

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Tamara N. Filipović

**UTICAJ SPECIFIČNO DIZAJNIRANOG
PROGRAMA VEŽBI NA ENZIMSKU
AKTIVNOST MATRIKS METALOPROTEINAZA
SERUMA I FUNKCIONALNI STATUS
PACIJENTKINJA SA
POSTMENOPAUZALNOM OSTEOPOROZOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2020

UNIVERSITY OF BELGRADE
MEDICAL FACULTY

Tamara N. Filipović

**IMPACT OF SPECIALLY DESIGNED
EXERCISE PROGRAM ON ENZYME ACTIVITY
OF SERUM MATRIX-METALLOPROTEINASES
AND FUNCTIONAL STATUS IN FEMALE
PATIENTS WITH POSTMENOPAUSAL
OSTEOPOROSIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020

Mentor:

Prof.dr Milica Lazović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, specijalista fizikalne medicine i rehabilitacije, Institut za rehabilitaciju, Beograd,

Komentor:

Prof.dr Kristina Gopčević, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, doktor biohemijskih nauka, Institut za hemiju u medicini, "Prof. dr Petar Matavulj", Beograd,

Članovi komisije:

Prof.dr Ivana Petronić-Marković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, specijalista fizikalne medicine i rehabilitacije, Univerzitetska dečija klinika, Beograd,

Prof.dr Mirjana Kocić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, specijalista fizikalne medicine i rehabilitacije, Klinika za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju, Niš,

Doc.dr Nela Maksimović, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, molekularni biolog, Institut za humanu genetiku, Beograd.

Datum odbrane disertacije:

*„Kad ti neki glasić iznutra počne uporno šaptati da se okaneš slikanja, da nisi dovoljno dobar, da nemaš dara za to, ne slušaj ga! Slikaj i glas će utihnuti“
Vincent van Gogh*

Odgovor na pitanje zašto sam se odlučila napisati doktorski rad krije se u želji za „slikanjem vlastitih suncokreta“, i to iz meni nepoznatog razloga.... Dragi i dobri ljudi pomogli su mi u realizaciji te želje i na tome im se od srca zahvaljujem.

*„U svakodnevnom životu teško prepoznajemo da primamo puno više nego što dajemo i da samo uz zahvalnost život postaje bogat.“
Dietrich Bonhoeffer*

Zahvalnost za izradu ove disertacije, ali i za moj celokupni profesionalni razvoj, na prvom mestu dugujem svom mentoru, prof.dr Milici Lazović, izuzetnoj osobi, koja mi je još od samih istraživačkih početaka svojim kreativnim intelektom dala prave smernice i bila dragocena podrška od ideje do realizacije ovog rada. Omogućila mi je samostalnost i kreativnu slobodu, a svojim sugestijama uspeła je da me usmeri na pravi put. Njeni konkretni stručni saveti i sposobnost da identifikuje problem, uvek su mi bili velika pomoć.

Zahvaljujem svom mentoru prof. dr Kristini Gopčević, glavnom motivatoru za naučno-istraživački rad, na nesebičnoj ličnoj i profesionalnoj podršci, stalnoj dostupnosti i stručnim savetima. U trenucima sopstvenog očajja uvek je uspevala da me trgne onom čuvenom rečenicom : Biće to dobro!, na čemu joj se posebno zahvaljujem...

Iskrenu zahvalnost dugujem doc.dr Neli Maksimović koja je prepoznala istraživački duh u meni, uvela me u svet stručnih i naučnih analiza polimorfizama gena i pružila priliku da budem deo tima Laboratorije za molekularnu genetiku Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Zahvalnost osećam prema profesorki Ivanki Marković koja me je kao veliki znalac uvela u svet molekularne medicine. Kod velikih ljudi kao što je ona, sve je jednostavno, lako, ne postoje prepreke. U tako nešto je uspeła i mene da uveri. Da jedan fizijatar može da pronikne u svet molekularne medicine, a opet da je sagleda iz svog ugla.

Želela bih da se zahvalim članovima komisije, prof. dr Ivani Petronić Marković, redovnom profesoru Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i prof.dr Miri Kocić redovnom profesoru Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, na sugestijama i korisnim savetima datim prilikom obrade prijavljene teze, koji su doprineli kvalitetu ove disertacije.

Mom iskrenom prijatelju, docentkinji Aleksandri Ignjatović dugujem jedno veliko hvala na pomoći oko statističke obrade podataka, ali i na nesebičnoj podršci i veri koju mi je ukazala.

Najiskrenije se zahvaljujem mojim kolegama:

Direktoru Instituta, dr Sneženi Kostić, na podršci tokom izrade ove disertacije, dr Oliveri Ilić Stojanović, sa kojom sam načinila prve korake u oblasti osteoporoze, dr Mariji Hrković, načelnici Instituta u kome radim na svakom savetu, otvorenosti za saradnju i motivaciji,

dr Ivani Gajić, mladoj kolegici na cimerskoj toleranciji, pomoći i optimizmu koji je unela u završnim fazama ovog rada,

svim kolegama Instituta za Rehabilitaciju, koji su me podržavali u svim mojim nastojanjima. Najvišu zahvalnost za tehničku podršku svakako dugujem radiološkom tehničaru i besprekornom laborantu, a pre svega mom velikom prijatelju, Ireni Mugoši, bez čije podrške ovo istraživanje ne bi bilo moguće, kao i svim terapeutima Instituta za rehabilitaciju na svom znanju i iskustvu koje su podelili sa mojim pacijentkinjama tokom sprovođenja programa vežbi, sestra Sneži i sestra Lidiji, na svakoj vrsti zalaganja i pomoći .

Zahvaljujem se kolegici Slavici Mutavdžin i svim kolegama iz Laboratorije za analitiku biomolekula, Instituta za hemiju u medicini na svim savetima i predlozima, edukaciji u samostalnom obavljanju laboratorijskih zadataka, znanju i iskustvu koje su podelile sa mnom tokom sprovođenja eksperimentalnih merenja.

*Svim članovima katedre za Fizikalnu medicinu i rehabilitaciju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
Dekanu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
Programskom savetu molekularne medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
svim učesnicima istraživanja, jer bez njihovog učešća ovaj rad bi bio neizvodljiv,
svim dragim ljudima, koji su bili uz mene u proteklom vremenu.*

*Snaga volje i radosti uvećana je podrškom i ljubavlju mojih Backovića i Filipovića.
Hvala mom personalnom lektoru za molekularni i engleski jezik, ali nadasve srodnoj duši, mojoj sestri Ani.*

Hvala mojim sestrićima Evi i Marku, na strpljivom podnošenju zanemarivanja, mojim roditeljima Slađani i Nebojši, na ohrabrenju koje su mi pružali kad bih posustala, i radovanju svakom mom uspehu. Posebno sam im zahvalna jer su mi svojim znanjem i iskustvom pružali najbolji primer vrednosti naučnog, kao i rada uopšte.

Hvala vam i nadam se da ću takav primer biti Kristini...

Ako roditelji daju korene i krila, oni su svakako ti koji su ta krila raširili: moja ćerka Kristina i moj suprug Aleksandar

*Hvala mojim najvećim ljubavima, mojoj Kristini, koja je mom životu dala pravi smisao i mom Aleksandru, čoveku koji je verovao u mene, čak i onda kada je razum napustio svaku nadu...
Razum nije uvek u pravu...*

Posvećeno mojoj porodici

*„Osvaneš i pogledaš: sve je već tu, i drvo i zmija i kamen i sunce. Ništa na tebe nije čekalo. Ništa se na tebe ne osvrće, ništa tebe ne pita, sve to stoji i ide po svome.
I onda, iz nekog dubljeg inata, iz čega li, kreneš i ti da od blata, od sna, od golog daha, od čega god nešto svoje, onako po svome stvoriš. Pustiš to u svet i strepiš: ne znaš hoće li prohodati, progovoriti, hoće li opstati.“*

Vasko Popa

Rezime

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijenatkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Uvod: Osteoporoza je hronično sistemsko oboljenje skeleta koga karakteriše smanjenje koštane gustine i poremećaj mikroarhitekture kosti, sa povećanim rizikom od frakture. Povećanje osteoklastne aktivnosti, povećava ekspresiju matriks-metaloproteinaza (MMP-9 i MMP-2), što povećava resorpciju kosti i degradaciju ekstracelularnog matriksa i kolagena tipa I.

Cilj rada: U cilju objašnjenja patofizioloških mehanizama odgovornih za nastanak osteoporoze u ovom istraživanju pokušali smo da utvrdimo faktore koji utiču na aktivnost i diferencijaciju osteoklasta i osteoblasta i njihovu dinamiku promene uslovljenu primenom odgovarajućeg tretmana. Osnovni ciljevi ovog istraživanja bili su da se utvrdi uticaj 12-nedeljnog specifično dizajniranog programa vežbi na promenu funkcionalnog statusa i promenu enzimske aktivnosti MMPaza i TIMPa-1 u serumu pacijentkinja sa dijagnostikovanom postmenopauzalnom osteoporozom. Sledeći cilj istraživanja odnosio se na ispitivanje povezanosti funkcionalnih genskih polimorfizama (PM) *rs243866* za MMP-2 i *rs3918242* za MMP-9 i funkcionalnog statusa naših pacijentkinja nakon primene programa vežbi, kao i definisanje najzastupljenijih faktora rizika za osteoporozu u ispitivanoj populaciji. Sekundarni ciljevi predstavljali su utvrđivanje uticaja programa vežbi na smanjenje straha od pada i povećanje znanja o osteoporozi.

Metod: Ukupno 97 pacijentkinja sa dijagnostikovanom osteoporozom je metodom randomizacije nasumično raspoređeno u 2 grupe, grupa koja vežba (VG) i kontrolna grupa (KG), u odnosu 1:1. Pacijentkinje iz VG imale su specifično dizajniran program vežbi, pod kojim se podrazumevalo sprovođenje aerobnih vežbi, treninga snage i izdržljivosti i vežbi balansa. Pacijentkinje iz KG nisu učestvovala u programu vežbi za vreme trajanja istraživanja. Pacijentkinje su u ponovljenim merenjima biohemijski i klinički testirane po 3 puta, u sledećem vremenskim intervalima: pre započinjanja korišćenja terapije (programa vežbi i medikamentozne terapije), posle 4 i 12 nedelja od primene iste u cilju utvrđivanja efekata programa vežbi na ispitivane parametre. Prisustvo i aktivnost MMP-aza u serumima određena je metodom zimografije, dok je aktivnost TIMP-a1 određena ELISA metodom. Procena funkcionalnog statusa pacijentkinja vršena je testovima "ustani i kreni" (TUG), "ustani i sedni" (STS) i testom "stajanja na jednoj nozi" (OLST).

Procena straha od pada (FES-I) i znanja o osteoporozi (OKAT-S) utvrđeni su pre početka i 12 nedelja posle primene tretmana. Molekularno-genetičke analize obuhvatile su detekciju genotipova za polimorfizme: *rs243866* u genu za MMP-2, Real time PCR metodom i *rs3918242* u MMP-9 genu metodom lančane reakcije polimerizacije (PCR) i restrikcije produkata reakcije restrikcionim enzimom. Ispitivanje uticaja dobijenih genotipova na funkcionalni ishod pacijentkinja, posle 12 nedelja, u VG, utvrđena je procenom korelacije ovih genotipova sa razlikom u postignutim TUG, STS i OLST testovima. U statističkoj analizi su korišćene metode deskriptivne i inferencijalne statističke analize (analiza varijanse za ponovljena merenja). Izvršena je registracija istraživanja na sajtu www.clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov identifier, *NCT number: NCT03816449*).

Rezultati rada: Poređenjem biohemijskih parametara, odnosno vrednosti enzimske aktivnosti MMP-9, MMP-2 i TIMP-1 na početku istraživanja, pre započinjanja terapije, između posmatranih grupa nije postojala statistički značajna razlika za posmatrane aktivnosti. U VG registrovano je statistički značajno smanjenje aktivnosti MMP-9 i MMP-2 i povećanje TIMP-a 1 nakon 12 nedelja. Ove promene nisu registrovane u KG. Komparativnom analizom efikasnosti tretmana među grupama zaključeno je da je VG imala bolji tretman. Analizom svakog parametra posebno dobijeni su sledeći rezultati.

Aktivnost MMP-9 statistički značajno je smanjena nakon 12 nedelja ($p < 0,001$). Ista značajnost nije uočena nakon 4 nedelje, u VG. U KG vrednosti enzimske aktivnosti MMP-9 su bile gotovo nepromenjene tokom perioda praćenja (4 i 12 nedelja). Aktivnost MMP-2 statistički značajno je smanjena nakon 4 i 12 nedelja u VG. U KG postojao je trend porasta MMP-2 aktivnosti ($p = 0,022$) nakon 4 i 12 nedelja ($p = 0,002$). Vrednosti TIMPa-1 su se statistički značajno menjale u obe grupe. U VG u prve 4 nedelje registrovan je blagi nesignifikantni porast vrednosti TIMP-1 ($p = 0,260$). U periodu od 4 do 12 nedelje došlo je do statistički značajnog porasta ove vrednosti u VG ($p < 0,001$). Vrednosti TIMP-a1 na kraju perioda praćenja su bile statistički značajno veće u odnosu na početno merenje ($p < 0,001$) u VG. U KG je registrovan statistički značajan porast vrednosti TIMP-1 nakon 4 nedelje ($p < 0,001$), zatim značajno smanjenje ove vrednosti u periodu od 4-12 nedelje ($p = 0,018$). Inicijalno merenje vrednosti TIMPa-1 se nije razlikovalo statistički značajno u odnosu na merenje nakon 12 nedelja ($p = 0,733$) u KG. Trend porasta vrednosti TIMPa-1 se nastavio u VG, a trend smanjenja vrednosti u KG do 12 nedelje, sa statističkom značajnošću između grupa ($p < 0,001$).

Poređenjem vrednosti funkcionalnih testova TUG, STS, OLST, kao i FES-I i OKAT-S, na početku perioda praćenja nije bilo statistički značajne razlike među grupama. U VG grupi je registrovano poboljšanje funkcionalnog statusa za sve posmatrane parametre, za razliku od KG. Komparativnom analizom efikasnosti tretmana među grupama, zaključeno je da su pacijentkinje iz VG grupe imale statistički bolju terapiju za sve posmatrane testove, u odnosu na KG.

Nakon 4 nedelje vrednosti TUG testa se nisu razlikovale statistički značajno među grupama. Nakon 12 nedelja vrednosti ovog testa bile su značajno manje u VG ($p < 0,001$). Analizom promena u okviru svake grupe, u VG registrovano je statistički značajno smanjenje vrednosti TUG testa nakon 12 nedelja ($p = 0,001$). U KG nije registrovana značajna promena vrednosti TUG testa u periodima praćenja ($p = 0,313$). Nakon 4 i 12 nedelja vrednosti STS testa su se statistički značajno smanjile u VG ($p < 0,001$). Analizom promena u okviru svake grupe, u VG je registrovano statistički značajno smanjenje vrednosti STS u oba perioda praćenja (početno merenje vs 4 nedelje $p < 0,001$, početno merenje vs 12 nedelja $p < 0,001$, 4 nedelje vs 12 nedelja $p < 0,001$). U KG, je registrovano statistički značajno smanjenje vrednosti STS testa nakon 12 nedelja u odnosu na početno merenje ($p = 0,004$). Komparacijom vrednosti OLST nakon 4 nedelje među grupama nije registrovana statistički značajna promena. Nakon 12 nedelja vrednosti ovog testa su bile statistički značajno veće u VG ($p < 0,001$). Posmatranjem promena u okviru svake grupe, uočeno je statistički značajno povećanje vrednosti OLST testa nakon 4 i 12 nedelja u VG (početno merenje vs 4 nedelje $p < 0,001$, početno merenje vs 12 nedelja $p < 0,001$, odnosno 4 nedelje vs 12 nedelja $p < 0,001$). U KG ove promene nisu bile statistički značajne u oba perioda praćenja ($p = 0,090$). OKAT-S test se statistički značajno povećavao, a FES-I smanjivao u periodu praćenja u ukupnoj populaciji, sa većom statističkom značajnošću u VG ($p < 0,001$).

Molekularno-genetičke analize nisu potvrdile korelaciju između polimorfizama za MMP-9 i MMP-2 i funkcionalnog statusa merenog TUG, STS i OLST nakon 12 nedelja, u VG. U ukupnom uzorku pokazano je da su pacijentkinje genotipa GG u polimorfizmu za MMP-2 imale inicijalno statistički značajno lošije rezultate za TUG i STS test u poređenju sa onima koje su imale genotip GA ili AA. Ovi rezultati nisu uočeni za MMP-9 polimorfizam.

Zaključak: Pacijentkinje sa postmenopausalnom osteoporozom imaju višestruke signifikantne benefite od primene specifično dizajniranog programa vežbi. Program koji podrazumeva brzi hod, trening snage umerenog intenziteta i vežbe balansa smanjuje signifikantno serumsku aktivnost MMP-2 i MMP-9 i povećava aktivnost TIMP-1, čime se potvrđuje anti-inflamatorni odgovor na vežbu. Pored toga, poboljšava značajno funkcionalni status pacijentkinja, poboljšanjem mišićne snage i balansa, čime relevantno smanjuje rizik za pad i prelom, a indirektno vodi poboljšanju koštane mase. Činjenica da povećava značajno znanje o osteoporozu i smanjuje strah od pada dodatno opravdava potrebu za njegovom implementacijom u svakodnevnu kliničku praksu. Polimorfizmi gena za MMP-9 i MMP-2 nisu modulatori individualne osetljivosti na vežbu kod

pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u Srbiji. Ipak, analizom navedenih polimorfizama u celokupnom uzorku uočeno je da veća učestalosti GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 predstavlja prediktor lošijeg funkcionalnog statusa merenog TUG i STS testom u ispitivanoj populaciji.

Kliničko definisanje funkcionalnog statusa setom pomenutih testova i praćenje promene MMP-aza, kao potencijalnih biomarkera, potrebno je primeniti u cilju praćenja efikasnosti terapije i moguće modifikacije iste. Širenje znanja i dobrih rehabilitacionih programa vežbanja u budućnosti, treba da predstavlja ključne ciljeve u pravcu definisanja globalne strategije za smanjenje rizika za pad i prelom, kod pacijenata sa osteoporozom, ali i zdravih individua u cilju promocije zdravog starenja.

Ključne reči: postmenopauzalna osteoporoza, specifično dizajniran program vežbi, matriks-metaloproteinaze, funkcionalni status, polimorfizmi

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: molekularna medicina

Abstract

Impact of specially designed exercise program on enzyme activity of serum matrix-metalloproteinases and functional status in female patients with postmenopausal osteoporosis

Introduction: Osteoporosis is chronic systemic skeletal disease characterized by decreased bone density and destruction of bone microarchitecture, with increased risk of fractures. Enhanced osteoclast activity in osteoporosis, increases matrix metalloproteinases expression (MMP-9 and MMP-2), which stimulates osteoclast resorption and degrades extracellular matrix proteins and collagen type I.

Objective: In order to explain the pathophysiological mechanisms responsible for the development of osteoporosis in this study, we tried to identify the factors involved in osteoclast and osteoblast differentiation, as well as their dynamic changes, depending on the use of appropriate therapy. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of 12-weeks specifically designed exercise program on functional status and enzyme activity of serum MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 in patients with postmenopausal osteoporosis. Another primary aim was to determine correlation between functional genetic polymorphisms (PM) *rs243866* for MMP-2 and *rs3918242* for MMP-9 and functional outcomes of our patients after introduction supervised exercise program, as well as identifying risk factors for osteoporosis in the study population. Secondary aims were to determine the effectiveness of exercise program on reduction of fear of falling and acquisition of knowledge about osteoporosis.

Materials and Methods: In total, 97 eligible participants with diagnosed osteoporosis were randomly assigned in two groups: exercise group (EG) and control group (CG), in 1:1 ratio. Patients from EG had 12 weeks supervised exercise program which included aerobic exercise, resistance and balance exercise. Patients from CG didn't take part in any physical activity for 12 weeks. Repeated measurements in accordance with biochemical and clinically parameters for both groups have been conducted three times, at baseline and 4 and 12 weeks after the treatment, in order to determine the effectiveness of physical activity on the examined parameters. Gelatin zymography was used to detect enzyme activity of serum MMP-9 and MMP-2 in both groups, while the activity of a TIMP-1 was determined by the ELISA method. Functional outcomes were determined by means of "timed up and go test" (TUG), "sit to stand tests" (STS) and "one leg stance test" (OLST). Assessment of fear of falling (FES-I) and knowledge about osteoporosis (OKAT-S) were performed at baseline and 12 weeks after exercise. Molecular genetic analysis have included the detection of genotypes for *rs243866* in MMP-2 polymorphisms by using Real-time PCR method and *rs3918242* in MMP-9 polymorphisms by using PCR-RFLPs. Determining the influence of obtained genotypes on functional outcomes of patients, in EG, after 12 weeks, was obtained by analyzing the correlation of these genotypes with the obtained differences in results of TUG, STS and OLST tests. The statistical methods used for the aforementioned analysis were descriptive and inferential statistical analysis (analysis of variance for repeated measures).

The study protocol have been reviewed and approved by Clinicaltrials.gov identifier (NCT number: NCT03816449). The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and performed in compliance with relevant laws and national and international guidelines

Results: The comparison of the **biochemical parameters**, enzymatic activity of serum MMP-9, MMP-2 and TIMP-1 at baseline revealed no statistically significant difference between groups. There was statistically significant improvement in all observed measurements in EG after 12 weeks exercise program, while these changes were not observed in CG. Comparative analysis of the effectiveness of treatment between groups revealed that EG received better treatment. The following results were obtained from independent analysis of each studied parameter.

Activity of MMP-9 was significantly reduced ($p < 0,001$) after 12 weeks, but not after 4 weeks of treatment in EG. In CG, MMP-9 was almost unchanged during two test periods (4 and 12 weeks). Activity of MMP-2 was significantly reduced after 4 and 12 weeks of treatment, in EG. In CG this activity significantly increased ($p = 0.022$) for both test periods. TIMP-1 was significantly changed in both groups. In EG after 4 weeks there was mild, statistically insignificant increase of TIMP-1 ($p = 0.260$). Statistically significant increase of TIMP-1 was observed in the EG ($p < 0,001$) in the period from 4 - 12 week; TIMP-1 value was significantly higher ($p < 0,001$) at the end of the treatment comparing with the baseline values. In CG there was statistically significant increase ($p < 0,001$) of TIMP-1 after 4 weeks and significant decrease ($p = 0,018$) between 4 - 12 week. Comparing the TIMP-1 baseline and values after 12 weeks, no statistically significant difference ($p = 0,733$) was observed. This trend was maintained–till the end of the program, with significant difference between groups ($p < 0,001$).

The comparison of the values of **functional tests** for TUG, STS, OLST and FES-I and OKAT-S at the baseline demonstrated no statistically significant differences between groups. Statistically significant improvement in all observed functional outcomes in EG was registered after 12 weeks of exercise program. None of these changes was observed in CG. The comparative analysis of the treatment effectiveness between groups confirmed that EG received better treatment overall (taking all functional tests into consideration). TUG test values didn't significantly differ between groups after 4 weeks of treatment, while significant reduction of TUG values ($p < 0,001$) was observed in EG with respect to CG after 12 weeks of treatment. Analysis of the functional outcomes' variation inside of each group showed a significant reduction of TUG test values ($p = 0,001$) after 12 weeks for EG, while no significant TUG variation ($p = 0,313$) was observed in CG for both test periods. STS values were significantly lower after 4 and 12 weeks in EG ($p < 0,001$) with respect to CG. Analysis of STS variation inside of each group showed statistically significant reduction of STS in EG for both test periods (baseline vs 4 weeks: $p < 0,001$, baseline vs 12 weeks: $p < 0,001$, 4 weeks vs 12 weeks: $p < 0,001$); in CG, significant reduction in STS test was observed after 12 weeks comparing to the baseline values ($p = 0,004$). OLST values didn't differ significantly between groups after 4 weeks. After 12 weeks these values statistically increased in EG ($p < 0,001$). Analysis of OLST variation inside of each group showed significant increase of OLST after 4 and 12 weeks of treatment in EG (baseline vs 4 weeks: $p < 0,001$, baseline vs 12 weeks: $p < 0,001$, 4 weeks vs 12 weeks: $p < 0,001$); no significant OLST variation was observed in CG for both test periods ($p = 0,090$). After 12 weeks of treatment, OKAT-S test values statistically increased, while FES-I statistically decreased in both trial groups, but comparison inside of each group showed that these changes were statistically more significant in EG ($p < 0,001$). Conclusively, patients from EG received better treatment considering both functional and biochemical parameters.

Molecular-genetic analyzes didn't reveal the correlation between MMP-2 and MMP-9 polymorphisms and functional status in VG measured by TUG, STS and OLST after 12 weeks. Analyzing the whole population, the frequency of MMP-2 and MMP-9 genotypes was uniform in groups ($p = 0.971$), which allowed us to make more objective conclusions. Nevertheless, subjects with GG genotype for MMP-2 had significantly lower, initial TUG and STS values as compared to those with GA or AA genotype. This type of correlation was not observed for MMP-9 polymorphism.

Conclusion: Specially designed exercise program brought multiple significant benefits to patients with postmenopausal osteoporosis. Program that involves fast walking, resistance exercise of moderate intensity and balance exercise significantly decreased serum activity of MMP-2 and MMP-9, and increased TIMP-1, thus confirming the anti-inflammatory response to exercise. Moreover, the program significantly improved functional status of patients through improvement of muscle strength and balance, which considerably reduced the risk of fall and fracture and indirectly lead to improvement in bone mass. The fact that this program significantly increased knowledge

about osteoporosis and reduced fear of falling further justifies the need for its implementation in everyday clinical practice. Observed polymorphisms of MMP-9 and MMP-2 didn't demonstrate a correlation with the individual exercise performance in patients with osteoporosis, in Serbia. On the other side, analyzes of the aforementioned polymorphisms in the whole sample revealed that the higher frequency of MMP-2 GG genotype was a predictor of worse functional status measured with STS and TUG test initially.

Systematic clinical assessment of functional outcomes with described group of tests, as well as assessment of changes in MMPs as potential biomarkers, should be regularly implemented in physiatrist practice in order to monitor the effectiveness of treatment, as well as the possible modifications of the same treatment.

In the future, the focus should be placed on spreading knowledge about osteoporosis and good rehabilitation programs as key determinates for defining a global strategy for reduction of the risk of fall and fracture in osteoporotic patients and healthy individuals, as part of strategy for promoting healthy aging.

