog prekomjernog izlaganja suncu, ali može zbog pretjeranog peroralnog unosa. Zbog pohrane vitamina D u masnom tkivu simptomi toksičnosti vitamina D mogu se pojaviti i mjesecima nakon uzimanja vrlo visokih doza (83). Doze vitamina D veće od 2000 IJ dnevno su u zemljama Europske unije (EU) izrazito rijetko dozvoljene za uporabu kao dodatak prehrani i uglavnom ih prepisuje liječnik (93).

Prema smjernicama Nacionalne medicinske akademije iz 2011. godine akutna toksičnost vitamina D obično je uzrokovana dnevnim dozama vitamina D većim od 10000 IJ, što rezultira koncentracijama 25(OH)D u serumu iznad 375 nmol/L tj. 150 ng/mL (57). Kronična toksičnost vitamina D potencijalno se može pojaviti kod primjene doza iznad 4000 IJ/dan tijekom duljeg razdoblja, što vjerojatno rezultira koncentracijama 25(OH)D između 125-375 nmol/L tj. 50-150 ng/mL. Koncentracije vitamina D između 125-250 nmol/L (50-100 ng/mL) smatraju se potencijalno toksičnima, s tim da većina smjernica uzima granicu od 125 nmol/L kao granicu toksičnosti (57, 97). Tradicionalno se toksičnom razinom vitamina D smatra ona kod koje se pojavljuje hiperkalcemija.

Kliničke manifestaciji intoksikacije vitaminom D vezane su primarno uz poremećaje koje uzrokuje povišena koncentracija kalcija. Radi se o neurološkim manifestacijama kao što su poremećaji koncentracije, zbunjenost, pospanost i u najtežim slučajevim stupor i koma. Prisutne su i gastrointestinalne smetnje u obliku proljeva, povraćanja, anoreksije ili čak teškog oblika pankreatitisa. Sa strane kardiovaskularnog sustava moguće su promjene u elektrokardiogramu (EKG) kao skraćen QT interval i elevacija ST spojnice uz srčani blok prvog stupnja (AV blok I°) i hipertenziju. Bubrežni simptomi uključuju hiperkalciuriju kao najraniji znak, poliuriju, polidipsiju, dehidraciju, nefrokalcinozu i zatajenje bubrega (94).

1.3.6. VITAMIN D I COVID-19

U početku COVID-19 pandemije nedostatak cjepiva i specifične terapije potaknuo je zanimanje za potencijalnu ulogu vitamina D u smanjenju rizika infekcije i težine kliničke slike oboljelih. Navedeno ima temelje u već spomenutoj i poznatoj imunomodulatornoj funkciji vitamina D kod različitih respiratornih infekcija, a dva su moguća mehanizma koja podupiru vezu SARS-CoV-2 virusa i vitamina D.

Pokazalo se da vitaminom D induciran antimikrobni protein katelicidin LL-37 inhibira vezanje SARS-CoV-2 virusa na stanice domaćina blokirajući i domenu koja veže receptor S1 podjedinice proteina virusnog šiljka i domenu koja veže ligand virusnog ulaznog receptora ACE2 eksprimiranog kod domaćina (98). Studija na transgeničnim miševima koji eksprimiraju ljudski ACE2 receptor pokazala je da SARS-CoV-2 inducira ekspresiju CYP27B1, koji kodira enzim 1 α -hidroksilazu, glavnim enzim pri nastajanju aktivnog oblika vitamina D (99). U bronhoalveolarnom lavatu bolesnika oboljelih od COVID-19 CD4 stanice imaju pojačanu ekspresiju gena povezanih s vitaminom D koji kodiraju proizvodnju proupalnih citokina (100).

Jedno od ključnih patofizioloških zbivanja u COVID-19 bolesti je nastanak citokinske oluje i posljedičnog akutnog respiratornog distress sindroma. Kao što je ranije spomenuto, vitamin D modulira imunološki sustav promičući ravnotežu proupalnih i protuupalnih odgovora (41).

SARS-CoV-2 virus za ulazak u stanicu domaćina koristi ACE2 receptor koji je dio renin-angiotenzin-aldosteron sustava (RAAS). Nakon replikacije virusa, mehanizmom povratne sprege dolazi do smanjenog broja ACE2 receptora i povećane produkcije angiotenzina II koji je povezan s kardiopulmonalnom i bubrežnom ozljedom, kao i ARDS-om. Sve navedeno je ujedno obilježlje kliničke slike teškog oblika COVID-19. Vitamin D je snažan inhibitor renina, proteoličkog enzima odgovornog za nastanak angiotenzina I i posljedično angiotenzina II, što ostavlja prostor za razmišljanje- da li na taj način može ublažiti kliničku sliku COVID-19 bolesti (101)?

Veliki broj opservacijskih istraživanja pokazao je povezanost niske razine vitamina D s većim rizikom razvoja COVID-19 bolesti teže kliničke slike pa čak i veće smrtnosti (76, 77, 102-105).

Težina hipovitaminoze također je povezana s lošijim ishodom COVID-19 bolesti, budući da su bolesnici s nižim razinama vitamina D bili skloniji razvoju teže kliničke slike i imali veću smrtnost (106-109).

Nadoknada vitamina D kod respiratornih bolesti se pokazala korisnom, ali dokazi o nadoknadi vitamina D kod COVID-19 bolesnika su proturiječni (76, 101, 110-113). Dok su neka istraživanja pokazala blažu kliničku sliku, raniji i bolji oporavak bolesnika koji su primali nadoknadu vitamina D kod COVID-19, druga istraživanja nisu pokazala razliku u kliničkim ishodima (71, 80, 89-92).

2. CILJEVI RADA I HIPOTEZE

Cilj istraživanja provedenog u sklopu ove doktorske disertacije bio je utvrditi utjecaj nadoknade vitamina D na kliničke ishode u bolesnika s teškim oblikom COVID-19 i manjkom vitamina D.

Glavni cilj je bio ispitati razliku u broju dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori u bolesnika s nadoknadom i bolesnika bez nadoknade vitamina D.

Sporedni ciljevi istraživanja bili su:

1. Ispitati razliku u smrtnosti nakon 14, 28 i 60 dana od prijema u jedinicu intenzivnog liječenja te razliku u duljini boravka u jedinici intenzivnog liječenja i trajanju hospitalizacije u bolesnika s manjkom vitamina D koji su primali nadoknadu i onih koji nisu primali nadoknadu vitamina D.
2. Ispitati učestalost bakterijskih superinfekcija, kretanje pokazatelja parametara upale (CRP; PCT; Omjer neutrofila/limfocita) i progresiju pokazatelja težine bolesti ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ omjer; D-dimeri; fibrinogen; feritin) u bolesnika s manjkom vitamina D koji su primali nadoknadu i onih koji nisu primali nadoknadu vitamina D.
3. Ispitati razliku u smrtnosti nakon 14, 28 i 60 dana od prijema u jedinicu intenzivnog liječenja te razliku u duljini boravka u jedinici intenzivnog liječenja i trajanju hospitalizacije u bolesnika s manjkom vitamina D koji nisu primali nadoknadu i bolesnika s normalnim vrijednostima vitamina D pri prijemu u jedinicu intenzivnog liječenja.
4. Ispitati učestalost bakterijskih superinfekcija, kretanje pokazatelja parametara upale (CRP; PCT; omjer neutrofila/limfocita) i progresiju pokazatelja težine bolesti ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ omjer; D-dimeri; fibrinogen; feritin) u bolesnika s manjkom vitamina D koji nisu primali nadoknadu i bolesnika s normalnim vrijednostima vitamina D pri prijemu u jedinicu intenzivnog liječenja.

Hipoteze ovog istraživanja bile su:

1. Bolesnici s nadoknadom vitamina D imaju kraće vrijeme trajanja mehaničke respiracijske potpore.
2. Bolesnici s nadoknadom vitamina D imaju manju smrtnost 14, 28 i 60 dana od prijema u jedinicu intenzivnog liječenja.
3. Bolesnici s nadoknadom vitamina D imaju kraće vrijeme boravka u JIL-u i kraće trajanje hospitalizacije.

4. Bolesnici s nadoknadom vitamina D imaju manju učestalost bakterijskih superinfekcija, brži pad razine pokazatelja parametara upale te slabiju progresiju pokazatelja težine bolesti.
5. Bolesnici s normalnim vrijednostima vitamina D imaju kraće vrijeme trajanja mehaničke respiracijske potpore.
6. Bolesnici s normalnim vrijednostima vitamina D imaju manju smrtnost 14, 28 i 60 dana od prijema u JIL.
7. Bolesnici s normalnim vrijednostima vitamina D imaju kraće vrijeme boravka u JIL-u i kraće trajanje hospitalizacije.
8. Bolesnici s normalnim vrijednostima vitamina D imaju manju učestalost bakterijskih superinfekcija, brži pad razine pokazatelja parametara upale te slabiju progresiju pokazatelja težine bolesti.

U sklopu doktorske disertacija izrađen je i pregled literature o nadoknadi vitamina D u jedinicama intenzivnog liječenja.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. ISPITANICI

Randomizirano kliničko ispitivanje je provedeno u Kliničkom bolničkom centru Split u razdoblju od studenog 2021. do svibnja 2022. godine.

U istraživanje su bili uključeni svi bolesnici primljeni u Jedinicu intenzivnog liječenja tijekom ispitivanog razdoblja koji su imali pozitivan molekularni test (PCR) na SARS-CoV-2 prilikom prijema i kojima je bila potrebna invazivna ili neinvazivna mehanička respiracijska potpora. Svim bolesnicima je pri prijemu izmjerena razina vitamina D u krvi. Bolesnici koji su imali razinu vitamina D < 50 nmol/L su uključeni u postupak randomizacije. Svi bolesnici su bili stariji od 18 godina.

Kriteriji za ne-uključivanje bolesnika u istraživanje su bili poznata nadoknada vitamina D prije prijema u JIL, poznata kronična jetrena bolest, malapsorpcijski sindrom, uzimanje lijekova koji utječu na metabolizam ili apsorpciju vitamina D (npr. antikonvulzivi), povišene vrijednosti kalcija u plazmi prilikom prijema u JIL, postojanje hiperkalciurije ili bubrežnih kamenaca, stanja i bolesti koje mogu uzrokovati povišenje razine kalcija u plazmi (sarkoidoza, tuberkuloza, limfom), trudnoća ili dojenje, kronična dijaliza, teško bubrežno zatajenje (procijenjena glomerularna filtracija, eGFR, < 30 mL/min/1,73 m²) i bolesti doštitnih žlijezda.

Bolesnici su bili isključeni iz daljnjeg istraživanja ukoliko je vrijednost kalcija u plazmi bila > 2,6 mmol/L ili ako je izmjerena razina vitamina D bila > 150 nmol/L.

3.2. INTERVENCIJA

Svi bolesnici liječeni u JIL-u tijekom trajanja istraživanja su bili liječeni prema važećim smjernicama i dobivali su jednaku skrb bez obzira na sudjelovanje u istraživanju. Standardna skrb je uključivala metode protektivne mehaničke ventilacije korištenjem dišnih volumena 4-8 ml/kg i ograničenjem plato-a tlaka u dišnom sustavu ≤ 30 cm H₂O. Deksametazon je primijenjen svim bolesnicima s obzirom na važeće smjernice. U bolesnika s umjerenim i teškim oblicima akutnog respiratornog distress sindroma (ARDS) u kojih se nije mogla postići zadovoljavajuća oksigenacija,

primijenjena je ventilacija u potrbušnom (engl. *prone*) položaju u ranim fazama liječenja prema Berlinskim smjernicama (30, 103). Kontraindikacije za ventilaciju u potrbušnom položaju su bile nedavne srčane, trbušne ili operacije na prsnom košu, opekline, trudnoća, nestabilni prijelomi i nestabilnost kralježnice.

Kao što je prethodno navedeno, među rezultatima dostupnih objavljenih intervencijskih istraživanja postoji značajna razlika u dozi i načinu primjene pripravaka vitamina D. Osim toga, postoje i značajne razlike u ishodima tih istraživanja vezano uz smrtnost, duljinu boravka u JIL-u, trajanje hospitalizacije i trajanje mehaničke respiracijske potpore neovisno o ukupnoj dozi i načinu primjene pripravaka vitamina D.

Prema preporukama američkog Endokrinološkog društva, smatra se da je odraslim osobama s manjkom vitamina D potrebna nadoknada od 50000 IU tjedno tijekom 8 tjedana, ili 6000 IU dnevno kako bi se postigle zadovoljavajuće razine vitamina D (84). Najveća sigurna dnevna doza vitamina D je 10000 IU (84, 92-95, 114). S obzirom da u dostupnoj literaturi nismo pronašli intervencijsko istraživanje u kojem je korištena svakodnevna nadoknada visokih doza vitamina D, u ovom istraživanju odlučili smo se za primjenu najveće preporučene i sigurne dnevne doze vitamina D od 10000 IU dnevno (115). Također, kako je COVID-19 još uvijek nedovoljno istražena bolest, rizik nuspojave izrazito visoke doze vitamina D bio nam je neprihvatljiv.

Bolesnici koji su bili randomizirani u intervencijsku skupinu su primali 10000 IU kolekalciferola dnevno (2,5 ml PLIVIT D3 © 4000 IU oralne suspenzije, 4000 IU/mL, Pliva). Pripravak je primijenjivan oralnim putem ili putem gastične sonde tijekom boravka u JIL-u ili tijekom najmanje 14 dana ukoliko su bolesnici otpušteni iz JIL-a prije 14.-og dana. Nadoknada je započeta unutar 48 sati od prijema u JIL. U slučaju da su kontrolne vrijednosti vitamina D bile > 150 nmol/L ili u slučaju izmjerenih vrijednosti kalcija u plazmi $> 2,6$ mmol/L, daljnja nadoknada je bila prekinuta.

3.2.1. RANDOMIZACIJA I ZASLIJEPLJIVANJE

Bolesnici kojima je pri prijemu u JIL izmjerena razina vitamina D < 50 nmol/L bili su podijeljeni u dvije skupine, intervencijsku i kontrolnu. Bolesnici u intervencijskoj skupini su primali nadoknadu vitamina D, dok bolesnici u kontrolnoj skupini nisu primali vitamin D. Bolesnici iz obje skupine su

imali jednaku standardnu skrb. Randomizacija je napravljena korištenjem on-line kalkulatora (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1/>, pristupljeno 30. rujna 2021.godine) u omjeru 1:1 i uz blokove veličine 10.

S obzirom na vrstu intervencije i organizaciju rada u JIL-u, nismo bili u mogućnosti zaslijepiti medicinsko osoblje koje je primjenjivalo intervenciju i koje je sudjelovalo u liječenju bolesnika. Osoba zadužena za analizu podataka je bila zaslijepljena za skupine i nije bila upoznata koja skupina je bila intervencijska, a koja je bila kontrolna.

3.3. ISHODI

Glavni ishod ovog istraživanja je bio broj dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori.

Sekundarni ishodi su bili smrtnost od svih uzroka 14., 28. i 60. dan, duljina boravka u JIL-u, trajanje hospitalizacije, učestalost bakterijskih superinfekcija, upalni biljezi (omjer neutrofila i limfocita, CRP, PCT, feritin, fibrinogen, D-dimeri) i biljezi težine bolesti ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ omjer). Svi bolesnici su bili praćeni radi mogućih neželjenih učinaka nadoknade vitamina D.

Podaci su prikupljeni iz dostupne elektroničke i papirnate medicinske dokumentacije. Prikupljeni su demografski podaci, podaci o komorbiditetima, statusu cijepljenja protiv COVID-19, kroničnoj terapiji, razinama vitamina D pri prijemu u JIL. Prikupljeni su i podaci o biljezima težine bolesti ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ omjer, SOFA zbroj) i upalnim biljezima (omjer neutrofila i limfocita, CRP, PCT, feritin, fibrinogen, D-dimeri). Svi podaci su zabilježeni prilikom prijema u JIL i prije randomizacije.

Razine vitamina D su izmjerene za potrebe istraživanja svim bolesnicima prilikom prijema u JIL. Mjerenje je obavljeno u laboratoriju KBC-a Split korištenjem ECLIA metode (Elecsys Vitamin D total III kit; Roche Diagnostics, Diegem, Belgija). Kontrolne vrijednosti su izmjerene 7. i 14. dana bolesnicima u intervencijskoj skupini. Kontrolne vrijednosti vitamina D smo u početku mjerili svim bolesnicima 7. dan boravka. Međutim, radi velikog priljeva bolesnika u JIL, velikog opterećenja laboratorijskog osoblja te relativno visokih troškova analize vitamina D, uzimajući u obzir da u do tada izmjerenim kontrolnim vrijednostima, kao ni u podacima iz dostupne literature nije bilo

porasta razine vitamina D u kontrolnoj skupini, odlučili smo se za prestanak daljnjeg mjerenja kontrolnih vrijednosti u kontrolnoj skupini.

Biljezi težine bolesti i upalni biljezi su mjereni svakog dana tijekom boravka u JIL-u te svaki treći dan nakon otpusta iz JIL-a, a za vrijeme boravka u bolnici. Procjena bakterijskih superinfekcija se temeljila na uzimanju uzoraka krvi i urina te sekreta iz dišnih puteva za mikrobiološke pretrage. Uzorci su rutinski uzeti pri prijemu u JIL i 5. dana boravka. Dodatno uzorkovanje je napravljeno ovisno o laboratorijskim i kliničkim pokazateljima koji ukazuju na moguću superinfekciju.

Ukoliko su bolesnici otpušteni iz bolnice prije 28. dana, kontaktirani su telefonskim putem 28. i 60. dan nakon prijema u JIL.

3.4. STATISTIČKA OBRADA I VELIČINA UZORKA

1. Veličina uzorka

Glavni ishod istraživanja je bio broj dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori. Pretpostavili smo da bi razlika od 2 dana u trajanju mehaničke respiracijske potpore bila značajna. Prema navedenom, izračunali smo da bi nam bilo potrebno 274 bolesnika (137 u svakoj skupini) kako bismo postigli snagu istraživanja od 80%. Unatoč velikom broju bolesnika liječenih u JIL-u tijekom razdoblja istraživanja, velik broj bolesnika je imao jedan od kriterija za isključenje te nisu mogli biti randomizirani. Osim toga, broj novoprimitih bolesnika se značajno smanjio pri kraju istraživanja te radi toga nismo mogli dostići planirani broj bolesnika. U konačnici smo u istraživanje uključili 155 bolesnika.

Statistička obrada

U statističkoj analizi uspoređeni su rezultati za glavni i za sekundarne ishode između intervencijske i kontrolne skupine. Za potrebe doktorske disertacije napravljena je dodatna analiza ishoda bolesnika koji su pri prijemu u JIL imali vrijednosti vitamina D > 50 nmol/L i koji stoga nisu bili randomizirani u intervencijsku ili kontrolnu skupinu. Rezultati ove skupine bolesnika su uspoređeni s rezultatima kontrolne skupine.

U analizi podataka korišten je R statistički program (v 4.2.1.). Deskriptivni podaci su prikazani kao srednje vrijednosti ili medijani sa standardnom devijacijom ili interkvartilnim rasponom (IQR). Kategorijske varijable su prikazane kao brojevi, udjeli ili modelirajući čimbenici u programu R. Kontinuirane varijable su prikazane kao srednje vrijednosti, medijani i standardne devijacije u tablicama i prikazane su u box-plot dijagramima. Test proporcije je korišten kako bi se utvrdila razlika preživljenja dvije skupine u određenom razdoblju. Mann-Whitney-Wilcoxon test je korišten za analizu razlika u laboratorijskim vrijednostima. Korištena je FDR korekcija za p vrijednost, a p vrijednost $< 0,05$ je smatrana značajnom.

3.5. ETIČKO ODOBRENJE

Istraživanje je provedeno u skladu s odredbama o zaštiti prava i osobnih podataka ispitanika iz Zakona o zaštiti prava pacijenata (NN 169/04, 37/07) i Zakona o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18) te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN 55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije Svjetske medicinske asocijacije (WMA 1964-2013). Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Split (br. odobrenja 500-03/21-01/170) na sjednici održanoj 29. studenog 2021. godine.

Istraživanje je prijavljeno u registar kliničkih istraživanja Clinicaltrials.gov pod registracijskim brojem NCT05384574.

3.6. STRATEGIJA PRETRAŽIVANJA LITERATURE

Kao dio doktorske disertacije napravljeno je pretraživanje literature. U analizu smo uključili randomizirana klinička istraživanja koja su uključivala nadoknadu vitamina D kao intervenciju. Nismo postavili ograničenja za vrstu pripravka, korištenu dozu niti za način primjene. Nismo postavili ograničenja ni za analizirane primarne ni sekundarne ishode. U analizu smo uključili i objavljena pilot istraživanja ukoliko su u njima prikazani rezultati. Ukoliko smo pronašli i pilot istraživanje i objavljeno puno istraživanje napravljeno prema tom pilot istraživanju s istim ishodima, u analizu smo uključili objavljeno istraživanje, a pilot istraživanje je isključeno iz daljnje

analize. Iz analize su isključena istraživanja u kojima su ispitanici bila djeca i istraživanja koja nisu objavljena na engleskom jeziku.

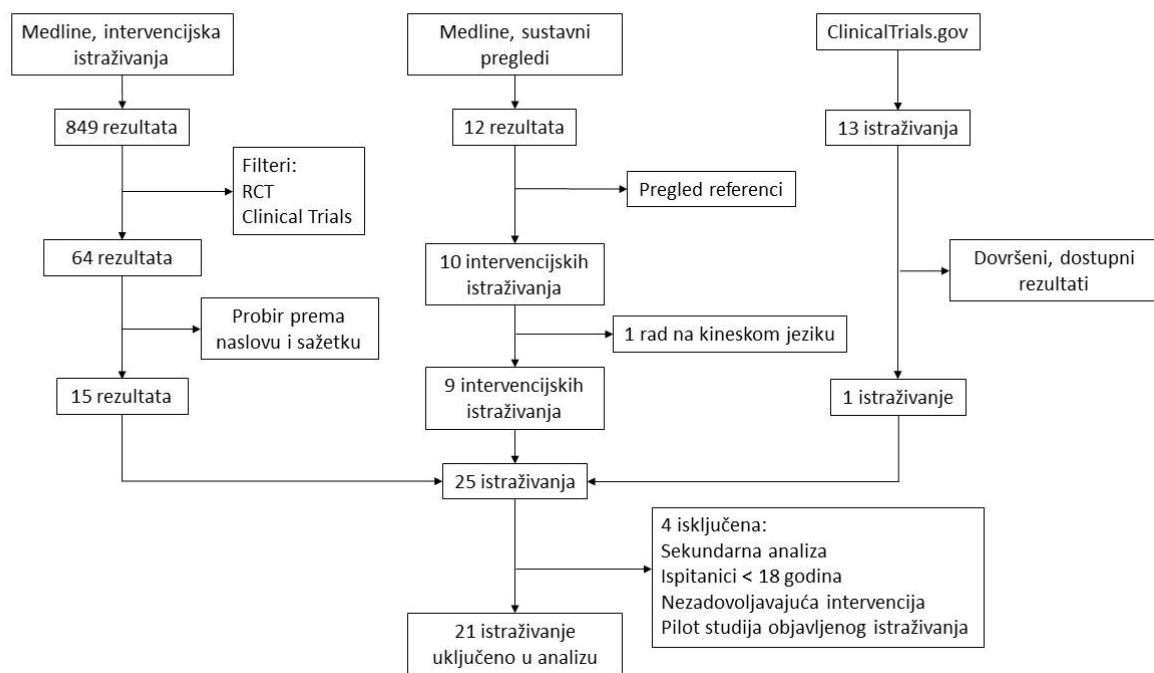
Putem PubMeda pretražena je baza podataka Medline. Pretraživanje je obavljeno u listopadu 2023. godine. Pretraživanje je napravljeno za ključne pojmove „*Intensive care unit*“, „*Critically ill*“ i „*Vitamin D supplementation*“ te za njihove MeSH odrednice. U pretraživanju je korišten filter za intervencijska istraživanja i za istraživanja objavljena na engleskom jeziku. Ovim pretraživanjem pronađena su 849 istraživanja. Nakon uključivanja filtera za randomizirana klinička istraživanja („*Clinical trials*“, RCT) preostala su 64 rezultata. Probirom naslova i sažetaka pronađenih istraživanja, preostalo je 15 istraživanja koja odgovaraju kriterijima uključivanja.

U sklopu pregleda literature, pregledane su i reference sustavnih pregleda (112, 116-118). Ovim putem je pronađeno 10 novih istraživanja, od kojih je jedan bio objavljen na kineskom jeziku te je isključen iz daljnje analize.

Dodatno je pretražen i registar kliničkih istraživanja Clinicaltrials.com. Pretraživanje je obavljeno 21. listopada 2023. godine. Od 13 pronađenih istraživanja, jedno istraživanje je imalo status dovršenoga i navedene rezultate te je uključeno u analizu.

Detaljnijom analizom 25 odabranih istraživanja koja zadovoljavaju kriterije uključivanja u analizu, 4 istraživanja su isključena iz daljnje analize. Jedan rad je prikazao sekundarnu analizu podataka iz primarnog istraživanja, jedno istraživanje je uključivalo ispitanike mlađe od 18 godina, jedno istraživanje je bilo objavljeno pilot istraživanje s istim ishodima kao i objavljeno završeno istraživanje i u jednom istraživanju su kao intervencija korišteni vitaminski pripravci za parenteralnu nadoknadu vitamina i hormona (Vitalipid, Soluvit) u kojima je vitamin D suplementiran u kombinaciji s drugim tvarima i elementima (119-122).

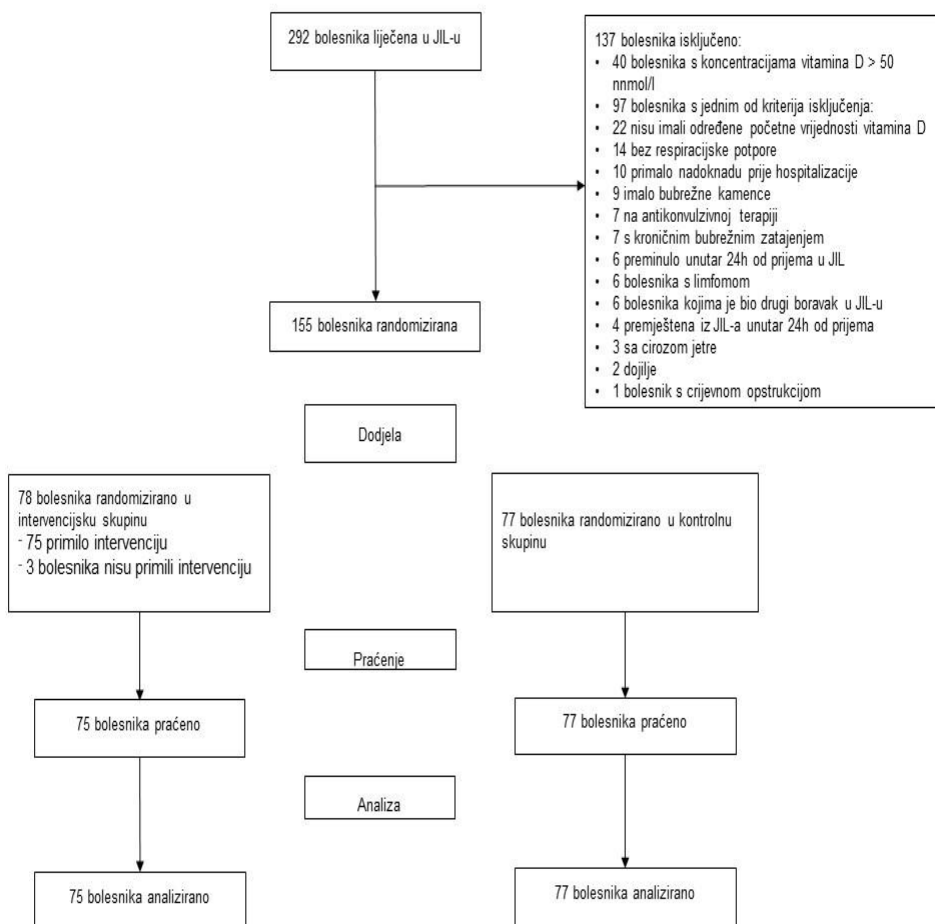
Nakon probira, preostalo je 21 istraživanje koje je uključeno u analizu. Dijagram tijeka je prikazan na Slici 4.



Slika 4. Dijagram tijeka pretraživanja literature o nadoknadi vitamina D u JIL-u.

4. REZULTATI

Tijekom razdoblja istraživanja ukupno su 292 bolesnika bila liječena u Jedinici intenzivnog liječenja. Od ukupnog broja bolesnika, 137 ih je ispunjavalo jedan ili više kriterija za neuključenje u istraživanje te je 155 bolesnika uključeno u randomizirano kliničko istraživanje. Od tog broja, 78 bolesnika je randomizirano u intervencijsku, a 77 u kontrolnu skupinu. Dijagram tijeka je prikazan na Slici 5. Tijekom istraživanja, 3 bolesnika iz intervencijske skupine su isključena jer nisu dobivali nadoknadu prema protokolu istraživanja.



Slika 5. Dijagram tijeka randomiziranog kontroliranog istraživanja.

Demografski podaci bolesnika uključenih u analizu su prikazani u Tablici 1.

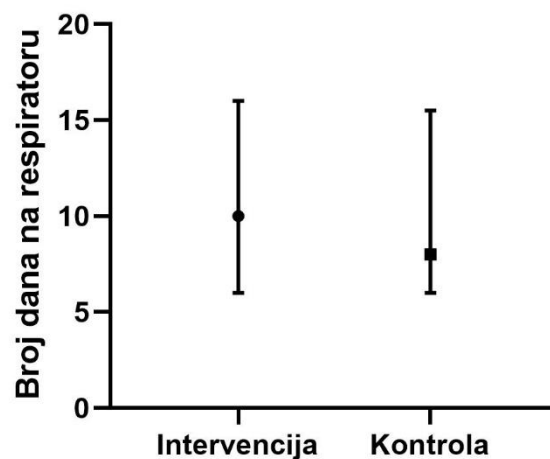
Tablica 1. Demografski podaci bolesnika uključenih u randomizirano kliničko istraživanje.

	Ukupno	Intervencijska skupina	Kontrolna skupina
Broj bolesnika	152	75	77
Spol			
Muškarci	110 (72,4)	52 (69,3%)	58 (75%)
Žene	42 (17,6)	23 (30,7%)	19 (25%)
Dob, godine (prosjek, min, max)	64,95 (39-82)	65 (59-71)	65,5 (39-82)
Cijepljeni	37 (24,3)	20 (26,7%)	17 (22%)
Koncentracija vitamina D, nmol/l	24,4 (16,95-36,8)	25,3 (17,9-36,9)	27,3 (16-37,3)
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	75 (65-93)	75 (65-93)	75,5 (65,2-92,5)
WHO ljestvica kliničkog oporavka	8 (8-9)	9 (8-9)	9 (8-9)
Komorbidity			
Arterijska hipertenzija	69 (45,4%)	31 (41,93%)	38 (49,3%)
Dijabetes melitus	42 (27,6%)	21 (28%)	21 (27,3%)
Kardiovaskularne bolesti	34 (2,4%)	14 (18,7%)	20 (26%)
Cerebrovaskularne bolesti	8 (5,3%)	5 (6,7%)	3 (4%)
Kronične plućne bolesti	15 (9,9%)	8 (10,7%)	7 (9,1%)
Maligne bolesti	9 (5,9%)	7 (9,3%)	2 (2,6%)
Autoimune bolesti	37 (24,3%)	19 (25,3%)	18 (23,4%)
Broj komorbiditeta			
Bez komorbiditeta	28 (18,4%)	15 (20%)	13 (16,9%)
1	58 (38,2%)	29 (38,7%)	29 (37,7%)
2	44 (28,9%)	20 (26,7%)	24 (31,1%)
≥ 3	22 (14,5%)	11 (14,7%)	11 (14,3%)

Podaci su prikazani kao brojevi (postoci), srednje vrijednosti (raspon) ili medijani (interkvartilni raspon); PaO₂/FiO₂, omjer parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi i udjela kisika u udahnutom zraku; WHO, Svjetska zdravstvena organizacija.

4.1. VITAMIN D I TRAJANJE MEHANIČKE RESPIRACIJSKE POTPORE

U analizi primarnog ishoda, ukupan medijan trajanja mehaničke respiracijske potpore je bio 9 dana (IQR 6-16). Razlika u trajanju mehaničke respiracijske potpore između dvije skupine je prikazana na Slici 6. Bolesnici u intervencijskoj skupini su imali medijan trajanja mehaničke respiracijske potpore 10 dana (IQR 6-13,9), a bolesnici u kontrolnoj skupini 8 dana (IQR 6-12, $p = 0,283$).



Slika 6. Usporedba trajanja mehaničke respiracijske potpore između intervencijske i kontrolne skupine. Na slici su prikazani medijani s interkvartilnim rasponom ($p = 0,283$).

4.2. VITAMIN D I SEKUNDARNI ISHODI

Analiza preživljenja je pokazala kako nije bilo značajne razlike između dvije skupine bolesnika: 14-dnevno preživljenje u intervencijskoj skupini je bilo 89%, dok je u kontrolnoj skupini bilo 86,5% ($p = 0,606$). Preživljenje nakon 28 i 60 dana je bilo 75,4% i 73,8% u intervencijskoj skupini, dok je u kontrolnoj skupini bilo 71,4% ($p = 0,561$) i 59,4% ($p = 0,131$).

Median boravka u JIL-u bolesnika iz intervencijske skupine je bio 13 (IQR 9-20) dana, dok je median boravka u kontrolnoj skupini bio 12 (IQR 8-20) dana. Navedena razlika se nije pokazala statistički značajnom ($p = 0,515$). U pogledu trajanja hospitalizacije, također se nije pokazala značajna razlika između dvije skupine. Median boravka u intervencijskoj skupini je bio 19 (IQR 14-25,8) dana, dok je u kontrolnoj skupini bio 18 (IQR 12-25) dana ($p = 0,757$).

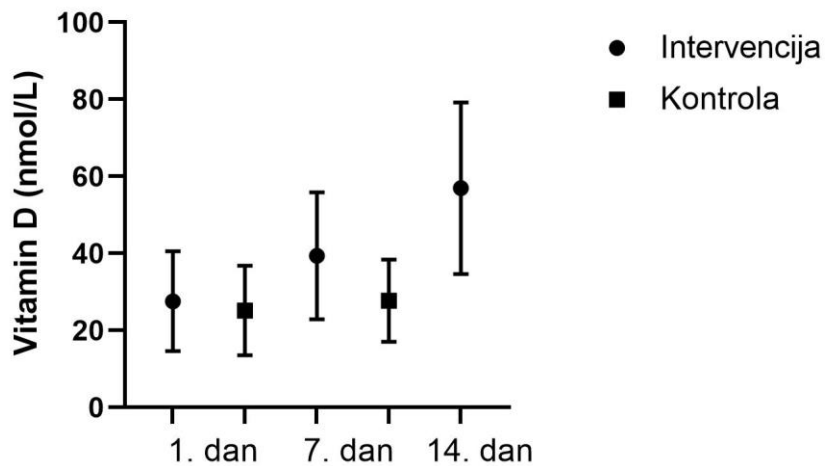
Analiza sekundarnih ishoda je prikaza u Tablici 2.

Tablica 2. Analiza ishoda između intervencijske i kontrolne skupine.