Keywords: postmenopausal osteoporosis, specifically designed exercise program, matrix metalloproteinases, functional status, polymorphisms

Scientific Field: Medicine

Special topics: Molecular Medicine

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Definicija osteoporozе.....	1
1.2. Epidemiologija osteoporozе.....	1
1.3. Klasifikacija osteoporozе.....	2
1.4. Faktori rizika za nastanak osteoporozе.....	2
1.5. Patogeneza osteoporozе i modelovanje i remodelovanje kosti.....	3
1.6. Biomarkeri metabolizma koštanog tkiva.....	7
1.7. Matriks metaloproteinaze i osteoporozа.....	9
1.7.1. Matriks metaloproteinaze.....	9
1.7.2. MMP-2 i koštano remodelovanje.....	11
1.7.3. MMP-9 i koštano remodelovanje.....	12
1.8. Klinička slika i dijagnoza osteoporozе.....	14
1.9. Terapija osteoporozе.....	15
1.9.1. Farmakološko lečenje osteoporozе.....	16
1.9.2. Nefarmakološko lečenje osteoporozе.....	17
1.9.3. Mesto i značaj fizičke aktivnosti u tretmanu pacijenata sa sniženom koštanom gustinom.....	18
1.9.3.1. Vežbe sa opterećenjem sopstvenom težinom.....	19
1.9.3.2. Vežbe snage.....	20
1.9.3.3. Vežbe za korekciju posture.....	20
1.9.3.4. Vežbe balansa (ravnoteže).....	21
1.10. Funkcionalna procena pacijentkinja sa osteoporozom.....	21
1.11. Fizička aktivnost na molekularnoj osnovi.....	22
1.11.1. Mehaničko opterećenje kosti promoviše sintezu hormona i citokina.....	23
1.11.2. Mehaničko opterećenje kosti promoviše aktivaciju signalnih puteva.....	23
1.11.3. Mehaničko opterećenje promoviše sintezu nekodirajuće RNK.....	23
1.11.4. Mehaničko opterećenje utiče na proces vaskularizacije kosti.....	24
1.11.5. Mehaničko opterećenje utiče na ekspresiju matriks metaloproteinaza.....	24
1.12. Sklonost (genetska predispozicija) ka osteoporozі.....	26
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	28
3. MATERIJAL I METODE	30
3.1. Tip istraživanja.....	31
3.2. Selekcija ispitanika.....	31
3.3. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz istraživanja.....	32
3.4. Prikupljanje podataka i merenja.....	34
3.4.1. Opšte demografske karakteristike i faktori rizika.....	34
3.4.2. Centralna osteodenzitometrijska merenja.....	34
3.4.3. Merenje biohemijskih parametara.....	34
3.4.3.1. Merenje enzimске aktivnosti MMP-2 i MMP-9 metodom zimografije.....	35
3.4.3.2. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) za kvantifikaciju TIMP-a1.....	36
3.4.4. Molekularno-genetičke analize i merenja.....	37
3.4.4.1. Izolacija DNK iz limfocita periferne krvi.....	37
3.4.4.2. Analiza polimorfizma rs3918242 u genu za MMP-9.....	37
3.4.4.3. Analiza polimorfizma rs243866 u genu za MMP-2.....	38
3.5. Protokol specifično dizajniranog programa vežbi.....	38
3.6. Testovi za procenu funkcionalnog statusa.....	39
3.7. Statističke metode.....	40

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	41
4.1. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-2, MMP-9 i TIMP-1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	43
4.2. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	48
4.2.1. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na TUG, STS i OLST u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	48
4.2.2. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu FES-I i OKAT-S u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	53
4.2.3. Korelacija funkcionalnih testova u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom...	54
4.2.4. Procena efekta specifično dizajniranog programa vežbi nakon 12 nedelja na vrednosti testova TUG, STS i OLST u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	54
4.3. Molekularno-genetičko ispitivanje.....	60
4.3.1. Uticaj polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 i rs3918242 u genu za MMP-9 na funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	60
4.3.2. Uticaj MMP-2 genotipa na TUG i STS na inicijalnom merenju u ispitivanoj populaciji.	65
4.4. Učestalost faktora rizika za nastanak osteoporoze i faktora rizika za pad u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom i opšte demografske karakteristike ispitivane populacije.....	66
5. DISKUSIJA	74
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-2, MMP-9 i TIMP-a1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	75
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.....	81
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu TUG i STS testa.....	82
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu OLST testa.....	86
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu FES-I testa.....	88
Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu OKAT-S upitnika.....	89
Molekularno –genetičko ispitivanje.....	92
Uticaj polimorfizama gena rs243866 za MMP-2 i rs3918242 za MMP-9 na funkcionalni status pacijentkija sa postmeopauzalnom osteoporozom.....	92
Korelacija polimorfizama gena rs243866 za MMP-2 i rs3918242 za MMP-9 i funkcionalnih testova u pacijentkija sa postmeopauzalnom osteoporozom.....	96
Učestalost faktora rizika za nastanak osteoporoze i faktora rizika za pad u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom i opšte demografske karakteristike ispitivane populacije.....	97
6. ZAKLJUČCI	108
7. LITERATURA	112

1.Uvod

1.1. Definicija osteoporoze

Porast standarda i napredak medicine u dvadesetom veku uzrokovali su značajno produženje očekivanog trajanja života, sa 50 godina koliko je iznosilo početkom 20.veka na preko 80 godina krajem veka. Značajan porast učestalosti bolesti karakterističnih za postmenopauzalnu i kasniju životnu dob povezan je sa produženjem života. Među njima značajno mesto pripada osteoporozi.

Osteoporoza je najčešća hronična, sistemska, metabolička bolest kostiju. Zbog veoma velike rasprostranjenosti govori se o tihoj epidemiji 21. veka. Bolest je asimptomatska, tiho se razvija, a najčešće je prvi simptom prelom, spontan ili uz silu koja je manja od sile inače potrebne za prelom zdrave kosti. Prema statističkim podacima oko 10 % svetske populacije boluje od osteoporoze (Kanis, et al. 2019). Broj obolelih se stalno povećava, posebno u razvijenim zemljama, što postaje veliki medicinski, ali i socijalni, ekonomski i javno-društveni problem. Zbog toga prevencija, rano otkrivanje i dijagnostikovanje ove bolesti, ali i primena adekvatnog tretmana i povećanje adherencije ka lečenju, predstavljaju ne samo interes za pojedinca, već za celu društvenu zajednicu.

Prema definiciji Nacionalnog društva za borbu protiv osteoporoze (NOF-National Osteoporosis Foundation), koja je pre svega kvantitativna, osteoporoza je sistemsko oboljenje skeleta koje se odlikuje smanjenjem koštane mase i promenama u mikroarhitekturi kosti što ima za posledicu povećanu sklonost ka nastanku preloma (Kanis, et al. 2019). Kao posledica neravnoteže između formiranja i resorpcije kosti, kada je novostvorena kost koja nastaje u jedinici vremena manja od količine kosti koja se razgradi, nastaje osteoporoza (Kanis, et al. 2019; Kanis, 2007.). Dijagnoza se postavlja kada je mineralna koštana gustina (BMD) 2.5 standardne devijacije (SD) ili više, ispod prosečne vrednosti za mlade zdrave žene u populaciji (T skor < -2,5 SD), (Kanis, et al. 2019; Cosman, et al. 2014; Kanis, 2007). Iako ovakvo merenje daje kvantitativne podatke o mineralnoj gustini kostiju (BMD), koja se prvenstveno odnosi na snagu kostiju, klinički aspekt dijagnostikovanja ove bolesti ogleda se u prevenciji pada i nastanka preloma.

1.2. Epidemiologija osteoporoze

Broj obolelih od osteoporoze je u stalnom porastu. Tome doprinose kako sedentarni način života, tako i demografske promene, stalna tendencija starenja populacija razvijenih zemalja i ekspanzija populacija nerazvijenih zemalja (Ilić, 2016). Trenutno od osteoporoze u svetu boluje preko 200 miliona osoba, pretežno žena, starije životne dobi. Procenjeno je da 22 miliona žena i 5,5 miliona muškaraca u Evropskoj uniji ima osteoporozu (Kanis, et al. 2019; Prevention, et al. 2003; Hernlund, et al. 2013.) Prema podacima Zavoda za javno zdravlje u Srbiji, ova statistika iznosi oko 400 000 žena, sa tendencijom stalnog porasta (Lešić, et al. 2000). Kod osoba starijih od 50 godina, svaka druga žena i svaki peti muškarac su u riziku od osteoporoze. Veoma često je prva manifestacija osteoporoze fraktura, a klinički značaj lečenja osteoporoze ogleda se u sprečavanju nastanka iste. U svetu, rizik od nastanka osteoporotičnih fraktura iznosi 30 do 40%. Tokom života mogućnost nastanka svih osteoporotskih fraktura kod žena iznosi 50%, dok kod muškaraca iznosi 25%, i ima trend rasta (Weaver, et al. 2016). Prema procenama NOF-a, svaka četvrta žena i svaki peti muškarac stariji od 50 godina ima predispoziciju za osteoporotičnu frakturu, dok se jedna osteoporotična fraktura u svetu dogodi na svakih 30 sekundi (Kanis, et al. 2004). Svaka fraktura povećava rizik za nastanak novog preloma za 86%. Oko 20 % žena sa postojećom vertebralnom frakturom doživeće novu vertebralnu frakturu u sledećih 12 meseci. Svaki četvrti pacijent koji je na terapiji za osteoporozu zadobiće frakturu (Kanis, et al. 2019; Kanis, et al. 2004). Kako se broj starijih osoba stalno povećava, očekuje se prava epidemija preloma. Predviđanja su prilično ozbiljna i zastrašujuća. Prema procenama eksperata broj preloma

vrata butne kosti u svetu, koji je iznosio oko 1,7 miliona 1990.godine, će dostići broj od 6,3 miliona 2050. godine, što će za oko 28% povećati broj fraktura (Kanis, et al. 2019). Mortalitet nakon fraktura je visok i uzrokuje značajne funkcionalne deficite (Kanis, et al. 2019; Hernlund, et al 2013; Kanis, et al. 2013). Oko 15-20% žena umire tokom prve godine nakon preloma vrata butne kosti zbog direktnih ili indirektnih posledica preloma, a dodatnih 25% zahteva dugotrajnu kućnu negu i nikada se u potpunosti ne oporavi. Samo 1/3 pacijentkinja u potpunosti vraća funkciju kao pre preloma. U Evropi je potvrđeno da osteoporoza uzrokuje više nesposobnosti i izgubljenih godina "zdravog života"(tzv. DALY indeks) u odnosu na reumatoidni artritis (RA), ali manje od osteoartritisa (Kanis, et al. 2019.). Komparirajući sa pojavom malignih bolesti i posledicama koje sa sobom nose, problemi uzrokovani osteoporozom su brojniji u odnosu na one uzrokovane svim tipovima kancera, izuzev kancera pluća (Kanis, et al. 2019; Elliot-Gibson, et al. 2004).

Navedeni podaci nedvosmisleno potvrđuju veliki značaj ove bolesti i aktuelnost tematike, kako za pacijente i njihove porodice, tako i za one koji ih leče i celokupnu društvenu zajednicu.

1.3. Klasifikacija osteoporoze

Prema uzroku nastanka osteoporoza se deli na **primarnu i sekundarnu**. Primarnom se definiše ona koja nije izazvana drugom bolešću, hirurškim procedurama ili farmakoterapijom koja može biti uzročnik iste, dok se sekundarnom osteoporozom smatra ona nastala u prisustvu gore navedenih uzročnika. Preko 95% slučajeva osteoporoze je primarno, a razlikuju se 3 oblika: idiopatska (juvenilna ili osteoporoza mlade odrasle osobe), postmenopauzalna (tip I) i senilna (tip II).

Idiopatska juvenilna osteoporoza se retko javlja, najčešće kod dece i adolescenata, u periodu između 8. i 14. godine života sa podjednakom učestalošću u oba pola, sa urednom funkcijom gonada. U najvećem broju slučajeva, nakon puberteta, dolazi do remisije bolesti (US, 2004).

Idiopatska osteoporoza mlade odrasle osobe javlja se pretežno kod muškaraca životne dobi od 30. do 50. god. i kod premenopauzalnih i žena srednje životne dobi (US, 2004).

Kod žena posle menopauze se najčešće javlja **primarni tip 1** ili **postmenopauzalna** osteoporoza. Osteoporoza tipa 1 (postmenopauzalna) je posledica uvećane aktivnosti osteoklasta i zahvata u prvom redu trabekularnu kost. Javlja se između 51. i 75.godine i 6 puta je češća kod osoba ženskog pola. **Primarni tip 2** oblik ili **senilna (involutivna)** osteoporoza javlja se u oba pola, posle 75. godine života, sa 2 puta većom učestalošću u žena. Nastaje kao posledica fiziološkog, postupnog smanjenja broja i aktivnosti osteoblasta i zahvata kako trabekularnu, tako i kortikalnu kost.

Sekundarna osteoporoza odgovorna je za <5% svih osteoporoza, javlja se podjednako u oba pola i može se javiti u bilo kom periodu života, nastaje usled hroničnog dejstva predisponirajućih faktora, prisustva hroničnih bolesti i dugotrajne upotrebe lekova (Kanis, et al. 2019; Faryal and Ernesto, 2015).

1.4. Faktori rizika za nastanak osteoporoze

Osteoporoza je multifaktorijalna bolest i faktori koji učestvuju u njenom nastanku mogu se podeliti na više načina. Prema stepenu promenljivosti dele se na promenljive i nepromenljive. U **nepromenljive** se ubrajaju: životna dob kod osoba oba pola; ženski pol usled deficita estrogena, praćen menopauzom ili ovariektomijom; osobe svetlije puti (evropski i azijski narodi); genetski faktori (osobe sa pozitivnom porodičnom anamnezom na osteoporozu ili osteoporotičnu frakturu imaju 25% do čak 80% veće šanse za nastanak iste); prelom (osoba sa pozitivnom anamnezom na niskoenergetsku frakturu ima 2 puta veću mogućnost za

dobijanje novog preloma od osobe iste starosne dobi koja nije imala frakturu); niža telesna visina (Pouresmaeili, et al. 2018; Thulkar, et al. 2016; Ewald, 2012; Chen. et al. 2019).

U promenljive faktore rizika spadaju: nedostatak vitamina D, koji je uobičajen u starijoj populaciji (Bolland, et al. 2018), pri čemu su potvrđene zablude o dovoljnom izlaganju kože suncu (Moreira, et al. 2014); neuhranjenost, hipokalorijska ishrana, sa smanjenim unosom kalcijuma, fosfora, cinka, magnezijuma, vitamina A, K, E i C i D (Moreira, et al. 2014); loše navike, kao što su pušenje (nezavisni faktor rizika za osteoporozu), prekomerno konzumiranje alkohola ili kafe, (Abrahamsen, et al. 2014); fizička neaktivnost i sedentarni stil života (Karlsson and Rosengren, 2012); vrsta i intenzitet treninga (profesionalni ili amaterski trening (Pentyala, et al. 2013).

Podela uzroka osteoporoze na “minor” i “major” podrazumeva sledeće faktore:

u **Major** se ubrajaju: životna dob iznad 65.godine; kompresivne vertebralne frakture; prelom do 40.godine života; pozitivna porodična anamneza na niskoenergetsku frakturu (posebno prelom kuka kod majke); sistemska upotreba kortikosteroida duže od 3 meseca; malapsorpcioni sindrom; primarni hipoparatiroidizam; sklonost ka padu; osteopenija prisutna na RTG filmu; hipogonadizam; rana menopauza (pre 45.godine života); smanjene vrednosti vitamin-a D.

Minor uzroci su sledeći: reumatoidni artritis; lečena hipertireoza; primena hronične antikonvulzivne terapije; nizak nivo zastupljenosti kalcijuma u ishrani; pušenje; prekomerno unošenje alkohola; prekomerno konzumiranje kafe; telesna težina ispod 57 kg; gubitak telesne težine za više od 10% u 25. godini života; hronična terapija heparinom (Thulkar, et al. 2016; Kanis, et al. 2019.)

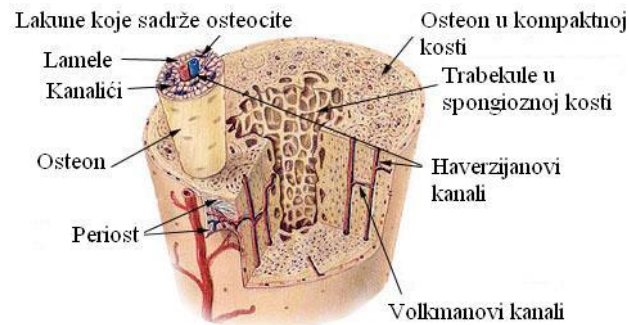
1.5. Patogeneza osteoporoze i modelovanje i remodelovanje kosti

Kost je specijalizovano vezivno tkivo građeno od mineralizovanog ekstracelularnog matriksa (ECM) i relativno malog broja hormonski-osetljivih ćelija. Kost mogu biti spongiozne (trabekularne) i kompaktne (kortikalne) kosti (Đudarić, et al. 2013; Silva, et al. 2015). Oko 80% ljudskog skeleta čine kompaktne kosti, koje omogućavaju strukturnu stabilnost skeleta. Kortikalna kost se nalazi spolja i predstavlja tvrdi zaštitu, dok je trabekularna smeštena u unutrašnjosti kosti i sačinjena je od mreže koštanih trabekula različitog oblika i debljine. Razlika u morfologiji između ova dva tipa kosti ima osnovu u njihovoj primarnoj funkciji: kortikalna kost služi kao neka vrsta mehaničke potpore, dok trabekularna ima primarnu funkciju u metabolizmu koštanog tkiva (Đudarić, et al. 2013).

Kod odrasle osobe koja ima u svom organizmu oko 1 kg kalcijuma (Ca^{2+}), 80 % ukupnog kalcijuma se nalazi u kortikalnom delu kosti. Količina koštanog Ca^{2+} prisutnog u organizmu posledica je prikupljene količine tokom faze koštanog sazrevanja i količine koja se gubila. Poznato je da je stopa gubitka trabekularnog dela kosti, koja ima od 5 do 30 puta veću površinu za remodelovanje, daleko veća od gubitka kortikalne. Statistika kaže da oko 30-50% trabekularne i 25-30% kortikalne kosti posle 65.godine života izgube osobe ženskog pola, a muškarci značajno manje. Taj broj u pacijenata muškog pola iznosi oko 10-18% trabekularne i 8- 10% kortikalne kosti (Marković, 2008). U zavisnosti od odnosa kortikalne i trabekularne kosti nastaje i različiti gubitak iste. Poznato je da telo pršljena ima značajno veći sadržaj trabekularne u odnosu na kortikalnu kost (75% trabekularne i 25% kortikalne), dok za vrat femura butne kosti važi obrnuta proporcija (Clarke, 2008).

Histološki, građa kosti ima sledeće karakteristike (slika 1): oko vaskularnog Haversovog kanalića, kroz koji prolaze krvni sudovi, nalazi se grupa koncentričnih lamela mineralizovanog kolagena, a horizontalno su položeni Volkmanovi kanali koji sadrže ogranke krvnih sudova. Centralni Haversov kanal zajedno sa koncentričnim lamelama, čini osnovnu morfološku jedinicu kortikalne kosti – osteon ili Haversov sistem (Rho, et al.

1998). Koštane lamele su međusobno paralelno raspoređene. U pojedinoj koštanoj lameli su šupljine u kojima su osteociti (Đudarić, et al. 2015; Rho, et al. 1998). Sveukupno, kolagen ima osnovnu paralelnu orijentaciju, ali vlakna formiraju kontinuum kako u jednoj lameli, tako i između njih. Mineralizovani kolageni filament predstavlja osnovni gradivni element kosti, jer u prostorima između kolagenih vlakana, dešava se proces odlaganja minerala na njihovu površinu (Erjavec, 2014). Primarna organska komponenta matrice je kolagen tipa I.



Slika 1. Građa kosti

preuzeto sa: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/sr/2/2e/Ilлу_compact_spongy_bone_serbien.jpg

Sastav kosti

Kost se sastoji iz neorganskog dela koji čine minerali (60-70%), organskog matriksa (30-40%), ćelije i voda. Mineralni deo koštanog matriksa osigurava čvrstoću (tvrdoću) koštanog tkiva, odnosno obezbeđuje otpornost na sabijanje. Najvećim delom je sačinjen od kalcijumovih soli koje čine 50–70% koštane mase. Kalcijum se u kostima najvećim delom nalazi u vidu fosfata, u obliku kristala hidroksiapatita i čini 95% mineralnog sadržaja. Pored toga preostalih 5% kalcijuma može biti vezano za karbonate, fluoride, hloride, citratne soli magnezijuma, natrijuma i sl. ugrađenih u kristalnu rešetku ili apsorbovanih na kristalnu površinu. (Feng, 2009).

Ekstracelularni matriks (ECM) predstavlja organski deo koštanog tkiva. Njegova uloga je da obezbedi elastičnost kosti, a čini od 20% do 40% koštane mase (Feng, 2009; Đudarić, et al. 2015). Najveći deo, oko 90-95%, u ECM-u čine molekuli kolagena, dok ostatak čine glikoproteini, hijaluronin, proteoglikani. Nekolagene organske komponente koje čine oko 10 % organskog matriksa sadrže proteine seruma, albumin, glikoprotein osteonektin, koštani proteoglikan i druge glikoproteine, alfa-karboksiglutaminsku kiselinu (GLK), odnosno protein nazvan koštani GLK protein ili osteokalcin, fosfoproteine i sijaloproteine (Gentili and Canceda, 2009).

Kolageni su najzastupljenija komponenta ECM, pri čemu se razlikuje oko 20 različitih tipova molekula kolagena, koje kodira oko 38 gena (Young, 2003). Kolagen tip I je najzastupljeniji kolagen koštanog tkiva i nosilac je njegovih biomehaničkih svojstava. Kolagen tipa I je sintetizovan u prokolagen koji je rastvorljiv u vodi, a stvaraju ga osteoblasti. Prilikom stvaranja koštanog ECM-a, zreli molekuli kolagena tipa I se spontano pakuju u fibrile. Struktura organskog i mineralnog sadržaja koštanog matriksa osigurava optimalna biomehanička svojstva koštanog sistema (Silva, 2015).

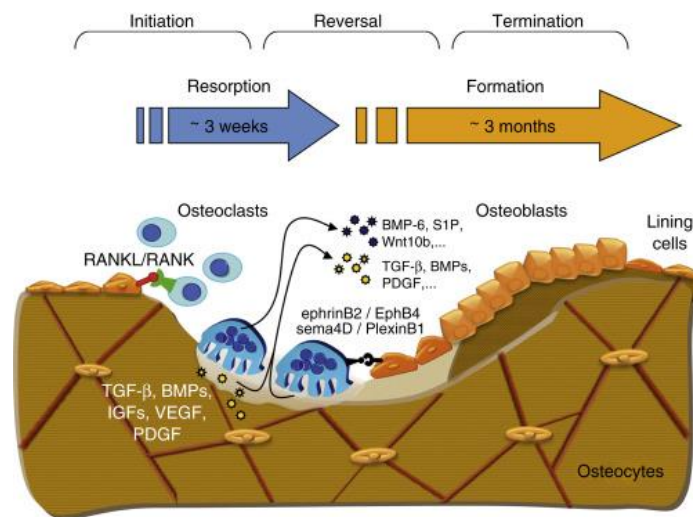
Proces stvaranja kosti naziva se osteogeneza ili osifikacija. Ona podrazumeva odlaganje minerala duž organskog matriksa. Ovaj proces odvija se u vezivu mezenhimnog tipa. Osteoblasti su mezenhimne ćelije koje stvaraju kost, odnosno sekretuju organski matriks sačinjen od mukopolisaharida, osteoalbumina i kolagenih vlakana (tzv.osteoid) (Neve, 2011). Mineralizacija matriksa u osteonu počinje ubrzo nakon njegovog nastanka i ova faza se naziva primarna mineralizacija i traje nekoliko nedelja (sekundarna mineralizacija). Osteoblasti su ćelije odgovorne za proizvodnju kolagenih vlakana elastične mreže koštanog

matriksa. Osteoblast okružen matriksom koji se mineralizuje transformiše se u osteocit, koji je sistemom kanalića povezan sa krvnim sudovima (Baig and Bacha, 2019). Osteoklasti su ćelije odgovorne za proces resorpcije kosti i vode poreklo od hematopoezne matične ćelije iz klase mononuklearnih fagocita. Njihova uloga je razgrađivanje mreže koštanog matriksa, fagocitoza dotrajalih delova istog i stvaranje prostora osteoblastima za nastanak nove mreže koštanog matriksa (Allori, 2008; Silva, 2015).

Remodelovanje kosti

Pod procesom remodelovanja koštanog tkiva, podrazumeva se odstranjivanje starog i stvaranje novog koštanog tkiva čime se omogućava stalno obnavljanje i održavanje koštanog tkiva tokom života. Homeostaza koštanog tkiva je postignuta ukoliko postoji ravnoteža između procesa resorpcije i formiranja kosti (Katsimbri, 2017; Verborgt, et al. 2000). Dešava se kroz faze koje se ciklično smenjuju.

Procesi razgradnje, izgradnje i mineralizacije kosti su prostorno i vremenski povezani, tako da svi osteoklasti, osteoblasti i osteociti na određenoj lokaciji čine jedinstvenu strukturu dinamičkog karaktera, poznatu kao osnovnu višćelijsku jedinicu (basic multicellular unit – BMU)-jedinicu za remodelovanje (Kenkre and Bassett, 2018)(slika 2)



Slika 2. Koštano remodelovanje, BMU

preuzeto sa: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/bone-remodeling-unit>

U svakom momentu oko milion ovih jedinica je aktivno, a proces remodelovanja traje u proseku šest meseci. Godišnje, 10% skeleta biva zamenjeno novim, a na oko svakih deset godina kompletno se obnovi čitav skelet. Osteoklastogeneza (ciklus razgradnje) traje 2-4 nedelje, značajno kraće od osteoblastogeneze, koja traje 3-4 meseca (prosečno oko 150 dana) (Verborgt, et al. 2000). Stvaranju nove kosti uvek prethodi resorpcija stare (Verborgt, et al. 2000; Lassen, et al. 2017). Procesi izgradnje kosti najintenzivniji su u periodu detinjstva i u adolescentnom dobu, dok se pik koštane mase dosegne oko 30. godine života, nakon čega počinje gubitak iste. Ovaj gubitak iznosi oko 0,3 do 0,5% godišnje oko 40. godine života, a značajno je veći kod žena u menopauzi i iznosi od 2% do 5% koštane mase godišnje, za prvih 10 godina menopauze, pri čemu se ovaj procenat gubitka smanjuje u senijumu (Verborgt, et al, 2000).

Remodelovanje uključuje očuvanje mehaničke snage kosti tako što se stara mikrooštećena kost zameni zdravijom kosti, kada postoji očuvana homeostaza kalcijuma i fosfora. Koštano remodelovanje odrasle kortikalne (kompaktne) kosti iznosi 2-5% godišnje, i neophodno je za održavanje biomehaničke snage kosti (Lassen, et al. 2017). Procenat remodelovanja trabekularne kosti se razlikuje od kortikalne, i iznosi oko 25% godišnje. Ovaj procenat je više

nego dovoljan za održavanje biomehaničke snage kosti, a upućuje na značaj remodelovanja trabekularne kosti za mineralni metabolizam (Lassen, et al. 2017; Đudarić, et al. 2014).

Koštano remodelovanje podrazumeva sledeće faze: aktivaciju osnovne višestanične jedinice BMU, čija se učestalost aktivacije smanjuje sa starenjem, a koja počinje fazom resorpcije; sintezu novog koštanog matriksa i mineralizaciju (koštano formiranje).

Faza resorpcije započinje aktivacijom osteoklastnih prekursora. U fazi aktivacije najpre se aktiviraju osteoblasti usled delovanja nekoliko hormona i faktora rasta koji se oslobađaju nakon mikrofraktura, promene mehaničkih opterećenja ili usled drugih neravnoteža, a onda nastaje aktivacija osteoklasta.

Za osteoklastogenezu ključna su dva faktora, eksprimirana od strane osteoblasta i stromalnih ćelija: faktor rasta koji stimuliše makrofagne kolonije (macrophage-colony stimulating factor, M-CSF) i ligand receptor za aktivaciju nuklearnog faktora kapa B (receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand; RANKL). RANKL je citokin koga luče osteoblasti, a koji zajedno sa M-CSF utiče na diferencijaciju osteoklasta (slika 2). Zatim osteoklasti na svojoj površini eksprimiraju receptor za RANKL, receptor za aktivaciju nuklearnog faktora κ B, RANK (receptor activator of nuclear factor-kappaB; RANK). Interakcijom RANKL-a i RANK-a počinje aktivacija osteoklasta, odnosno proces osteoklastogeneze i resorpcije kosti (Lassen, et al. 2017, Verborgt, et al. 2000). Većina osteotropnih hormona i citokina deluje preko RANKL-RANK osovine. Neposredni efekat na osteoklaste mogu ostvariti samo TNF-alfa, IL1 i IL6.