	Intervencijska skupina	Kontrolna skupina	P vrijednost
Broj dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori	10 (6-15)	8 (6-15)	0,283
Broj dana provedenih u JIL-u	13 (9-20)	12 (8-20)	0,515
Broj dana provedenih u bolnici	19 (14-25,8)	18 (12-25)	0,757
Preživljenje nakon 14 dana (%)	66 (89)	64 (86,5)	0,606
Preživljenje nakon 28 dana (%)	52 (75,4)	50 (71,4)	0,561
Preživljenje nakon 60 dana (%)	45 (73,8)	38 (59,4)	0,131
Broj bakterijskih superinfekcija (N, %)	56 (74,6)	55 (71,4)	0,789

Podaci su prikazani kao medijani (interkvartilni raspon) i brojevi (postoci); JIL, Jedinica intenzivnog liječenja;

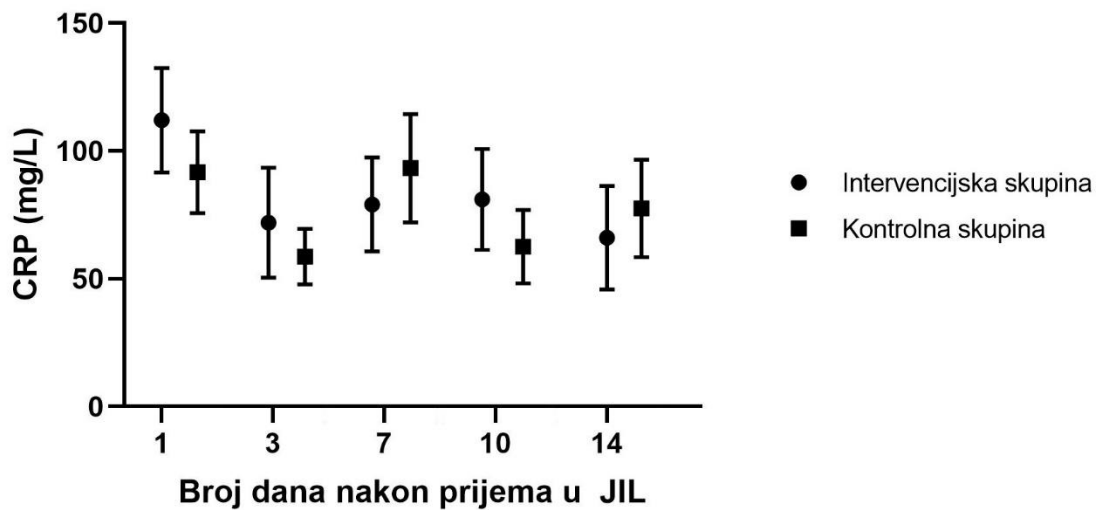
Što se tiče razine vitamina D, srednja vrijednost vitamina D pri prijemu u JIL za sve bolesnike je bila $27,1 \pm 12,4$ nmol/L. Srednja vrijednost vitamina D u intervencijskoj skupini bila je 28 ± 13 nmol/L, dok je srednja vrijednost vitamina D u kontrolnoj skupini bila 25 ± 12 nmol/L ($p = 0,3017$). Kontrolne vrijednosti u intervencijskoj skupini nakon 7 i 14 dana od prijema u JIL bile su $38,5 \pm 15,5$ nmol/L i $56,2 \pm 23$ nmol/L s porastom od 42% i 106% u odnosu na početne vrijednosti. U kontrolnoj skupini, za 29 (37,7%) bolesnika mjerili smo kontrolne vrijednosti vitamina D nakon 7 dana. Nije bilo razlike u usporedbi s početnim vrijednostima (srednja vrijednost 28 ± 11 nmol/L, $p = 0,734$). U usporedbi kontrolnih vrijednosti vitamina D sedmog dana boravka između intervencijske i kontrolne skupine, pokazao se značajan porast koncentracije vitamina D u intervencijskoj skupini ($p = 0,0005$). Usporedba razina vitamina D prikazana je na Slici 7.



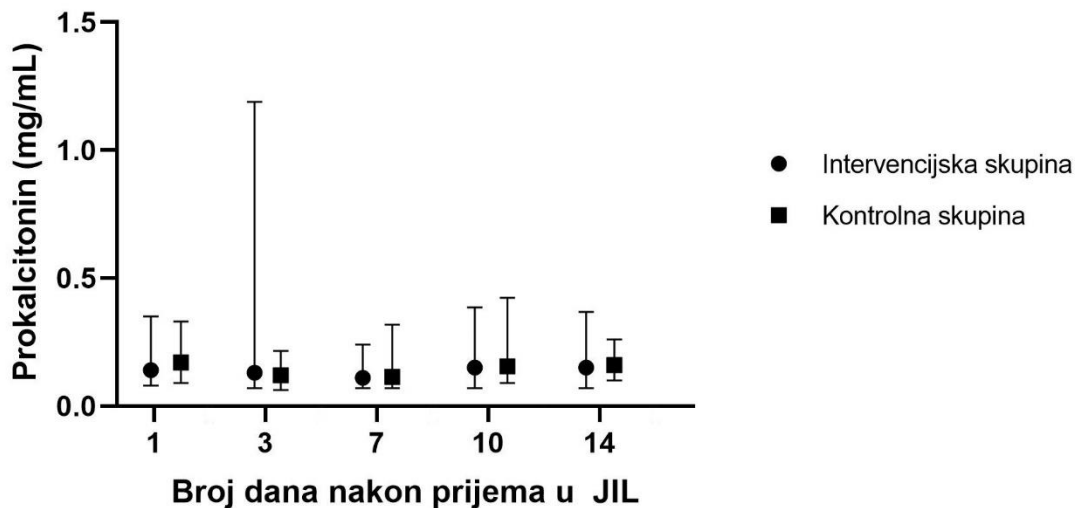
Slika 7. Usporedba razine vitamina D između intervencijske i kontrolne skupine prvog, sedmog i četrnaestog dana nakon prijema u JIL. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm SD. Pri prijemu u JIL nije bilo značajne razlike u koncentraciji vitamina D između dvije skupine ($p = 0,3017$), dok je sedmog dana koncentracija vitamina D u intervencijskoj skupini bila značajno veća ($p = 0,0005$). Četrnaestog dana su prikazani rezultati za intervencijsku skupinu. Razina vitamina D je bila značajno viša u odnosu na početne vrijednosti ($p < 0,0001$).

U analizi ishoda vezanih uz težinu bolesti i upalne markere, iako se pokazala razlika u trendu u vrijednostima CRP-a, prokalcitonina i omjera limfocita i neutrofila, ta razlika se nije pokazala statistički značajnom. Analiza i usporedba ovih ishoda je prikazana u Slikama 8.-12.

Tijekom istraživanja nije zabilježena nijedna neželjena reakcija vezana uz nadoknadu vitamina D.

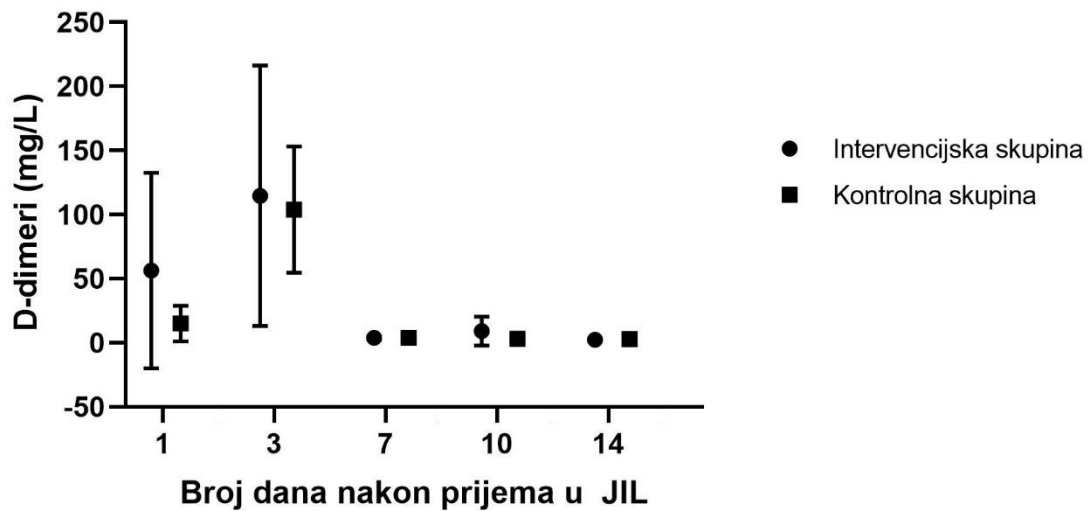


Slika 8. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja CRP-a tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s niskom koncentracijama vitamina D koji su primali nadoknadu vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.

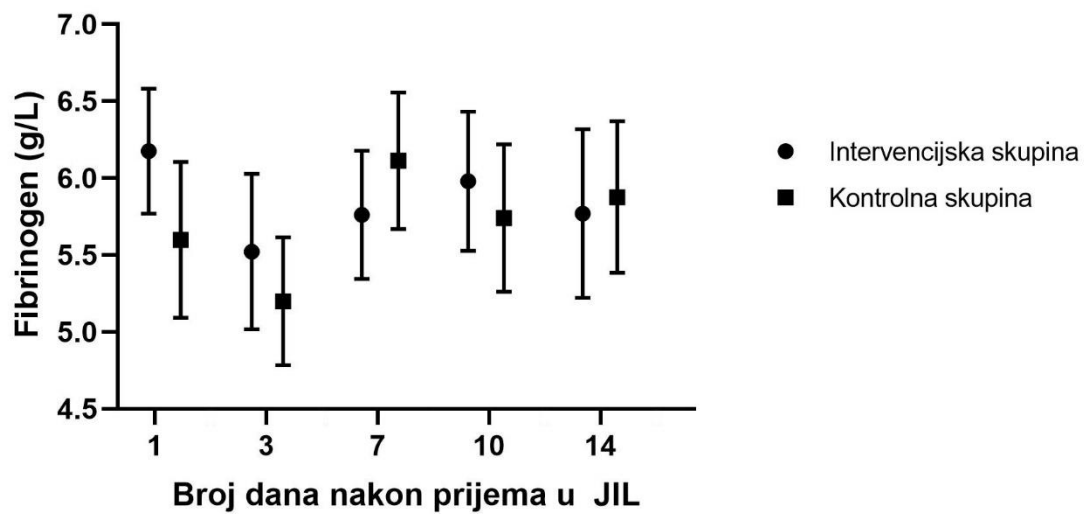


Slika 9. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja procalcitonina tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s niskom koncentracijama vitamina D koji su primali nadoknadu vitamina D i

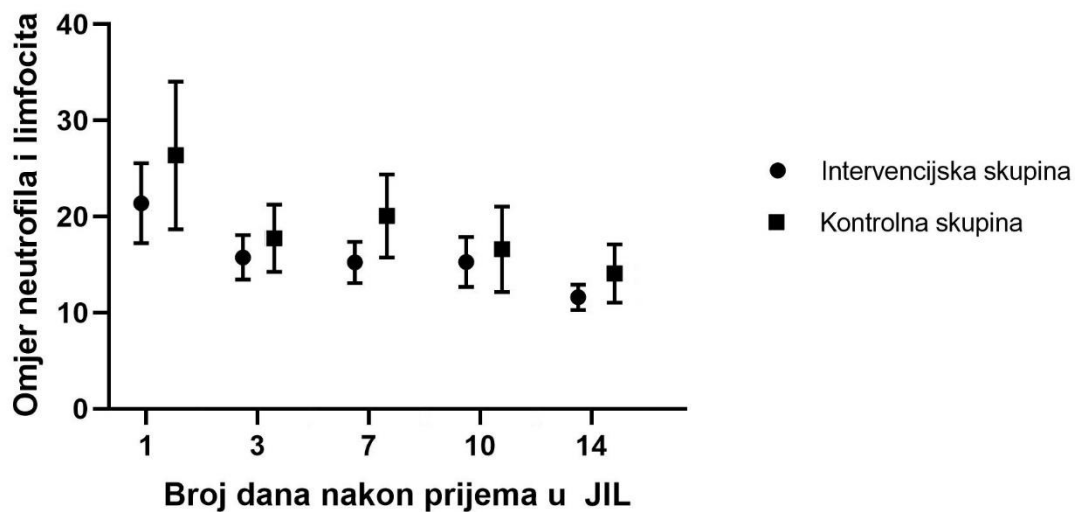
onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu. Rezultati su prikazani kao medijani s interkvartilnim rasponom. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



Slika 10. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja D-dimera tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s niskom koncentracijama vitamina D koji su primali nadoknadu vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



Slika 11. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja fibrinogena tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s niskom koncentracijama vitamina D koji su primali nadoknadu vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



Slika 12. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja omjera neutrofila i limfocita tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s niskom koncentracijama vitamina D koji su primali nadoknadu vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.

4.3. USPOREDBA BOLESNIKA S NORMALNIM RAZINAMA VITAMINA D

Kao sastavni dio doktorske disertacije dodatno smo analizirali ishode bolesnika iz skupine s normalnim razinama vitamina D (> 50 nmol/L, 40 bolesnika) i bolesnika s niskim razinama vitamina D koji nisu dobivali nadoknadu. Demografski podaci ovih skupina su prikazani u Tablici 3.

Tablica 3. Demografski podaci bolesnika s normalnim razinama vitamina D i onih s manjkom vitamina D koji nisu primali nadoknadu.

	Ukupno	Bolesnici s normalnom koncentracijom vitamina D	Bolesnici s niskom koncentracijom vitamina D
Broj bolesnika	117	40	77
Spol			
Muškarci	94 (80,3%)	36 (90%)	58 (75%)
Žene	23 (19,7%)	4 (10%)	19 (25%)
Dob, godine (prosjek, min, max)	66 (61, 74)	66 (37, 80)	65,5 (39, 82)
CIjepljeni	27 (23,1%)	10 (25%)	17 (22%)
Koncentracija vitamina D, nmol/l	37,5 (23,2-54,5)	60,2 (52,7-70,5)	27,3 (16-37,3)
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	77 (66-94)	78 (69-96,5)	75,5 (65,3-92,5)
Komorbiditeti			
Arterijska hipertenzija	58 (49,6%)	20 (50%)	38 (49,3%)
Dijabetes melitus	33 (28,2%)	12 (30%)	21 (27,3%)
Kardiovaskularne bolesti	29 (24,8)	9 (22,5%)	20 (26%)
Cerebrovaskularne bolesti	7 (5,9%)	4 (10%)	3 (4%)
Kronične plućne bolesti	9 (7,7%)	2 (5%)	7 (9,1%)
Maligne bolesti	4 (3,4%)	2 (5%)	2 (2,6%)
Autoimune bolesti	25 (21,4%)	7 (17,5%)	18 (23,4%)
Broj komorbiditeta			
Bez komorbiditeta	25 (21,4%)	12 (30%)	13 (16,9%)
1	40 (34,2%)	11 (27,5%)	29 (37,7%)
2	33 (28,2%)	9 (22,5%)	24 (31,1%)
≥ 3	19 (16,2%)	8 (20%)	11 (14,3%)

Podaci su prikazani kao brojevi (postoci), srednje vrijednosti (raspon) ili medijani (interkvartilni raspon); JIL, Jedinica intenzivnog liječenja.

Analiza kliničkih ishoda ove dvije skupine je prikazana u Tablici 4.

Median vremena provedenog na strojnoj ventilaciji je bio 9,5 dana (IQR 5-16,2) u bolesnika s normalnim razinama vitamina D dok je u skupini s niskim vitaminom D median bio 8 dana (IQR 6-15). U skupini bolesnika s normalnim razinama vitamina D median boravka u JIL-u je bio 12,5 dana (IQR 9-18,2), a boravka u bolnici 18 dana (IQR 14,5-22,5). U skupini bolesnika s niskom razinama vitamina D, median boravka u JIL-u je bio 12 dana (IQR 8-20), a boravka u bolnici 18 dana (IQR 12-25). U nijednom od navedenih ishoda razlika nije bila statistički značajna.

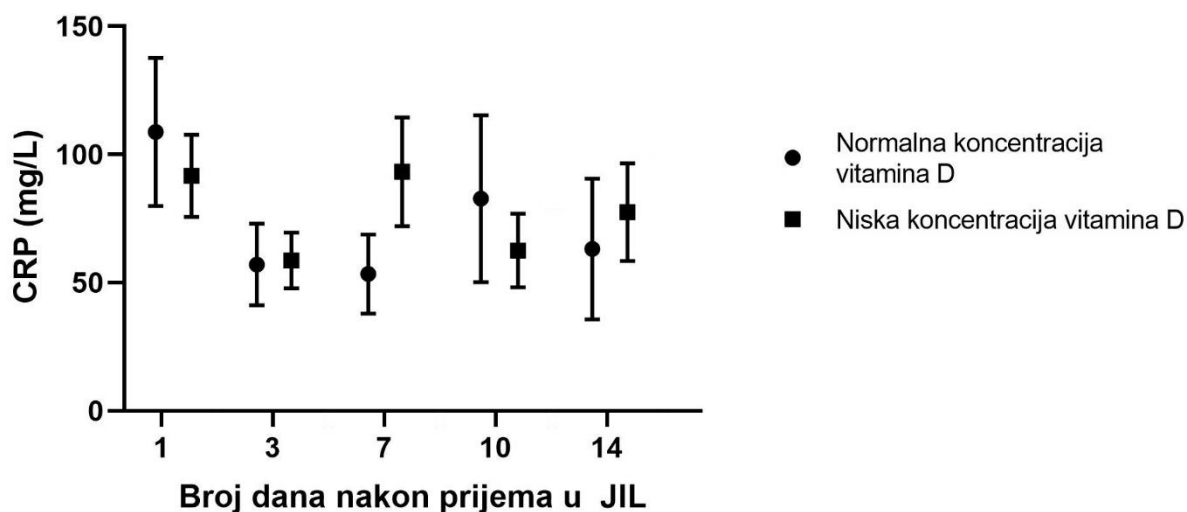
Ukupno preživljenje nakon 14, 28 i 60 dana je bilo 85,5%, 59,8% i 47,9%. U usporedbi preživljenja bolesnika iz ove dvije skupine, također nije bilo značajne razlike. Preživljenje nakon 14, 28 i 60 dana u skupini bolesnika s normalnim razinama vitamina D je bilo 90%, 50% i 46%, dok je preživljenje u navedenim razdobljima u bolesnika s niskim razinama vitamina D bilo 83%, 64,9% i 50,7%.

Tablica 4. Analiza ishoda između skupine bolesnika koji su imali normalne razine vitamina D i bolesnika koji su imali manjak vitamina D, a koji nisu primali nadoknadu.