Citokin osteoprotegerin (OPG) luče osteoblasti, osteociti i stromalne ćelije. On predstavlja negativni regulator osteoklastogeneze. Prema svojoj strukturi je homolog RANK-u, a deluje kao antagonist RANKL-a. Vezujući se za RANK umesto RANKL-a, on inhibira osteoklastogenezu (stvaranje kompleksa RANKL-a i RANK-a), čime suprimira dalju resorpciju kosti (Kenkre and Bassett, 2018, 10a; Erjavec, 2014).

Nakon resorpcije kosti, tokom reverzne faze, nastaje apoptoza osteoklasta i počinje faza formiranja kosti, odnosno osteoblastogeneza. U fazi formiranja osteoblasti deponuju osteoid na površini trabekularne kosti i unutar korteksa, formirajući lamele koje podležu primarnoj i sekundarnoj mineralizaciji, o čemu je bilo reči u prethodnom tekstu.

Ako ima mnogo aktivnih površina, koštana razmena (turnover) je visoka, a ukoliko ih ima malo, smatra se da je niska. Na telima pršljenova, metakarpalnim površinama, vratu butne kosti gubljenje kostiju je intenzivnije nego na femuru (Lassen, et al. 2017).

Na proces remodelovanje kosti, odnosno na aktivnost BMU, utiču brojni hormoni preko svojih receptora, ali i drugi faktori, od kojih jedni stimulišu formiranje koštane mase (modeliranje kostiju), kao što su insulin, hormon rasta, IGF-1, estrogen, testosteron, kalcitriol, kalcitonin, bisfosfonati, fizička aktivnost i dr., dok drugi stimulišu resorpciju kostiju i time smanjuju koštanu masu, gde spadaju parathormon (PTH), kortizol, trijodtironin (T3), tetrajodtironin (T4) i dr. (Lassen, et al. 2017). Efekti ovih hormona (osim kalcitriola) nastaju zbog indukcije promene balansa između aktivnosti osteoblasta i osteoklasta. Ova promena može biti rezultat i indirektnog dejstva hormona na nekom drugom mestu, npr. kortizol u većim koncentracijama inhibiše intestinalnu apsorpciju kalcijuma, dovodeći do hipokalcemije, porasta sekrecije PTH i stimulacije aktivnosti osteoklasta (Kanis, et al. 2019). Brojni parakrini faktori stvoreni u koštanim ćelijama i ćelijama kostne srži posreduju u aktivnosti BMU (proinflamatorni citokini-IL-1, IL-6, prostaglandini E2 i dr.). Proinflamatorni interleukin 1 (IL-1) stimuliše stvaranje proteinaza, kolagenazu i stromelizin, koje utiču na razgradnju ECM kosti. Interleukin-6 (IL-6) podstiče maturaciju prekursorskih ćelija osteoklasta i stimuliše oslobađanje drugih citokina zajedno sa TNF-alfa (Pietschmann, et al. 2016). U eksperimentalnim uslovima je pokazano da prostaglandin zaustavlja demineralizaciju kosti kada se monoklonskim antitelima inhibiše dejstvo IL-6 (Pietschmann, et al. 2016).

Dejstvo estrogena je od izuzetne važnosti u kontroli gore navedenih procesa. Estrogen pored direktnog dejstva na stimulaciju proliferacije osteoblasta, stimuliše izlučivanje hormona rasta (GH) i IGF-1, povećava osetljivost kalcitoninskih receptora na osteoklastima, ali smanjuje osetljivost receptora za PTH i kalcitriol. Dejstvo estrogena ogleda se s jedne strane i u inhibiciji sinteze IL-1, IL-6 i faktora nekroze tumora (TNF), a sa druge u stimulaciji izlučivanja prostaglandina E2 i nekih drugih antiinflamatornih citokina, medijatora značajnih za prenos informacija unutar BMU (slika 2) (Pietschmann, et al. 2016). Dakle deficitom estrogena, pod čijom su kontrolom navedeni faktori razgradnje kosti (PTH, prostaglandin E, IL-1, IL-6, TNF-alfa. i dr) narušava se proces homeostaze i razgradnja postaje intenzivnija (Pietschmann, et al. 2016).

O ulozi genetskih faktora u kontroli rasta skeleta se sve više govori. Genetski lokus koji se nalazi na 11.hromozomu povezan je sa visokom koštanom masom, pokazala su istraživanja (Manuela and Rocha-Braz, 2016.) Genetski faktori, deficijencija estrogena, prisustvo egzogenih negativnih faktora, poput hipoproteinske ishrane siromašne kalcijumom, smanjenja vitamina D, loših navika, kao što su pušenje, povećan unos soli, alkohola, kafe, nedovoljno fizičke aktivnosti i sedentarni način života, mogu pojačati “turnover”, odnosno resorpciju kosti, što povećava rizik za pojavu osteoporoze.

U tom smislu prevencija je značajnija od lečenja, jer se zapravo nikada više ne može uspostaviti normalna arhitektura kosti.

1.6. Biomarkeri metabolizma koštanog tkiva

Biomarkeri kosti (biohemijski markeri) predstavljaju specifične molekule koštanog tkiva, enzime i neenzimske peptide, koji se oslobađaju iz ćelija i ne-ćelijskih struktura kosti u biološke fluide (krv, urin) za vreme procesa koštanog metabolizma i mogu se meriti različitim biohemijskim metodama (immunoassay i drugim metodama).

Potencijalno specifični biohemijski markeri, kojima se u novije vreme pridaje sve veći značaj, imaju za cilj da ukažu na kvantitativne i dinamičke promene u remodelovanju kosti, kako u pogledu reparacije kosti, tako i u pogledu degradacije iste. Potencijalni klinički značaj ovih biomarkera ogleda se u njihovoj sposobnosti da predvide progresiju bolesti u osteoporozi, jer je kliničko i radiološko (DXA BMD) predviđanje relativno siromašno i limitirano u savremenim dostupnim istraživanjima. U praćenju progresije bolesti biomarkeri mogu biti komplementarni sa imaging tehnikama. Biomarkeri metabolizma koštanog tkiva se dele na markere koštanog stvaranja i markere koštane razgradnje (slika 3).

Markeri koštanog formiranja su proizvodi osteoblasta i ovde se ubrajaju:

Alkalna fosfataza (ALP)

Ukupna alkalna fosfataza (ALP) je glikoprotein prisutan u mnogim tkivima, kostima, jetri, bubrezima, placenti i crevima. Kod odraslih osoba sa normalnom funkcijom jetre, oko 50% aktivnosti ovog enzima potiče iz jetre, dok je oko 50% iz kosti. Kod dece i adolescenata, oko 90% aktivnosti potiče iz kostiju zbog rasta skeleta, ali može biti povišena i u oboljenjima koja karakteriše povišeno koštano formiranje (maligne bolesti) (Nishizawa, et al. 2005)

Muškarci imaju nešto veće vrednosti ukupne ALP od žena, što se objašnjava suprimirajućim delovanjem estrogena na metabolizam kostiju, a kod oba pola se ova aktivnost povećava linearno sa godinama (Nishizawa, et al. 2005; Matthew, et al. 2017).

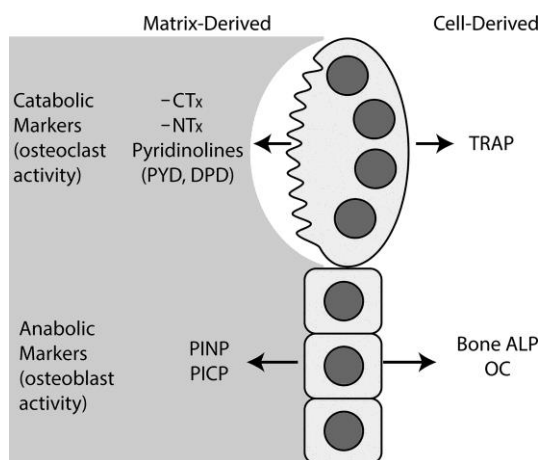
Specifičniji pokazatelj koštanog formiranja predstavlja kost specifična ALP. Osteoblasti luče kost specifičnu alkalnu fosfatazu, i oslobađaju je u cirkulaciju u dva oblika: solubilni i nesolubilni, pri čemu je oko 40% zastupljen solubilni oblik (Nishizawa, et al. 2005). Pretpostavlja se da je osnovna uloga ALP u stvaranju osteoida i mineralizaciji kostiju. Ako je isključena bolest jetre, ALP je dobar marker aktivnosti osteoblasta i formiranja kosti.

Osteokalcin

Pored kolagena, osteokalcin ulazi u sastav kostiju i čini oko 1% ukupnih proteina kosti. Sintetišu ga osteoblasti, hondrociti i odontoblasti, i nalazi se u kostima, hrskavici i dentinu. Za njegovu sintezu neophodan je vitamin K, kao i vitamin D. Predstavlja visoko specifičan marker koštanog formiranja. Iako ga stvaraju osteoblasti tokom procesa koštanog remodelovanja i mineralizacije koštanog matriksa, on inhibira aktivnost osteoblasta i na taj način sprečava prekomernu mineralizaciju, te predstavlja i marker prometa kosti. U slučaju nedostatka vitamina K ili vitamina D, osteokalcin se slabijim vezama vezuje za hidroksilapatit, što sugeriše povećanu sklonost ka prelomima. Nivo ovog proteina podleže varijacijama u toku 24h, pri čemu su više koncentracije prisutne u ranim jutarnjim časovima. Usled bubrežnih bolesti, nivo ovog proteina može biti povišen, pošto se oslobađa urinom, o čemu treba voditi računa (Nishizawa, et al. 2005; Matthew, et al. 2017).

Propeptidni prokolagen tip I (P1CP -karboksi terminalni propeptid tip I prokolagena i P1NP -amino terminalni propeptid tip I prokolagena)

Kolagen tip I je najzastupljeniji kolagen koštanog tkiva i čini 90% ukupnog kolagena u organizmu. Važan je biomarker metabolizma koštanog tkiva. Propeptidi prokolagena tipa I nastaju iz kolagena tipa I. Ovaj tip kolagena prisutan je i u drugim tkivima, kao što su koža, dentin, kornea, hrskavica, i tetive. U kostima, sintetišu ga osteoblasti, u formi pre- 23 prokolagena. Ovaj molekul prekursor ima kratke terminalne peptide- amino (N-) terminalni propeptid (P1NP) i karboksi (C-) terminalni propeptid (P1CP), koji se uklanjaju tokom konverzije prokolagena u kolagen koji se zatim ugrađuje u koštani matriks. Predstavljaju markere novosintetisanog kolagena tipa I, odnosno markere formiranja kosti. Oba peptida uklanja jetra iz cirkulacije, te usled bolesti jetre mogu biti povišeni (Matthew, et al. 2017).



Slika 3. Najčešće korišćeni biomarkeri koštanog metabolizma, prikazani kataboličkom aktivnošću osteoklasta i anaboličkom aktivnošću osteoblasta

preuzeto sa <http://clinchem.aaccjnl.org/content/clinchem/63/2/464.full.pdf>

Markeri koštane razgradnje su produkti degradacije kolagena tip I, a to su C i N terminalni aminokiselinski delovi telopeptidne strukture, **C-terminalni telopeptid** (beta-CTx) i **N-terminalni telopeptid**, kao i njihove poprečne veze piridinolin (PYD) i deoksipiridinolin (DPD).

Kolagen tip I ima heliksnu strukturu, tako da se ukršteno vezuju amino-i karboksilni-krajevi molekula. Ukrštene veze kolagena su piridinolini koji su otporni na degradaciju i oslobađaju se za vreme resorpcije kostiju. U literaturi se često koriste dva naziva kao sinonimi za telopeptide kolagena: **beta-CTx** i beta-crosslaps. α CrossLaps se nalazi u novoformiranoj kosti, dok se β CrossLaps nalazi samo u starijim kostima. Beta-CTx se tokom faze resorpcije

oslobađa u cirkulaciju i značajan je predstavnik degradacije zrelog kolagena tipa I (Matthew, et al. 2017).

Piridinolin (PYD) i Deoksimiridinolin (DPD)

Ova dva molekula se oslobađaju tokom degradacije zrelog kolagena. Nezavisni su od vrste ishrane i na njih nema uticaja novonastali kolagen. PYD je prisutan u hrskavicama, ligamentima, kostima, dok se DPD nalazi samo u kostima i dentinu. (Matthew, et al. 2017).

Tartarat rezistentna kiselna fosfataza (TRAP)

Ovaj enzim ima 5 izoformi koje se mogu naći u kostima, trombocitima, eritrocitima, prostati, i slezini. Sve navedene izoforme mogu biti blokirane tartaratom, osim one koja se nalazi u kostima, TRAP5, i to kao subforma 5a i 5b. Tačan mehanizam i dejstvo ovog enzima još uvek se ispituje. Istraživanja su pokazala da je za osteoblaste karakteristična forma TRAP5b (Halleen, et al. 2006.).

Pored biohemijskih parametara postoje i lokalni i sistemski faktori koji utiču na metabolizam kosti, a o kojima je bilo reči u okviru remodelovanja kosti. Lokalni faktori svoje dejstvo ostvaruju vezujući se za receptore na membrani koštanih ćelija. Ovde spadaju **citokini**, od kojih TNF α , IL-1 (α i β) i IL-6 ostvaruju najveći proresorptivni odgovor na metabolizam kosti. Prekursori osteoblasta u BMU su izvorna mesta produkcije ovih citokina, nakon čega utiču na prekursore osteoklasta, prvenstveno stvaranje RANKL(a). Na taj način stimulišu resorpciju kosti (Amarasekara, et al. 2018). Proresorptivno delovanje ostvaruju i IL-7, IL-8, IL-11, dok antiresorptivno pokazuju IL-4 i IL-12 (Amarasekara, et al. 2018).

1.7. Matriks metaloproteinaze i osteoporoza

Više od polovine matriks metaloproteinaza je eksprimovano u aktivnoj formi u ćelijama kosti i hrskavice kako u fiziološkim tako i u patološkim stanjima i smatra se da one imaju uticaj na vijabilnost i funkciju osteoklasta, osteoblasta i osteocita kao i proliferaciju i diferencijaciju hondrocita (Paiva, 2014).

1.7.1. Matriks metaloproteinaze

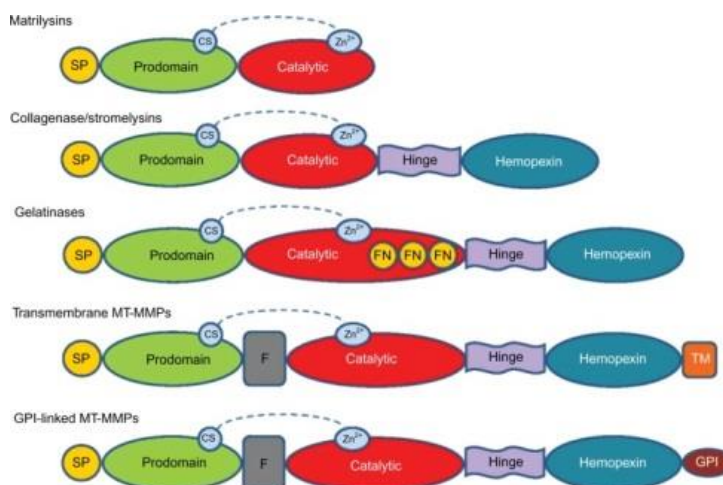
Matriks metaloproteinaze (MMP) predstavljaju familiju zink- i kalcijum- zavisnih endopeptidaza. Pokazano je da imaju značajnu ulogu u remodelovanju ekstracelularnog matriksa kosti (ECM), kao i nekih pericelularnih i intracelularnih struktura (Paiva, 2014). Naime, ovi bioaktivni molekuli uključeni su u nekoliko bioloških procesa, kao što je izgradnja, remodelovanje i homeostaza ECM (Paiva, 2014). Prvi put su otkriveni 1962, od strane Grossa i Lapjera u tkivu punoglavca (Gross and Lapiere, 1962; Gopčević, 2010). Do sada je poznato više od 26 humanih MMP-aza (Paiva, 2014).

U humanoj populaciji ekspresija MMP je pod kontrolom 24 gena, koji kodiraju 23 proteina, jer je jedna MMP (MMP23) kodirana sa 2 identična gena na hromozomu 1 (MMP-23A i MMP23-B) (Paiva, 2014). Na osnovu specifičnosti njihovog supstrata i prema funkciji humane MMP mogu se podeliti na sledećih 6 familija:

- zelatinaze (MMP-2, MMP-9),
- kolagenaze (MMP-1, MMP-8, MMP-13),
- stromelazine (MMP-3, MMP-10),
- membranske vrste MMP (MT-MMP, MT1-MMP, MT1-MMP-3),
- druge kao što su matrilizin (MMP-7), stromelizin 3 (MMP-11) i metaloelastaze (MMP-12), (Nagase, 1999; Jaoude and Koh, 2016).

Strukturni domen metaloproteinaza sastoji se od tri dela: proenzimski domen (I), katalitički domen (II) i C-terminalni domen (III) za koji se smatra da definiše specifični supstrat (slika 4). Cink (Zn) u katalitičkom domenu stupa u interakciju s konzerviranim cisteinom (C) u domenu I i tako održava proenzim u inaktivnoj formi. Zelatinaze (MMP-2, MMP-9) uz to imaju i dodatni domen s tri kaskadna spoja koja se ponavljaju i liče fibronektinu tipa II, a

cepaju katalitičko područje i stupaju u interakciju sa kolagenima i želatinama (Steffensen, 1995).



Slika 4. Podela i struktura MMP-aza (domeni)

preuzeto sa :<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4948699/>

U normalnim okolnostima ekspresija MMP je minimalna. Njihova ekspresija je regulisana brojnim faktorima, kao što su faktori rasta, citokini, integrini, hemijski agensi, medikamenti, celularni stres, ECM proteini, morfološke promene, intracelularna signalna transdukcija indukovana ekspresijom određenih MMP gena. Ovi geni mogu biti različito transkripciono kontrolisani u jedru ćelije, u zavisnosti od različitih genetskih alteracija (polimorfizama ili mutacija, posebno na promotornom regionu MMP gena), u zavisnosti od epigenetske kontrole (DNK metilacija), kao i posttranskripciono preko RNK (Paiva, 2014). MMP-aze mogu biti različito eksprimirane u ECM, u zavisnosti od više faktora. Mogu biti kontrolisane proteolitičkim procesima i aktivacijom pro-MMPaza, interakcijom sa specifičnim komponentama ECM-a, vezivanjem za inhibitore, kao što su tkivni inhibitori MMP-aza (TIMP) i dr (Paiva, 2014). Ravnoteža između aktivnosti MMP-aza i njihovih inhibitora je u fiziološkim uslovima strogo kontrolisana i pod dejstvom različitih faktora uključenih u ECM remodelovanje. Nekontrolisana ekspresija MMP-aza može uzrokovati oštećenja tkiva i dovesti do razvoja brojnih destruktivnih stanja i bolesti, kao što su artritis, ruptura aterosklerotskog plaka, aneurizma aorte, progresija tumora, osteoporoze.

Pojedine MMP-aze, kao što su zelatinaze (MMP-2, MMP-9) imaju sposobnost degradacije kolagena, odnosno degradacije struktura bazalne membrane, što dodatno utiče na strukturnu nestabilnost i rezultuje različitim ćelijskim odgovorom. MMP-aze mogu cepati različite proteine koji ne pripadaju ECM-u generišući biološke procese. Isto tako, MMP-aze imaju sposobnost oslobađanja različitih bioaktivnih molekula s površine ćelije, kao što su TNF- α , L-selektin, IL-6, IL-1 i drugi, dok s druge strane ovi isti proinflamatorni citokini (IL-1, IL-6) pojačavaju njihovu ekspresiju, što vodi izraženijoj destrukciji tkiva i ima aditivni efekat.

Postoje dve vrste inhibitora MMP-aza, endogeni i egzogeni. Poznato je da se in vivo najčešće inaktiviraju preko endogenih tkivnih inhibitora (TIMP-aza). TIMP-aze imaju sposobnost vezivanja za katalitičko mesto MMP-aza, stvarajući tako nekovalentnu vezu između N-terminalnog domena TIMP-a i aktivne strane MMP-aze (Jaude and Koh, 2016). Do sada je otkriveno četiri homologna TIMP-a (TIMP1-TIMP-4).

TIMP-1 i TIMP-2 su najviše ispitivani prirodni inhibitori MMP-aza i većinom su eksprimirani tokom koštanog remodelovanja (Liang, 2016). TIMP-1 je eksprimiran u hondrocitima, osteoblastima, osteocitima i osteoklastima (Haeusler, et al. 2005). Porast volumena trabekularne kosti i smanjenje koštanog turnover-a registrovano je usled povećane

ekspresije TIMP-1 u osteoblastima miševa (Geoffroy, et al. 2004), što implicira značaj TIMP-1 u koštanom remodelovanju. Genska ekspresija TIMP-1, TIMP-2, i TIMP-3 dovela je do porasta diferencijacije osteocita tokom mineralizacije koštanog matriksa (Prideaux, et al. 2015). Značajna je uloga MMP-aza u remodelovanju kosti.

Prema dosadašnjim istraživanjima kako na animalnim, tako i na humanim modelima, u procesu remodelovanja kosti značajnu ulogu imaju sledeće MMP-aze, MMP-2 (poznata kao zelatinaza A), MMP-9 (zelatinaza B), MMP-13 (kolagenaza 3), MMP-14 (membranska-tip 1 MMP) i MMP-16 (membranska-tip 3 MMP) (Paiva, 2014).

1.7.2. MMP-2 i koštano remodelovanje

MMP-2, molekulske mase 72 kDA (kilodaltona), poznata je kao zelatinaza A. Ova zelatinaza, zajedno sa fibronektinom, lamininom, agrekanima, zelatinima, elastinom, odgovorna je za degradaciju kolagena tipa I, IV, V, VII, i XI (Shimokawa, et al. 2002). Mutacija genske ekspresije MMP-2 u humanoju populaciji prvi put je identifikovana u pacijenata sa naslednom multicentričnom osteolizom i artritisom poznatim pod nazivom "kosti koje nestaju". Reč je o autozomno recesivnom oboljenju. Prvi put je opisano u Saudijskoj Arabiji, među pacijentima kod kojih su sklapani interfamilijarni brakovi (Al Aqeel, et al. 2000; Al-Mayouf, et al. 2000). Ozbiljna osteoporoza i artropatija manifestovale su se kao posledica ove mutacije. Pored toga, iz istih razloga, zabeleženi su i slučajevi subkutanih promena sa karakterističnim kraniocefaličnim defektima, poput egzoftalmusa, brahiocefalije i nazalnih defekata (Mosiget, et al. 2007). U dečijoj populaciji registrovana je stagnacija u telesnoj visini i telesnoj težini, iako su se rađala sa normalnom porođajnom težinom (Mosig, et al. 2007). Istraživanjem populacije sa ovakvim koštanim fenotipom, pokazano je da je za bolest odgovoran gen 16q12-21, region koji kodira ekspresiju MMP-2 (Martignetti, et al. 2001).

Prva istraživanja na animalnom modelu, odnosno na miševima potvrdila su ulogu MMP-2 u kostima. Minimalno kašnjenje u remodelovanju koštanog tkiva i pojava manje telesne težine od očekivane, na samom rođenju bilo je potvrđeno usled poremećaja ekspresije MMP-2, u "knockout" miševa (Itoh, et al. 1997). U daljim eksperimentalnim istraživanjima na animalnom modelu pokazano je da poremećaj ekspresije MMP-2 vodi osteopeniji tibije i tendenciji ka brojnim spontanim frakturama (Inoue, et al. 2006). Razlog tome, naveli su autori leži u oštećenju i/ili prekidu osteocitnih kanalikularnih veza u samoj kosti (Inoue, et al. 2006). Kako su kanalikularni prostori upravo ona mesta u kojima se vrši razmena mineralnog jona tokom procesa resorpcije i mineralizacije koštanog matriksa, na ovom nivou je nastao problem uzrokovan poremećajem MMP-2 ekspresije (Marenzana, et al. 2005). Stoga, prekid ovakvih veza može inhibirati mineralizaciju kosti. Poremećaj ekspresije MMP-2 proteina detektovan je i u fraktornom kalusu. Pokazan je njen značaj u mineralizaciji kosti i koštanom remodelovanju tokom oporavka nakon frakture, koji je odgovarajući u slučaju normalne ekspresije MMP-2 (Lieu, et al. 2011). Nyman i saradnici su podržali ovaj mehanizam pokazavši da je stepen mineralizacije kolagena smanjen u kostima "knockout" miševa, kod kojih je poremećena ekspresija MMP-2 (Nyman, et al. 2011). Ista grupa autora pokazala je da je uporedo sa smanjenjem mineralizacije kosti, korteks dijafize tibije "knockout" miševa za 23% tanji u poređenju sa kontrolom (Nyman, et al. 2011). Smanjen denzitet i nepravilnosti u građi trabekula potvrđene su histološkim analizama (Mosig, et al. 2007). Osteocitne kanalikularne veze u "knockout" miševa, sa sniženom ekspresijom MMP-2, "popravljenе" su transplantacijom periosteuma miševa iz kontrolne grupe. Ovim je potvrđeno da MMP-2 ostvaruje svoje efekte na kost lokalnim mehanizmima (Inoue, et al. 2006) i vodi osteoporozi.

Kao rezultat mutacije MMP-2 gena nastaju kraniofacijalni defekti "knockout" miševa, koji su slični onima u humanoju populaciji sa prisutnim multicentričnim osteolizama i artritisom, (Mosig, et al. 2007). Neka eksperimentalna istraživanja su pokazala da povećana ekspresija

MMP-2 dovodi do degradacije tip I kolagena, i povećane osteoklastne aktivnosti. (Inoue, 2006; Egeblad, et al. 2007), dok MMP-8 i MMP-14 nisu bile uključene u ove kolagenolitičke aktivnosti (Jeffrey, 2011).

Studije su potvrdile ulogu citokina IL-1 i prostaglandina PG2 u povećanoj ekspresiji MMP-2, MMP-3 and MMP-13 i njihov značaj u procesu pojačanje resorpcije kostiju kalvarija na animalnim modelima (Miyaura, et al. 2000).

Povezanost ekspresije RANKL-a i MMP-aza, posebno MMP-aze 2, kao i njihova značajno povećana ekspresija u kostima sa osteolitičnim metastazama in vivo, naglašava involviranost i značaj MMP-azne aktivnosti u procesu osteoklastogeneze, preko RANK-RANKL veza. Istovremena RANKL –indukovana osteoklastogeneza i MMP-zavisna matriksna degradacija doprinose osteolizi kosti (Ohshiba, et al. 2003).

Na eksperimentalnim modelima potvrđeno je da MMP-2 direktno utiče na ekspresiju koštanog sijaloproteina i osteopontina (Mosig, et al. 2013). Poznato je da osteopontin povećava osteoklastnu aktivnost, a koštani sijaloprotein povećava diferencijaciju i aktivnost osteoblasta (Gordon, et al. 2007; Shapses, et al. 2003). U odnosu na ekspresiju MMP-2, odnosno njen uticaj na jedan ili drugi protein i njihovu aktivaciju u različitim kostima može doći ili do povećane resorpcije ili sinteze iste. Iako ovi dokazi potvrđuju značaj MMP-2 u modelovanju i remodelovanju kosti, njen uticaj na osteoklastnu i osteoblastnu aktivnost i proliferaciju još uvek je nedovoljno jasan i predmet je istraživanja.

1.7.3. MMP-9 i koštano remodelovanje

MMP-9, molekulske mase 92 kDa, poznata je kao zelatinaza B, koja ima visok afinitet degradacije denaturisanog kolagena ECM-a. Poznato je da je MMP-9 odgovorna za razgradnju nativnog kolagena tip I, IV, V, XI, elastina, nekolagenih proteina, laminina i proteoglikana (Engsig, 2008). MMP-9 je takođe sposobna da degradira ne- ECM molekule kao što su supstancija P, amiloidni beta peptid, mielin. U koštanom tkivu, MMP-9 je eksprimirana u trofoblastima i osteoklastima, sugerišući ulogu u resorpciji kosti (Reponen, et al. 1994; Alexander, et al. 1996). Fundamentalna istraživanja pokazala su da MMP-9 ima značajnu ulogu u sintezi/destrukciji strukturalnih koštanih struktura, odnosno da je MMP-9 uključena u proces enhondralne osifikacije i vaskularizacije kosti (Vu, et al. 1998). Transplantacija kostne srži u “knockout” miševa dovela je do korekcije svih koštanih defekata, sugerišući da su kritične ćelije odgovorne za eksprimiranje MMP-9 upravo one iz kostne srži (Vu, et al. 1998).

Eksperimentalna istraživanja su pokazala da povećana ekspresija MMP-9 može biti razlog skraćenja dugih kostiju za oko 10% u odnosu na kontrolu (Vu, et al. 1998), pri čemu je MMP-9 bila odgovorna za degradaciju galektina-3 (Ortega, et al. 2005).

Pokazano je da MMP-9 ima značajan uticaj na snagu i tvrdoću kosti.

Snaga (čvrstoća) kosti zavisi od kvaliteta i kvantiteta kosti. Dok je kvantitet definisan količinom mineralne koštane mase, kvalitet kosti definišu mikroarhitektura kosti, geometrija, stopa pregradnje kosti, nakupljanje oštećenja i stepen mineralizacije. Značajan prediktivni faktor preloma predstavlja kvalitet kosti. To se odnosi prvenstveno na procenu opterećenja kosti (Bouxsein, 2005; Paiva 2014). Korelacija između kvaliteta kosti i ekspresije MMP-aza potvrđena je u nekoliko istraživanja. (Paiva, 2014). Na animalnom modelu utvrđeno je da su arhitektura, sastav i biomehaničke osobine kosti oslabljene usled promene u ekspresiji MMP-2 i MMP-9 (Nyman, 2011), sa posebnim osvrtom na morfologiju trabekularne kosti, tankog i poroznog dijafizalnog korteksa, smanjenog prisustva kolagena i smanjene tvrdoće korteksa. Ovakve promene vodile su smanjenju mineralizacije kosti i povećanju poroznosti iste, sugerišući da povećana ekspresija MMP-9 negativno utiče na snagu kosti, dok povećana ekspresija MMP-2 nije značajno potvrdila ovakve promene. Smanjenje broja osteoblasta i osteocita i destrukcija osteocitnih kanalikularnih veza, in vivo, potvrđena je u

eksperimentalnih životinja, kod kojih je došlo do poremećaja u remodelovanju kosti, uzrokovnog poremećajem ekspresije MMP-9 (Paiva, 2014). Iako ovaj mehanizam nije u potpunosti razjašnjen, smatra se da je kvalitet kosti uzrokovan degradacijom kolagena tipa I od strane MMP-9 (Nyman, et al. 2011).

Novija istraživanja bavila su se ulogom MMP-9 u regulaciji genskih puteva, odnosno osteoklastogenezi. Potvrđena je ova regulacija kroz interakciju MMP-9 sa histonima (histon H3 N-terminal tail -H3NT) (Kim, et al. 2016).

Zelatinaze su aktivne na sličnim supstratima, ali su eksprimirane od strane različitih tipova ćelija. Prvenstveno od strane osteoblasta, ali i osteoklasta, eksprimirana je MMP-2 (Zheng, 2018). Za MMP-9 pokazano je da je eksprimirana dominantno od strane osteoklasta. Ova pravilnost može biti poremećena u slučajevima različitih genetskih grešaka i drugih patoloških stanja.

Potvrđena je negativna korekcija između serumske koncentracije MMP-9 i BMD-a, što je poslužilo za posmatranje MMP-9 kao markera koštane resorpcije (Varghese and Canalis, 2000; Qin and Yang, 2008). Novija eksperimentalna istraživanja su potvrdila da MMP-2, MMP-9 i MMP-13 imaju značajnu ulogu u aktivaciji osteoklasta u ovariektomisanih pacova. Gupa autora je ukazala na mogućnost upotrebe MMP-9 kao biomarkera za rano dijagnostikovanje osteoporoze, pre nego što ona postane radiološki merljiva (Zheng, 2018). Ista grupa autora naglasila je da, za razliku od MMP-9, MMP-2 može biti biomarker u kasnijim fazama osteoporoze, kada je ona i kvantitativno merljiva.

Slični rezultati potvrđeni su i na humanoj populaciji, gde je pokazano da postoji jasna korelacija između povišene cirkulišuće MMP-9 i snižene mineralne koštane gustine, odnosno osteopenije i osteoporoze (Bolton, et al. 2009). Istraživanja su verifikovala jasnu negativnu korelaciju MMP-9, RANKL, i RAKL/ OPG sa vrednosti BMD na lumbalnoj kičmi i vratu butne kosti, u pacijenata sa sekundarnom osteoporozom. Kod ovih pacijenata nađena je povećana serumska vrednost MMP-9 i RANKL u odnosu na one sa urednim BMD nalazom (Zhang, et al. 2013). Postoje različiti epigenetski mehanizmi koji pokušavaju da objasne gensku transkripciju u različitom stepenu osteoklastne diferencijacije. Međutim iako je MMP-9 visoko eksprimirana tokom osteoklastogeneze, i uključena u RANKL-indukovanu osteoklastnu diferencijaciju (Bolton, et al. 2009), precizan mehanizam njenog učešća u osteoklastogenezi još uvek nije dovoljno jasan (slika 5 i 6). Na slici 5 prikazani su ključni medijatori uključeni u procese osteoblastne i osteoklastne aktivnosti, a na slici 6. brojni proteini koji interreaguju sa MMP-azama i čija bioaktivnost zavisi upravo od njihove regulisane ekspresije.

	Osteoblasti	Osteoklasti
Stimulatori	BMPs	IL-1
	FGFs	IL-6
	Insulin	IL-17
	PTH	M-CSF
	TGF- β	RANKL
	Wnt	TNF- α
Inhibitori	DKK1	IFN- γ
	IL-1	IL-3
	IL-6	IL-4
	SOST	IL-10
	TNF- α	IL-12
		OPG

Slika5. Medijatori osteoblastne i osteoklastne aktivnosti

preuzeto sa: Pietschmann P, Mechtcheriakova D, Meshcheryakova A, Föger-Samwald U, Ellinger I. Immunology of osteoporosis: a mini-review. Gerontology. 2016;62(2):128-37.

Kako je MMP-9 jedan od ključnih regulatora diferencijacije osteoklasta, sa značajnom povišenom ekspresijom u osteoporozu, potraga za antiosteoporotičnim tretmanom, odnosno agensom koji targetira MMP-9, potpuno je opravdana (Azevedo, 2018).

Proteini	Interakcija MMP-aza	Efekti
TGF- β	MMP-2	reguliše bioraspoloživost i bioaktivnost TGF β , preko kojeg deluje na komponentne koštanog matriksa i tvrdoću kosti
	MMP-9	reguliše bioraspoloživost i bioaktivnost TGF β , preko kojeg deluje na komponentne koštanog matriksa i tvrdoću kosti
	MMP-13	učestvuje u regulaciji TGF β , koji indukuje promene u morfologiji osteoblasta i promovise resorpciju kosti
	MMP-14	aktivira TGF β , učestvujući u diferencijaciji osteoblasta i njihovom preživljavanju
BMP	MMP-2	je regulisan preko BMP-a, što omogućava njeno učešće u regeneraciji i/ili degeneraciji i remodelovanju hrskavičavog tkiva
	MMP-9	je regulisan preko BMP-a, što dovodi do resorpcije kosti i koštavnog remodelovanja, ali preko ovog puta učestvuje istovremeno i u degeneraciji hondrocita
Wntβ-catenin	MMP-2	Regulacija MMP-2 preko Wnt β -catenin signalnog puta, modulira funkciju hondrocita, formiranje hrskavice i enhondralnu osifikaciju kosti
	MMP-9	Regulacija MMP-9 preko Wnt β -catenin signalnog puta modulira resorpciju kosti i degeneraciju hrskavice
	MMP-13	Regulacija MMP-13 preko Wnt β -catenin signalnog puta modulira vaskularizaciju hrskavice tokom razvoja, formiranje i remodelovanje kosti
VEGF	MMP-9	reguliše bioraspoloživost i bioaktivnost VEGF, promovisući diferencijaciju osteoklasta tokom resorpcije kosti
TIMPs	Sve MMP-aze	su regulisane preko TIMP-sa, što vodi regulaciji diferencijacije osteocita i ravnoteži između koštanog formiranja, resorpcije i modelovanja i remodelovanja kosti
<p>Slika 6. Proteini koji interaguju sa MMP-azama i TIMP-azama tokom modelovanja i remodelovanja kost <i>preuzeto sa , Liang H, Xu J, Xue M, Jackson C. Matrix metalloproteinases in bone development and pathology: current knowledge and potential utility. Metalloproteinases Med 2016; 3: 93-102.</i></p>		

1.8. Klinička slika i dijagnoza osteoporoze

Osteoporoza ili kako se često još naziva „tihi kradljivac kostiju“ je asimptomatska bolest i često je klinička slika nespecifična. Nekad pojava akutnog bola u leđima može biti prvi znak ispoljavanja osteoporoze. Češće su prisutni nespecifični difuzni bolovi u leđima, ali i poremećaji posture, poput pojave gibusa, odnosno torakalne hiperkifoze i ispravljene lumbalne lordoze. Gubitak u telesnoj visini može nekada biti jedini simptom, te ukoliko je značajan neophodno je radiografskim metodama isključiti frakturu (Kanis, et al, 2019). Evaluacija pacijenata sa sumnjom na osteoporozu rutinski treba da podrazumeva dobro uzetu anamnezu sa minor i major faktorima rizika, detaljan pregled sa procenom telesne visine , težine i indeksom telesne mase (BMI) pacijenta, uvid u laboratorijske parametre (SE, KKS, Ca, P, kreatinin, alkalna fosfataza, transaminaze, albumini), kao i profilni radiografski snimak torakalne i lumbalne kičme.

U dijagnostici osteoporoze centralna denzitometrija (DXA BMD) (slika 7) je danas metoda izbora, odnosno predstavlja „zlatni standard“ za merenje gustine kostiju (g/cm^2).

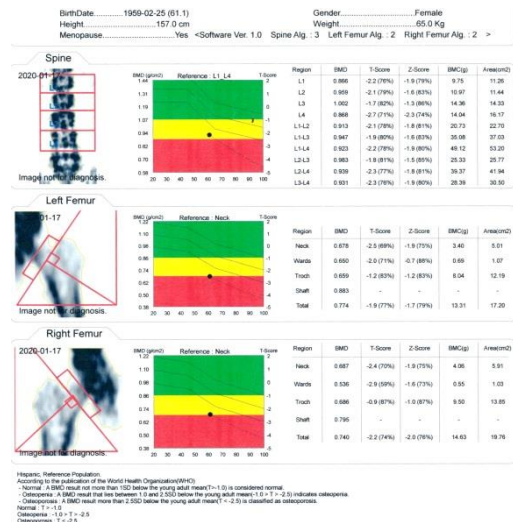
Prema kriterijumima SZO za dijagnostikovanje osteoporoze, kvantitativna definicija osteoporoze se postavlja ukoliko je T skor \leq od -2,5 SD (slika 8) na jednom ili oba merena mesta, dok se osteopenija dijagnostikuje kada je T-skor između -1,0 i -2,49 SD (Kanis, 2007; Organization, 2013). U zavisnosti od vrednosti T-skora koštana masa se definiše kao:

normalna koštana masa (T -skor: -0,99 i +0,99); osteopenija (T -skor između : -1,0 i -2,49) i osteoporoz (T \leq -2,5).

Pacijenti koje upućujemo na DXA BMD merenje su sledeći: svaka osoba ženskog pola životne dobi preko 65 godina i muškarac preko 70 godina; osobe ženskog pola životne dobi ispod 65.godina u prisustvu prepoznatih faktora rizika za frakturu; svaki muškarac i svaka žena bez obzira na životnu dob u slučaju prisustva prethodne frakture na malu traumu, ; prisustvo sekundarnih uzroka za nastanak osteoporoz (hronična upotreba lekova, hronične bolesti, endokrinološki poremećaji); u prognostičke svrhe, zbog praćenja efekata terapije (Kanis, 2007; Organization, 2013).



Slika 7. Aparat za merenje mineralne koštane gustine “Osteosys” Instituta za rehabilitaciju u Beogradu (originalna fotografija)



Slika 8. Interpretacija DXA BMD nalaza na aparatu “Osteosys” (originalna fotografija)

1.9. Terapija osteoporoz

Prema preporukama Nacionalnog društva za borbu protiv osteoporoz (NOF-National Osteoporosis Foundation) lečenje osteoporoz je kompleksno i podrazumeva kako farmakološko, tako i nefarmakološko lečenje (Kanis, et al. 2019). Terapija može biti medikamentozna, fizikalna i ortopedska, odnosno zahteva multimodalan pristup sa jasno definisanim kliničkim ciljevima koji podrazumevaju: redukovanje verovatnoće nastanka fraktura, dalje smanjenje koštanih gubitaka, obnavljanje koštanog preoblikovanja na premenstrualni nivo, povećanje i očuvanje snage kosti, uklanjanje posledica preloma i deformiteta kosti i unapređenje i očuvanje funkcionalne sposobnosti pacijenta.

Prema preporukama NOF-a lečenje osteoporoz treba započeti: kod postmenopauzalnih žena i muškaraca starijih od 50 godina kod kojih je T skor niži od -2,5 SD; kod onih koji su imali prelom pri maloj traumi, bez obzira na vrednosti koštane mase i kod osoba sa osteopenijom, uz prisustvo ozbiljnih kliničkih faktora rizika (dugotrajna upotrebe prednizolona ili drugog glukokortikoida, visok rizik od buduće frakture po prethodnoj istoriji fraktura usled minimalne sile),(Kanis, et al. 2019) . Efikasnost terapije se procenjuje ponovnim DXA BMD merenjem, u intervalima od 1do 2 godine, u pojedinim slučajevima praćenjem biohemijskim analizama markera koštanog metabolizma, praćenjem bolesnika, zbog identifikacije eventualnih novih preloma, uz anketu o podnošljivosti lekova i suplemenata.

1.9.1. Farmakološko lečenje osteoporoze

Medikamentna terapija osteoporoze podrazumeva primenu antiresorptivne, anaboličke (stimulatori izgradnje kosti), kao i antiresorptivno-anaboličke terapije (lekovi sa heterogenim efektom), uz odgovarajuću primenu suplemenata.

Antiresorptivna terapija predstavlja grupu lekova koji sprečavaju dalju demineralizaciju kosti (antikatabolici, gde spadaju bisfosfonati, kalcitonin, estrogen supstituciona terapija, modulator selektivnog estrogenskog receptora – SERM, raloksifen, monoklonalna antitela).

U stimulatoru izgradnje kosti spadaju anabolni steroidi, fluoridi, rekombinantni parathormon, dok se u lekove sa heterogenim delovanjem ubraja Stroncijum-ranelate.

Američka agencija za hranu i lekove (The Food and Drug Administration) nedavno je odobrila novi lek za osteoporozu koji predstavlja potpuno novi pristup u poslednje dve decenije. Inovacija se zasniva na retkoj mutaciji gena kod ljudi sa tako „čvrstim“ kostima da se nikada ne lome. Novi lek, romosozumab (monoklonsko antitelo na sklerozin), obnavlja kost i ne lomi je, prema nalazima kliničkih ispitivanja (Markham, 2019). Ovaj lek je samo za žene u postmenopauzi koje imaju veliki rizik od preloma, čija će upotreba biti strogo kontrolisana zbog neželjenih efekata, jer može povećati rizik od srčanog ili moždanog udara.

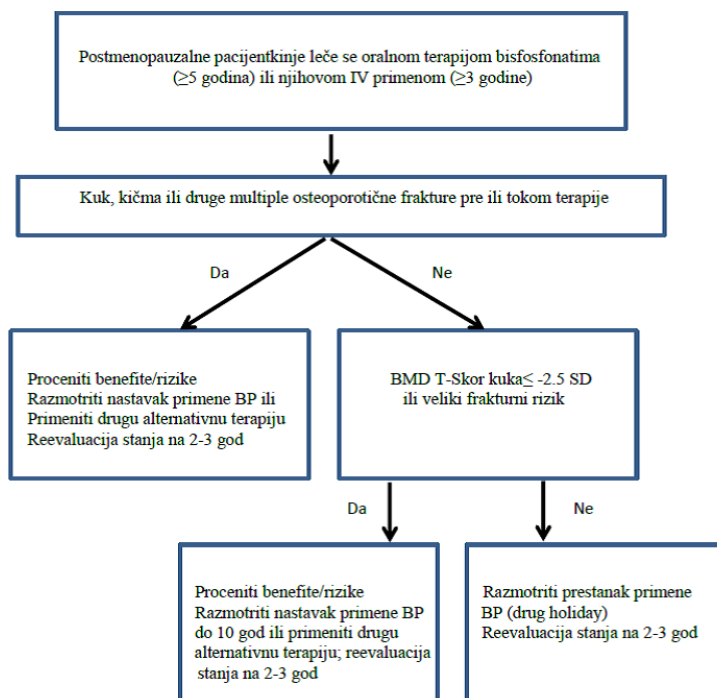
U perspektivi se mogu očekivati: osteoporotegerin, antagonisti IL-1, antagonisti TNF- α , inhibitori katepsina, inhibitori MMP-aza i dr.

Bisfosfonati predstavljaju grupu lekova koja je i dalje “zlatni standard” za lečenje postmenopauzalne osteoporoze. Pored toga koriste se u lečenju sekundarne osteoporoze, odnosno uzrokovane glukokortikoidima (GIOP), kao i malignim bolestima (Kanis, et al. 2019). Bisfosfonati dovode do smanjenja turnovera kosti, odnosno trabekularne perforacije, povećanja mineralizacije i BMD-a i smanjenja frakturnog rizika (Robert, et al. 2016; Kanis, et al. 2012.) Direktna inhibicija zrelih osteoklasta i podsticanjem apoptoze osteoklasta predstavlja direktan mehanizam njihovog delovanja. Indirektno vode smanjenju apoptoze osteocita i stimulaciji sinteze organskog matriksa (Robert, et al. 2016; Kanis, et al. 2012).

Za brzo praćenje odgovora na terapiju bisfosfontima preporučuje se kontrolno merenje biohemijskih markera koštanog metabolizma nakon 3 meseca od početka primene bisfosfonata. Od početka terapije alendronatom koštana resorpcija se suprimira nakon mesec dana, a koštano formiranje nastupa za oko 3 meseca. Za 6 meseci postiže se redukcija koštane resorpcije i traje 12 meseci (Robert, et al. 2016). Alendronat je jedan od najčešće primenjenih bisfosfonata. Pokazano je da prvenstveno smanjuje broj preloma pršljenova, ali i ostalih kostiju. Ibandronat značajno smanjuje broj preloma pršljenova. U slučaju gastrointestinalne nepodnošljivosti ili kontraindikacija za oralnu primenu može se dati u sporijem i.v. injekciji jednom u 3 meseca, kao i Zoledronat, koji se primenjuje jednom godišnje (Robert, et al. 2016). Risedronat je preparat odobren za upotrebu najčešće GIOP (Robert, et al. 2016).

Prema smernicama Američkog vodiča za istraživanje koštanog metabolizma (the American Society for Bone and Mineral Research published guidelines on long-term bisphosphonate), iz 2016. godine, date su preporuke za dugotrajnu upotrebu bisfosfonata (slika 9). Nakon 5-godišnje oralne primene bisfosfonata, odnosno 3-godišnje intravenske primene istih, potrebna je reevaluacija i procena faktora rizika za prelom. Kod pacijentkinja ženskog pola, koje su u visokom riziku za prelom (starija populacija, nizak T-skor na vratu butne kosti, pacijenti sa prethodnim “velikim” prelomom na malu traumu, ili pacijenti koji su zadobili osteoprotičnu frakturu tokom primene terapije za osteoporozu), preporuka je da se nastavi terapija bisfosfonatima do 10 godina (oralno) ili 6 godina (i.v.), sa periodičnim evaluacijama (na 2 godine). Pacijentima koji nisu u visokom riziku za nastanak osteoprotične frakture savetuje se prestanak terapije bisfosfonatima (tzv. “drug holiday”) 2 do 3 godine, nakon čega treba učiniti reevaluaciju i razmotriti dalje mogućnosti lečenja (slika 9). Tokom terapije bisfosfonatima, sve pacijente treba podsticati da održavaju dobru oralnu higijenu, idu na

redovne preglede zuba i prijave bilo koji simptom u usnoj duplji kao što je: klaćenje zuba, bol ili otok. Na osnovu mnogobrojnih studija, FDA upozorava na pojavu: gastrointestinalnih tegoba, mučnina, nadutosti, iritacije jednjaka; opštih tegoba: bolova u mišićima i zglobovima, subfebrilnih temperatura; osteonekroze vilice i atipičnih fraktura butne kosti. Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija između pojave atipične frakture butne kosti i dužine primene bisfosfonata. Ova korelacija nije potvrđena u slučaju osteonekroze vilice (Robert, et al. 2016).



Slika 9. Smernice Američkog vodiča za upotrebu bisfosfona

preuzeto sa: Robert, et al. 2016. *Managing Osteoporosis in Patients on Long-Term Bisphosphonate Treatment: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. Journal of Bone and Mineral Research.*

Suplementacija vitamina D i kalcijuma

Pema preporukama WHO i NOF, dnevne potrebe za kalcijumom su 800-1000 mg, a vitaminom D 800 i.j., u pacijenata oba pola, životne dobi preko 50 godina (Kanis et al. 2019). Pokazano je da se samo 10% do 15% kalcijuma unetog hranom resorbuje usled nedovoljnih vrednosti vitamina D (Dawson-Hughes, et al. 2010). Kod pacijenata sa dijagnostikovanom osteoporozom, potrebe za dnevnom suplementacijom vitamina D iznosi 400-800 i.j., a kalcijuma 500-1200 mg (Kanis et al., 2019). Ovakva suplementacija se preporučuje svim pacijentima koji su na medikamentnoj terapiji za osteoporozu (Kanis, et al. 2019).

1.9.2. Nefarmakološko lečenje osteoporoze

Klinički ciljevi lečenja osteoporoze podrazumevaju redukovanje verovatnoće nastanka frakture, obnavljanje koštanog preoblikovanja na premenstrualni novo, povećanje i očuvanje snage kosti, uklanjanje posledica preloma i deformiteta i unapređenje i očuvanje funkcionalne sposobnosti.

Kompleksnost uzroka, patofiziologije i kliničke slike osteoporoze razlog je i posledično kompleksnog lečenja ove bolesti. Nefarmakološko lečenje je neophodno u lečenju pacijenata sa osteoporozom. Ono podrazumeva korekciju modifikujućih faktora rizika, adekvatnu nutritivnu i primenu adekvatne fizičke aktivnosti.

Korekcija modifikujućih faktora rizika odnosi se na prestanak pušenja, smanjenje unosa kofeina, umerene konzumacije alkohola, adekvatne ishrane bogate proteinima, kalcijumom,

bez rigoroznih dijeta, pravilnog lečenja bolesti koje mogu biti potencijalni razlog osteoporoze, uklanjanja faktora rizika koji povećavaju rizik od pada kod starijih osoba, adekvatne fizičke aktivnosti, smanjenje broja padova i prepoznavanja sklonosti ka istim.

Kako su osteoporoza sama po sebi i životna dob preko 65 godina, već 2 značajna (major) i nepromenljiva faktora rizika, promenljive je neophodno redukovati u smislu prevencije pada i pojave frakture na malu trauma. Ovde spadaju: korekcija slabog vida, katarakte, slabog sluha, adekvatno osvetljenje u stanu i izbegavanje klizavih površina, izbegavanje upotrebe hipnotika sa dugim delovanjem, izbegavanje rada na visini (kačenje zavese), montiranje ručica za pridržavanje za kadu ili tuš kabinu, uklanjanje nefiksiranih tepiha, telefonskih i drugih kablova po stanu, primena obuće sa niskim i širokim potpeticama, primena pomagala pri kretanju(štap), redovna fizička aktivnost (Park, 2018), smanjenje straha od pada ukoliko postoji, jer vodi ka restrikciji aktivnosti, smanjenju mišićne snage i socijalne dezintegracije i izolacije (Bonner, et al. 2003).

1.9.3. Mesto i značaj fizičke aktivnosti u tretmanu pacijenata sa sniženom koštanom gustinom

“Fizička aktivnost može zameniti mnoge lekove, ali nijedan lek ne može zameniti fizičku aktivnost”- rekao je Per-Olaff Astrand, pionir i osnivač fiziologije vežbanja.

Prevencija nastanka osteoporoze počinje u detinjstvu. Najvažniji period za zdrav rast kostiju je detinjstvo i adolescentno doba, kada se koštana masa udvostručuje. Prevencija osteoporoze dakle počinje u detinjstvu. Osobe kod kojih postoji pravilan razvoj koštane mase u adekvatnom periodu života imaju manji rizik od pojave osteoporoze u kasnijim godinama života (Bass, et al. 1999.) Smatra se da je oko 95% koštane mase odraslog čoveka formirano do 20. godine starosti. Maksimum se potiže oko 13. godine kod devojčica i oko 14,5. god. kod dečaka (Bass, et al. 1999). Konsolidacija koštane mase se dešava između kasnih dvadesetih i 35. godine života, a već posle 35. smatra se da je resorpcija kostiju nešto veća od njene sinteze (oko 0,5 do 1% godišnje). Ovakav trend prisutan je posle menopauze. Pokazano je da je u periodu od 10 godina od početka menopauze gubitak koštanog tkiva oko 3-5% godišnje (Association, 1996). Tokom života, žena može izgubiti 45% svoje koštane mase, a muškarac oko dve trećine koštane mase koje izgubi žena. Starije odrasle osobe koje ne vežbaju u mladosti i ne razvijaju ili održavaju značajnu koštanu masu u mladosti, su u visokom riziku od nastanka osteoporoze.

Poznato je da specifičan program vežbi ima preventivni efekat na gubitak koštane mase, povećanje sadržaja kalcijuma u kostima i veličinu kortikalne kosti (Nikander, et al. 2010), poboljšanje snage mišića i smanjenje rizika od pada. Fizička aktivnost na kost može delovati dvojako, direktno preko mehaničke sile, kao i indirektno preko regulacije sinteze hormona (Ocarino and Serakides, 2006.) Fizička aktivnost efikasno smanjuje nivo sklerostina, inhibitora koštane razgradnje i povećava nivo faktora rasta sličnog insulinu (IGF-1), što ima pozitivan efekat na formiranje kosti (Ocarino and Serakides, 2006.) Vežbanje ima direktne osteogene efekte koji se prenose putem napona mehanotransdukcije na osteoblaste i osteocite.

Kost ima ulogu mehaničke podrške tela pa je njena osnovna karakteristika sposobnost adaptacije na svakodnevni mehanički stres odnosno opterećenje. Promena opterećenja koštanog tkiva i različita opterećenja usloviće promenama u koštanoj masi i strukturi kosti, čime se objašnjava činjenica da je kost mehanosenzitivno tkivo (Frost, et al. 1983).