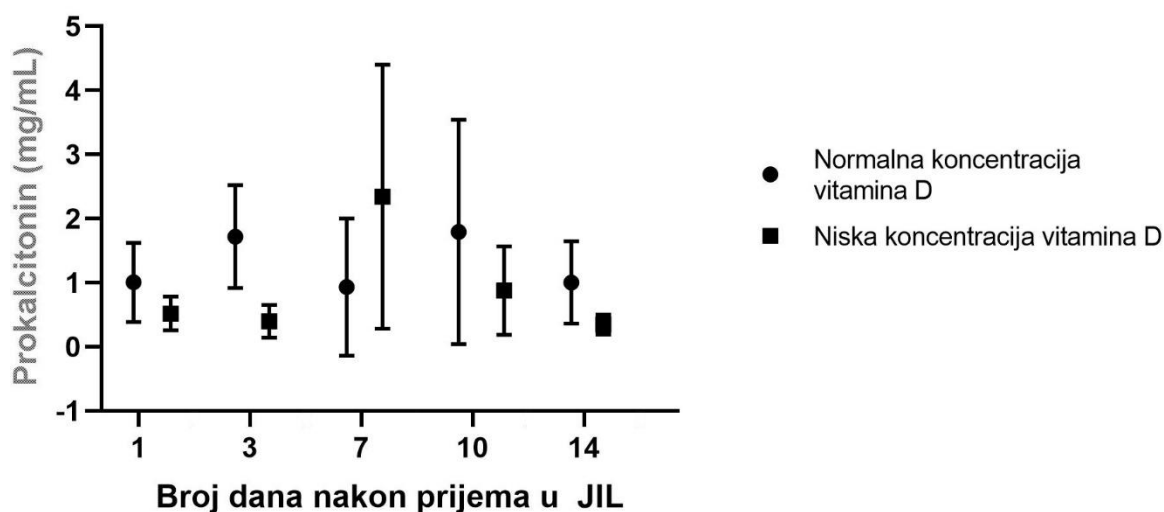
	Bolesnici s normalnom razinom vitamina D	Bolesnici s niskom razinom vitamina D koji nisu primali nadoknadu	P vrijednost
Broj dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori	9,5 (5-17)	8 (6-16)	0,9805
Broj dana provedenih u JIL-u	13 (9-19)	12 (8-20)	0,8759
Broj dana provedenih u bolnici	18 (14-23)	18 (12-25)	0,8716
Preživljenje nakon 14 dana (%)	36 (90)	64 (83)	0,525
Preživljenje nakon 28 dana (%)	20 (50)	50 (64,9)	0,086
Preživljenje nakon 60 dana (%)	18 (46)	39 (50,7)	0,562
Broj bakterijskih superinfekcija (N, %)	28 (70)	55 (71,4)	0,873

Podaci su prikazani kao medijani (interkvartilni raspon) i brojevi (postoci); JIL, Jedinica intenzivnog liječenja;

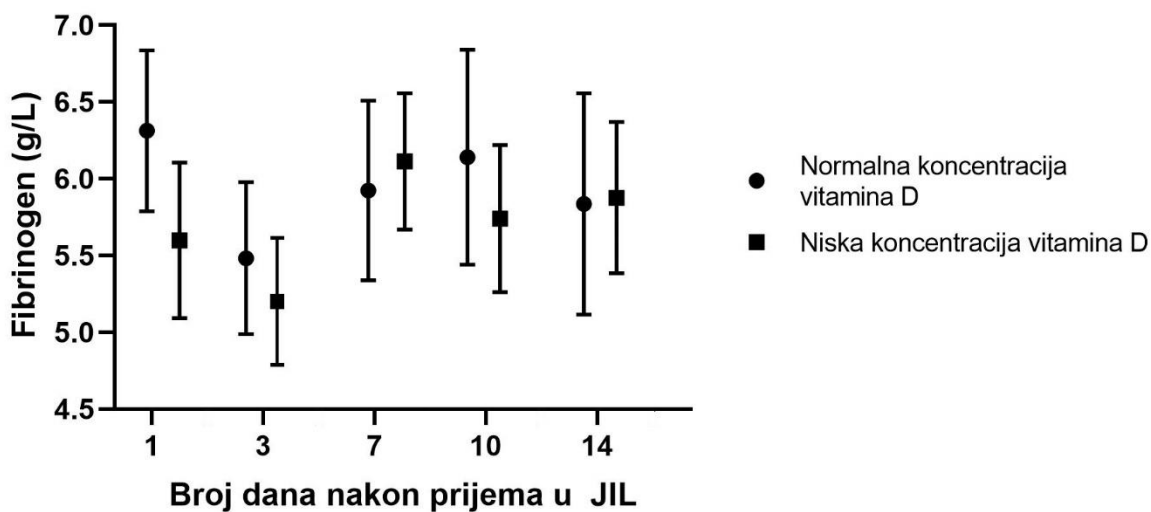
U analizi biljega težine bolesti, nije se pokazala značajna razlika u vrijednostima ni u trendovima ni za jedan od analiziranih pokazatelja. Ti rezultati su prikazani u Slikama 13.-17.



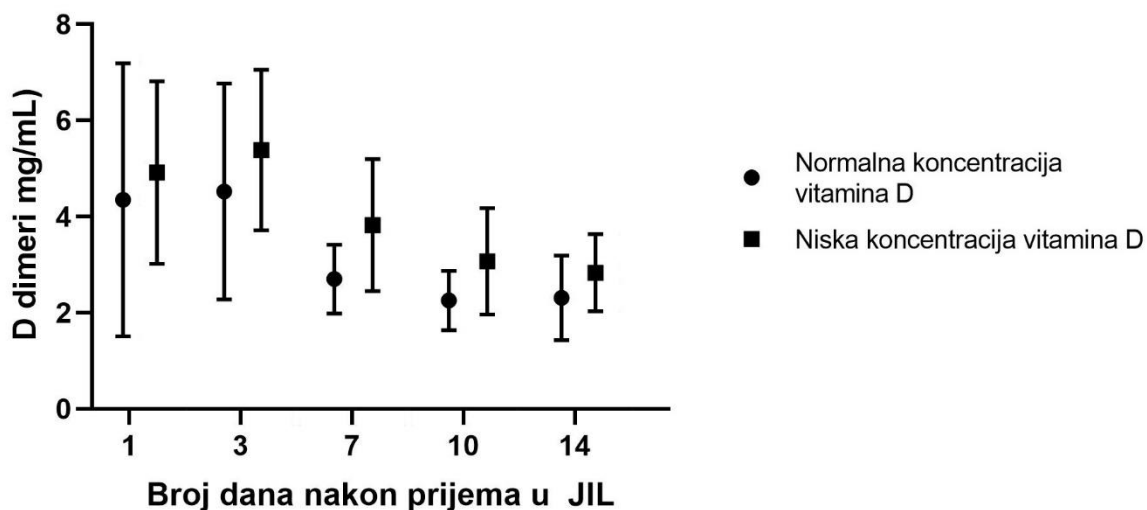
Slika 13. Usporedba srednje vrijednosti i kretanja CRP-a tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s normalnim koncentracijama vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu vitamina D. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



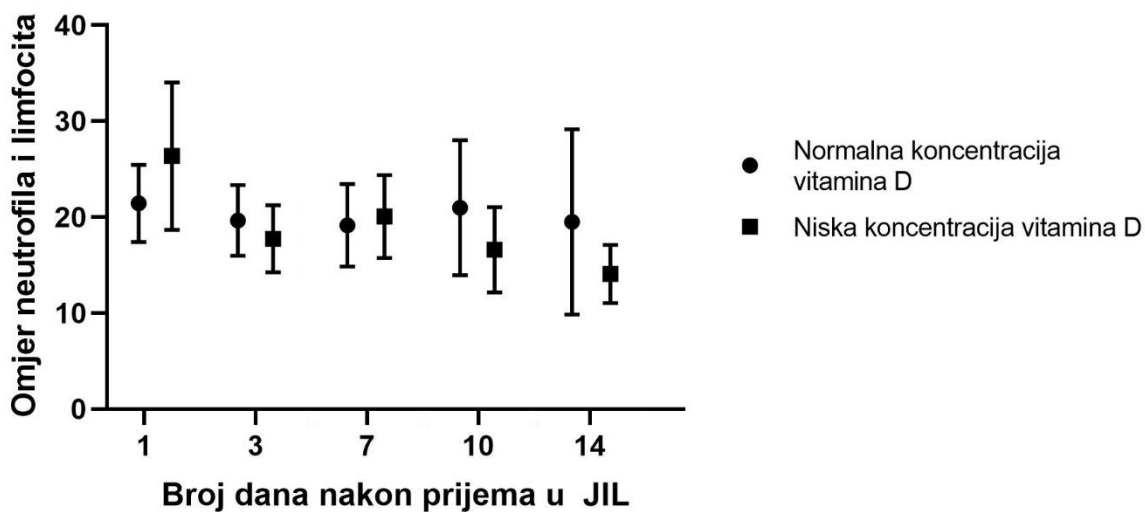
Slika 14. Usporedba srednje vrijednosti i kretanja prokalcitonina tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s normalnim koncentracijama vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu vitamina D. Rezultati su prikazani kao medijani s interkvartilnim rasponima. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine



Slika 15. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja fibrinogena tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s normalnim koncentracijama vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu vitamina D. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



Slika 16. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja D-dimera tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s normalnim koncentracijama vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu vitamina D. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.



Slika 17. Usporedba prosječne vrijednosti i kretanja omjera neutrofila i limfocita tijekom 14 dana od prijema u JIL između bolesnika s normalnim koncentracijama vitamina D i onih s niskim koncentracijama koji nisu primali nadoknadu vitamina D. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i 95% CI. Nije bilo značajne razlike između dvije skupine.

4.4. PREGLED LITERATURE O NADOKNADI VITAMINA D U JIL-U

U analiziranim istraživanjima intervencija nadoknade vitamina D je provođena na različitim skupinama bolesnika i s različitim udjelom bolesnika koji su bili na mehaničkoj respiracijskoj potpore. U pet istraživanja uključeni su bolesnici koji su imali razine vitamina D < 50 nmol/L, u četiri istraživanja oni koji su imali vrijednosti vitamina D < 75 nmol/L, dva istraživanja su analizirali bolesnike bez obzira na razine vitamina D dok u preostalim istraživanjima razine vitamina D nisu navedene među kriterijima za uključivanje bolesnika u istraživanje. Prosječna početna vrijednost vitamina D u intervencijskim skupinama je bila 38,3 nmol/L.

Intervencijska skupina je u najvećem broju istraživanja uspoređivana s placebom, u dva istraživanja nije bilo kontrolne skupine, dok je u jednom istraživanju intervencijska skupina uspoređena sa skupinom bolesnika koji su imali vrijednosti vitamina D unutar referentnih vrijednosti.

Najčešće korištena intervencija u analiziranim istraživanjima je bila nadoknada kolekalciferola u 17 istraživanja. U 16 istraživanja nadoknada je vršena peroralnim ili enteralnim putem, u pet istraživanja intramuskularnim, a u dva istraživanja intravenskim putem. Što se tiče doza vitamina D koje su korištene, pokazala se značajna varijabilnost između istraživanja. Vitamin D je najčešće primjenjivan u jednokratnim dozama koje su bile od 8000 IU do 540 000 IU. U istraživanjima u kojima su korištene ponavljane doze, u nekim slučajevima su korištene udarne jednokratne doze nakon čega je uslijedila primjena vitamina D tijekom nekoliko dana, tjedana ili mjeseci. U drugim slučajevima su korištene ponavljane doze vitamina D bez početne udarne doze. Median tjedne kumulativne doze je bio 300 000 IU (IQR 200 000 – 510 000 IU).

U pogledu porasta razine vitamina D kontrolne vrijednosti su mjerene u različitim razdobljima nakon intervencije. Porast vitamina D > 50 nmol/L se pokazao u 15 intervencija, dok u 9 intervencija nije bilo porasta vitamina D iznad referentnih vrijednosti bez obzira na dozu ili način primjene. Sedmog dana od intervencije median porasta početne vrijednosti vitamina D je bio 66,5% (IQR 56,7-114,2), dok je 14. dan median porasta bio 68% (IQR 39-83).

Klinički značajan primarni ishod (smrtnost, trajanje mehaničke respiracijske potpore, duljina boravka u JIL-u, trajanje hospitalizacije) je bio naveden u 8 od analiziranih 21 istraživanja. Među ostalim istraživanjima, kao glavni ishod u pet istraživanja su navedeni biljezi stanične imunosti i

upalni biljezi, razina vitamina D nakon intervencije je bila glavni ishod u pet istraživanja, antioksidativni kapacitet u dva istraživanja i biljezi metabolizma glukoze u jednom istraživanju. U pogledu smrtnosti, u 4 istraživanja se pokazao bolji ishod u intervencijskoj skupini, dok je najveći broj istraživanja pokazao kako nema razlike u smrtnosti u skupini bolesnika koji su primali nadoknadu vitamina D. U pogledu duljine boravka u JIL-u, u dva istraživanja se pokazalo kako bolesnici koji su primali nadoknadu vitamina D imaju kraći boravak od onih koji tu nadoknadu nisu primali. Slični su bili i rezultati u pogledu trajanja hospitalizacije gdje je samo jedno istraživanje pokazalo bolji ishod u intervencijskoj skupini. Najveći broj istraživanja je pokazao i kako nema razlike u duljini trajanja mehaničke ventilacije.

Popis analiziranih istraživanja i njihove glavne značajke su navedeni u Prilogu 2.

5. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da promjena serumske koncentracije vitamina D uzrokovana aktivnom nadoknadom vitamina D kod bolesnika s teškim oblikom COVID-19 koji su zahtijevali invazivnu ili neinvazivnu mehaničku respiracijsku potporu i koji su liječeni u jedinici intenzivnog liječenja nije smanjila broj dana na mehaničkoj respiracijskoj potpori u usporedbi s bolesnicima koji nisu dobivali nadoknadu vitaminom D.

Osim toga, među našim ispitanicima nije bilo razlike između dvije skupine u broju dana boravka u JIL-u, duljini boravka u bolnici ili u stopi bakterijskih superinfekcija. Nije bilo razlike ni u stopama preživljenja nakon 14, 28 ili 60 dana.

Sama bolest COVID-19, kao nova i nepoznata, predstavlja izazov, a vitamin D spada u lako dostupne, jeftine i potencijalno učinkovite lijekove. Kod organiziranja randomiziranih kontroliranih istraživanja vezanih uz mikronutrijente u koje spada i vitamin D, treba imati na umu da će odgovor na nadoknadu ovisiti o početnom statusu nutrijenta kod ispitanika. Krivulja doza-odgovor kod vitamina D je sigmoidnog oblika i poželjno se zadržati na lijevoj strani te krivulje, odnosno u području gdje nadoknada uzrokuje porast koncentracije bez opasnosti od toksične doze (123). Krajnji lijevi kraj krivulje često je ravan, tj. povećanje unosa ili doze proizvodi mali učinak dok unos ne dosegne uzlazni dio krivulje. Suprotno tome, na desnom kraju krivulje sve veći unos imat će jako malen učinak na povećanje koncentracije jer su sustavi biokemijskog odgovora postali prezasićeni (123). Nelinearna priroda krivulje znači da dvostruka doza neće proizvesti dvostruko veći odgovor (94, 123). Početne razine vitamina D bolesnika iz našeg istraživanja bile su blago izvan krajnjeg lijevog kraja krivulje (24,4 nmol/L (IQR 16,95–36,8)).

Nedostatak vitamina D definiran od strane američkog Endokrinološkog društva, kao i hrvatskog, označava koncentracije manje od < 50 nmol/L (83, 84). Prevalencija nedostatka vitamina D kod zdrave populacije varira ovisno o zemljopisnom području od 24-40% (124, 125). Kod kritično oboljelih taj postotak se kreće od 40-70%, a nedostatak je povezan s većim mortalitetom i morbiditetom u pedijatrijskoj i odrasloj populaciji bolesnika u jedinicama intenzivnog liječenja (89, 126). S obzirom na nepostojanje smjernica za nadoknadu vitamina D kod COVID-19 bolesnika, preporuka je držati se maksimalnih sigurnih doza nadoknade kolekalciferolom kao kod bolesnika s drugim kritičnim bolestima (94, 95). Tijekom pandemije, objavljene su razne europske smjernice nadoknade vitamina D temeljene na prikupljenim spoznajama, ali i dalje se ne preporučuju visoke udarne doze vitamina D od 100 000 IU (94). Prema navedenom, dnevni i kumulativni (tjedni,

dvotjedni, mjesečni) režimi doziranja nadoknade s kolekalciferolom u cilju postizanja i održavanja optimalne koncentracije 25(OH)D su komplementarni (1000 IJ/dan ili 7000 IJ/tjedan ili 30 000 IJ/mjesec), učinkoviti i sigurni (94).

Nadoknada vitamina D kod akutnih respiratornih bolesti pokazala se kao učinkovita mjera prevencije ili ublažavanja kliničke slike bolesti (81, 127, 128). Međutim, doza vitamina D i intervali doziranja nisu jasno definirani unatoč različitim protokolima nadoknade u dosadašnjim istraživanjima (78, 81, 129-133). Visoke enteralne ili pareneteralne doze nadoknade vitamina D nisu pokazale jasnu korist na različite kliničke ishode u brojnim istraživanjima (113, 130-133). S druge strane, postoje istraživanja koja su pokazala pozitivne učinke svakodnevne nadoknade vitamina D na akutne respiratorne bolesti (127). Nadalje, sustavni pregled Pal i sur. pokazao je da nadoknada vitamina D poboljšava kliničke ishode kod pacijenata s COVID-19 bolesti (111). Većina analiziranih studija koristila je oralni kolekalciferol s različitim kumulativnim dozama u rasponu od 80 000 IJ do 400 000 IJ (111). Ovaj je sustavni pregled također pokazao da nije bilo razlike u ishodima pri primjeni visoke i niske kumulativne doze, s tim da se kao niske kategoriziraju kumulativne doze vitamina D manje od 200 000 IJ (111).