Podsećanje na Wolf-ov zakon iz daleke 1892. po kojem se kost stvar na mestima stresa, a resorbuje na mestima malog stresa, pomoći će nam u rasvetljavanju ove činjenice. Naime, mehanički stres je taj koji je odgovoran za arhitekturu kosti, ali i usmerenje i debljinu trabekula kosti (Wolf, 1892). Fizička sila utiče na koštani metabolizam izazivajući

mikrodeformacije koštanog tkiva. Posmatrano na celularnom nivou, mehanička sila je odgovorna za endogene promene u osteocitima koje se pretvaraju u biohemijske signale, uključene u remodelovanje kosti, i ovaj proces se naziva mehanotransdukcija (Piolletti, 2011). Prijem i registrovanje mehaničkog signala nastaje u najsenzitivnijoj ćeliji, osteocitu, posle čega nastaje aktivacija signalnih sistema (biomechanical coupling), sekundarnih mesendžera, aktivacije ili inhibicije transkripcionih faktora. Konačni odgovor efektorske ćelije predstavlja aktivaciju proliferacije i diferencijacije osteoblasta, sintezu kolagena i mineralizaciju matriksa.

Da bi se stimulisao proces izgradnje kosti neophodno je aksijalno opterećenje skeleta i delovanje mehaničkih sila koje dovode do istog. Takve su sila gravitacije i sila kontrakcije mišića. Sila gravitacije deluje nakon opterećenja koje nastaje u sudaru sa podlogom i naziva se još i sila reakcije podloge. Sila mišića nastaje pri opterećenju skeletnog mišića, koji se usled iste kontrahuje (Kohrt, et al. 2009). Sila gravitacije uzrokuje opterećenje aksijalnog skeleta aktivnostima kao što su brzi hod i trčanje, ali i ples i neke druge aktivnosti sa većim udarnim stres momentom. Sila mišića (ili sila reakcije zgloba) jeste ona koja se sa tetive prenosi na kost i svoje delovanje ostvaruje preko treninga snage (Judex and Calson, 2009), Upravo ove aktivnosti preporučuju se pacijentima sa osteoporozom.

Mehanosenzitivnost koštanog tkiva ogleda se u procesu prilagođavanja osteoblasta na različita mehanička opterećenja. Bez mehaničkih opterećenja kost će progresivno slabiti usled povećane resorpcije tkiva u odnosu na rast. U povećanju mineralne gustine kostiju nisu sve vežbe podjednako efikasne. Da bi se podstakla osteogeneza, kao što je već pomenuto, neophodno je aksijalno opterećenje skeleta, koje izostaje kada se sprovode vežbe u kojima nema sudara sa podlogom (npr. vežbe ravnoteže) i u kojima sopstvena masa tela ne predstavlja dodatno opterećenje (vožnja bicikla, plivanje). Međutim ove vežbe nedvosmisleno doprinose prevenciji padova, te ih ne treba isključivati. Ipak, aktivnosti u kojima sopstvena masa tela predstavlja dodatno opterećenje i vežbe sa otporom su najviše u preporuci za pacijente sa sniženom koštanom gustinom (Kanis, et al. 2019).

Prema preporukama vodećih svetskih organizacija za borbu protiv osteoporoze, kao što su Nacionalna fondacija za borbu protiv osteoporoze (National Osteoporosis Foundation) (Kanis, et al. 2019, Cosman, et al. 2014), Evropskog udruženja za borbu protiv Osteoporoze, Osteoartritisa i Muskuloskeletnih bolesti (ESCEO) (Kanis, et al. 2019) kao i Kanadskog udruženja za očuvanje zdravih kostiju (Giangregorio, et al. 2015), preporuke za primenu odgovarajućeg programa vežbi podrazumevaju sledeće:

- vežbe sa opterećenjem sopstvenom težinom (“weight-bearing” exercise),
- vežbe snage (resistance training),
- vežbe za korekciju posture,
- vežbe balansa

1.9.3.1. Vežbe sa opterećenjem sopstvenom težinom (“weight-bearing” ili “load-bearing” exercise)

Definicija Nacionalnog društva za borbu protiv osteoporoze, vežbe sa sopstvenom masom definiše kao vežbe koje se sprovode samo pod opterećenjem sopstvenom težinom, bez dodatnih opterećenja. Pod tim se podrazumevaju aktivnosti suprotstavljanja gravitaciji u uspravnom stojećem stavu (Cosman, et al. 2014). U preporukama su vežbe sa jačim sudarima sa podlogom (“high impact”-npr. skokovi) i slabijim sudarima sa podlogom (“low impact”-npr. hodanje). Aerobne vežbe, naročito hodanje, jer je jednostavno i sigurno za izvođenje, predstavlja najčešći tip aktivnosti. Savetuje se hodanje sa većim intenzitetom i većom pređenom distancom, u trajanju minimum 150 minuta nedeljno. Aktivnosti poput plesa, nordijskog hodanja, penjanja uz stepenice takođe su u preporukama (Giangregorio, et al. 2015).

1.9.3.2. Vežbe snage

Aktivnosti pri kojima se telo, neki drugi otpor, teret, suprotstavljaju gravitaciji predstavljaju vežbe snage ("reistance training") (Cosman, et al. 2014). Treba praviti razliku između vežbi sa otporom, gde se kosti i mišići suprotstavljaju gravitaciji, a stopala i noge nose sopstvenu masu, (na primer skokovi iz čučnja) i vežbi sa različitim položajima tela koje se ne izvode u stojećem stavu (npr. bench press). Prve se mogu svrstati u vežbe sa sopstvenom masom, dok se druge mogu posmatrati kao vežbe sa otporom bez sopstvene mase.

Uticao vežbi snage na poboljšanje BMD zavisi od intenziteta fizičke aktivnosti. Ovo umnogome zavisi od intenziteta vežbi, jer vežbe snage visokog intenziteta, odnosno one sa opterećenjem većim od sopstvene težine, praćene većim brojem ponavljanja mogu da poboljšaju BMD. Ova povezanost je potvrđena ako se vežbe izvode 2 puta nedeljno. Pored poboljšanja BMD-a, smanjuju i rizik za pad i prelom, i vode poboljšanju mišićne mase i snage, potvrdili su istraživači (Senderovich, 2017). Vežbe snage niskog intenziteta aplikovane kroz vremenski kontinuum od 10 godina ostvaruju benefit u smislu redukcije broja fraktura, ali ne utiču na BMD (Senderovich, 2017).

Proces kojim mehaničko opterećenje deluje na proces formiranja kosti nije linearan. Ovaj princip je važan iz evolucijske perspektive. Ako progresivno povećanje intenziteta, trajanja i učestalosti opterećenja rezultira sa više kosti, kosti bi postale preteške do te mere da se ne bismo mogli lako kretati. Međutim, zahvaljujući mehanoreceptorima u koštanim ćelijama i njihovoj osetljivosti na mehanički stres, pod dejstvom istog brzo nastaje njihova desenzitacija. To znači da ciklusi višestrukih ponavljanja vežbi i naprezanja nisu potrebni da bi se izgradila kost ili održala postojeća. Obrazac svakodnevnog opterećenja manje utiče na osteogenezu, od nejednake raspodele opterećenja. Ovo nameće zaključak da intenzitet aktivnosti treba menjati, odnosno povećavati, ali isto tako i vrstu aktivnosti menjati iznad uobičajenog nivoa, da bi se osteogena stimulisala (Erlich and Lanyon, 2002). Intenzitet treninga treba da bude usklađen prema individualnom kapacitetu pacijenta, pri čemu se opterećenje može povećavati na nedeljnom nivou. U preporuci je korišćenje dodatnih otpora kao što su elastične trake, tegovi, kao i sprave za vežbanje. Za pacijente sa osteoporozom savetuju se vežbe snage umerenog intenziteta (60%-80% 1RM, 8 do 12 ponavljanja), iako neke osobe mogu biti u stanju da tolerišu intenzivnije vežbe. Trajanje vežbi snage treba da iznosi 30 do 60 minuta dnevno, učestalosti 2 do 3 puta nedeljno, uz kombinaciju aerobnih aktivnosti sa sopstvenom masom i vežbi balansa (Senderovich, 2017; Kanis, et al. 2019; Cosman, et al. 2014; Giangregorio, et al. 2015).

1.9.3.3. Vežbe za korekciju posture

Postura je relativna usklađenost delova tela jednog u odnosu na drugi, pri čemu je naprezanje tela optimalno. Za pravilno držanje tela potrebno je jednako angažovanje mišića na jednoj strani i zglobova, ligamenata i kostiju na drugoj, koji se suprotstavljaju zemljinoj teži.

Dobra postura je ona koja omogućava pravilno disanje, lak pokret, štiti od povreda i deformiteta. Razlikuju se pasivna i aktivna postura. Pasivna obezbeđuje uspravan položaj tela u odsustvu mišićne aktivnosti (spavanje, ležanje), dok aktivna podrazumeva aktivaciju mišića ili mišićnih grupa. U uspravnom položaju, sa godinama se stvara tendencija sve većeg opuštanja trbušnog zida, zatim spuštanja trbušnih i karličnih organa, ramena se povlače prema napred, lopatice odvajaju od rebara, glava ide put napred u položaj protrakcije i često dolazi do disbalansa u donjim ekstremitetima i spuštanja svodova stopala. Imajući u vidu da su meka tkiva pod neprestanim gravitacionim, posturalnim, ali i opterećenjem telesnim aktivnostima, od izuzetnog je značaja ispravna fiziološka posturalna pozicija. Životna dob, sedentarni nažin života i osteoporoza česti su razlozi kifoze, skolioze, ispravljene lumbalne lordoze. Edukacija pacijenata o pravilnoj posturalnoj poziciji tokom sedenja, stajanja i

obavljanja svakodnevnih životnih aktivnosti je neophodna. Sastavni deo kineziterapijskog programa u pacijenata sa sniženom koštanom gustošću svakako treba da sadrži vežbe za korekciju posture, posebno izometrijske vežbe za jačanje ekstenzora kičmenog stuba (Giangregorio, et al. 2015). Pokazano je da osobe sa jačim ekstenzorima kičmenog stuba imaju veću BMD i ređe vertebralne prelome. Vežbe jačanja ekstenzora kičmenog stuba sa opterećenjem smanjuju torakalnu kifozu i rizik od vertebralnih fraktura za 2.7 puta kod postmenopausalnih žena. Pacijentkinje koje su nastavile da sprovedu ove vežbe posle 10 godina imale su veću koštanu gustošću i jače ekstenzorne mišiće leđa od onih koje nisu vežbale (Sinaki, et al. 2002).

1.9.3.4. Vežbe balansa (ravnoteže)

Sposobnost održavanja ekvilibrijuma–ravnoteže u gravitacionom položaju, vraćanjem ili održavanjem centra telesne mase na površinu oslonca i sposobnost kontrole položaja tela u prostoru naziva se posturnom kontrolom (Cheval, et al. 2017). Balans (ravnoteža) se može posmatrati kao različit aspekt nekoliko motornih veština. Predstavlja sposobnost da se zadrži telo u stabilnom položaju u mirovanju (statička ravnoteža) ili u kretanju (dinamička). Postiže se centralnom komandom prema donjem motornom neuronu (Cheval, et al. 2017). Za pravilan balans tela neophodan je očuvan integritet malog mozga, velikog mozga i ekstrapiramidnog sistema, sa posebnim akcentom na očuvan (korigovan) vid, vestibularni aparat i adekvatan input iz proprioreceptora donjih ekstremiteta.

Prema preporukama kanadskog vodiča za borbu protiv osteoporoze savetuju se sledeće vežbe za korekciju balansa (Giangregorio, et al. 2015): vežbe koje smanjuju površinu oslonca – stajanje na jednoj nozi na stabilnoj podlozi ; stajanje i hod na prstima i na petama, hod noga ispred noge; prebacivanje težine sa jedne noge na drugu; vežbe na nestabilnoj podlozi/balanserima, vežbe sa loptom; hod prsti-peta u liniji ili u osmicama, definisanog intenziteta, trajanja i učestalosti.

Uvek je potrebno voditi računa o sigurnosti pacijenta i savetovati ga da koristi u početku “podršku”(stolica, sto, zid, krevet), koje će se postepeno oslobađati. Ovakve vežbe treba sprovoditi svaki dan, najbolje u okviru ASZ (aktivnosti samozbrinjavanja) i ADŽ (aktivnosti dnevnog života), u trajanju oko 15-20 minuta.

Kako u svakodnevnoj kliničkoj praksi ne postoji metod kojim bi se odredio kvalitet kosti program fizičke aktivnosti se planira strogo individualno u odnosu na osteodenzitometrijski nalaz, prisustvo već postojećih fraktura pršljenova ili perifernih preloma prouzrokovanih malom mehaničkom silom i pridruženih bolesti.

Kod pacijenata kod kojih postoji smanjenje koštane mase na nivou osteopenije ili osteoporoze postoje položaji i pokreti koje je potrebno izbegavati, kao što su: antefleksija trupa, zbog povećane opasnosti od kompresivnih preloma pršljenskih tela; podizanje teškog tereta; posebno ako je udruženo sa savijanjem tela u pravcu antefleksije i laterofleksije; torzioni pokreti (uvrtanje) opterećuju kičmu na nesvakidašnji način. Pacijenti sa osteoporozom treba da izbegavaju golf i kuglanje, koji podrazumevaju prisustvo torzionih pokreta; aktivnosti sa visokim udarnim stres momentom, kao što su skokovi, tenis, košarka, odbojka, zbog veće opasnosti od kompresivnih preloma pršljenskih tela; nagle rotacije karlice, kao i dugotrajno zadržavanje u pognutom položaju (Suominen, 2006).

1.10. Funkcionalna procena pacijentkinja sa osteoporozom

Da bismo pravilno postavili ciljeve rehabilitacionog tretmana i adekvatno ga planirali, pored detaljne anamneze, sagledavanja faktora rizika i fizikalnog pregleda, neophodno je uraditi i funkcionalnu procenu pacijenta. Funkcionalna procena je proces u kome merenjem određenih parametara (sposobnost hoda, sedenje, učešće u sportskim aktivnostima, testovima, indeksima i skalama) objektivno procenjujemo nivo na kome je pacijent funkcionalan u ovim

aktivnostima. Za funkcionalno testiranje pacijenata sa osteoporozom najčešće se preporučuju sledeći merni instrumenti:

- za procenu mišićne snage i hoda koriste se: test ustani i kreni, odnosno "Timed-Up and Go Test", skraćeno TUG (Shumway-Cook, 2000), test ustani i sedni, odnosno "Sit to stand Test" ("Chair Rising Test"), skraćeno STS (Tiedemann, 2008), test uobičajene brzine hoda (Shumway-Cook, 2000) i dr;

-za procenu balansa u upotrebi su: test stajanja na jednoj nozi, odnosno "One-leg stance test", skraćeno OLST (Tiedemann, et al. 2010; Springer, et al. 2007), test stajanja i hoda, odnosno "Tandem Standing and Tandem Walking Test"(Four Stage banalnce test), procena balansa prema Bergovoj skali ("Berg Balance Scale"), procena balansa prema BESS testu ("Mini-BES Test"), prema Tiniti testu "Tinetti Test" (Tinetti, 1990) i dr;

-za procenu kvaliteta života mogu se primenjivati razni upitnici (SF36, EQ5D, OPTQOL, Qualeffo-41, EQ-5D-3L), (Madureira et al, 2012), kao i za procenu depresije (DASS 21/42);

-za procenu znanja o osteoporozu u upotrebi je upitnik za procenu informisanosti o osteoporozu (OKAT-S upitnik) (Tadić, 2012);

- za procenu straha od pada u upotrebi je upitnik za proceni straha od pada "Falls Efficacy Scale- International" (FES-I) (Yardley, 2005).

Bez obzira kojoj vrsti pripadaju, merni instrumenti treba da budu relativno jednostavni za izvođenje i relativno kratki i razumljivi za ispitanika. Pored toga upitnik mora ispuniti i sledeće karakteristike: validnost, pouzdanost, opravdanost, senzitivnost i standardizovanost.

1.11. Fizička aktivnost na molekularnoj osnovi

"Savijanje kostiju dovodi do savijanja gena", Rochefort et al, 2010.

Mehaničko opterećenje kosti promovise formiranje iste. Mehanosenzitivnost kosti i njen odgovor na vežbu i sportsku aktivnost neophodan je za održavanje fiziološke funkcije kosti, što je prikazano u prethodnim poglavljima (Yoshiya, 2012). Održavanje zdravog skeleta odrasle osobe postiže se dinamičkom ravnotežom između formiranja kostiju i njene resorpcije.

Senzitivnost koštanog tkiva ogleda se u prvaj meri u osetljivosti osteocita i osteoblasta na mehanički stres. Mogući mehanizam jeste uticaj mehaničkog signala na intracelularni protok i brzine u osteocitu, što za posledicu ima povećanje sinteze prostaglandina (PGE2). Nastaje konverzija arahidonske kiseline u PGE2, koji se vezuje za pge2 receptore na membrani osteocita i povećanja AMPc. Ove promene zajedno menjaju, odnosno povećavaju autokrini odgovor u samoj kosti, vodeći diferencijaciji stromalnih ćelija kostne srži u osteoprogenitorne ćelije (Ocarino et Serakides, 2006). Pored ovog mehanizma preko pge2 receptora, postoje i drugi medijatori uključeni u proces osteoblastogeneze, među kojima najznačajniji jesu osteoprotegerin i azot monoksid. Pored toga mehanički stres smanjuje sintezu sklerosina (Robling, et al. 2008).

Za diferencijaciju osteoblasta najvažnija su mehanička opterećenja koja podrazumevaju silu gravitacije, sile torzije i sile smicanja. Ovi stimuli su takođe neophodni za održavanje pravilne visine i gustine kosti (Klein-Nulend, et al. 2012). Izostanak ovih sila uzrokuje gubitak mase kosti i osteoporozu.

Na animalnim modelima miševa, koji su bili u bestežinskom prostoru pokazana je značajna demineralizacija kosti, nastala usled odsustva sile gravitacije (Lloyd, et al. 2014). Pre vise od 15. godina na značaj sile gravitacije, sile torzije i sile smicanja, su ukazali Lang i sar. proučavajući astronaute, koji su boravili u svemiru. Kod istih je zabeležen gubitak koštane mase za 2% mesečno u predelu kuka, usled odsustva gore navedenih sila (Lang, et al. 2004). Iz dostupne literature, revijalnih radova i meta-analiza zaključeno je da fizička aktivnost utiče na osteogenezu i skeletnu geometriju same kosti (Hamilton, et al. 2010).

Fizička aktivnost ima pozitivne efekte na smanjenje gubitka koštane mase, povećanja snage kosti, prevenciju nastanka osteoporoze u starijoj populaciji, prevenciju pada i smanjenje rizika za isti, prevenciju gubitka mišićne snage i nastanka sarkopenije (Tong, et al. 2019), te mora biti sastavni deo rehabilitacionih programa pacijenata sa osteoporozom (Hamilton, et al. 2010).

1.11.1. Mehaničko opterećenje kosti promoviše sintezu hormona i citokina

Regulisanje hormonske aktivnosti u organizmu, uticaj na sintezu estrogena, paratiroidnog hormona, glukokortikoida, uključenih u metabolizam kosti, dešava se pod uticajem fizičke aktivnosti (Krum, 2011; Gardinier, et al. 2015; Guerrini, et al. 2014). Pokazano je da vežba može povećati nivo estradiola u serumu (E2), što je bilo u skladu sa povećanjem koštane mase i snage u ovariektomisanih pacova (Sakakura, et al. 2001; Li, et al. 2014). Fizička aktivnost je stimulus za lučenje estrogena (estradiola) kako u zdravoj mladoj populaciji, tako i u perimenopauzalnih žena. Ovakva stimulacija čak delimično oponaša efekte lečenja hormonskom terapijom, pokazano je u istraživanjima (Bentz, et al. 2005).

Dalja ispitivanja su potvrdila da trening snage povećava nivo testosterona u starijih muškaraca, koji su gubili koštanu masu (Sato, et al. 2014). Hormoni deluju dvojako na metabolizam kosti; direktno regulišući metaboliizam kosti, ali i indirektno indukujući ili koordinirajući sintezu citokina, koji su uključeni u regulaciju koštanog metabolizma (Tong, et al. 2019). Dokazano je da estrogen inhibira resorpciju kosti inhibicijom TRPV5 i RANKL-a, i promovisanjem OPG (Tong, et al. 2019). Naučnici su pokazali da šestomesečni trening snage umerenog intenziteta smanjuje gubitak koštane mase, kao posledice povećanog serumskog nivoa IL-10, i značajnog serumskog nivoa IL-6 i TNF- α (Santos, et al. 2012). Na ove činjenice nadovezuju se dalja istraživanja koja su pokazala da vežbanje značajno smanjuje sekreciju proinflamatornih citokina kao što su IL-1, IL-6 i TNF- α , kao i da povećava lučenje antiinflamatornih citokina kao što su IL-2, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18 i IFN (Yuan, et al. 2016).

1.11.2. Mehaničko opterećenje kosti promoviše aktivaciju signalnih puteva

Prethodne studije pokazale su da vežba i fizička aktivnost mogu promovisati diferencijaciju osteoblasta i inhibirati aktivnost osteoklasta regulacijom signalnih puteva kao što su: Wnt/ β -catenin, BMP, OPG/RANKL/RANK i Notch, uključenih u procese koštanog metabolizma (Yuan, et al. 2016; Yehya, et al. 2012; Mohamedet, et al. 2010; Shyu, et al. 2013). Dodatni signalni putevi aktivirani mehaničkim stresom su PERK-eIF2 α -ATF4, mTORC2-Akt-GSK3 β , i PI3K/Akt/GSK-3 β / β -catenin, koji takođe igraju značajnu ulogu u održavanju pozitivnog koštanog balansa (Yehya, et al. 2012; Mohamedet, et al. 2010; Shyu, et al. 2013; Zhu, 2013).

1.11.3. Mehaničko opterećenje promoviše sintezu nekodirajuće RNK

Istraživanja novijeg datuma su potvrdila da je nekodirajuća RNA (RNK), zajedno sa siRNA, microRNAs, lncRNA, and circRNA, uključena u regulaciju različitih faza metabolizma kosti, uključujući proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta i osteoklasta (Yuan, et al. 2016). In vitro, studije ukazuju da mehanički stres stimuliše lučenje mikroRNA, koja može poslužiti kao potencijalni terapijski kandidat za prevenciju i lečenje bolesti kostiju, posebno osteoporoze (Yehya, et al. 2012; Mohamed, et al. 2010; Shyu, et al. 2013). Guo sa sar. (2015) je utvrdio da vežba povećava ekspresiju miRNA-191 i miRNA-3070a i reguliše ekspresiju miRNA-218 i miRNA-33, uključenih u regulaciju osteoklastne diferencijacije. Geni ovih različito eksprimiranih RNA (MiRNA-191 i miRNA-3070A kao i miRNA-218 i miRNA-33) predstavljaju ciljane gene uključene u aktivnost osteoklasta (Guo, et al. 2015). Dalja istraživanja, kako in vitro, tako in vivo, su otkrila da mehanički stres (vežba) smanjuje ekspresiju miRNA-103a i njegovog gena domaćina PANK3, a povećava ekspresiju RANK2,

najvažnijeg transkripcionog faktora osteogeneze, što sugerira da regulacija miRNA-103a može biti ključni mehanizam za mehaničku stimulaciju formiranja kosti (Guo, et al. 2015; Tong, et al. 2019). Nedavno su vršena ispitivanja duge, nekodirajuće RNAs (lncRNAs) i njene uloge u regulaciji koštanog metabolizma, pod uticajem fizičke aktivnosti, ali potrebna su dalja istraživanja koja bi potvrdila ovu pretpostavku (Tong, et al. 2019).

1.11.4. Mehaničko opterećenje utiče na proces vaskularizacije kosti

Kost je dobro vaskularizovano tkivo sa širokom mrežom krvnih sudova i kapilara, koji obezbeđuju kiseonik i hranljive materije neophodne za formiranje i razvoj kostiju, a koji su posredovani regulacijom različitih signalnih puteva između endotelnih i koštanih ćelija. (Hankenson, et al. 2011). Krvni sudovi takođe igraju ulogu u procesu osteoporoze, a formiraju se preko 2 biološki različita procesa. U ranim fazama embriogeneze, hemangioblasti potiču od mezodermalnih ćelija koje migriraju i formiraju primarne sudove u okviru procesa vaskulogeneze (Hankenson, et al. 2011). Nakon toga, većina novoformiranih krvnih sudova klija procesom angiogeneze, koji je praćen ekspanzijom postojećih vaskularnih mreža putem endotelne ćelijske proliferacije, migracije, stvaranja anastomoza, što sugerira zaključivanju da se vaskularizacija u kosti formira pretežno angiogenezom (Geudens, et al. 2011).

Pravilna angiogeneza neophodna je za rast i razvoj koštanog tkiva, reparacije nakon frakture, i održavanja normalnog zdravlja kostiju (Ramasamy, et al. 2016). Ustanovljeno je da je snabdevanje krvlju kod ljudi sa osteoporozom i osteopenijom relativno niže u odnosu na ljude sa normalnom koštanom masom (Alagiakrishnan, et al. 2003). U drugim istraživanjima je pokazano da endotelijalna "Notch" signalizacija promoviše angiogenezu i osteogenezu u koštanom tkivu, a na istu vežbanje ostvaruje svoj pozitivan efekat (Ramasamy, et al. 2014).

Pregledom dosadašnjih istraživanja ustanovljeno je nekoliko mehanizama uticaja vežbanja na angiogenezu, u čije puteve su uključeni brojni faktori kao što su VEGF, HIF-1, EGFL, NPNT i Notch ligandi. Ovi faktori regulišu proliferaciju i diferencijaciju endotelnih ćelija i promovišu angiogenezu i osteogenezu (Tong, et al. 2019).

Nameće se sve veći značaj i mesto angiogeneze u regulaciji i održavanju pravilnog koštanog metabolizma (Tong, et al. 2019).

1.11.5. Mehaničko opterećenje utiče na ekspresiju matriks metaloproteinaza

Matriks metaloproteinaze (MMP-aze) luče različiti tipovi ćelija, kao što su osteociti, osteoklasti, osteoblasti, endotelne ćelije i dr. Pokazano je da imaju značajnu ulogu u regulisanju koštanog metabolizma, preko osteoklastne i osteoblastne diferencijacije, učesća u angiogenezi, degradaciji ECM... Brojne studije su ispitivale uticaj vežbanja na promenu aktivnosti matriks metaloproteinaza (MMP-aza) o čemu će biti detaljnije razmatrano u sledećim poglavljima. Dokumentovan je uticaj vežbanja na endotelnu funkciju matičnih ćelija u pacijenata starije životne dobi i promene sinteze VEGFs (VEGF-A, VEGF-C i VEGF-D) i ekspresije MMP-aza (MMP-1, -2, -3, i -9) u serumu ovih pacijenata (Tong, et al. 2019). Pokazano je da promena MMP-aza uzrokovana vežbanjem može imati značajan uticaj na angiogenezu i formiranje kosti.

Uloga MMP-aza u osteoporozi, njihova promena indukovana vežbanjem i uopšteno njihov značaj u procesu remodelovanja kosti je predmet brojnih istraživanja, te će u daljem tekstu biti iznete opservacije i zaključci koji doprinose razumevanju uticaja fizičke aktivnosti na promenu istih.

Fizička aktivnost i matriks metaloproteinaze

Brojna istraživanja, in vivo i in vitro, kako na animalnim, tako i humanim modelima su pokušala da objasne različite mehanizme koji potvrđuju značaj MMP-aza u procesu

degradacije ECM, remodelovanju koštanog tkiva i resorpciji kosti, iako neke nepoznanice ostaju do danas prisutne. Uzroci njihove povećane ekspresije mogu biti različiti stimuli poput intracelularnih interakcija citokina, faktora rasta, endokrinog imbalancea i dr (Pietschmann, et al. 2016). Potvrđeno je da su MMP-aze uključene u kaskadu reakcija degradacije kolagena u najranijim fazama, pre nego što započne proces demineralizacije (Grigoryan, 2017).

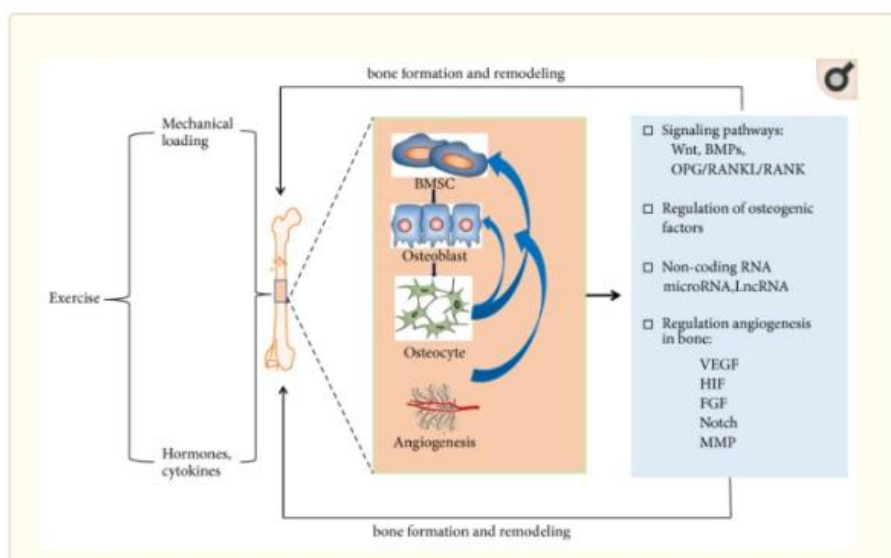
Brojna ispitivanja su sprovedena u cilju definisanja različitih terapijskih modaliteta sa potencijalom regulacije MMP-azne aktivnosti, među kojima značajno mesto zauzima fizička aktivnost. Istraživanja sprovedena na humanoj populaciji uzrokovala su različite promene MMP-2 i MMP-9 nakon akutnog i hroničnog vežbanja (Urso, et al. 2009; Lucotti, et al. 2011; Büyükyazı, 2008; Niessner, 2006; Kadoglou, 2010; Fiotti, 2009). Pokazan je porast serumskih vrednosti MMP-9 i MMP-2 nakon akutnog vežbanja, indikujući rani adaptivni odgovor na vežbanje (Urso, et al. 2009). Trenutna povišena inflamacija koju akutni trening izaziva, praćena je povišenim vrednostima MMP-2 i MMP-9 u plazmi posle akutnog vežbanja. Posle izvesnog perioda nastaje smanjenje ovih vrednosti i postiže se kompenzatorni anti-inflamatorni efekat, uslovljen hroničnim vežbanjem i adaptacijom organizma na isto (Nascimento, et al. 2015). U revijalnom radu objavljenom 2017.godine pokazana je povećana genska transkripcija MMP-9 gena nakon akutnog vežbanja, u biopsiranim mišićima, dok su rezultati za MMP-2 i TIMP bili nedovoljno konzistentni, da bi se izveo validan zaključak (Lo Presti, et al. 2017). Aerobne vežbe imaju kardioprotektivni efekat, koji se ostvaruje smanjenjem pro-inflamatorne MMP-9 i MMP-2 u pacijenata sa DM tip2, metaboličkim sindromom, koronarnom bolesti, kao i kod zdravih sedentarnih pacijenata (postmenopausalnih muškaraca i žena), pokazala su istraživanja (Lucotti, et al. 2011; Niessner, 2006; Kadoglou, 2010; Nascimento, et al. 2014). Potvrđeno je da brzi hod, intenziteta 50–70 % VO₂ ostvaruje gore pomenute efekte (Kadoglou, 2010).

Hronično strukturisano vežbanje trajanja 24 nedelje, kod pacijenata u menopauzi vodi povećanju sinhronizacije, fleksibilnosti i snage, smanjenjem MMP-9 aktivnosti, dok MMP-1 aktivnost ostaje nepromenjena tokom ovog perioda (Fiotti, 2009). Ekscentrični trening snage gornjih ekstremiteta može uzrokovati oštećenje mišića i inflamaciju istog, ali ne dovodi do porasta vrednosti MMP-9 (Madden, et al.2011). Razmatrajući mogućnost da akutna ekscentrična kontrakcija može dovesti do povrede i lokalne inflamacije mišića, vrednosti MMP-9 i TIMP-1 u plazmi ovih pacijenata nisu adekvatni potencijalni biomarkeri za procenu ovakve vrste aktivnosti. Tome doprinosi i činjenica da ekscentrična kontrakcija bicepsa sa 6 do 10 ponavljanja i intenziteta 120 % u odnosu na 1RM (1 repetition maximum) nije dovoljna da izazove sistemske promene MMP-aza i TIMP-a1 (Madden, et al. 2011). Dokumentovano je da 8-nedeljni program hoda umerenog intenziteta ne utiče na promenu vrednosti MMP-9, TIMP-1 i MMP-9/TIMP-1 odnosa kod sedentarnih postmenopausalnih pacijentkinja (Büyükyazı,2008), za razliku od istog programa primenjenog u dužem vremenskom periodu, gde je nakon 12 i 16 nedelja uočeno smanjenje navedenih MMP-aznih aktivnosti (Niessner, 2006; Kadoglou, 2010).

U patološkim stanjima, kao što su metabolički sindrom, koronarna bolest, reumatoidni artritis, osteoporoza, neke maligne bolesti, promena aktivnosti MMP-9 i MMP-2 korelira sa stepenom inflamacije, odnosno destrukcije ćelije i tkiva u određenoj bolesti. Stoga sniženje određenih pro-inflamatornih markera može biti uzrokovano uticajem vežbi na smanjenje MMP-azne aktivnosti (Gleeson, 2011). Efekti hroničnog vežbanja koji dovode do smanjenja serumskih MMP-aza objašnjeni su ekspresijom određenih endogenih inhibitornih proteina, kao što je TIMP, alpha 2 makroglobulin, i degradacijom samih proteinaza (Nascimento, 2014). Razmatraju se i drugi mehanizmi, kao što je redukcija tumorskog faktora nekroze-alpha (TNF α), poznatog stimulatora MMP-azne produkcije (Gleeson, 2011).

Proteini koji interaguju sa MMP-azama i TIMP-azama tokom procesa modelovanja i remodelovanja kosti su brojni, te se promene uzrokovane vežbanjem mogu objasniti na različite načine (slika 10). Naime, uticaji različitih oblika strukturisanog vežbanja, različitog trajanja, intenziteta i učestalosti na aktivnost MMP-aza, otvaraju spektar molekularnih mehanizama, koji su do danas nedovoljno razjašnjeni.

Jedno je sigurno, fizička aktivnost spada u sastavni deo nefarmakološkog tretmana osteoporoze, a MMP-aze su uključene u proces povećane resorpcije kosti, te bi svako dalje definisanje uticaja fizičke aktivnosti na njihovu promenu imalo veliki značaj u cilju rasvetljavanja različitih mehanizama involviranih u ovaj proces.



Slika 10. Mogući mehanizmi uticaja vežbanja na stimulaciju osteogeneze i angiogeneze

preuzeto sa: Xiaoyang Tong, Xi Chen² Shihua Zhang, Mei Huang, Xiaoyan Shen, Jiake Xu and Jun Zou *The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. Biomed Res Int. 2019; 2019: 8171897.*

1.12. Sklonost (genetska predispozicija) ka osteoporozi

Osteoporoza spada u grupu multifaktorskih bolesti. Studije na blizancima, sprovedene pre oko 30 godina, ukazale su na značajan uticaj genetičkih faktora na koštanu masu (Pocock, et al. 1987). Na genetsku osnovu osteoporoze ukazala su i ispitivanja u okviru porodica, kao i studije povezanosti BMD-a i hromozomskih lokusa („linkage“ studije) na životinjama i ljudima, kao i identifikacija pojedinih gena čije mutacije uzrokuju monogenske bolesti, kao što je osteoporoza-pseudoglioma sindrom, a koje se karakterišu malom koštanom masom ili povećanim rizikom za prelom (Demissie et al. 2007; Deng, et al. 2017).

Brojne studije su se bavile proučavanjem genoma u cilju pronalaženja lokusa na hromozomima koji su povezani sa BMD-om, sa kontradiktornim rezultatima. Do sada još nije pronađen gen koji značajno utiče na koštanu masu. Razlozi leže u velikom broju gena koji utiču na koštanu masu, slabom uticaju svakog od gena posebno na BMD, moguće i regionalnim razlikama u distribuciji različitih genskih polimorfizama (PM) u populaciji i njihovom uticaju na BMD. Osim toga, dosadašnje studije su pokazale da na BMD različitih delova skeleta utiču različiti geni čiji uticaj zavisi od životne dobi i pola (Ralston, et al. 2005; Kammerer, 2003). Osteoporoza je poligenska bolest s velikim brojem gena čiji su proteinski produkti uključeni u izgradnju i razgradnju kosti, organizaciju strukture koštanog tkiva i formiranje oblika i volumena kosti, a koji utiču na rizik nastanka osteoporoze i osteoporotičnih preloma, zbog čega je uticaj jednog gena, odnosno jednog genskog polimorfizma mali i često ga je teško detektovati.

Pod pojmom polimorfizma u genomu čoveka podrazumevaju se varijacije u naslednoj osnovi koje se javljaju u humanim populacijama. Da bi određena varijacija bila proglašena polimorfizmom neophodno je da se određena alelska forma javlja sa učestalošću većom od 1% (Wyandt, et al. 2004). Ako je frekvencija varijacije manja od 1% radi se o retkoj varijanti (Wyandt, et al. 2004).

U genske polimorfizme spadaju: polimorfizmi pojedinačnih nukleotida (Engl. Single Nucleotide Polymorphism-SNP), varijabilni broj tandemskih ponovaka (Engl. Variable Number of Tandem Repeats-VNTR) i del/ins polimorfizmi, koji nastaju kao rezultat insercije ili delecije određenog dela DNK (Wyandt, et al. 2004). U humanom genomu su najzastupljeniji polimorfizmi pojedinačnih nukleotida-SNP.

Ispitivanjem genoma nađeno je preko 1.420.000 SNP-ova (Sachidanandam, et al. 2001). Jedan SNP se pojavljuje nakon prosečno svakih 1000 baza. U bolestima s poligenomskom osnovom jedan SNP najčešće nije povezan sa velikom rizikom pojave te bolesti. Suštinski postoji blaga sklonost ka pojavi bolesti, detektabilna statističkim metodama. U slučaju osteoporoze poligenomska sklonost svodi se na uticaj na koštanu masu ili na sklonost ka frakturi (Ralston, et al. 2006). Procenjuje se da 1 SNP utiče na oko 0.2 do 2% BMD-a (Ralston, et al. 2006).

Smatra se da bi SNP-ovi mogli zauzeti značajno mesto u proceni individualne terapije, pa se u današnje vreme povećava broj istraživačkih radova koji imaju za cilj determinaciju određenih polimorfizama koji bi potencijalno mogli imati važnu ulogu prognostičkih faktora. Pored povezanosti polimorfizama sa koštanom masom, postoji i potreba za utvrđivanjem povezanosti istih sa mišićnom masom, u cilju identifikacije najboljeg kineziterapijskog tretmana za pacijente sa osteoporozom.

Kako je nefarmakološka terapija, koja podrazumeva uključivanje pacijenata u određeni program vežbi, definisanog intenziteta, trajanja i učestalosti neophodna i predstavlja integrativni deo lečenja pacijenata sa osteoporozom, današnja istraživanja su usmerena ka ispitivanju povezanosti genskih polimorfizama sa kineziterapijskim tretmanom.

U ovom istraživanju proučavana je uloga MMP-2 i MMP-9 u remodelovanju koštanog tkiva, ali je poznato da ovi enzimi doprinose remodelovanju skeletnih mišića (Fiotti, et al. 2009).

Smatra se da je oko 50% adaptacije skeletnih mišića nakon vežbanja determinisano genetskom komponentom (Stewart, et al. 2006), iako je do sada identifikovano samo nekoliko genetskih asocijacija odgovornih za ovaj proces. Pokazano je da su MMP-1, MMP-3 i MMP-9 eksprimirane u skeletnim mišićnim ćelijama i da imaju značajnu ulogu u degradaciji ekstracelularnog matriksa perimizijuma i endomizijuma, i posledično u regulaciji remodelovanja skeletnih mišića nakon vežbanja. MMP-aze takođe mogu modulirati efekte IGF-a (insulin-like growth factor), degradirajući IGFBP (IGF-binding proteins) (Coppock, et al. 2004). U dosadašnjim istraživanjima potvrđena je asocijacija između različitih genskih varijanti IGF-a i mišićne snage (Kostek, et al. 2005), ali još uvek nema dovoljno dokaza o povezanosti polimorfizama sa aktivnošću MMP-aza i fizičke aktivnosti.

U humanoj populaciji nekoliko funkcionalnih polimorfizama utiče na ekspresiju MMP-1, -3 i -9. Insercija G na poziciji -1607 MMP-1 u kulturi fibroblasta, osam puta povećava sintezu MMP-1 (Rutter, et al. 1998). Polimorfna varijanta 5A/6A u genu za MMP-3 na poziciji -1171, uslovljava smanjenje ekspresije MMP-3 za 20 do 30% (Medley, et al. 2003). U MMP-9 povećanje broja citozin-adenin ponovaka na poziciji -90 do -131 dovodi do povećanja genske ekspresije (Kodama, et al. 2004). Potvrda ekspresije ovih MMP-aza u skeletnim mišićima i njihove uloge u remodelovanju ECM, ukazuje na mogućnost da njihove različite genske varijacije doprinose različitoj strukturi mišića i funkcionalnih promena istih tokom vežbanja.

2.Ciljevi istraživanja

Sagledavajući značaj i veličinu problema koje osteoporoza može uzrokovati velikom procentu ljudi u menopauzi, kao i nesumnjivi značaj rehabilitacije, odnosno kineziterapijskog tretmana za **osnovne ciljeve** ovog rada su postavljeni sledeći:

1. Utvrditi uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-2 , MMP-9 i TIMP-1, u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom nakon 4 nedelje i posle 12 nedelja od primenjenog programa.
2. Ispitati uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na poboljšanje funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom, odgovarajućim funkcionalnim testovima, nakon 4 nedelje i nakon 12 nedelja od primene programa.
3. Utvrditi povezanost genotipova i alela polimorfizama u genima za MMP-2 i MMP-9 i specifično dizajniranog programa vežbi, kao i njihov uticaj na ishod funkcionalnog statusa u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.
4. Utvrditi učestalost najzastupljenijih faktora rizika za osteoporozu u pacijentkinja sa T-score ispod -2.5 SD (vrsta, broj i udruženost faktora rizika).

Sekundarni ciljevi bili su:

5. Utvrditi uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu straha od pada u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom nakon 12 nedelja od primene istog.
6. Ispitati stepen znanja o osteoporozu u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u Srbiji, pre i posle specifično dizajniranog programa vežbi.
7. Pokazati da je primena specifično dizajniranog programa vežbi efikasan način za poboljšanje funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom i da treba da bude sastavni deo svake terapijske strategije za lečenje osteoporoze.
8. Utvrditi povezanost ispitivanih polimorfizama za MMP-aze u ukupnoj populaciji sa inicijalnim vrednostima funkcionalnih testova određenih pre uključivanja pacijentkinja u specifično dizajnirani program vežbi.

3.Materijal i metode

3.1. Tip istraživanja

Ovo istraživanje je dizajnirano kao randomizovana prospektivna studija.

Klinički deo ovog istraživanja je sproveden u Institutu za rehabilitaciju, u Sokobanjskoj 17, u Beogradu, koji je nastavna baza Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Biohemijski deo istraživanja obavljen je u laboratoriji za analitiku biomolekula, Instituta za hemiju u medicini "Prof. dr Petar Matavulj" Medicinskog fakulteta u Beogradu, dok su molekularno-genetičke analize sprovedene na Institutu za humanu genetiku, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Protokol istraživanja je odobren od strane etičkog odbora Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu (sa brojem protokola 61206-4993/2-19), kao i od strane etičkog odbora Instituta za rehabilitaciju, Instituta za hemiju u medicini i Institutu za humanu genetiku.

Izvršena je registracija istraživanja na sajtu www.clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov identifikator) i dobijen je odgovarajući identifikacioni broj (NCT number: NCT03816449).

Istraživanje je sprovedeno saglasno Helsinškoj deklaraciji, u skladu sa principima dobre kliničke prakse uz poštovanje etičkih standarda i u skladu sa nacionalnim i internacionalnim smernicama.

3.2. Selekcija ispitanika

Ciljna populacija ovog istraživanja su bile postmenopauzalne pacijentkinje sa prisutnim faktorima rizika za osteoporozu, koje su uključivane u istraživanje redosledom kojim su se javljale na pregled na Institut za rehabilitaciju, u periodu od novembra 2018. do januara 2020.godine.

U istraživanje je uključeno 106, od čega je istraživanje završilo 97 postmenopauzalnih pacijentkinja sa postavljenom dijagnozom osteoporoze, na Institutu za rehabilitaciju, u Sokobanjskoj 17, u Beogradu, na osnovu rezultata centralne osteodenzitometrije (Kanis, et al. 2013).

Od ukupno 174 pacijentkinje koje su bile upućene na merenje mineralne koštane gustine, odnosno uključene u skrining (DXA BMD), 115 je ispunjavalo kriterijume za uključivanje u istraživanje. Svih 115 je pozvano za uključivanje u istraživanje, od kojih se 106 pacijentkinja pojavilo na prvom pregledu, kada je učinjena randomizacija. Rekrutovane pacijentkinje su nasumično raspoređene u 2 grupe, u odnosu 1:1, pri čemu je u grupi koja vežba (VG) bilo uključeno 53 pacijentkinje, kao i u kontrolnoj grupi (KG). Od toga, analizirani su rezultati 97 pacijentkinja koje su završile istraživanje. 47 pacijentkinja iz VG završilo je 12 nedeljni specifično dizajnirani program vežbi i bilo podvrgnuto merenjima i analiziranju rezultata (**Fig.1**, "flowchart"). Iz KG analizirani su rezultati 50 pacijentkinja (**Fig.1**). Pacijentkinje su bile motivisane za učešće u studiji, tako da je komplijansa bila značajna (oko 92%).

Pre započinjanja specifično dizajniranog programa vežbi svih 106 pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom je započelo lečenje bisfosfonatima (alendronatom i ibandronatom) i suplementacijom vitamina D i kalcijuma u zavisnosti od laboratorijskih vrednosti istih, prema preporukama Evropskog vodiča za borbu protiv osteoporoze (Kanis, et al. 2013). Medikamentna terapija nije menjana tokom istraživanja.

Pre uključivanja u istraživanje pacijentkinje su bile detaljno informisane o svim aspektima istraživanja (prilog 1). Nakon dobijanja pisane saglasnosti za učešće u istraživanju (obrazac u prilogu 2.), kao i nakon dobijanja saglasnosti Etičkog Komiteta Instituta za rehabilitaciju, metodom randomizacije pacijentkinje su podeljene u dve grupe, VG i KG.

Gruppu koja vežba (VG) činile su pacijentkinje koje su imale specifično dizajniran program vežbi, pod kojim se podrazumevalo sprovođenje aerobnih vežbi, treninga snage i izdržljivosti i vežbi balansa.

Kontrolnu grupu (KG) su predstavljale pacijentkinje koje nisu bile uključene u specifično dizajniran program vežbi, već su nastavile da obavljaju "uobičajene fizičke aktivnosti", definisane kao aktivnosti dnevnog života (ADŽ). ADŽ predstavljaju osnovne aktivnosti potrebne u svakodnevnom životu, uključujući odlazak na posao, u kupovinu, obavljanje kućnih poslova i slično, kao i način na koji su ove aktivnosti povezane sa konkretnom okolinom samog pacijenta (vokacijske i avokacijske aktivnosti). Iz etičkih, kao i zdravstvenih razloga, nakon 12 nedelja praćenja, i ovim pacijentkinjama je ponuđeno uključivanje u isti specifično dizajniran program vežbi koji su imale pacijentkinje iz prve grupe.

Prednost ovakvog istraživanja je što je potpuno neinvazivno, odnosno sve pacijentkinje su imale program vežbi koji je individualno dizajniran prema opštem stanju i funkcionalnom statusu, sproveden od strane tima za rehabilitaciju, biohemiju i molekularnu medicinu, uz pažljivo sagledavanje parametara koji mogu biti od interesa za dalje praćenje propisanog tretmana i uticati na njihov bolji oporavak.

3.3. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz istraživanja

Kriterijumi uključenja u istraživanje su bili sledeći:

- osteoporoza koja je dijagnostikovana centralnom osteodenzitometrijom u pacijentkinja životne dobi između 65 i 70 godina,
- osteoporoza dijagnostikovana centralnom osteodenzitometrijom u pacijentkinja životne dobi manje od 65 godina u slučaju postojanja faktora rizika za osteoporozu (rana menopauza, kasna menarha, produžena amenoreja, pozitivna porodična anamneza na niskoenergetsku frakturu i dr, definisanih od strane NOF-a) (Kanis, et al. 2013).

Poštovani su, u daljem tekstu navedeni, **kriterijumi isključenja** iz studije:

- perimenopauzalni status (sa pojavom neredovnih ciklusa u poslednjih godinu dana),
- metaboličke bolesti kostiju koje mogu biti razlog sekundarne osteoporoze,
- hiperparatireoidizam,
- verifikovane onkološke bolesti,
- upotreba kortikosteroida duže od 3 meseca,
- hormonska terapija,
- poremećaj funkcije jetre i bubrega,
- znaci srčane i respiratorne insuficijencije,
- učešće u bilo kakavom programu vežbi u poslednjih 6 meseci, uključujući i brzi hod u trajanju od 15 minuta, prosečno 3km/h, više od 2 puta nedeljno,
- profesionalni sportisti.

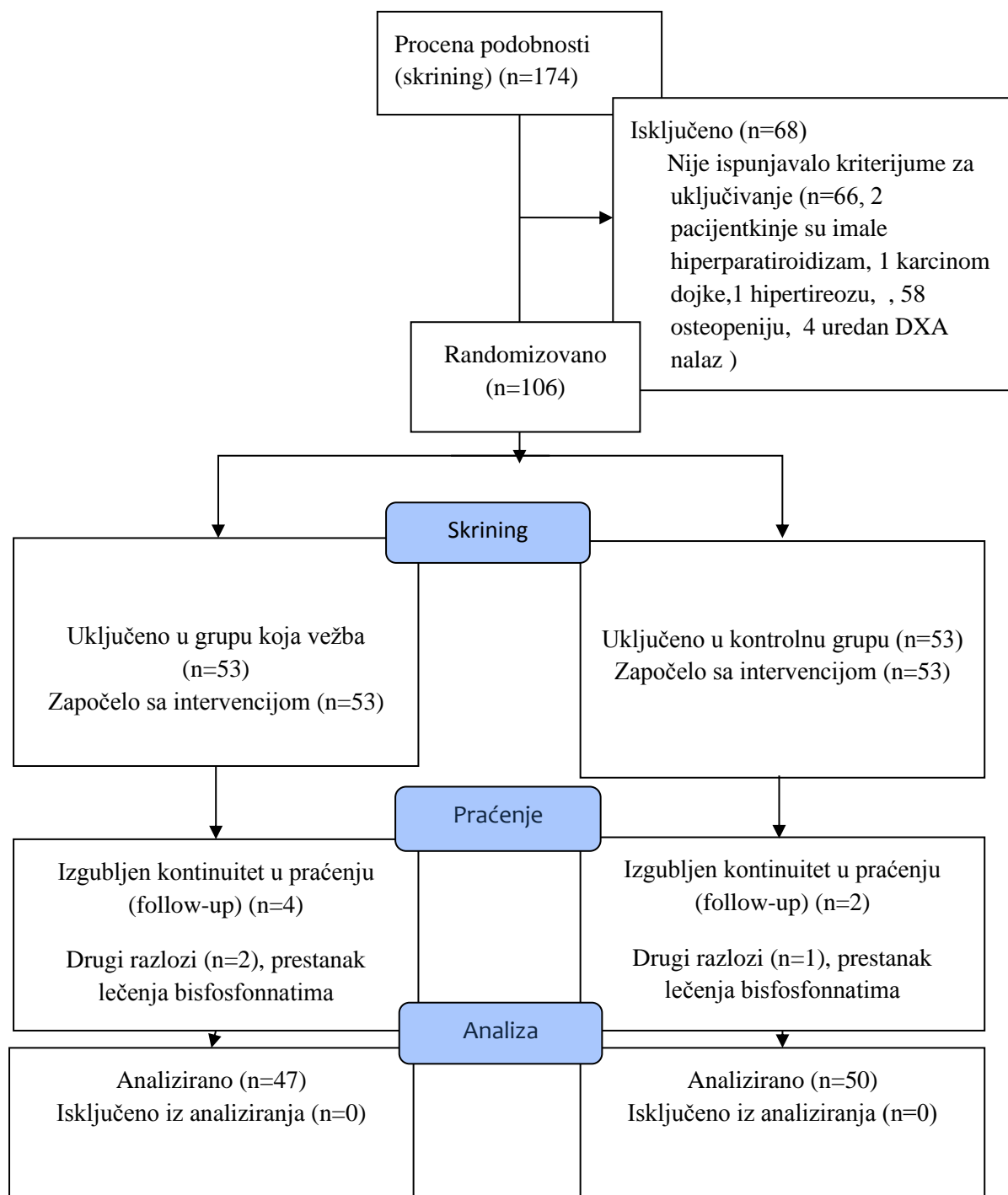


Figura 1. Dijagram (consort flow chart 2010)

3.4. Prikupljanje podataka i merenja

3.4.1. Opšte demografske karakteristike i faktori rizika

Pre započinjanja istraživanja za sve pacijentkinje zabeleženi su kompletni demografski i anamnestički podaci (podaci o faktorima rizika za osteoporozu, podaci o faktorima rizika za pad, prethodne bolesti, korišćenje medikamentne terapije), zatim podaci iz porodične anamneze kao i podaci iz socijalno-epidemiološke ankete.