Zbog kratkog poluživota vitamina D u cirkulaciji od 12-24 sata, čak i visoke bolusne doze vitamina D od 50 000 IJ do 100 000 IJ uklanjaju se iz cirkulacije unutar tjedan dana, čineći vitamin D praktično nemjerljivim u cirkulaciji (133-135). Pretpostavljalo se da se nakon visoke bolusne doze vitamina D pohranjuje u masnom tkivu da bi se kasnije oslobodio, ali pokazano je da se to ne događa jer se u sistemske cirkulaciji ne pojavljuje ponovno u mjerljivim koncentracijama (136, 137). Iz navedenog proizlazi da bi dnevna nadoknada vitamina D bila najbolji izbor za održavanje stalne koncentracije u krvi (138, 139). Takozvane „megadoze“ vitamina D do danas se nisu pokazale veoma učinkovite, no dolaze u obzir u kontekstu kritično oboljelih bolesnika uz kasnije doze održavanja (89, 140). Odgovor na primjenu takvih doza u kritično oboljelih bolesnika nije dovoljno farmakokinetički razjašnjen i nedostaju meta-analize, ali poznato je da kritično oboljeli imaju slabiji odgovor na nadoknadu vitamina D u pogledu postizanja adekvatne koncentracije (89).

Nadoknada vitaminom D u istraživanju koje smo proveli primjenjivana je u dnevnim dozama od 10 000 IJ kolekalciferola. Ova doza povećala je srednje vrijednosti koncentracije vitamina D od 27,2 nmol/l pri prijemu do 38,5 nmol/L sedmog dana boravka i 56,2 nmol/L tijekom razdoblja od 14 dana i nisu zabilježeni nikakvi štetni učinci. Povećanje 14.-og dana boravka je 106%-tno povećanje

srednje vrijednosti koncentracije vitamina D u odnosu na početne vrijednosti pri prijemu, a štetni učinci vitamina D nisu zabilježeni. Istraživanja su pokazala da su ove doze nadoknade sigurne, što je bilo važno jer se radilo o kritično oboljelim bolesnicima s nedovoljno poznatom bolesti koja je u vrijeme istraživanja bila pandemijska i predstavljala izazov za cijelu populaciju. Osim toga, svakodnevna nadoknada visokom dnevnom dozom vitamina D bi također mogla dovesti do veće dostupnosti metabolita vitamina D, što bi moglo imati veći pozitivan učinak (134). U usporedbi s istraživanjima uključenim u pregled literature ni jedno istraživanje nije koristilo po smjernicama maksimalnu svakodnevnu dozu nadoknade od 10 000 IJ. U petnaest uključenih istraživanja vidljiv je porast koncentracije vitamina D iznad 50 nmol/l, neovisno o početnim koncentracijama vitamina D (73, 121, 122, 141-150). Četrnaestog dana boravka srednja vrijednost porasta u navedenim istraživanjima bila je 68% (IQR 39-83). Svakodnevna nadoknada uz uzimanje u obzir sigmoidne krivulje porasta koncentracije vitamina D je imala učinka kod naših bolesnika u pogledu povećanja serumske koncentracije vitamina D. U devet istraživanja nije zabilježen porast koncentracije vitamina D unatoč nadoknadi visokim dozama (148, 151-156). U usporedbi s navedenim istraživanjima, naši bolesnici su imali značajno niže početne vrijednosti vitamina D. Osim toga, svi su imali teški oblik COVID-19 i zahtijevali su mehaničku respiracijsku potporu.

Niske serumske koncentracije vitamina D kada se dokumentiraju pri prijemu u jedinicu intenzivnog liječenja ostaju nepromijenjene ili se značajno smanjuju tijekom sljedećeg razdoblja od 7 do 10 dana bez adekvatne nadoknade (151, 157). Relativno visok udio ispitanika u našem istraživanju, njih 66%, imao je niske razine vitamina D pri prijemu u jedinicu intenzivnog liječenja što je slično drugim istraživanjima nadoknade u COVID-19 bolesnika (158-160).

Rezultati primarnog ishoda istraživanja pokazali su da nadoknada vitaminom D nije smanjila broj dana na mehaničkoj respiracijskoj potpori između dvije skupine ispitanika (srednji broj dana 10 (IQR 6-15) u intervencijskoj skupini i 8 (IQR 6-15) u kontrolnoj skupini). Ovi rezultati su u skladu s rezultatima koje su objavili Lan i sur. u njihovom sustavnom pregledu (112). Nadalje, slične rezultate objavili su i drugi autori u nekoliko randomiziranih kontroliranih istraživanja iako su koristili različitu dozu nadoknade i različite intervale doziranja (113, 130). U oba istraživanja radilo se o visokoj bolusnoj dozi vitamina D. Samo 8 od 21 istraživanja analiziranih u sklopu pregleda literature imalo je za primarni ishod klinički značajne ishode što govori koliko je zapravo teško

organizirati adekvatno istraživanje nadoknade vitamina D ili nekog drugog nutrijenta da bi se mogao pratiti klinički značajan učinak (73, 130, 141, 142, 152, 153).

Iako je COVID-19 primarno respiratorna bolest, značajno se razlikuje u svom tijeku od do sada poznatih bolesti, pa je i pitanje točnog mehanizma djelovanja vitamina D kod takvih bolesnika važno istražiti. Iako bi se povoljan učinak nadoknade vitamina D mogao očekivati u bolesnika sa značajno sniženim koncentracijama vitamina D u plazmi, kao što je slučaj s bolesnicima iz našeg istraživanja, jedan od mogućih objašnjenja za nedostatak pozitivnog učinka može biti taj što su bolesnici iz našeg istraživanja pri prijemu u JIL imali teški oblik COVID-19 s razvijenim teškim oblikom ARDS-a. Moguće je da u tako uznapredovalom stadiju bolesti nadoknada vitamina D ne može dovesti do klinički značajnog poboljšanja.

Što se tiče sekundarnih ishoda, nismo pronašli značajne razlike u broju dana boravka u jedinici intenzivnog liječenja kao ni u broju dana bolničkog boravka. Većina objavljenih istraživanja imala je slične rezultate (107, 111, 113, 130-132, 161). Lan i sur. pokazali su u svom sustavnom pregledu da su brojevi rezultati bili bolji u skupini koja je primala nadoknadu vitaminom D, ali te razlike nisu bile statistički značajne (112). Autori sustavnog pregleda temeljenog na šest randomiziranih kontroliranih istraživanja ukazali su na korisnost primjene vitamina D u COVID-19 bolesnika, ali ponovno bez statistički značajnog učinka na ishode koji su važni za bolesnike u jedinicama intenzivnog liječenja (161). U istraživanju Murai i sur. gdje je korištena jednokratna visoka doza vitamina D od 200 000 IU zabilježen je porast koncentracije vitamina D s početnih prosječnih vrijednosti od 52,5 nmol/L na 111 nmol/L (113). No, navedeno istraživanje nije uključilo vitamin D deficitentne bolesnike, prosječne vrijednosti vitamina D pri prijemu bile su više od vrijednosti postavljene za deficijenciju. Postignuti porast u koncentraciji vitamina D nije imao utjecaja na klinički značajne ishode kao što su duljina boravka u bolnici i smrtnost (113).

U ovom istraživanju nije bilo razlike u stopi preživljenja na 14, 28 ili 60 dana od prijema u JIL između intervencijske i kontrolne skupine. Bassatne i sur. pokazali su u svom sustavnom pregledu povećane stope smrtnosti kod COVID-19 bolesnika s nedostatkom vitamina D (107). Dosadašnja istraživanja utjecaja nadoknade vitamina D kod COVID-19 bolesnika na preživljenje nisu pokazala pozitivan učinak bez obzira na dozu nadoknade i način primjene (111, 113, 131, 132).

Sustavni pregled D'Ecclesiisa i sur. koji je uključio 38 istraživanja gledao je povezanost razine vitamina D ili nadoknade vitamina D s težinom infekcije SARS-CoV2 virusom i smrtnost od COVID-19 bolesti (101). Autori su pokazali da nadoknada vitamina D ima utjecaj na ishode kao što je težina kliničke slike COVID-19 bolesti (mjerena kao potreba za prijemom u jedinicu intenzivnog liječenja ili potreba za respiracijskom potporom) (101). Također su istaknuli neka važna ograničenja kao što je činjenica da su rezultati temeljeni uglavnom na opservacijskim istraživanjima s visokom mogućnošću sustavne pogreške te zbunjujućih čimbenika kao što su različiti tipovi skrbi u bolnicama i značajna heterogenost među promatranim studijama, zaključivši da su potrebna visoko kvalitetna radomizirana kontrolirana istraživanja za utvrđivanje uzročne veze (101).

Rezultati našeg istraživanja pokazali su različiti trend porasta upalnih markera između intervencijske i kontrolne skupine. Veliki broj ispitanika imao je porast upalnih markera između sedmog i desetog dana boravka u JIL-u. Navedeno se može objasniti činjenicom da je 70% ispitanika iz obje skupine imalo bakterijsku superinfekciju tijekom boravka u jedinici intenzivnog liječenja. Nije bilo statistički značajne razlike između dvije skupine, što je opet u skladu s rezultatima nekih preglednih studija (131). Jain i sur. su analizirali razine upalnih markera (IL-6, TNF- α i feritin) između asimptomatskih COVID-19 bolesnika i onih koji su zahtjevali prijem u jedinicu intenzivnog liječenja s obzirom na razinu vitamina D (154). Skupina asimptomatskih bolesnika imala je značajno nižu prevalenciju deficijencije vitamina D, a razine upalnih markera bile su značajno više u skupini vitamin D deficijentnih bolesnika (154). Upalni odgovor je intenzivniji u COVID-19 bolesnika koji su vitamin D deficijentni (154). Ispitanici naše intervencijske skupine imali su odgođen porast upalnih markera kao što su CRP, PCT i omjer neutrofila/limfocita u odnosu na kontrolnu skupinu. Iako se navedena razlika nije pokazala statistički značajnom, rezultati se mogu razmatrati pri korištenju vitamina D u prevenciji infekcija stečenih u jedinicama intenzivnog liječenja.

Uspoređujući skupinu bolesnika koji su pri prijemu imali normalne koncentracije vitamina D sa skupinom bolesnika niskih koncentracija vitamina D koji nisu primali nadoknadu nije bilo statistički značajnih razlika u promatranim ishodima. Nije bilo statistički značajne razlike u broju dana na mehaničkoj respiracijskoj potpori između dvije skupine s medijanom od 9,5 dana u skupini s normalnom razinom vitamina D usporedno s 8 dana u skupini s niskom razinom vitamina D.

Slični rezultati su prikazani i u istraživanjima Pecine i sur. kao i Lohia i sur. (162, 163). Razlika u duljini boravka u jedinici intenzivnog liječenja bila je statistički neznačajna između promatranih skupina, srednji broj dana u skupini s normalnom razinom vitamina D bio je 12,5 usporedno s 12 dana u skupini s niskom razinom vitamina D. Brojne opservacijske studije imale su slične rezultate (164-166). Istraživanje koje je proveo Reis i sur. pokazalo je ipak duže trajanje hospitalizacije kod vitamin D deficijentnih bolesnika s COVID-19 bolesti (167). Median bolničkog boravka naših bolesnika bio je identičan, s 18 dana boravka u obje skupine.

Promatrajući demografske podatke ove dvije skupine vidljivo je da je prosjek dobi obje skupine sličan, 66 godina (mínimum 37, maksimum 80) kod bolesnika s normalnom razinom vitamina D i 65,5 godina (mínimum 39, maksimum 82) kod skupine bolesnika s niskom razinom vitamina D, što je različito od drugih istraživanja gdje su većinom mlađi bolesnici imali niže vrijednosti vitamina D (159, 168). Mlađi bolesnici su možda imali jaču imunološku reakciju na zarazu SARS-CoV-2 virusom u početku panedmije (159, 168). U usporednoj analizi skupina u našem istraživanju muškarci su prevladavali s 80,3% što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (36, 106, 159, 169, 170). Čini se da je hipertenzija najčešći komorbiditet u mnogim istraživanjima pa i u našem s 49,6% u usporednoj analizi (84, 171). Istraživanje na 1590 bolesnika u Kini pokazalo je da bolesnici s bilo kojim komorbiditetom imaju lošiji klinički ishod COVID-19 bolesti (172). No, koliko god bolesnici bili opterećeni komorbiditetima, De Smet i sur. u svom istraživanju zanemaruju utjecaj komorbiditeta i zaključuju da je COVID-19 bolest sama po sebi predisponirajući faktor za povećanu smrtnost kod pacijenata s niskim vitaminom D (170, 173). Unatoč sve većem broju dokaza o povezanosti niske razine vitamina D u serumu s većom vjerojatnošću za lošiji klinički ishod, naša opservacija nije to potvrdila. Naravno, radi se ipak o malom broju bolesnika i kratkom razdoblju promatranja.

Ali i sur. su u svom istraživanju prikupili podatke broja zaraženih i umrlih od COVID-19 bolesti na milijun stanovnika u 20 europskih zemalja u svibnju 2020. godine s globalnog portala o panedmiji SARS-CoV-2 virusa ([https:// www.worldometers.info/coronavirus/](https://www.worldometers.info/coronavirus/)) (174). Iz prijašnjeg istraživanja uzeti su podaci o prosječnim razinama vitamina D u navednih 20 zemalja i uspoređeni sa brojem zaraženih (174). Vidljiva je značajna korelacija ($r = -0,477$, $p = 0,033$) prosječne razine vitamina D u promatranjima i broja zaraženih na milijun stanovnika (174). Smrtnost nije korelirala s razinom vitamina D u spomenutom istraživanju. Njihov je zaključak da je potrebno više

randomiziranih istraživanja da bi se testirala hipoteza o definitivnoj povezanosti vitamina D i COVID-19 bolesti.

Kroz pregled literature o nadoknadi vitamina D u jedinici intenzivnog liječenja koji je sastavni dio doktorske disertacije, vidljivo je da su neka od uključenih istraživanja randomizirala bolesnike s razinama vitamina D malo nižim od 70 nmol/L pa čak i normalnim razinama, što utječe na krivulju porasta koncentracije vitamina D odnosno nadoknadu su započeli iz povoljnije pozicije (73, 142-145, 150, 153). Također, nisu mjerili početne koncentracije vitamina D u nekoliko istraživanja (147, 148, 151, 152, 155). S obzirom da su preporuke kod organiziranja randomiziranih istraživanja s nadoknadom vitamina D da svim ispitanicima budu određene početne koncentracije vitamina D i da samo oni s niskom koncentracijom budu uključeni u daljnje istraživanje, vidljiva je izrazita heterogenost među istraživanja promatranim u sklopu pregleda literature (123). Nažalost, većina promatranih istraživanja nije bila adekvatno dizajnirana. Rezultate ovog istraživanja treba tumačiti s oprezom zbog neadekvatne snage studije za primarni ishod. Uz navedeno, ovo istraživanje treba promatrati kao doprinos još uvijek nedovoljno istraženom skupu dokaza o učinku nadoknade vitamina D kod kritično oboljelih COVID-19 bolesnika.

5.1. OGRANIČENJA ISTRAŽIVANJA

Glavno ograničenje našeg istraživanja je mali broj uključenih bolesnika. Pretpostavili smo da bi razlika od 2 dana u trajanju strojne ventilacije bila klinički značajna. Prema navedenom, izračunali smo da bi nam bilo potrebno 274 bolesnika (137 u svakoj skupini) kako bismo postigli snagu istraživanja od 80%. Unatoč velikom broju bolesnika liječenih u JIL-u tijekom razdoblja istraživanja, velik broj bolesnika je imao jedan od kriterija za isključenje te nisu mogli biti randomizirani. Osim toga, broj novoprimljenih bolesnika se značajno smanjio pri kraju istraživanja te radi toga nismo mogli dostići planirani broj bolesnika. U konačnici smo u istraživanje uključili 155 bolesnika. Kada se naknadno izračuna snaga istraživanja (post-hoc) za navedenu veličinu uzorka, dobije se rezultat od 20,5%. Međutim, iako je izračun snage istraživanja neizostavan dio planiranja kliničkog istraživanja, post-hoc izračun, s druge strane, ima upitnu vrijednost i ne pokazuje zapravo pravu snagu istraživanja za otkrivanje statistički značajne razlike (175). Osim

toga, i u slučajevima kada se oba izračuna provedu pravilno, mogući su različiti rezultati post-hoc analize u odnosu na analizu napravljenu u planiranju istraživanja (176). Post-hoc analiza je izravno ovisna o izračunatoj p vrijednosti. U slučaju da je $p < 0,05$, snaga istraživanja će biti $> 50\%$, a ukoliko je izračunata p vrijednost $> 0,05$, tada će naknadno izračunata snaga istraživanja očekivano biti manja od 50% i samim time neće donijeti nikakvu novu informaciju o samom istraživanju (177).

Zbog svega navedenog, rezultate ovog istraživanja je potrebno analizirati u skladu s navedenim i dodatno potvrditi radomiziranim kontroliranim istraživanjima s odgovarajućom veličinom uzorka, što vjerovatno u današnjim okolnostima neće biti moguće.

Drugo ograničenje je što je istraživanje provedeno samo u jednom centru što može utjecati na vanjski značaj studije.

Naši su bolesnici imali medijan $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ omjera od 75 mmHg što znači da je velika većina zaprimljenih bolesnika već imala teški oblik ARDS-a. Kao što smo naveli, moguće je da nadoknada vitamina D nema pozitivan učinak u ovoj kritičnoj fazi bolesti što ne znači da ne može imati pozitivan učinak u ranijim fazama bolesti.