Kod svih pacijentkinja sa osteoporozom, pre uključivanja u istraživanje, rađena je procena indeksa telesne mase (BMI) i određenih laboratorijskih parametara: 25 hidroksi vitamina D (25OHVitD), vrednosti kalcijuma i fosfora u krvi i urinu, paratireoidnog hormona (PTH), tireotropina (TSH ultra sens), tiroksina (FT4), uree, ukupnih proteina, albumina, kreatinina u serumu, klirensa kreatinina, diureze, alkalne fosfataze (ALP), kreatin kinaze (CK), sedimentacije (SE), lipoproteina velike gustine (HDL), lipoproteina male gustine (LDL). BMI je visinsko-težinski pokazatelj uhranjenosti pojedinca i izračunava se prema određenoj matematičkoj formulaciji, koja predstavlja odnos telesne mase izražene u kilogramima i kvadrata telesne visine izražene u metrima ($BMI = kg/m^2$)

3.4.2. Centralna osteodenzitometrijska merenja

DXA BMD je kvantitativna metoda merenja koja koristi x-zrake dve jačine u vrlo maloj dozi, koje se propuštaju kroz kost, a iza kosti senzori registruju x-zrake koji su prošli kroz kost i šalju informaciju u kompjuter, pri čemu se iz razlike energije propuštenih i apsorbovanih x-zraka izračunava mineralnu gustinu kosti. Greška merenja je <1%. Doza zračenja po jednoj denzitometriji je vrlo niska, 3-5 mRema. Dobijeni rezultati u g/cm^2 , upoređuju se ili sa referentnim vrednostima koštane gustine za mladu zdravu populaciju starosne dobi od 20 do 40 godina (T skor) ili sa vrednostima za grupu iste životne dobi (Z skor) i izražavaju u standardnim devijacijama (SD) (Kanis, et al. 2013; Organization, 2013). Z skor predstavlja odstupanje aktuelne mase kosti od prosečne vrednosti koja se smatra normalnom za istu životnu dob izraženo u standardnim devijacijama (SD), dok T-skor predstavlja razliku između aktuelne mase kosti i prosečne vrednosti maksimuma mase kosti u mladim osoba (Organization, 2013). T-skor se primenjuje kod postmenopauzних žena, a Z-skor kod mladih žena. Klinički, procena se vrši na lumbalnom delu kičme i/ili na kuku, najčešće na dva merna mesta. Treba voditi računa o artefaktima koji mogu otežati interpretaciju rezultata. Najčešći problem mogu predstavljati aortne kalcifikacije i osteodegenerativne promene kičmenih pršljenova (osteofiti), posebno često prisutnih u osoba starije životne dobi. Smatra se da je senzitivniji skor dobijen na vratu femura butne kosti, tj. da artefakti utiču minimalno na njegovu interpretaciju (Kanis, et al. 2013).

Pre uključivanja u istraživanje pacijentkinjama je rađena centralna osteodenzitometrija (DXA BMD) u području lumbalne kičme od L1-L4 i butne kosti, na aparatu "Osteosys" (osteodenzitometar "Osteosys", model: H2AY-002A, Seoul, Korea, proizveden 2008.), na Institutu za Rehabilitaciju, u Sokobanjskoj 17, u Beogradu (slika 7). Dijagnoza osteoporoze je postavljena kada je vrednost T-skora bila jednaka ili manja od -2,5 SD na jednom ili oba merena mesta (Kanis, et al. 2013; Organization, 2013).

3.4.3. Merenje biohemijskih parametara

Određivanje sledećih biohemijskih parametara: aktivnosti MMP-aza i TIMP-a1 je obavljeno u laboratoriji za analitiku biomolekula, Instituta za hemiju u medicini "Prof. dr Petar Matavulj" Medicinskog fakulteta u Beogradu. Za biohemijske parametre, pacijentkinjama je uzimana periferna krv (na prazan stomak, posle 12h gladovanja, u ranim jutarnjim časovima),

centrifugirana na 3000 ob/min, podeljena u alikvote (serum i plazma) i čuvana u zamrzivaču (na -20° C) za određivanje navedenih parametara (MMP-2, MMP-9 i TIMP-1).

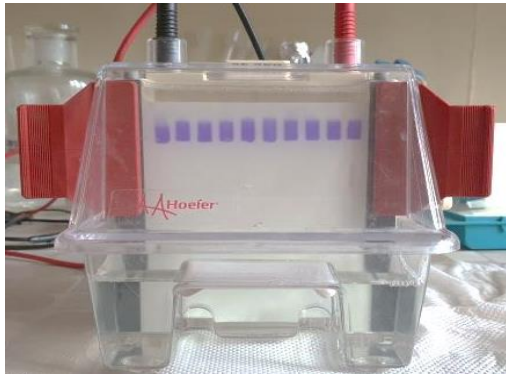
Pacijentkinje iz obe grupe su bile biohemijski testirane po 3 puta, u sledećem vremenskim intervalima: pre započinjanja korišćenja terapije (specifično dizajniranog programa vežbi), posle 4 nedelje i posle 12 nedelja od korišćenja iste u cilju utvrđivanja efekata specifično dizajniranog programa vežbi na ispitivane parametre.

3.4.3.1. Merenje enzimske aktivnosti MMP-2 i MMP-9 metodom zimografije

Prisustvo i enzimska aktivnost MMP-aza u serumima određivana je metodom zimografije na poliakrilamidnim gelovima u kojima je kopolimerizovan želatin (La Rocca, et al. 2004; Gopcevic, et al. 2017; Makowski and Ramsby, 1996; Vartio and Baumann, 1989).

Ukratko (slika 11 i 12), uzorci seruma su bili podvrgnuti razdvajanju proteina natrijum-dodecilsulfat poliakrilamidnom elektroforezom (eng. Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE) u gelu koji je sadržao kopolimerizovan supstrat za proteaze želatin (0,1 %). Nakon razdvajanja u gelu proteaze su renaturisale i hidrolizovale supstrat u gelu. Prisustvo i aktivnost MMP-aza u uzorku je određivana na osnovu smanjenja bojenja sa 0.05% (w/v) CBB G-250 (eng. Comassie Brilliant Blue R-250) razloženog želatina na mestima aktivnosti MMP (La Rocca, et al. 2004; Gopcevic, et al. 2017; Makowski and Ramsby, 1996; Vartio and Baumann, 1989).

Uzorci, u kojima je prethodno određen sadržaj proteina i koji su razblaženi na odgovarajući način sa rastvorom 20 % saharoze, su preinkubirani na 37 °C u trajanju od 40 minuta. U ovako aktivirane uzorke je dodata ista zapremina pufera za tretiranje uzoraka, koji se sastoji iz sledećih komponentata: 0,125 M Tris-HCl; pH 6,8; 20 % glicerol; 10 % SDS i 0,25 % brom fenol plavog. Uzorci su potom u bunare u gelu za elektroforezu podvrgnuti elektroforezi (20 µl po bunarčiću). Nakon elektroforetskog razdvajanja proteina pri određenom naponu i struji (U=150 V, I=50 mA) (slika 12), gelovi su ispirani u rastvoru Triton X-100 (2,5 %, v/v) u trajanju od 45 minuta, kako bi se iz gela uklonio SDS, a zatim dva puta u dejonizovanoj vodi na +4°C i inkubirani 24 h na 37 °C u puferu za enzimski test (50 mmol/L Tris-HCl; 0,2 M NaCl; 5 mmol/L CaCl₂; 0,05 % NaH₃; pH 7,5), u vodenom kupatilu (Lab-ThermKuhner Shaker, Kuhner, Switzerland), uz mešanje od 50 obrtaja u minuti. Nakon inkubacije gelovi su bojeni CBB G-250 bojom, koncentracije 0,05 % u smeši metanol: sirćetna kiselina: voda (2,5:1:6,5; v/v/v)) i obezbojavani u 4 % metanolu sa 8% sirćetne kiseline. Za bolju senzitivnost gelovi su dalje obezbojavani u rastvoru 1% Triton X-100 (1-2 h). Pojava svetlih zona na tamnoj pozadini gela koji je obojen CCB G-250 bojom ukazivala je na mesta aktivnosti zelatinaza. Intenzitet zelatinolitičke aktivnosti je određen denzitometrijski, korišćenjem ImageJ softverskog programa (ImageJ 1.48v software, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Dobijena zelatinolitička aktivnost MMP-aza je određivana u odnosu na aktivnost standardnih enzima MMP-2 i MMP-9 (Sigma Aldrich, Merck). Gelovi su fotografisani mokri i čuvani su na sobnoj temperaturi. Konačno, dobijene zelatinolitičke aktivnosti (Arbitrary units) su kvantifikovane (ng/dl) kao relativne proteazne aktivnosti u odnosu na relativne proteazne aktivnosti standarda za MMP-2 i MMP-9, i preračunate prema aktivnostima standarda, koji su primenjeni u količini od 5 ng/ml.



Slika 11. Elektroforetsko razdvajanje proteina-aparatura za horizontalnu poliakrilamid gel elektroforezu (originalna fotografija)

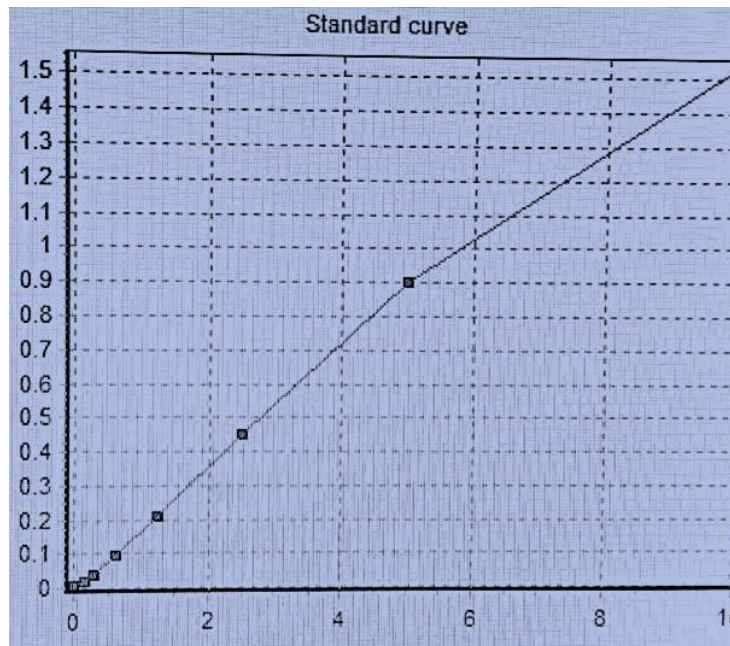


Slika 12. Ispravljač i tehnički uslovi elektroforetskog razdvajanja proteina (originalna fotografija)

3.4.3.2. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) za kvantifikaciju TIMP-a1

Koncentracija TIMP-a1 je određena ELISA metodom (enzyme-linked immunosorbent assay) prema upustu proizvođača.

ELISA kit (Elab science Biotechnology Inc, 2019-2020), sa osetljivošću 0.10 ng/ml i detekcionim opsegom 0.16-10 ng/mL, i bez značajne cross-reaktivnosti i interferencije između humanog TTMP-1 (TIMP 1-human, Sigma-Aldrich, Merck) i analoga, korišten je za in vitro kvantifikaciju TIMP-1 u serumu postmenopausalnih pacijentkinja sa osteoporozom. Ukratko, sendvič-ELISA princip sastoji se iz sledećih elemenata i koraka: mikro ploče od 96 bunara već prekrivenih primarnim, humanim, anti-TIMP-1 antitelom; standardne koncentracije TIMP-a (za izradu logaritamske, standardne krive odnosa koncentracije i optičke gustine) ili uzorci koji se kvantifikuju su potom dodati u bunare i ostavljeni da se vežu za specifična antitela. Potom su sukcesivno dodati u iste bunare biotinizirana, sekundarna antitela, specifična za humana Ig G antitela, kao i za Avidin konjugovan za marker molekul - HRP (Horseradish Peroxidase). Komponente koje se nisu vezale u imunološkoj reakciji su potom isprane i na kraju je dodat supstrat za detekciju i ploča je stavljena na inkubaciju kako bi se odvila enzimska reakcija. Samo bunari sa TIMP-om su se obojili u plavu boju, koja se nakon dodavanja rastvora za zaustavljanje reakcije (STOP rastvora) promenila u žutu i merene su optičke gustine (OD) na 450 nm \pm 2 nm uz pomoć 'micro plate čitača' (Rayto RT-6100). Na kraju su dobijene OD vrednosti nanete na standardnu krivu za očitavanje koncentracija TIMP-a1 u ispitivanim uzorcima seruma subjekata grupe koja vežba (VG) i kontrolne grupe (KG) (slika 13).



Slika 13. Standardna kriva za očitavanje TIMP-1 Elisa metodom

3.4.4. Molekularno-genetičke analize i merenja

Molekularno-genetičke analize su sprovedene na Institutu za humanu genetiku, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U ovom istraživanju molekularno-genetičke metode obuhvataju izolaciju ukupne genomske DNK iz leukocita periferne krvi, detekciju genotipova polimorfizma rs3918242 gena za MMP-9 primenom reakcije lančane polimeraze (PCR) i restrikcijom produkata PCR reakcije odgovarajućim restrikcionim enzimom (PCR-RFLPs metoda) i detekciju genotipova za polimorfizam u genu za MMP-2 primenom PCR-a u realnom vremenu uz upotrebu standardizovanih TaqMan[®] SNP eseja za genotipizaciju.

3.4.4.1. Izolacija DNK iz limfocita periferne krvi

Ukupna genomska DNK izolovana je iz limfocita periferne krvi. Izolacija DNK je vršena metodom isoljavanja ("salting out") po Milleru (Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F.1988).

Koncentracija DNK u uzorku merena je spektrofotometrom na 260 nm, a čistoća DNK određivana je na osnovu absorbance uzoraka na 260 i 280 nm.

3.4.4.2. Analiza polimorfizma rs3918242 u genu za MMP-9

Genotipizacija je vršena primenom PCR-RFLPs metode.

Smeša za PCR po jednom uzorku je sadržala: 2,5 µl 10 x PCR pufera ;1,5 µl 25 mM MgCl₂; 0,5 µl 10 mM dNTP (smeša, 10mM svakog nukleotida); 0,5 µl prajmera 1 (300 ng / µl); 0,5 µl prajmera 2 (300 ng / µl); 2 µl DNK (100 ng / µl); 0, 2 µl Taq polimeraze (5U/ µl) i H₂O (ampulirane) do 25 µl.

Prilikom analize ovog polimorfizma u PCR reakciji korišćeni su sledeći prajmeri:

- Fw prajmer: 5'- GCC TGG CAC ATA GTA GGC CC-3'
- Rev prajmer: 5'- CTT CCT AGC CAG CCG GCA TC-3'

PCR reakcija se odvijala kroz 3 ciklusa:

1. Denaturacije 1 min na temperaturi od 95°C
2. Vezivanja prajmera 1 min na temperaturi od 60°C

3. Sinteze novih lanaca (elongacija) na temperaturi od 72°C.

Sve PCR reakcije u ovom radu su izvršene na aparatu Applied Biosystems Thermal Cycler 2720. Provera ispitivanih PCR produkata vršena je na 2% agaroznom gelu. Bojenje gelova vršeno je Sybr®safe DNA bojom, a gelovi su vizualizovani na UV-transluminatoru.

Za pripremu 2% agaroznog gela bilo je potrebno: 1 gr agaroze, 10 ml 5X TBE pufera i 40 ml H₂O. Nakon PCR reakcije vršena je digestija PCR produkta restrikcionim enzimom SphI (Thermo Fisher Scientific) koji prepoznaje restrikciono mesto 5' G C A T G C 3'. Reakcija se odvijala u smeši koja sadrži: 5 µl PCR produkta; 5 U enzima (0.5 µl); 1,5 µl 10 X pufera i 8 µl H₂O. Inkubacija uzoraka je trajala 2 sata na temperaturi od 37 °C u termostatu. Vizuelizacija restrikcionih fragmenata vršena je primenom vertikalne elektroforeze na 8% nenedenaturišućem poliakrilamidnom gelu. Za pripremu 8% poliakrilamidnog gela bilo je potrebno: 6 ml H₂O; 2 ml TBE pufera; 2 ml 40% akrilamida; 70 µl APS-a (amonium persulfat) i 13 µl TEMED-a. Posle elektroforetskog razdvajanja kod nosilaca CC genotipa uočava se traka dužine 435 bp, dok se kod nosilaca TT genotipa uočavaju trake dužine 247 bp i 188 bp. Kod heterozigota su prisutne trake dužine 435 bp, 247 bp i 188 bp.

3.4.4.3. Analiza polimorfizma rs243866 u genu za MMP-2

Za analizu ovog polimorfizma korišćeno je 25µl reakcione smeše koja za svaki uzorak sadrži sledeće komponente: 12,5 µl TaqMan Universal PCR Master mix (2X); 1,25 µl 20X eseja za genotipizaciju; 1,0 µl DNK (5-50ng/µl) i H₂O- REDE ampulirane do 25 µl.

Uslovi amplifikacije bili su:

- aktivacija 10 minuta na 95°C
- 40 ciklusa od 2 koraka:
 1. denaturacija 15 sekundi na 92 °C
 2. vezivanje i ekstenzija prajmera i polimerizacija DNK 1 minut na 60°C
- završna ekstenzija 7 minuta na 72°C

Ispitivana je povezanost dobijenih genotipova sa efikasnošću programa vežbi u VG grupi pacijentkinja. Efikasnost je bila izražena razlikom u postignutim rezultatima na testovima za procenu funkcionalnog statusa (TUG, STS i OLST), sprovedenih pre i nakon 12 nedelja od primenjenog programa vežbi.

3.5. Protokol specifično dizajniranog programa vežbi

Sve pacijentkinje sa dijagnostikovanom osteoporozom i uključenom medikamentnom terapijom bile su podeljene randomizacijom u 2 grupe.

Grupa koja vežba (VG) je imala specifično dizajniran program vežbi koji je uključivao aerobni trening, trening snage i izdržljivosti i vežbe balansa.

Aerobne vežbe su obavljane bez nadzora terapeuta, ali uz prethodnu edukaciju o istim, a trening snage i izdržljivosti i vežbe balansa su pacijentkinje izvodile prvih mesec dana pod kontrolom terapeuta i fizijatra, a nakon usvojene tehnike izvođenja vežbi, iste su se obavljale u kućnim uslovima. U cilju kontrole sprovođenja vežbi u kućnim uslovima, pacijentkinjama je objašnjeno kako da vode dnevnik fizičkih aktivnosti na nedeljnom nivou, u papirnoj formi.

Aerobne vežbe su podrazumevale dozirani hod, sproveden na otvorenom, brzine 3-5 km/h , trajanja oko 50 minuta dnevno i učestalosti najmanje pet dana u nedelji. Intenzitet treninga je određen individualno, u odnosu na vrednosti maksimalne srčane frekvencije (FSmax), dobijene prema jednostavnoj formuli za izračunavanje iste ($FS_{max} = 220 - \text{dob}/\text{izražena}$ godinama života) i iznosio je oko 70% od njene vrednosti (Sydo et al. 2014). Ovakvu vrstu aktivnosti pacijentkinje su imale 12 nedelja.

Trening snage i izdržljivosti i vežbe balansa su sprovedene kao grupni program i podrazumevale su vežbe za jačanje mišića gornjih (GE) i donjih ekstremiteta (DE) i vežbe

balansa. Trening se sastojao iz sledeće 4 faze: faze zagrevanja (trajanja oko 10 minuta), vežbi snage za velike i male grupe mišića (trajanja oko 30 minuta), vežbi balansa (trajanja oko 10-15 minuta) i faze hlađenja (trajanja oko 10 minuta).

Progresija i povećanje i održavanje opterećenja vršeno je na nedeljnom nivou, pri čemu su pacijentkinje započinjale program vežbama sa opterećenjem sopstvenom težinom, povećavajući prvo broj ponavljanja, potom broj serija i na kraju intenzitet treninga. Intenzitet treninga se povećavao na nedeljnom nivou počevši sa 3-5 ponavljanja i opterećenjem sopstvenom težinom, do 8-12 ponavljanja i opterećenjem trakama (od 25 i 50 vati, oznake "theraband", proizvedenih 2016, Akron, Ohio-USA). Progresija i održavanje opterećenja trakama vršeno je u zavisnosti od individualnog kapaciteta osobe. Naime, posle 7-10 dana adaptacije i usvajanja tehnike izvođenja vežbi, pacijentkinje su edukovane da povećavaju opterećenje do granice "prijatnog umora" bez ugrožavanja sopstvene bezbednosti, tako da percipiraju to opterećenje kao "teško". Ovakvo opterećenje odgovaralo je intenzitetu od 13-14 na Borgovoj skali Zamora (Borg, 1982). Učestalost treninga bila je 3 puta nedeljno, u trajanju 70 minuta po treningu, tokom 12 nedelja.

Trening se završavao vežbama **balansa** i fazom hlađenja. Vežbe balansa, u trajanju od 15 minuta dnevno i učestalosti 3 puta nedeljno podrazumevale su tandem i semitandem hod, hod u osmicama, stajanje na jednoj nozi, hod na petama i prstima, najpre sa otvorenim, a kasnije i sa zatvorenim očima.

Tokom prve 4 nedelje, izvođenje svake vežbe bilo je kontrolisano od strane fizioterapeuta i fizijatra, Instituta za rehabilitaciju, kako bi se usvojila pravilna tehnika izvođenja, ispunio cilj programa i obezbedila sigurnost pacijenta. Potom su pacijentkinje nastavljale da sprovedu naučeni program vežbi u kućnim uslovima.

Kontrolna grupa(KG) pacijentkinja je nastavila sa sprovođenjem aktivnosti dnevnog života, koje su obavljane svakodnevno i pre uključivanja u studiju. Ovim pacijentkinjama je objašnjeno da se ne uključuju u bilo kakve druge programe fizičke aktivnosti i vežbanja, i da ukoliko to odluče, imaju obavezu da to prijave istraživaču, tokom trajanja istraživanja (12 nedelja). Nakon tog perioda, kako iz etičkih, tako i zdravstvenih razloga, i ovim pacijentkinjama bila je pružena mogućnost uključivanja u program vežbi koji su imale pacijentkinje iz prve grupe.

Pacijentkinje iz obe grupe su bile edukovane da izbegavaju pokrete koji mogu povećati opasnost za nastanak kompresivnih fraktura, kao što su: antefleksija trupa, podizanje teškog tereta, torzioni pokreti (golf, kuglanje), kao i aktivnosti sa visokim udarnim stres momentom (skokovi, odbojka, košarka, tenis) (Kanis, et al. 2013).

3.6. Testovi za procenu funkcionalnog statusa

Praćenje funkcionalnog oporavka pacijentkinja sprovedeno je primenom sledećih testova: "Timed-Up and Go Test-a", "Sit to Stand Test-a", "One-Leg Stance Test-a", FES-I testa i OKAT-S upitnika. Metodom ponovljenih merenja analizirano je stanje pacijentkinja pre i posle primenjene terapije.

Procena "Timed-Up and Go Test-om", "Sit to Stand Test-om", "One-Leg Stance Test-om" rađena je pre početka terapije i 4 i 12 nedelja nakon sprovedene terapije.

Procena straha od pada FES-I testom i znanja o osteoporozu OKAT-S upitnikom rađena je pre započinjanja terapije i 12 nedelja nakon primene iste.

"Timed-Up and Go Test"(TUG) je efikasan metod procene pokretljivosti i funkcije lokomotornog sistema kod pacijentkinja sa osteoporozom. Izvodi se tako što se od osobe zahteva da ustane sa stolice uobičajene visine sa naslonom (visina sedišta oko 46 cm, visina naslona za ruku 65 cm), da hoda 3 m uobičajenom brzinom hoda, okrene se vrati do stolice i ponovo sedne na istu. Ispitanik nosi svoju redovnu obuću i koristi svoja uobičajena pomagala

za hod (hodalicu, štap ili ništa). Nije dozvoljena bilo kakva pomoć. Uobičajeno ova aktivnost se izvodi za manje od 12 sekundi, a preko toga smatra se povećanim rizikom za pad i smanjenom mišićnom funkcijom (Shumway-Cook, et al. 2000). Referentne vrednosti za određene starosne grupe su: 60-69 godina 8.1 sek, 70-79 godina 9.2 sek, 80-99 godina 11.3 sek (Shumway-Cook, et al. 2000).

“Sit to stand test”(STS) je jednostavan test koji služi za procenu snage donjih ekstremiteta i često se primenjuje za procenu rizika od pada kod pacijentkinja sa osteoporozom. Izvodi se tako što se od osobe zahteva da ustane sa stolice uobičajene visine i da sedne na istu 5 puta, najvećom mogućom brzinom, bez korišćenja ruku (ruke su prekrštene ispred grudi). Nemogućnost da 5 puta ustane ili sedne ili trajanje testa preko 10 sekundi tumači se kao smanjenje mišićne snage i povećan rizik od pada (Tiedemann, et al. 2008).

“One-Leg Stance Test”(OLST) je klinički alat koji služi za kvantitativnu procenu statičke ravnoteže (balansa), sledstveno i procenu rizika za pad i funkcionalnu zavisnost. Izvodi se tako što se od ispitanika zahteva da stoji na jednoj nozi (dominantnoj) na stabilnoj podlozi bez podrške i pomagala, sa otvorenim očima i rukama pored tela, pri čemu se štopericom meri vreme za koje ispitanik može da obavi zadatak u sekundama. Štoperica se startuje čim ispitanik zauzme ravnotežni položaj. Merenje se prekida ako ispitanik spusti nogu ili poskoči na dominantnoj nozi. Uobičajeno se rade dva merenja, pri čemu se usvaja najbolja vrednost na testu, a procena rizika se određuje prema definisanim vrednostima za datu životnu dob (Ponce, et al. 2010; Springer, et al. 2007).

“Falls Efficacy Scale- International”(FES-I) je upitnik koji služi za procenu zabrinutosti od pada za vreme društvenih i fizičkih aktivnosti unutar i van kuće (Yardley, et al. 2005; Galetić, 2016). Može se koristiti kod osoba sa osteoporozom, kao i osoba starije životne dobi sa ili bez istorije pada i straha od istog. Ova skala je razvijena da se nadogradi na početnu Skalu za rizik od pada (FES) (Tinetti, et al. 1990) i pokazuje bolje psihometrijske karakteristike u odnosu na FES. Sastoji se od 16 pitanja, koja su laka i jednostavna za razumevanje (Prilog 4) i za svako pitanje postoje 4 ponuđena odgovora, od kojih ispitanik zaokružuje samo jedan. Ocenom 1 se boduje odgovor: “nisam uopšte zabrinut”, ocenom 2:” malo sam zabrinut”, ocenom 3: “dosta sam zabrinut” i 4: “ mnogo sam zabrinut”. Potom se ovi bodovi sabiraju, pri čemu ukupan skor može iznositi od 16 (minimalno zabrinut) do 64 boda (maksimalno zabrinut) Rezultat od 16 do19 bodova predstavlja malu zabrinutost, 20-27 bodova umerenu zabrinutost, 28-64 bodova visoku zabrinutost za rizik od pada (Yardley, et al. 2005; Galetić, 2016).

“Osteoporosis Knowledge Assessment Tool”(OKAT) je test informisanosti o osteoporozi koji je korišćen kod pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u cilju procene znanja o osteoporozi. Korišćena je kratka verzija OKAT-S (Osteoporosis Knowledge Assessment Tool -prilog 5) validirana za populaciju žena u Srbiji 2012.godine (Tadić, 2012). Upitnik je primenjivan pre i 12 nedelja nakon tretmana, u obe grupe ispitanica. Budući da se OKAT-S verzija upitnika sastoji iz 9 pitanja (prilog 3), rezultat upitnika izražen je na skali od 1 do 9. Svako pitanje ima po 3 ponuđena odgovora (“tačno”, ”netačno”, “ne znam”), pri čemu pacijent zaokružuje jedan za koji smatra da je tačan. Rezultati testa se skoruju ocenom od 0 do 9, pri čemu 0 označava da pacijent ne zna ništa o osteoporozi, dok 9 označava maksimalnu informisanost o osteoporozi, merenu na ovaj način. Loše znanje je definisano kao skor manji od 50% (manje od 5 tačnih odgovora na pitanja) (Tadić, 2012).

3.7. Statističke metode

U ovom istraživanju korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Od deskriptivnih korišćeni su apsolutni i relativni brojevi, mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana) i mere disperzije (standardna devijacija, standardna greška, percentili).