U ovom istraživanju, kontrolne vrijednosti vitamina D u kontrolnoj skupini nismo određivali svim bolesnicima. Naime, kroz pregled literature vidljivo je da od istraživanja koja su imala kontrolnu skupinu i određivali su vrijednosti vitamina D kontrolnoj skupini u nekom zadanom periodu nakon početka istraživanja samo jedno istraživanje je prijavilo blagi neznačajni porast koncentracije vitamina D od 5,26% peti dan u kontrolnoj skupini (152). Navedeno istraživanje Bhattacharyya i sur. uključivalo je bolesnike neovisno o početnom statusu vitamina D, tako da su i početne vrijednosti kontrolne skupine bile više od očekivanih (152). Preostala istraživanja nisu pokazala porast vitamina D u kontrolnoj skupini, što je u skladu s podacima u dostupnoj literaturi kojima smo se vodili pri odluci o prestanku vađenja vitamina D kontrolnoj skupini u nastavku istraživanja uz već prije navedene organizacije poteškoće oko istog (142, 143, 148, 149, 151). U kontrolnoj skupini, za 29 (37,7%) bolesnika mjerili smo kontrolne vrijednosti vitamina D nakon 7 dana. Nije bilo razlike u usporedbi s početnim vrijednostima (srednja vrijednost 25 ± 12 nmol/L vs 28 ± 11 nmol/L, $p = 0,734$). Kada se usporede kontrolne vrijednosti vitamina D sedmog dana boravka između naše intervencijske i kontrolne skupine, median razine vitamina D u intervencijskoj skupini

bio je 40,15 nmol/L (IQR 25-50), dok je medijan vitamina D u kontrolnoj skupini bio 28 (IQR 19-38), što je statistički značajna razlika ($p = 0.0005$).

6. ZAKLJUČAK

Nadoknada vitamina D kod bolesnika s manjkom vitamina D i teškim oblikom COVID-19 bolesti koji su zahtjevali invazivnu ili neinvazivnu mehaničku respiracijsku potporu liječenih u Jedinici intenzivnog liječenja u periodu istraživanja nije smanjila broj dana na istoj u usporedbi s bolesnicima koji nisu dobivali nadoknadu vitaminom D.

Promjena serumske koncentracije vitamina D uzrokovana nadoknadom vitamina D nije imala utjecaja na kliničke ishode kao što su duljina boravka u JIL-u, trajanje hospitalizacije ili stopa bakterijskih superinfekcija. Isto tako, nije bilo značajne razlike u smrtnosti 14, 28 i 60 dana od prijema u JIL između bolesnika koji su primali nadoknadu vitamina D i onih koji tu nadoknadu nisu primali.

Iako se pokazala razlika u trendu porasta u vrijednostima CRP-a, prokalcitonina i omjera limfocita i neutrofila, nije bilo statistički značajne razlike između dvije skupine bolesnika.

Uspoređujući skupinu bolesnika s normalnim vitaminom D pri prijemu sa skupinom bolesnika niskog vitamina D, ali bez nadoknade, nije bilo statistički značajnih razlika u promatranim ishodima (broj dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori, broj dana provedenih u JIL-u, broj dana provedenih u bolnici).

7. SAŽETAK

Uvod: Simptomi COVID-19 variraju od asimptomatskih slučajeva do umjerene i teške bolesti koja zahtjeva hospitalizaciju i intenzivno liječenje. Opservacijske studije pokazale se negativnu povezanost niskih razina vitamina D i ishoda liječenja te smrtnosti od COVID-19 bolesti. Nadoknada vitamina D kod respiratornih bolesti se pokazala korisnom, ali dokazi o nadoknadi vitamina D kod COVID-19 bolesnika su proturiječni.

Ciljevi: Cilj istraživanja provedenog u sklopu ove doktorske disertacije bio je utvrditi utjecaj nadoknade vitamina D na kliničke ishode u bolesnika s teškim oblikom COVID-19 i manjkom vitamina D. Glavni cilj bio je ispitati razliku u broju dana provedenih na mehaničkoj respiracijskoj potpori u bolesnika s nadoknadom i bolesnika bez nadoknade vitamina D.

Materijali i metode: Randomizirano kliničko ispitivanje je provedeno u Kliničkom bolničkom centru Split u razdoblju od studenog 2021. do svibnja 2022. godine. Pri prijemu COVID-19 bolesnici s manjkom vitamina D (<50 nmol/L) kojima je bila potrebna invazivna ili neinvazivna mehanička respiracijska potpora randomizirani su u dvije skupine: intervencijsku koja je primala nadoknadu vitamina D i kontrolnu. Ukupno je randomizirano 155 pacijenata: 78 u intervenciju skupinu i 77 u kontrolnu skupinu. Bolesnici koji su bili randomizirani u intervencijsku skupinu su primali 10 000 IU kolekalciferola dnevno peroralnim putem tijekom 14 dana.

Rezultati: U analizi primarnog ishoda bolesnici u intervencijskoj skupini su imali median trajanja strojne ventilacije 10 dana (IQR 6-13,9), a bolesnici u kontrolnoj skupini 8 dana (IQR 6-12) ($p = 0.283$). U usporedbi preživljenja bolesnika iz ove dvije skupine, također nije bilo značajne razlike. Preživljenje nakon 14, 28 i 60 dana u skupini bolesnika s normalnim razinama vitamina D je bilo 90%, 50% i 46%, dok je preživljenje u navedenim razdobljima u bolesnika s niskim razinama vitamina D bilo 83%, 64,9% i 50,7%. U analizi ishoda vezanih uz težinu bolesti i upalne biljege, iako se pokazala razlika u trendu u vrijednostima CRP-a, prokalcitonina i omjera limfocita i neutrofila, ta razlika se nije pokazala statistički značajnom.

Zaključak: Nadoknada vitamina D kod pacijenata s manjkom vitamina D i teškim oblikom COVID-19 bolesti koji su zahtjevali invazivnu ili neinvazivnu mehaničku respiracijsku potporu liječenih u Jedinici intenzivnog liječenja u periodu istraživanja nije smanjila broj dana na istoj u usporedbi s pacijentima koji nisu dobivali nadoknadu vitaminom D.

8. SUMMARY

Background: COVID-19 symptoms vary from asymptomatic cases to moderate and severe illness with patients needing hospitalization and intensive care treatment. Observational studies showed a negative association of low vitamin D levels and COVID-19 severity and mortality outcomes. Vitamin D supplementation in respiratory diseases has been shown to be beneficial, but the evidence for vitamin D supplementation in COVID-19 patients is conflicting.

Aims of the study: The aims of this study were to determine the impact of vitamin D supplementation on clinical outcomes in patients with severe form of COVID-19 and vitamin D deficiency. The main aim was to determine the difference in the number of days spent on mechanical ventilation support in patients with supplementation and patients without vitamin D supplementation.

Methods: Randomized clinical trial was conducted in Split Clinical Hospital Center in the period from November 2021. to May 2022. COVID-19 patients who required invasive or non-invasive respiratory support based on low vitamin D levels at admission (< 50 nmol/L) were randomized into two groups: the intervention group receiving vitamin D supplementation and the control group. A total of 155 patients were randomized: 78 to the intervention group and 77 to the control group. Patients who were randomized to the intervention group received 10.000 IU of cholecalciferol per day for 14 days.

Results: In the primary outcome analysis patients in the intervention group had a median duration of mechanical ventilation of 10 days (IQR 6-13.9), and patients in the control group 8 days (IQR 6-12) ($p= 0.283$). In the comparison of the survival of patients from these two groups, there was also no significant difference. Survival after 14, 28 and 60 days in the group of patients with normal levels of vitamin D was 90%, 50% and 46%, while survival in the mentioned periods in patients with low levels of vitamin D was 83%, 64.9% and 50.7% respectively. In the analysis of outcomes related to the severity of the disease and inflammatory markers, although there was a trend difference in the values of CRP, procalcitonin and the ratio of lymphocytes and neutrophils, this difference was not statistically significant.

Conclusion: Vitamin D supplementation in patients with vitamin D deficiency and a severe form of COVID-19 who required invasive or non-invasive respiratory support treated in the intensive care

unit during the study period did not reduce the number of days on respiratory support compared to patients who did not receive vitamin D supplementation.

9. LITERATURA

1. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 2020;24:91-8.
2. Kahn JS, McIntosh K. History and recent advances in coronavirus discovery. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(11 Suppl):S223-7, discussion S6.
3. Smith RD. Responding to global infectious disease outbreaks: lessons from SARS on the role of risk perception, communication and management. *Soc Sci Med.* 2006;63(12):3113-23.
4. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012;367(19):1814-20.
5. Enayatkhani M, Hasaniyazad M, Faezi S, Gouklani H, Davoodian P, Ahmadi N, et al. Reverse vaccinology approach to design a novel multi-epitope vaccine candidate against COVID-19: an in silico study. *J Biomol Struct Dyn.* 2021;39(8):2857-72.
6. Kumar R, Srivastava Y, Muthuramalingam P, Singh SK, Verma G, Tiwari S, et al. Understanding Mutations in Human SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein: A Systematic Review & Meta-Analysis. *Viruses.* 2023;15(4).
7. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *Jama.* 2020;324(8):782-93.
8. Huang Y, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol Sin.* 2020;41(9):1141-9.
9. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506.
10. Tsatsakis A, Calina D, Falzone L, Petrakis D, Mitrut R, Siokas V, et al. SARS-CoV-2 pathophysiology and its clinical implications: An integrative overview of the pharmacotherapeutic management of COVID-19. *Food Chem Toxicol.* 2020;146:111769.
11. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol.* 2020;16(7):e9610.
12. Parasher A. COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal.* 2020;97(1147):312-20.
13. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020;181(2):271-80.e8.
14. Tang NL, Chan PK, Wong CK, To KF, Wu AK, Sung YM, et al. Early enhanced expression of interferon-inducible protein-10 (CXCL-10) and other chemokines predicts adverse outcome in severe acute respiratory syndrome. *Clin Chem.* 2005;51(12):2333-40.

15. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol.* 2020;11:1708.
16. Chiappelli F, Khakshooy A, Greenberg G. CoViD-19 Immunopathology and Immunotherapy. *Bioinformatics.* 2020;16(3):219-22.
17. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8(4):420-2.
18. van de Veerdonk FL, Netea MG, van Deuren M, van der Meer JW, de Mast Q, Brüggemann RJ, et al. Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. *Elife.* 2020;9.
19. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020;18(4):844-7.
20. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(5):1023-6.
21. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(7):1017-32.
22. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708-20.
23. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020;180(7):934-43.
24. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020;395(10229):1054-62.
25. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1131-4.
26. Jirak P, Larbig R, Shomanova Z, Fröb EJ, Dankl D, Torgersen C, et al. Myocardial injury in severe COVID-19 is similar to pneumonias of other origin: results from a multicentre study. *ESC Heart Fail.* 2021;8(1):37-46.
27. Klok FA, Kruij M, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020;191:145-7.
28. Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D, Zhou Y. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):255.

29. Garg S, Kim L, Whitaker M, O'Halloran A, Cummings C, Holstein R, et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69(15):458-64.
30. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, et al. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69(24):759-65.
31. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA.* 2012;307(23):2526-33.
32. Martinez-Rojas MA, Vega-Vega O, Bobadilla NA. Is the kidney a target of SARS-CoV-2? *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020;318(6):F1454-f62.
33. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol.* 2020;7(6):e438-e40.
34. Tariq R, Saha S, Furqan F, Hassett L, Pardi D, Khanna S. Prevalence and Mortality of COVID-19 Patients With Gastrointestinal Symptoms: A Systematic Review and Meta-analysis. *Mayo Clin Proc.* 2020;95(8):1632-48.
35. Maguire C, Soloveichik E, Blinchevsky N, Miller J, Morrison R, Busch J, et al. Dissecting Clinical Features of COVID-19 in a Cohort of 21,312 Acute Care Patients. *medRxiv.* 2023.
36. Ambrosino I, Barbagelata E, Ortona E, Ruggieri A, Massiah G, Giannico OV, et al. Gender differences in patients with COVID-19: a narrative review. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2020;90(2).
37. Monye IN, Makinde MT, Oseni TIA, Adelowo AB, Nyirenda S. Covid-19 and Pre-Morbid Lifestyle-Related Risk Factors-A Review. *Health Serv Insights.* 2023;16:11786329231215049.
38. Martono, Fatmawati F, Mulyanti S. Risk Factors Associated with the Severity of COVID-19. *Malays J Med Sci.* 2023;30(3):84-92.
39. Parant F, Bouloy J, Haesebaert J, Bendim'red L, Goldet K, Vanhems P, et al. Vitamin D and COVID-19 Severity in Hospitalized Older Patients: Potential Benefit of Prehospital Vitamin D Supplementation. *Nutrients.* 2022;14(8).
40. Zhang JJ, Dong X, Liu GH, Gao YD. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023;64(1):90-107.
41. Menshawey E, Menshawey R, Nabeh OA. Shedding light on vitamin D: the shared mechanistic and pathophysiological role between hypovitaminosis D and COVID-19 risk factors and complications. *Inflammopharmacology.* 2021;29(4):1017-31.
42. Alilou S, Zangiabadian M, Pouramini A, Jaberinezhad M, Shobeiri P, Ghozy S, et al. Radiological Findings as Predictors of COVID-19 Lung Sequelae: A Systematic Review and Meta-analysis. *Acad Radiol.* 2023;30(12):3076-85.

43. Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020;295(3):200463.
44. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *Jama*. 2001;286(14):1754-8.
45. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623.
46. Aguayo-Acosta A, Oyervides-Muñoz MA, Rodriguez-Aguillón KO, Ovalle-Carcaño A, Romero-Castillo KD, Robles-Zamora A, et al. Omicron and Delta variant prevalence detection and identification during the fourth COVID-19 wave in Mexico using wastewater-based epidemiology. *IJID Reg*. 2024;10:44-51.
47. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19). *Statpearls [internet]*. 2022.
48. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui LP, Johnston JC, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2020;370:m2516.
49. Update to living WHO guideline on drugs to prevent covid-19. *Bmj*. 2023;380:692.
50. Mallapaty S, Callaway E, Kozlov M, Ledford H, Pickrell J, Van Noorden R. How COVID vaccines shaped 2021 in eight powerful charts. *Nature*. 2021;600(7890):580-3.
51. Wolf G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *The Journal of nutrition*. 2004;134(6):1299-302.
52. Brommage R, DeLuca HF. Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D3 is the physiologically active metabolite of vitamin D3. *Endocr Rev*. 1985;6(4):491-511.
53. Jurutka PW, Whitfield GK, Hsieh JC, Thompson PD, Haussler CA, Haussler MR. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev Endocr Metab Disord*. 2001;2(2):203-16.
54. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN): Nomenclature of vitamin D. Recommendations 1981. *Eur J Biochem*. 1982;124(2):223-7.
55. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*. 1998;78(4):1193-231.
56. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;80(6):1689S-96S.
57. Dominguez LJ, Farruggia M, Veronese N, Barbagallo M. Vitamin D Sources, Metabolism, and Deficiency: Available Compounds and Guidelines for Its Treatment. *Metabolites*. 2021;11(4):255.

58. Webb AR, Engelsen O. Calculated ultraviolet exposure levels for a healthy vitamin D status. *Photochemistry and photobiology*. 2006;82(6):1697-703.
59. Neville JJ, Palmieri T, Young AR. Physical determinants of vitamin D photosynthesis: a review. *JBMR plus*. 2021;5(1):e10460.
60. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):582s-6s.
61. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21(3):319-29.
62. Laktasić-Zerjavić N, Korsić M, Crncević-Orlić Z, Anić B. [Vitamin D: vitamin from the past and hormone of the future]. *Lijec Vjesn*. 2011;133(5-6):194-204.
63. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res*. 2014;55(1):13-31.
64. Vuolo L, Di Somma C, Faggiano A, Colao A. Vitamin D and cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:58.
65. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266-81.
66. Reis AR, Santos RKF, Dos Santos CB, Santos BDC, de Carvalho GB, Brandão-Lima PN, et al. Supplementation of vitamin D isolated or calcium-associated with bone remodeling and fracture risk in postmenopausal women without osteoporosis: A systematic review of randomized clinical trials. *Nutrition*. 2023;116:112151.
67. Kovalenko PL, Zhang Z, Cui M, Clinton SK, Fleet JC. 1,25 dihydroxyvitamin D-mediated orchestration of anticancer, transcript-level effects in the immortalized, non-transformed prostate epithelial cell line, RWPE1. *BMC Genomics*. 2010;11:26.
68. Moreno J, Krishnan AV, Swami S, Nonn L, Peehl DM, Feldman D. Regulation of prostaglandin metabolism by calcitriol attenuates growth stimulation in prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2005;65(17):7917-25.
69. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008;117(4):503-11.
70. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*. 2001;358(9292):1500-3.
71. Horta G, Soto S, Labarca G. [Vitamin D levels in patients with inflammatory bowel disease]. *Rev Med Chil*. 2021;149(3):393-8.
72. Abioye AI, Bromage S, Fawzi W. Effect of micronutrient supplements on influenza and other respiratory tract infections among adults: a systematic review and meta-analysis. *BMJ global health*. 2021;6(1).

73. Hasanloei MAV, Rahimlou M, Eivazloo A, Sane S, Ayremlou P, Hashemi R. Effect of Oral Versus Intramuscular Vitamin D Replacement on Oxidative Stress and Outcomes in Traumatic Mechanical Ventilated Patients Admitted to Intensive Care Unit. *Nutr Clin Pract*. 2020;35(3):548-58.
74. Fabbri A, Infante M, Ricordi C. Editorial - Vitamin D status: a key modulator of innate immunity and natural defense from acute viral respiratory infections. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(7):4048-52.
75. Zhou Y-FL, Bang-An; Qin, Lu-Lu. The association between vitamin D deficiency and community-acquired pneumonia: A meta-analysis of observational studies. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(38).
76. Langlois PL, D'Aragon F, Manzanares W. Vitamin D in the ICU: More sun for critically ill adult patients? *Nutrition*. 2019;61:173-8.
77. de Haan K, Groeneveld AB, de Geus HR, Egal M, Struijs A. Vitamin D deficiency as a risk factor for infection, sepsis and mortality in the critically ill: systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2014;18(6):660.
78. Amrein K, Papinutti A, Mathew E, Vila G, Parekh D. Vitamin D and critical illness: what endocrinology can learn from intensive care and vice versa. *Endocr Connect*. 2018;7(12):R304-R15.
79. Cannell J, Vieth R, Umhau J, Holick M, Grant W, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiology & Infection*. 2006;134(6):1129-40.
80. Calder PC, Carr AC, Gombart AF, Eggersdorfer M. Optimal nutritional status for a well-functioning immune system is an important factor to protect against viral infections. *Nutrients*. 2020;12(4):1181.
81. Martineau AR, Jolliffe DA, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, Dubnov-Raz G, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory infections: individual participant data meta-analysis. *Health Technol Assess*. 2019;23(2):1-44.
82. Cui A, Zhang T, Xiao P, Fan Z, Wang H, Zhuang Y. Global and regional prevalence of vitamin D deficiency in population-based studies from 2000 to 2022: A pooled analysis of 7.9 million participants. *Front Nutr*. 2023;10:1070808.
83. Vranešić Bender D, Giljević Z, Kušec V, Laktašić Žerjavić N, Bošnjak Pašić M, Vrdoljak E, et al. Guideline for the prevention, detection and therapy of vitamin D deficiency in adults. *Lijec Vjesn*. 2016;138(5-6):121-32.
84. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-30.
85. O'Neill CM, Kazantzidis A, Ryan MJ, Barber N, Sempos CT, Durazo-Arvizu RA, et al. Seasonal Changes in Vitamin D-Effective UVB Availability in Europe and Associations with Population Serum 25-Hydroxyvitamin D. *Nutrients*. 2016;8(9).

86. Khanna T, Shraim R, Zarkovic M, van Weele M, van Geffen J, Zgaga L. Comprehensive Analysis of Seasonal and Geographical Variation in UVB Radiation Relevant for Vitamin D Production in Europe. *Nutrients*. 2022;14(23).
87. Linos E, Keiser E, Kanzler M, Sainani KL, Lee W, Vittinghoff E, et al. Sun protective behaviors and vitamin D levels in the US population: NHANES 2003-2006. *Cancer Causes Control*. 2012;23(1):133-40.
88. Mulligan ML, Felton SK, Riek AE, Bernal-Mizrachi C. Implications of vitamin D deficiency in pregnancy and lactation. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(5):429.e1-9.
89. Schoenmakers I, Fraser WD, Forbes A. Vitamin D and acute and severe illness - a mechanistic and pharmacokinetic perspective. *Nutr Res Rev*. 2023;36(1):23-38.
90. Bilezikian JP, Formenti AM, Adler RA, Binkley N, Bouillon R, Lazaretti-Castro M, et al. Vitamin D: Dosing, levels, form, and route of administration: Does one approach fit all? *Rev Endocr Metab Disord*. 2021;22(4):1201-18.
91. Uenishi K, Tokiwa M, Kato S, Shiraki M. Stimulation of intestinal calcium absorption by orally administered vitamin D₃ compounds: a prospective open-label randomized trial in osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2018;29(3):723-32.
92. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: mechanisms of action. *Mol Aspects Med*. 2008;29(6):361-8.
93. Holick MF. Vitamin D Is Not as Toxic as Was Once Thought: A Historical and an Up-to-Date Perspective. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(5):561-4.
94. Pludowski P. Supplementing Vitamin D in Different Patient Groups to Reduce Deficiency. *Nutrients*. 2023;15(17).
95. Pludowski P, Kos-Kudła B, Walczak M, Fal A, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Sieroszewski P, et al. Guidelines for Preventing and Treating Vitamin D Deficiency: A 2023 Update in Poland. *Nutrients*. 2023;15(3).
96. Gallagher JC, Rosen CJ. Vitamin D: 100 years of discoveries, yet controversy continues. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2023;11(5):362-74.
97. Marcinowska-Suchowierska E, Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Pludowski P, Jones G. Vitamin D Toxicity-A Clinical Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:550.
98. Wang C, Wang S, Li D, Chen P, Han S, Zhao G, et al. Human Cathelicidin Inhibits SARS-CoV-2 Infection: Killing Two Birds with One Stone. *ACS Infect Dis*. 2021;7(6):1545-54.
99. Arora J, Patel DR, Nicol MJ, Field CJ, Restori KH, Wang J, et al. Vitamin D and the Ability to Produce 1,25(OH)₂D Are Critical for Protection from Viral Infection of the Lungs. *Nutrients*. 2022;14(15).
100. Chauss D, Freiwald T, McGregor R, Yan B, Wang L, Nova-Lamperti E, et al. Autocrine vitamin D signaling switches off pro-inflammatory programs of T(H)1 cells. *Nat Immunol*. 2022;23(1):62-74.

101. D'Ecclesiis O, Gavioli C, Martinoli C, Raimondi S, Chiocca S, Miccolo C, et al. Vitamin D and SARS-CoV2 infection, severity and mortality: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2022;17(7):e0268396.
102. Akbar MR, Wibowo A, Pranata R, Setiabudiawan B. Corrigendum: Low Serum 25-hydroxyvitamin D (Vitamin D) Level Is Associated With Susceptibility to COVID-19, Severity, and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Nutr*. 2021;8:754539.
103. Petrelli F, Luciani A, Perego G, Dognini G, Colombelli PL, Ghidini A. Therapeutic and prognostic role of vitamin D for COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis of 43 observational studies. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2021;211:105883.
104. Petrelli F, Oldani S, Borgonovo K, Cabiddu M, Dognini G, Ghilardi M, et al. Vitamin D3 and COVID-19 Outcomes: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(2).
105. Dissanayake HA, de Silva NL, Sumanatilleke M, de Silva SDN, Gamage KKK, Dematapitiya C, et al. Prognostic and therapeutic role of vitamin D in COVID-19: systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2022;107(5):1484-502.
106. Campi I, Gennari L, Merlotti D, Mingiano C, Frosali A, Giovanelli L, et al. Vitamin D and COVID-19 severity and related mortality: a prospective study in Italy. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):566.
107. Bassatne A, Basbous M, Chakhtoura M, El Zein O, Rahme M, El-Hajj Fuleihan G. The link between COVID-19 and Vitamin D (VIVID): A systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2021;119:154753.
108. Oscanoa TJ, Amado J, Vidal X, Laird E, Ghashut RA, Romero-Ortuno R. The relationship between the severity and mortality of SARS-CoV-2 infection and 25-hydroxyvitamin D concentration - a metaanalysis. *Adv Respir Med*. 2021;89(2):145-57.
109. Zhang YP, Wan YD, Sun TW, Kan QC, Wang LX. Association between vitamin D deficiency and mortality in critically ill adult patients: a meta-analysis of cohort studies. *Crit Care*. 2014;18(6):684.
110. Maghbooli Z, Sahraian MA, Jamalimoghaddamsiahkali S, Asadi A, Zarei A, Zendehtdel A, et al. Treatment With 25-Hydroxyvitamin D3 (Calcifediol) Is Associated With a Reduction in the Blood Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Marker of Disease Severity in Hospitalized Patients With COVID-19: A Pilot Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Clinical Trial. *Endocr Pract*. 2021.
111. Pal R, Banerjee M, Bhadada SK, Shetty AJ, Singh B, Vyas A. Vitamin D supplementation and clinical outcomes in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest*. 2021.
112. Lan SH, Lai CC, Chang SP, Lu LC, Hung SH, Lin WT. Vitamin D supplementation and the outcomes of critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*. 2020;10(1):14261.

113. Murai IH, Fernandes AL, Sales LP, Pinto AJ, Goessler KF, Duran CSC, et al. Effect of a Single High Dose of Vitamin D3 on Hospital Length of Stay in Patients With Moderate to Severe COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2021;325(11):1053-60.
114. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(7):720-55.
115. Papazian L, Aubron C, Brochard L, Chiche JD, Combes A, Dreyfuss D, et al. Formal guidelines: management of acute respiratory distress syndrome. *Ann Intensive Care*. 2019;9(1):69.
116. Peng L, Li L, Wang P, Chong W, Li Y, Zha X, et al. Association between Vitamin D supplementation and mortality in critically ill patients: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243768.
117. Putzu A, Belletti A, Cassina T, Clivio S, Monti G, Zangrillo A, et al. Vitamin D and outcomes in adult critically ill patients. A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Crit Care*. 2017;38:109-14.
118. Shen H, Mei Y, Zhang K, Xu X. The Effect of Vitamin D Supplementation on Clinical Outcomes for Critically Ill Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Front Nutr*. 2021;8:664940.
119. Han JH, Ginde AA, Brown SM, Baughman A, Collar EM, Ely EW, et al. Effect of Early High-Dose Vitamin D3 Repletion on Cognitive Outcomes in Critically Ill Adults. *Chest*. 2021;160(3):909-18.
120. Sharma S, Kumar A, Choudhary A, Sharma S, Khurana L, Sharma N, et al. Neuroprotective Role of Oral Vitamin D Supplementation on Consciousness and Inflammatory Biomarkers in Determining Severity Outcome in Acute Traumatic Brain Injury Patients: A Double-Blind Randomized Clinical Trial. *Clin Drug Investig*. 2020;40(4):327-34.
121. Han JE, Jones JL, Tangpricha V, Brown MA, Brown LAS, Hao L, et al. High Dose Vitamin D Administration in Ventilated Intensive Care Unit Patients: A Pilot Double Blind Randomized Controlled Trial. *J Clin Transl Endocrinol*. 2016;4:59-65.
122. Van den Berghe G, Van Roosbroeck D, Vanhove P, Wouters PJ, De Pourcq L, Bouillon R. Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(10):4623-32.
123. Heaney RP. Guidelines for optimizing design and analysis of clinical studies of nutrient effects. *Nutr Rev*. 2014;72(1):48-54.
124. Schleicher RL, Sternberg MR, Looker AC, Yetley EA, Lacher DA, Sempos CT, et al. National Estimates of Serum Total 25-Hydroxyvitamin D and Metabolite Concentrations Measured by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in the US Population during 2007-2010. *J Nutr*. 2016;146(5):1051-61.

125. Cashman KD, Dowling KG, Skrabakova Z, Gonzalez-Gross M, Valtuena J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):1033-44.
126. Amrein K, Zajic P, Schnedl C, Waltensdorfer A, Fruhwald S, Holl A, et al. Vitamin D status and its association with season, hospital and sepsis mortality in critical illness. *Crit Care.* 2014;18(2):R47.
127. Jolliffe DA, Camargo CA, Jr., Sluyter JD, Aglipay M, Aloia JF, Ganmaa D, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory infections: a systematic review and meta-analysis of aggregate data from randomised controlled trials. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021;9(5):276-92.
128. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 2017;356:i6583.
129. Stroehlein JK, Wallqvist J, Iannizzi C, Mikolajewska A, Metzendorf MI, Benstoem C, et al. Vitamin D supplementation for the treatment of COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;5:CD015043.
130. Amrein K, Schnedl C, Holl A, Riedl R, Christopher KB, Pachler C, et al. Effect of high-dose vitamin D3 on hospital length of stay in critically ill patients with vitamin D deficiency: the VITdAL-ICU randomized clinical trial. *JAMA.* 2014;312(15):1520-30.
131. da Rocha AP, Atallah AN, Aldrighi JM, Pires ALR, Dos Santos Puga ME, Pinto A. Insufficient evidence for vitamin D use in COVID-19: A rapid systematic review. *Int J Clin Pract.* 2021;75(11):e14649.
132. Guven M, Gultekin H. The effect of high-dose parenteral vitamin D3 on COVID-19-related in-hospital mortality in critical COVID-19 patients during intensive care unit admission: an observational cohort study. *Eur J Clin Nutr.* 2021;75(9):1383-8.
133. Shah K, Saxena D, Mavalankar D. Vitamin D supplementation, COVID-19 and disease severity: a meta-analysis. *QJM.* 2021;114(3):175-81.
134. Hollis BW, Wagner CL. Clinical review: The role of the parent compound vitamin D with respect to metabolism and function: Why clinical dose intervals can affect clinical outcomes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):4619-28.
135. Adams JS, Clemens TL, Parrish JA, Holick MF. Vitamin-D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin-D-deficient subjects. *N Engl J Med.* 1982;306(12):722-5.
136. Lo CW, Paris PW, Clemens TL, Nolan J, Holick MF. Vitamin D absorption in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption syndromes. *Am J Clin Nutr.* 1985;42(4):644-9.
137. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(3):E447-52.
138. Matsuoka LY, Wortsman J, Hollis BW. Suntanning and cutaneous synthesis of vitamin D3. *J Lab Clin Med.* 1990;116(1):87-90.

139. Hollis BW, Johnson D, Hulsey TC, Ebeling M, Wagner CL. Vitamin D supplementation during pregnancy: double-blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. *J Bone Miner Res.* 2011;26(10):2341-57.
140. Amrein K, Hoffmann M, Lobmeyr E, Martucci G. Vitamin D in critical care: where are we now and what is next? *Curr Opin Crit Care.* 2021;27(4):378-84.
141. Ginde AA, Brower RG, Caterino JM, Finck L, Banner-Goodspeed VM, Grissom CK, et al. Early High-Dose Vitamin D(3) for Critically Ill, Vitamin D-Deficient Patients. *N Engl J Med.* 2019;381(26):2529-40.
142. Miri M, Kouchek M, Rahat Dahmardeh A, Sistanizad M. Effect of High-Dose Vitamin D on Duration of Mechanical Ventilation in ICU Patients. *Iran J Pharm Res.* 2019;18(2):1067-72.
143. Miroliaee AE, Salamzadeh J, Shokouhi S, Fatemi A, Ardehali SH, Hajiesmaeili MR, et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Procalcitonin as Prognostic Biomarker in Patients with Ventilator Associated Pneumonia Complicated with Vitamin D Deficiency. *Iran J Pharm Res.* 2017;16(3):1254-63.
144. Alizadeh N, Khalili H, Mohammadi M, Abdollahi A, Ala S. Effect of vitamin D on stress-induced hyperglycaemia and insulin resistance in critically ill patients. *Int J Clin Pract.* 2016;70(5):396-405.
145. Nair P, Venkatesh B, Lee P, Kerr S, Hoechter DJ, Dimeski G, et al. A Randomized Study of a Single Dose of Intramuscular Cholecalciferol in Critically Ill Adults. *Crit Care Med.* 2015;43(11):2313-20.
146. Smith EM, Jones JL, Han JE, Alvarez JA, Sloan JH, Konrad RJ, et al. High-Dose Vitamin D(3) Administration Is Associated With Increases in Hemoglobin Concentrations in Mechanically Ventilated Critically Ill Adults: A Pilot Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2018;42(1):87-94.
147. Quraishi SA, De Pascale G, Needleman JS, Nakazawa H, Kaneki M, Bajwa EK, et al. Effect of Cholecalciferol Supplementation on Vitamin D Status and Cathelicidin Levels in Sepsis: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Crit Care Med.* 2015;43(9):1928-37.
148. Leaf DE, Raed A, Donnino MW, Ginde AA, Waikar SS. Randomized controlled trial of calcitriol in severe sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(5):533-41.
149. Amrein K, Sourij H, Wagner G, Holl A, Pieber TR, Smolle KH, et al. Short-term effects of high-dose oral vitamin D3 in critically ill vitamin D deficient patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Crit Care.* 2011;15(2):R104.
150. Bychinin MV, Klypa TV, Mandel IA, Yusubalieva GM, Baklaushev VP, Kolyshkina NA, et al. Effect of vitamin D3 supplementation on cellular immunity and inflammatory markers in COVID-19 patients admitted to the ICU. *Sci Rep.* 2022;12(1):18604.

151. Han JE, Alvarez JA, Jones JL, Tangpricha V, Brown MA, Hao L, et al. Impact of high-dose vitamin D(3) on plasma free 25-hydroxyvitamin D concentrations and antimicrobial peptides in critically ill mechanically ventilated adults. *Nutrition*. 2017;38:102-8.
152. Bhattacharyya A, Subramaniam R, Baidya DK, Aggarwal P, Wig N. Effect of Early Administration of Vitamin D on Clinical Outcome in Critically Ill Sepsis Patients: A Randomized Placebo-controlled Trial. *Indian J Crit Care Med*. 2021;25(10):1147-54.
153. Yousefian M, Sadegi S, Sakaki M. Vitamin D supplements' effect on expediting the weaning process in patients with the stroke. *Electronic Journal of General Medicine*. 2019.
154. Jain A, Chaurasia R, Sengar NS, Singh M, Mahor S, Narain S. Analysis of vitamin D level among asymptomatic and critically ill COVID-19 patients and its correlation with inflammatory markers. *Sci Rep*. 2020;10(1):20191.
155. Ingels C, Vanhorebeek I, Van Cromphaut S, Wouters PJ, Derese I, Dehouwer A, et al. Effect of intravenous 25OHD supplementation on bone turnover and inflammation in prolonged critically ill patients. *Hormone and metabolic research*. 2020;52(03):168-78.
156. Karsy M, Guan J, Eli I, Brock AA, Menacho ST, Park MS. The effect of supplementation of vitamin D in neurocritical care patients: Randomized Clinical Trial of hypovitaminosis D (RECTIFY). *J Neurosurg*. 2019:1-10.
157. Infante M, Buoso A, Pieri M, Lupisella S, Nuccetelli M, Bernardini S, et al. Low Vitamin D Status at Admission as a Risk Factor for Poor Survival in Hospitalized Patients With COVID-19: An Italian Retrospective Study. *J Am Nutr Assoc*. 2022;41(3):250-65.
158. Bennouar S, Cherif AB, Kessira A, Bennouar DE, Abdi S. Vitamin D Deficiency and Low Serum Calcium as Predictors of Poor Prognosis in Patients with Severe COVID-19. *J Am Coll Nutr*. 2021;40(2):104-10.
159. Orchard L, Baldry M, Nasim-Mohi M, Monck C, Saeed K, Grocott MPW, et al. Vitamin-D levels and intensive care unit outcomes of a cohort of critically ill COVID-19 patients. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(6):1155-63.
160. Voelkle M, Gregoriano C, Neyer P, Koch D, Kutz A, Bernasconi L, et al. Prevalence of Micronutrient Deficiencies in Patients Hospitalized with COVID-19: An Observational Cohort Study. *Nutrients*. 2022;14(9).
161. Varikasuvu SR, Thangappazham B, Vykunta A, Duggina P, Manne M, Raj H, et al. COVID-19 and vitamin D (Co-VIVID study): a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2022;20(6):907-13.
162. Pecina JL, Merry SP, Park JG, Thacher TD. Vitamin D Status and Severe COVID-19 Disease Outcomes in Hospitalized Patients. *J Prim Care Community Health*. 2021;12:21501327211041206.

163. Lohia P, Nguyen P, Patel N, Kapur S. Exploring the link between vitamin D and clinical outcomes in COVID-19. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2021;320(3):E520-e6.
164. Rees EM, Nightingale ES, Jafari Y, Waterlow NR, Clifford S, CA BP, et al. COVID-19 length of hospital stay: a systematic review and data synthesis. *BMC Med.* 2020;18(1):270.
165. Grasselli G, Greco M, Zanella A, Albano G, Antonelli M, Bellani G, et al. Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. *JAMA Intern Med.* 2020;180(10):1345-55.
166. Ñamendys-Silva SA, Alvarado-Ávila PE, Domínguez-Cherit G, Rivero-Sigarroa E, Sánchez-Hurtado LA, Gutiérrez-Villaseñor A, et al. Outcomes of patients with COVID-19 in the intensive care unit in Mexico: A multicenter observational study. *Heart Lung.* 2021;50(1):28-32.
167. Corrigendum to Reis et al. Influence of vitamin D status on hospital length of stay and prognosis in hospitalized patients with moderate to severe COVID-19: a multicenter prospective cohort study. *Am J Clin Nutr* 2021;114(2):598-604. *Am J Clin Nutr.* 2021;114(2):827.
168. Panagiotou G, Tee SA, Ihsan Y, Athar W, Marchitelli G, Kelly D, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D (25[OH]D) levels in patients hospitalized with COVID-19 are associated with greater disease severity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2020;93(4):508-11.
169. Abdollahzadeh R, Shushizadeh MH, Barazandehrokh M, Choopani S, Azarnezhad A, Paknahad S, et al. Association of Vitamin D receptor gene polymorphisms and clinical/severe outcomes of COVID-19 patients. *Infect Genet Evol.* 2021;96:105098.
170. Ben-Eltriki M, Hopefl R, Wright JM, Deb S. Association between Vitamin D Status and Risk of Developing Severe COVID-19 Infection: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J Am Coll Nutr.* 2021:1-11.
171. Adami G, Giollo A, Fassio A, Benini C, Bertoldo E, Bertoldo F, et al. Vitamin D and disease severity in coronavirus disease 19 (COVID-19). *Reumatismo.* 2021;72(4):189-96.
172. Guan W-j, Liang W-h, Zhao Y, Liang H-r, Chen Z-s, Li Y-m, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *European Respiratory Journal.* 2020;55(5).
173. De Smet D, De Smet K, Herroelen P, Gryspeerdt S, Martens GA. Serum 25(OH)D Level on Hospital Admission Associated With COVID-19 Stage and Mortality. *Am J Clin Pathol.* 2021;155(3):381-8.
174. Ali N. Role of vitamin D in preventing of COVID-19 infection, progression and severity. *J Infect Public Health.* 2020;13(10):1373-80.
175. Zhang Y, Hedo R, Rivera A, Rull R, Richardson S, Tu XM. Post hoc power analysis: is it an informative and meaningful analysis? *General Psychiatry.* 2019;32(4):e100069.
176. Quach NE, Yang K, Chen R, Tu J, Xu M, Tu XM, et al. Post-hoc power analysis: a conceptually valid approach for power based on observed study data. *General Psychiatry.* 2022;35(4):e100764.

177. Hoenig J, Heisey D. The Abuse of Power: The Pervasive Fallacy of Power Calculations for Data Analysis. *The American Statistician*. 2001;55:19-24.
178. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(8):e192-e7.
179. Dickerson RN, Berry SC, Ziebarth JD, Swanson JM, Maish GO, 3rd, Minard G, et al. Dose-response effect of ergocalciferol therapy on serum 25-hydroxyvitamin D concentration during critical illness. *Nutrition*. 2015;31(10):1219-23.
180. Sistanizad M, Kouchek M, Miri M, Salarian S, Shojaei S, Moeini Vasegh F, et al. High dose vitamin D improves total serum antioxidant capacity and ICU outcome in critically ill patients - A randomized, double-blind clinical trial. *European Journal of Integrative Medicine*. 2021;42:101271.
181. Ingels C, Vanhorebeek I, Van Cromphaut S, Wouters PJ, Derese I, Dehouwer A, et al. Effect of Intravenous 25OHD Supplementation on Bone Turnover and Inflammation in Prolonged Critically Ill Patients. *Horm Metab Res*. 2020;52(3):168-78.

10. PRILOZI

10.1. Prilog 1.

WHO ljestvica kliničke progresije COVID-19 bolesti (Preuzeto i prilagođeno iz WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection) (178)

STANJE PACIJENTA	OPIS	BODOVI
Ambulantni	Nema ograničenja aktivnosti	1
	Ograničenje aktivnosti	2
Hospitaliziran, blaga bolest	Nema terapije kisikom	3
	Kisik maskom ili nosnom kanilom	4
Hospitaliziran, teška bolest	Kisik velikim protokom ili neinvazivna respiracijska potpora	5
	Invazivna mehanička respiracijska potpora bez potpore drugim organima	6
	Invazivna mehanička respiracijska potpora uz potporu drugim organima (ECLS, CRRT, vazoaktivni lijekovi)	7
Smrt	Mrtav	8

ECLS, engl. *Extracorporeal life support*, izvantjelesna potpora životu; CRRT, engl. *Continuous renal replacment therapy*, bubrežno nadomjesno liječenje.

10.2. Prilog 2.

Pregled literature o primjeni vitamina D u JIL-u

Autor, godina	Broj ispitanika uključenih u istraživanje	Broj ispitanika uključenih u analizu	Ispitanici	Status vitamina D kao kriterij uključenja	Srednja vrijednost vitamina D (nmol/L)	Intervencija	Usporedba	Glavni ishod	Ostali ishodi
PETAL, 2019. (141)	1360	1059	Odrasli bolesnici primljeni u JIL (33,7% invazivna MRP)	< 50 nmol/L	Intervencija: 28 ± 12; Kontrola: 27 ± 12	Kolekalcoferol, EN; 1x 540 000 IU	Placebo	90-dnevna smrtnost	Duljina boravka u bolnici do 90 dana; Dani bez MRP
Bychinin, 2022. (150)	110	56	Odrasli bolesnici, COVID-19 (33,6% invazivna MRP)	< 75 nmol/L	Intervencija: 24 (IQR 14-52,5); Kontrola: 27,5 (IQR 21,5-37,5)	Kolekalciferol, EN; 60 000 IU tjedno + 5 000 IU dnevno tijekom 5 tjedana	Placebo	Biljezi stanične imunosti i upalni biljezi 7. dan od intervencije	Smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici; Trajanje MRP
Hasanloei, 2019. (73)	80	72	Odrasli bolesnici primljeni radi traume, MRP	25 – 75 nmol/L	Intervencija: 1. 42,7 ± 11,3; 2. 46,6 ± 8,2; Kontrola: 42,5 ± 8,1	Kolekalciferol; 1. 50 000 IU PO tijekom 6 dana 2. 300 000 IU IM	Placebo	Trajanje MRP	Smrtnost; Duljina boravka u JIL-u
Amrein, 2014. (130)	492	475	Odrasli bolesnici u JIL-u (64% MRP)	<50 nmol/L	Intervencija: 32,5 ± 10; Kontrola: 32,7 ± 10,7	Kolekalciferol, EN; 540 000 IU bolus + 90 000 IU mjesečno tijekom 5 mjeseci	Placebo	Duljina boravka u bolnici	Smrtnost u bolnici; Smrtnost nakon 6 mjeseci; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici; Trajanje MRP
Leaf, 2014. (148)	67	67	Odrasli bolesnici sa sepsom (70% MRP)	Nije mjereno	Nije prikazano	Kalcitriol, IV; 2 mcg	Placebo	Imunološki i upalni biljezi	28-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici; Trajanje MRP

Miroliaee, 2017. (143)	51	46	Odrasli bolesnici s pnemonijom povezanom sa MRP	< 75 nmol/L	Intervencija: 42,8 ± 15,3; Kontrola: 48,7 ± 11,5	Kolekalciferol, IM; 300 000 IU	Placebo	Upalni biljezi 7. dan	28-dnevna smrtnost
Miri, 2018. (142)	40	40	Odrasli bolesnici u JIL-u, MRP	< 70 nmol/L	Intervencija: 21,1 ± 17; Kontrola: 28,4 ± 45,6	Kolekalciferol, IM; 300 000 IU	Placebo	Trajanje MRP	28-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici
Bhatacharyya, 2021. (152)	63	63	Odrasli bolesnici sa sepsom	Nije navedeno	Intervencija 30,1 ± 15,5; Kontrola: 38,7 ± 26,5	Kolekalciferol, EN; 540 000 IU	Placebo	Duljina boravka u JIL-u	90-dnevna smrtnost; Duljina boravka u bolnici; Trajanje MRP
Yousefian, 2019. (153)	99	99	Odrasli bolesnici s CVI, MRP	Uključeni i bolesnici s normalnim i oni s nižim vrijednostima vitamina D	Intervencija: 1. 22,1 ± 5,7; 2. 26,3 ± 12; Kontrola: 70 ± 25	Kolekalciferol, EN; 300 000 IU 3x tjedno + kalcij 500 mg	Placebo, bolesnici s vrijednostima vitamina D > 50 nmol/L	Trajanje MRP	
Dickerson, 2015. (179)	65	65	Odrasli bolesnici primljeni radi traume,	< 50 nmol/L	Intervencija: 1. 36 ± 6 2. 40 ± 7 3. 37 ± 6	Ergokalciferol, EN; 50 000 IU 1x, 2x ili 3x tjedno	/	Razina vitamina D nakon 2 tjedna nadoknade	Duljina boravka u JIL-u;
Sistanizad, 2021. (180)	36	30	Odrasli bolesnici, MRP	Nije navedeno	Intervencija: 18 ± 5,8; Kontrola: 13,1 ± 1,8	Kolekalciferol, IM; 300 000 IU	Placebo	Ukupni antioksidativni kapacitet	28-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Trajanje MRP
Karsy, 2022. (156)	274	267	Odrasli bolesnici, kranijalna ozljeda, manjak vitamina D	< 50 nmol/L	/	Kolekalciferol, EN; 540 000 IU	Placebo	Duljina boravka u bolnici	6-mjesečna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u
Leaf, 2022. (148)	150	150	Odrasli bolesnici, visok rizik akutne bubrežne ozljede (83% MRP)	Nije navedeno	Intervencija: 1. 47 (IQR 28-65) 2. 43,2 (IQR 26,2-71) Kontrola: 36,2 (IQR 24,2-57,5)	1. Kalcifediol, PO, 400 mcg x1 + 200 mcg tijekom 4 dana; 2. Kalcitriol, PO, 4 mcg tijekom 5 dana	Placebo	7-dnevna smrtnost; Bubrežna nadomjesna funkcija nakon 7 dana	28-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici

Amrein, 2011. (149)	25	25	Odrasli bolesnici, niske razine vitamina D (84% MRP)	< 50 nmol/L	Intervencija: 32,7 ; Kontrola: 32,2	Kolekalciferol, EN; 540 000 IU	Placebo	Udio bolesnika koji su postigli razine vitamina D > 50 nmol/L unutar 7 dana	28-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnic; Trajanje MRP
Alizadeh, 2016. (144)	59	50	Odrasli kirurški bolesnici s poremećenim metabolizmom glukoze i niskom razinom vitamina D	< 75 nmol/L	Intervencija: 30,2 ± 12,8; Kontrola: 27 ± 15,7	Kolekalciferol, IM; 600 000 IU	Placebo	Razina glukoze u krvi i biljezi metabolizma glukoze 7. dan od intervencije	
Quraishi, 2015. (147)	30	30	Odrasli bolesnici sa sepsom	Nije navedeno	Intervencija: 1. 37,5 (IQR 30-50); 2. 42,5 (IQR 32,5-62,5); Kontrola: 47,5 (IQR 32,5-55)	Kolekalciferol, EN; 1. 200 000 IU 2. 400 000 IU	Placebo	Razina vitamina D 3., 5. i 7. dan od nadoknade	30-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici
Smith, 2018. (146)	30	30	Odrasli bolesnici, MRP	Nije navedeno	Intervencija: 1. 58 ± 19,5 2. 50 ± 18,2 Kontrola: 53,75 ± 30,5	Kolekalciferol, EN; 1. 50 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 250 000 IU) 2. 100 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 500 000 IU)	Placebo	Razine hepcidina i hemoglobina 4 tjedna nakon intervencije	
Han, 2018. (151)	30	30	Odrasli bolesnici, MRP	Nije navedeno	Intervencija: 1. 58 ± 19,5 2. 50 ± 18,25 Kontrola: 53,75 ± 30,5	Kolekalciferol, EN; 1. 50 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 250 000 IU) 2. 100 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 500 000 IU)	Placebo	Antioksidativni kapacitet	
Ingels, 2020. (181)	24	24	Odrasli bolesnici, boravka u JIL-u > 10 dana	Nije navedeno	Intervencija: 23 (IQR 18-32,7); Kontrola: 17 (IQR 12,7-25,5)	Kolekalciferol, IV; 200 mcg bolus + 15 mcg dnevno tijekom 10 dana	Placebo	Upalni biljezi i biljezi koštanog metabolizma	

Nair, 2015. (145)	50	50	Odrasli bolesnici, teški sustavni upalni odgovor	Bez obzira na status vitamina D	Intervencija: 1. 52 (IQR 40–67) 2. 42 (IQR 32–62)	Kolekalciferol, IM; 1. 150 000 IU 2. 300 000 IU	Bez kontrolne skupine	Porast vitamina D 1., 7. i 14. dan	14-dnevna smrtnost; Duljina boravka u JIL-u; Duljina boravka u bolnici
Han, 2017. (151)	31	30	Odrasli bolesnici, trajanje MRP > 72h, boravak u JIL-u > 96 h	Nije navedeno	Intervencija: 1. 58 ± 19,5 2. 50 ± 18,2 Kontrola: 53,7 ± 30,5	Kolekalciferol, EN; 1. 50 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 250 000 IU) 100 000 IU tijekom 5 dana (ukupno 500 000 IU)	Placebo	Razina slobodnog vitamina D 7. dan nakon intervencijeD	

MRP, mehanička respiracijska potpora; IJ, internacionalne jedinice; JIL, Jedinica intenzivnog liječenja; EN, enteralno; IM, intramuskularno; IV, intravenski; PO, per os; IQR, interkvartilni raspon; Brojevi su prikazani kao srednje vrijednosti ± SD ili kao median i interkvartilni raspon (IQR).

11. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Josipa Domazet Bugarin

Datum i mjesto rođenja: 1.11.1984. godine u Splitu

Adresa: Vranjički put 33, 21000 Split

Broj telefona: +385 91 2233981

Elektronska pošta: josipa.domazet@gmail.com

OBRAZOVANJE I RADNO ISKUSTVO:

1999.-2003. godine II Gimnazija Split

2003.-2009. godine Medicinski fakultet Split, doktor medicine

2010.-2011. godine pripravnički staž Klinički bolnički centar Split

2011.-2013. godine doktor medicine pri Zavodu za hitnu medicine Splitsko-dalmatinske županije

2013. –do danas instruktor Europskog reanimatološkog društva (ERC)

2012.-2018. godine poslijediplomski doktorski studij Klinička medicina utemeljena na dokazima pri Medicinskom fakultetu Split

2013.-2018. godine specijalizant anesteziologije, reanimatologije i intenzivne medicine pri Kliničkom bolničkom centru Split

2016.-2018. godine poslijediplomski specijalistički studij Anesteziologija, reanimatologija i intenzivna medicina pri Medicinskom fakultetu Zagreb

2018.-do danas specijalist anesteziologije, reanimatologije i intenzivne medicine pri Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicine Kliničkog bolničkog centra Split

PUBLIKACIJE:

1. Lesin M, Domazet Bugarin J, Puljak L. Factors associated with postoperative pain and analgesic consumption in ophthalmic surgery: a systematic review. *Surv Ophthalmol.* 2015;60(3):196-203.

2. Delić N, Matetić A, Domjanović J, Kljaković-Gašpić T, Šarić L, Ilić D, et al. Effects of Different Inhalation Therapy on Ventilator-Associated Pneumonia in Ventilated COVID-19 Patients: A Randomized Controlled Trial. *Microorganisms.* 2022;10(6).

3. Domazet Bugarin J, Dosenovic S, Ilic D, Delic N, Saric I, Ugrina I, et al. Vitamin D Supplementation and Clinical Outcomes in Severe COVID-19 Patients-Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2023;15(5).
4. Domazet Bugarin J, Saric L, Delic N, Dosenovic S, Ilic D, Saric I, et al. Health-Related Quality of Life of COVID-19 Survivors Treated in Intensive Care Unit-Prospective Observational Study. *J Intensive Care Med*. 2023;38(8):710-6.
5. Bajto P, Saric I, Bugarin JD, Delic N, Dosenovic S, Ilic D, et al. Barotrauma in patients with severe coronavirus disease 2019-retrospective observational study. *J Thorac Dis*. 2023;15(10):5297-306.

PREZENTACIJE NA MEĐUNARODNIM SKUPOVIMA:

1. Domazet Bugarin, Josipa; Jurić, Marija; Bota, Ivana; Balog, Marta; Ivić, Vedrana; Heffer, Marija; Gaspar, Robert; Vukojević, Katarina; Vari, Sandor G.; Filipović, Natalija: Effects of chronic stress and gonadectomy on expression of serotonin receptors in dorsal horn of the spinal cord // 10th RECOOP Annual Project Review Meeting, Varšava 2019.
2. J. Domazet Bugarin , S. Došenović , L. Šarić , I. Šarić , B. Duplančić , S. Stojanović Stipić: “Sun in a bottle” levels in COVID-19 intensive care unit patients and associated outcomes: preliminary results//Euroanesthesia Milano 2022.
3. J. Domazet Bugarin , S. Došenović , L. Šarić , I. Šarić , B. Duplančić , N.Delić, D. Ilić: Vitamin D supplementation and clinical outcomes in severe COVID-19 patients-randomized controlled trial// ESPEN Lyon 2023.
4. J. Domazet Bugarin , S. Došenović , L. Šarić , I. Šarić , B. Duplančić , N.Delić, D. Ilić: A fatal case of “Cosmonaut drug” ingestion in Sars-CoV-2 positive patient// Euroanesthesia Glasgow 2023.