Normalnost podataka testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Ukoliko je distribucija podataka bila normalna poređenje kontinuiranih varijabli je vršeno t testom, ANOVA, odnosno ANOVA za ponovljena merenja. Za poređenje dve grupe koje su vežbale i nisu vežbale u tri ponovljenja merenje korišćena je mix ANOVA za ponovljena merenja. Za kontinuirane varijable koje nisu imale normalnu raspodelu pre analize ponovljenih merenja vršena je logaritamska transformacija podataka. Kategorijske varijable su testirane Hi-kvadrat testom. Povezanost kontinuiranih varijabli testirana je Pirsonovim i Spirmanovim koeficijentom korelacije u zavisnosti od raspodele podataka. Za ispitivanje povezanosti i modelovanje odnosa zavisne sa jednom ili vise nezavisnih korišćena je linearna regresiona analiza (za numeričke zavisne varijable) i logistička regresiona analiza (za dihotomne zavisne varijable). Kalibraciona sposobnost prediktivnih modela procenjena je Hosmer-Lemeshow testom. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Izabrani nivo značajnosti, odnosno verovatnoća greške prvog tipa iznosila je 0.05. Svi podaci su obrađeni u SPSS 20.0 (IBM korporacija) i R 3.5.1 softverskom paketu.

4. Rezultati istraživanja

Prvi deo istraživanja se odnosi na biohemijsko istraživanje i tumači promenu enzimske aktivnosti MMP-aza i TIMP-a 1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u zavisnosti od primene odgovarajućeg kineziterapijskog tretmana, posle 4 i 12 nedelja.

Druga grupa rezultata predstavlja deo kliničkog istraživanja i odnosi se na analizu napretka naših pacijentkinja tokom sprovođenja specifično dizajniranog programa vežbi, nakon 4 i 12 nedelja, posmatranih preko pokazatelja funkcionalnog oporavka: TUG, STS, OLST, kao i preko pokazatelja o stepenu znanja o osteoporozu (OKAT-S) i proceni straha od pada, koji se odnosi na subjektivno viđenje njihovog straha od aktivnosti (FES-I). Posmatrane kategorije su: fizičko funkcionisanje, snaga i funkcija donjih ekstremiteta, održavanje balansa, prisustvo straha od pada i stepen znanja o osteoporozu.

Treći deo istraživanja odnosi se na molekularno-genetičke analize određenih polimorfizama za MMP-2 i MMP-9, kao i njihov uticaj na funkcionalni oporavak pacijentkinja koje su bile uključene u specifično dizajniran program vežbi.

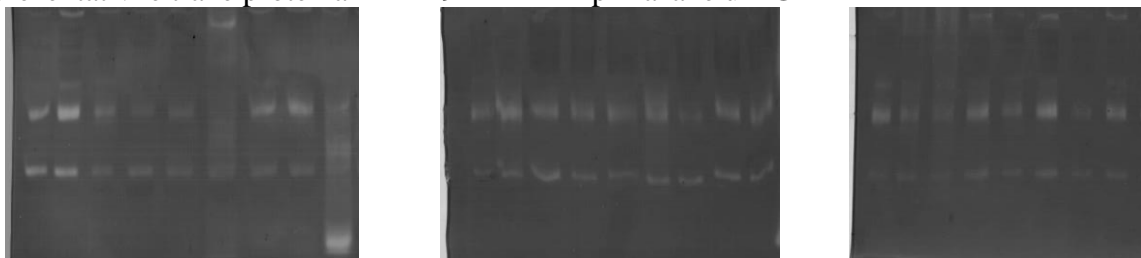
Četvrti deo ovog istraživanja odnosi se na deskriptivne pokazatelje koji opisuju karakteristike posmatrane grupe pacijentkinja kao što su godine života, bračni status, stepen stručne spreme, faktori rizika za osteoporozu i faktori rizika za pad.

4.1. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-2, MMP-9 i TIMP-a1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Biohemijsko ispitivanje

Figura 2. Serumska aktivnost MMP-9 i MMP-2 u postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom pre i nakon 4 i 12 nedelja od primene specifično dizajniranog programa vežbi, predstavljena metodom zimografije:

a) reprezentativne trake proteina MMP-9 i MMP-2 prikazane u KG



b) reprezentativne trake proteina MMP-9 i MMP-2 prikazane u VG

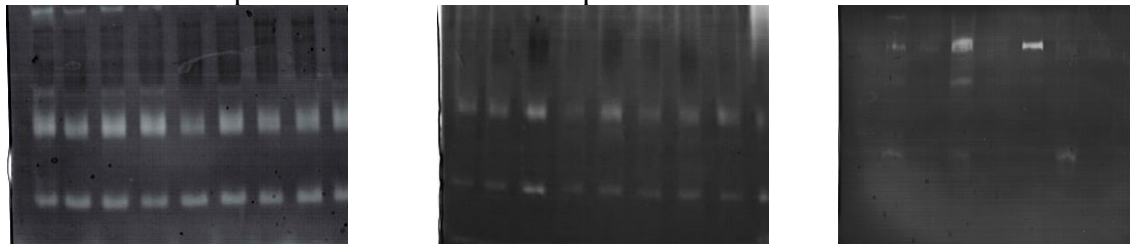


Tabela 1. Vrednosti enzima MMP-9, MMP-2, TIMP-1 u odnosu na ispitivane grupe

	Prvo merenje	4 nedelje	12 nedelja	p-value ¹
MMP-9 ng/dl				
VG	845,57±617,28	951,76±677,14	494,14±382,56	0,014
KG	792,42±665,47	837,50±675,90	798,38±671,23	
p-value ²	0,394	0,352	0,024	
MMP-2 ng/dl				
VG	572,36±428,43	466,05±291,50	311,53±170,85	0,006
KG	593,94±380,77	782,69±627,32	614,71±502,11	
p-value ²	0,647	0,022	0,002	
TIMP-1 ng/dl				
VG	30,36±28,32	47,94±44,40	317,21±292,72	<0,001
KG	40,84±54,70	102,14±297,05	59,27±67,67	
p-value ²	0,608	0,464	<0,001	

¹ ANOVA za ponovljena merenja (efekat interakcija vreme*grupe), ² Mann-Whitney test

Poređenjem vrednosti enzimske aktivnosti MMP-9 ($p=0,394$), MMP-2 ($p=0,647$) i TIMP-1 ($p=0,608$) na početku istraživanja, pre započinjanja terapije (baseline), između posmatranih grupa nije postojala statistički značajna razlika za posmatrane aktivnosti (tabela 1). Grupe su bile homogene.

Za vrednosti MMP-9, nakon logaritamske transformacije, ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p=0,014$).

Ako posmatramo samostalno ispitivane grupe, odnosno promenu enzimske aktivnosti MMP-9 unutar same grupe, u VG došlo je do statistički značajne promene vrednosti tokom vremena ($p=0,001$), a u KG nije bilo statistički značajne promene ove vrednosti tokom vremena ($p=0,941$).

U grupi koja vežba registrovan je blagi porast vrednosti MMP-9, bez statističke značajnosti, ($p=0,904$) u prve 4 nedelje. Nakon 12 nedelja došlo je do statistički značajnog smanjenja ove vrednosti u odnosu na početno merenje (baseline) ($p=0,021$), kao i u odnosu na 4 nedelje ($p=0,001$) (tabela 3).

Poredeći vremenski interval utvrđeno je da je postojala statistički značajna razlika u vrednosti MMP-9 nakon 12 nedelja između grupa ($p=0,024$).

U kontrolnoj grupi vrednosti enzimske aktivnosti MMP-9 su bile gotovo nepromenjene tokom perioda praćenja.

Za vrednosti MMP-2, nakon logaritamske transformacije, ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p=0,006$), zatim statistički značajna razlika u glavnom efektu vremena ($p<0,001$) i statistički značajna razlika među grupama ($p=0,010$).

Ako posmatramo samo grupu koja vežba u periodu praćenja došlo je do statistički značajne promene vrednosti MMP-2 ($p<0,001$). Statistička značajnost postojala je između sledećih vremenskih intervala: prvo merenje vs 12 nedelja ($p<0,001$), 4 nedelje vs 12 nedelja ($p=0,024$). U periodu od prve 4 nedelje nije došlo do statistički značajne promene vrednosti MMP-2 u grupi koja vežba ($p=0,375$).

Na početku perioda praćenja vrednosti MMP-2 među grupama se nisu razlikovale statistički značajno ($p=0,647$). Nakon 4 nedelje vrednosti MMP-2 u grupi koja vežba su se smanjile, a u kontrolnoj grupi povećale ($p=0,022$). Ovaj trend se nastavio i nakon 12 nedelja ($p=0,002$) (grafikon 2).

Za vrednosti TIMP-a1, nakon logaritamske transformacije, ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p < 0,001$), zatim statistički značajna razlika u glavnom efektu vremena ($p < 0,001$) i statistički značajna razlika među grupama ($p = 0,002$). Na početku perioda praćenja vrednosti se nisu razlikovale statistički značajno ($p = 0,608$). Vrednosti TIMP-a1 su se statistički značajno menjale u obe grupe tokom perioda praćenja ($p < 0,001$, za oba). U grupi koja vežba u prve 4 nedelje registrovan je blagi porast vrednosti TIMP-a1 ($p = 0,260$). U periodu od 4 do 12 nedelje došlo je do statistički značajnog porasta vrednosti u VG ($p < 0,001$). Vrednosti na kraju perioda praćenja su bile statistički značajno veće u odnosu na početno merenje ($p < 0,001$). U KG registrovan je statistički značajan porast vrednosti TIMP-a1 nakon 4 nedelje ($p < 0,001$), zatim u periodu od 4 do 12 nedelje došlo je do statistički značajnog smanjenja ove vrednosti ($p = 0,018$). Inicijalno merenje vrednosti TIMP-a1 se nije razlikovalo statistički značajno u odnosu na merenje nakon 12 nedelja ($p = 0,733$).

Vrednosti TIMP-a1 se nisu razlikovale statistički značajno između grupa nakon 4 nedelje ($p = 0,464$). Trend porasta vrednosti TIMP-a1 se nastavio u VG, a trend smanjenja vrednosti u KG do 12 nedelje, sa statističkom značajnošću između grupa ($p < 0,001$) (Grafikon 4).

Tabela 2. Promena enzimskih aktivnosti MMP-9, MMP-2 i TIMP-1 unutar grupa

	Prvo merenje vs 4 nedelje	Prvo merenje vs 12 nedelja	4 nedelje vs 12 nedelja	p-value ¹
MMP-9 ng/dl				
VG	0,904	0,021	0,001	0,001
KG	1,000	0,994	0,992	0,954
MMP-2 ng/dl				
VG	0,375	<0,001	0,024	<0,001
KG	0,441	0,818	0,173	0,111
TIMP-1 ng/dl				
VG	0,260	<0,001	<0,001	<0,001
KG	<0,001	0,018	0,733	<0,001

¹ ANOVA za ponovljenja merenja (efekat vremena), Post hoc analiza Šidakov test

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da prosečna razlika u vrednosti MMP-9 između grupa koja je iznosila 101,47ng/dl, nije bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti MMP-9, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p = 0,453$), kao ni u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca ($p = 0,383$).

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 312,82 ng/dl (119,83-505,81) za vrednosti MMP-2 između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti MMP-2, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p = 0,002$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika za MMP-2 iznosila 286,14 ng/dl (96,71-475,56) ($p = 0,003$).

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 3,03 ng/dl (2,23-3,84) za vrednosti TIMP-1 između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti TIMP-a1, godina života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$). Nakon dodatne korekcije za PTH i ukupni Ca izgubila se statistička značajnost u modelu za TIMP-1 ($p = 0,520$)(tabela 3).

Tabela 3. Razlike između VG i KG nakon 4 nedelje korigovane za početne vrednosti MMP-aza i TIMPa-1, godine života, BMI, vitamina D, PTH i Ca

Model 1	Adjusted ¹ β	95%CI	p-value	Adjusted R ²
MMP-9	-101,47	-369,19-166,24	0,453	0,041
MMP-2	312,82	119,83-505,81	0,002	0,147
TIMP-1	3,03	2,23-3,84	<0,001	0,365
Model 2	Adjusted ² B			
MMP-9	-119,16	-389,32-151,00	0,383	0,036
MMP-2	286,14	96,71-475,56	0,003	0,189
TIMP-1	23,06	-47,94-94,05	0,520	0,358

Adjusted¹ β – korigivane za početnu vrednost MMP-aza, TIMP-a 1, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D,

Adjusted² β – korigivane za vrednost MMP-aza, TIMP-a 1, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D, PTH i Ca ukupni

Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika za vrednosti MMP-9 između grupa koja je iznosila 309,93ng/dl (91,22-528,63), bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti MMP-9, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D (p=0,006), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika MMP-9 bila 296,05 (75,70-516,39) (p=0,009).

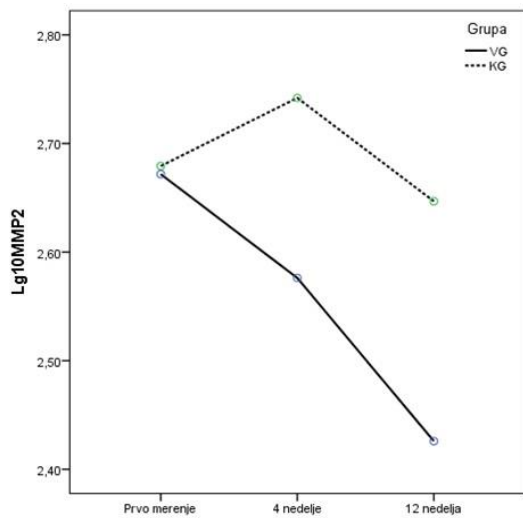
Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 290,63ng/dl (145,24-436,01) za vrednosti MMP-2 između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti MMP-2, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D (p<0,001), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika za MMP-2 iznosila 271,28 ng/dl(127,81-414,74) (p<0,001).

Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 262,56ng/dl (348,86-176,25) za vrednosti TIMP-a1 između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti TIMP-a1, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D (p<0,001), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika TIMP-a 1 bila 261,78ng/dl (349,58-173,98) (p<0,001)(tabela 4).

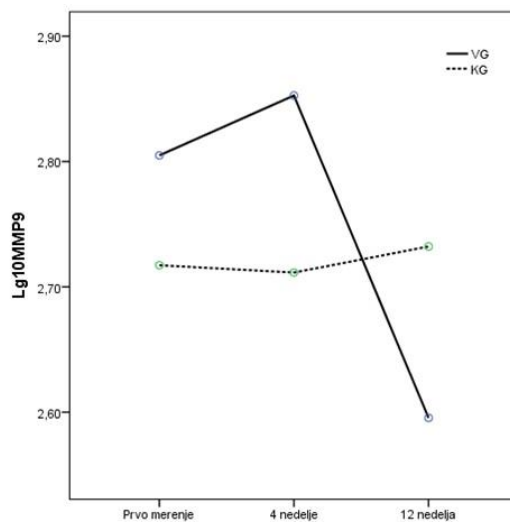
Tabela 4. Razlike između VG i KG nakon 12 nedelja korigovane za početne vrednosti MMP-aza i TIMP-a1, BMI, vitamina D, godine života, PTH i Ca

Model 1	Adjusted ¹ β	95%CI	p-value	Adjusted R ²
MMP-9	309,93	91,22-528,63	0,006	0,098
MMP-2	290,63	145,24-436,01	<0,001	0,221
TIMP-1	-262,56	-348,86 - - 176,25	<0,001	0,254
Model 2	Adjusted ² B			
MMP-9	296,05	75,70-516,39	0,009	0,096
MMP-2	271,28	127,81-414,74	<0,001	0,252
TIMP-1	-261,78	-349,58- -173,98	<0,001	0,238

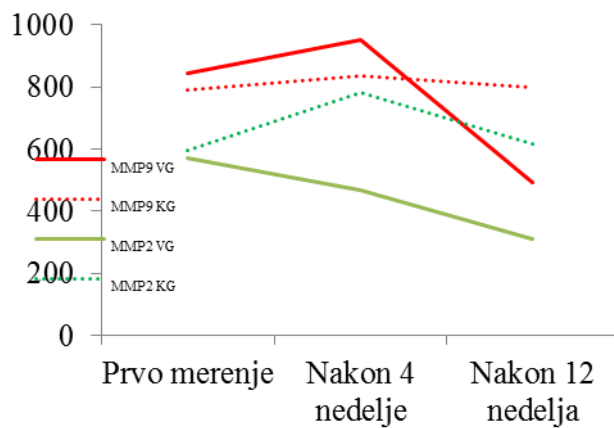
Adjusted¹ β – korigivane za početnu vrednost MMP-aza, TIMP-a 1, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamin D, Adjusted² β – korigivane za vrednost MMP-aza, TIMP-a 1, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D, PTH i Ca ukupni



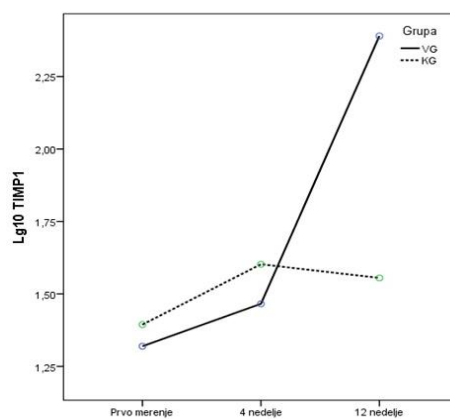
Grafikon 1. Vrednosti MMP-9 u periodu praćenja (log-transformisane vrednosti MMP-9) u odnosu na ispitivane grupe



Grafikon 2. Vrednosti MMP-2 u periodu praćenja (log-transformisane vrednosti MMP-2) u odnosu na ispitivane grupe



Grafikon 3. Vrednosti MMP-9 i MMP-2 u periodu praćenja u ispitivanim grupama



Grafikon 4. Vrednosti TIMP-a1 u periodu praćenja (log-transformisane vrednosti TIMP-1) u odnosu na ispitivane grupe

4.2. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Kliničko ispitivanje

4.2.1. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na TUG, STS i OLST u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Tabela 5. Vrednosti TUG, STS, OLST u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja

	Prvo merenje	4 nedelje	12 nedelja	p-value ¹
TUG(s)				
VG	12,96±2,46	12,47±2,53	10,67±2,40	<0,001
KG	13,26±2,47	13,20±2,46	13,17±2,60	
p-value ²	0,551	0,155	<0,001	
STS(s)				
VG	15,65±3,68	14,99±3,33	12,69±2,84	<0,001
KG	16,74±3,95	16,61±3,85	16,44±3,84	
p-value ²	0,164	0,029	<0,001	
OLST(s)				
VG	8,66±3,17	9,55±3,08	11,76±3,27	<0,001
KG	8,70±2,62	8,88±2,45	8,79±2,47	
p-value ²	0,848	0,216	<0,001	

¹ ANOVA za ponovljenja merenja (efekat interakcija vreme*grupe) (Greenhouse-Geisser korekcija), ² Mann-Whitney test

Za vrednosti TUG testa ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p < 0,001$), zatim statistički značajna razlika u glavnom efektu vremena ($p < 0,001$) i statistički značajna razlika među grupama ($p < 0,001$). Na početku perioda praćenja i nakon 4 nedelje vrednosti TUG testa se nisu razlikovale statistički značajno ($p = 0,551$, odnosno $p = 0,155$). Nakon 12 nedelja vrednosti ovog testa su se statistički značajno smanjile u grupi koja vežba ($p < 0,001$).

Ako posmatrano samostalno ispitivane grupe (tabela 6), u grupi koja vežba došlo je do statistički značajne promene vrednosti tokom vremena ($p = 0,001$), a u kontrolnoj grupi nije bilo statistički značajnih promena vrednosti TUG testa u periodu praćenja ($p = 0,313$).

U grupi koja vežba vrednosti TUG testa su se statistički značajno kontinuirano smanjivale tokom celog perioda praćenja (početno merenje vs 4 nedelje $p < 0,001$, početno merenje vs 12 nedelja $p < 0,001$), odnosno 4 nedelje vs 12 nedelja $p < 0,001$).

Tabela 6. Promene vrednosti TUG, STS i OLST unutar grupa

	Prvo merenje vs 4 nedelje	Prvo merenje vs 12 nedelje	4 vs 12 nedelja	p-value ¹
TUG(s)				
VG	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KG	0,615	0,551	0,895	0,313
STS(s)				

VG	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KG	0,399	0,004	0,052	0,003
OLST(s)				
VG	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KG	0,071	0,611	0,649	0,090

Za vrednosti STS testa ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p < 0,001$), zatim statistički značajna razlika u glavnom efektu vremena ($p < 0,001$) i statistički značajna razlika među grupama ($p = 0,004$). Na početku perioda praćenja vrednosti STS testa se nisu razlikovale statistički značajno ($p = 0,164$). Nakon 4 i 12 nedelja vrednosti ovog testa su se statistički značajno smanjivale u grupi koja vežba ($p = 0,029$, odnosno $p < 0,001$).

Ako posmatrano samostalno ispitivane grupe, u grupi koja vežba došlo je do statistički značajne promene vrednosti STS tokom vremena ($p = 0,001$), kao i u kontrolnoj grupi ($p = 0,003$). U grupi koja vežba vrednosti STS testa su se statistički značajno kontinuirano smanjivale tokom celog perioda praćenja (početno merenje vs 4 nedelje $p < 0,001$, početno merenje vs 12 nedelja $p < 0,001$), odnosno 4 nedelje vs 12 nedelja $p < 0,001$). U kontrolnoj grupi vrednosti na početku su bile statistički značajno veće u odnosu na vrednosti na kraju perioda praćenja ($p = 0,004$). Ostala poređenja u kontrolnoj grupi nisu bila statistički značajna ($p > 0,05$).

Za vrednosti OLST testa ANOVA za ponovljena merenja je pokazala da je postojala statistički značajna interakcija vreme*grupe ($p < 0,001$), zatim statistički značajna razlika u glavnom efektu vremena ($p < 0,001$) i statistički značajna razlika među grupama ($p < 0,001$). Na početku perioda praćenja i nakon 4 nedelje vrednosti OLST testa se nisu razlikovale statistički značajno ($p = 0,848$, odnosno $p = 0,216$). Nakon 12 nedelja vrednosti ovog testa su bile statistički značajno veće u grupi koja vežba ($p = 0,029$, odnosno $p < 0,001$).

Ako posmatrano samostalno ispitivane grupe, u grupi koja vežba došlo je do statistički značajne promene vrednosti OLST tokom vremena ($p < 0,001$). U kontrolnoj grupi nije postignuta statistička značajnost promene vrednosti OLST testa tokom perioda praćenja ($p = 0,090$). U grupi koja vežba registrovan je trend kontinuiranog statistički značajnog porasta vrednosti OLST testa tokom perioda praćenja (početno merenje vs 4 nedelje $p < 0,001$, početno merenje vs 12 nedelja $p < 0,001$), odnosno 4 nedelje vs 12 nedelja $p < 0,001$).

Linearna regresiona analiza nakon korekcije za početne vrednosti TUG, STS, OLST, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D, PTH i ukupnog Ca (tabele 7.i 8.) potvrdila je sledeće.

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika u vrednostima TUG testa između grupa koja je iznosi 0,423s, statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti TUG, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca ($p < 0,001$), gde je prosečna razlika vrednosti ovog testa između grupa iznosila 0,439s.

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize može se zaključiti da je prosečna razlika od 0,637s (0,334-0,941) u vrednosti STS testa između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti STS testa, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika STS testa bila 0,917s (0,874-0,959) ($p < 0,001$).

Nakon 4 nedelje na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 0,720s (0,446-0,993) za vrednosti OLST testa između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti OLST testa, godine života, početne vrednosti BMI,

vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika OLST testa bila 0,688s (0,417-0,959) ($p < 0,001$).

Tabela 7. Razlike između VG i KG nakon 4 nedelje korigovane za početne vrednosti TUG,STS,OLST, BMI,vitamina D, godine života, PTH i Ca

Model 1	Adjusted ¹ β	95%CI	p-value	Adjusted R ²
TUG(s)	0,423	0,198-0,648	<0,001	0,951
STS(s)	0,637	0,334-0,941	<0,001	0,960
OLST(s)	-0,720	-0,993- -0,446	<0,001	0,941
Model 2	Adjusted ² B			
TUG(s)	0,439	0,213-0,664	<0,001	0,951
STS(s)	0,917	0,874-0,959	<0,001	0,959
OLST(s)	-0,688	-0,959- -0,417	<0,001	0,943

Adjusted¹ β – korigivane za početne vrednosti testova, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D,

Adjusted² β – korigivane za početne vrednosti testova, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D, PTH i Ca ukupni

Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analite zaključeno je da je prosečna razlika u vrednosti TUG testa između grupa, koja je iznosila 2,204s bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti TUG, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca ($p < 0,001$), gde je prosečna razlika vrednosti ovog testa između grupa iznosila 2,208s.

Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 0,822s (0,759-0,885) u vrednosti STS testa između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti STS testa, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika STS testa bila 0,823s (0,760-0,886)($p < 0,001$).

Nakon 12 nedelja na osnovu linearne regresione analize zaključeno je da je prosečna razlika od 3,019s (2,627-3,412) za vrednosti OLST testa između grupa bila statistički značajna, nakon korekcije za početne vrednosti OLST testa, godine života, početne vrednosti BMI, vitamina D ($p < 0,001$), kao i u modelu koji je dodatno obuhvatio PTH i ukupni Ca, gde je prosečna razlika OLST testa bila 2,996s (2,601-3,392)($p < 0,001$).

Tabela 8 . Razlike između VG i KG nakon 12 nedelja korigovane za početne vrednosti TUG, STS, OLST, BMI,vitamina D, godine života, PTH i Ca

Model 1	Adjusted ¹ β	95%CI	p-value	Adjusted R ²
TUG(s)	2,204	1,872-2,536	<0,001	0,914
STS(s)	0,822	0,759-0,885	<0,001	0,918
OLST(s)	-3,019	-3,412- -2,627	<0,001	0,910
Model 2	Adjusted ² B			
TUG(s)	2,208	1,871-2,544	<0,001	0,913
STS(s)	0,823	0,760-0,886	<0,001	0,918
OLST(s)	-2,996	-3,392- -2,601	<0,001	0,910

Adjusted¹ β – korigivane za početne vrednosti testova, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D,

Adjusted² β – korigivane za početne vrednosti testova, životnu dob, početne vrednosti BMI, početne vrednosti vitamina D, PTH i Ca ukupni

U tabeli 9 prikazane su prosečne vrednosti promene TUG, STS i OLST u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja.

U prve četiri nedelje vrednosti TUG testa prosečno su se smanjile za 0,5 s ($0,49 \pm 0,68$) u grupi koja vežba i 0,06 s u kontrolnoj grupi. U periodu od početka do kraja praćenja vrednosti TUG testa su se prosečno smanjile 2,29s u VG i 0,10s u kontrolnoj grupi. U periodu od 4 do 12 nedelja vrednosti TUG testa su se smanjile za 1,80s u grupi koja vežba i 0,04s u kontrolnoj grupi. Prosečna promena vrednosti se statistički značajno razlikovala između grupa kod sva tri poređenja ($p=0,002$, $p<0,001$ odnosno $p<0,001$).

U prve četiri nedelje vrednosti STS testa prosečno su se smanjile 0,67s ($0,66 \pm 0,94$) u grupi koja vežba i 0,12s u kontrolnoj grupi. U periodu od početka do kraja praćenja vrednosti STS testa su se prosečno smanjile 2,96s u VG i 0,29s u kontrolnoj grupi. U periodu od 4 do 12 nedelja vrednosti STS testa su se smanjile za 2,31s u grupi koja vežba i 0,17s u kontrolnoj grupi. Prosečna promena vrednosti se statistički značajno razlikovala između grupa kod sva tri poređenja ($p=0,004$, $p<0,001$ odnosno $p<0,001$).

U prve četiri nedelje vrednosti OLST testa prosečno su se povećale 0,90s ($0,90 \pm 0,83$) u grupi koja vežba i 0,18s u kontrolnoj grupi. U periodu od početka do kraja praćenja vrednosti OLST testa su se prosečno povećale 3,10 u VG i 0,09 u kontrolnoj grupi. U periodu od 4 do 12 nedelje vrednosti OLST testa su se povećale za 2,21s u grupi koja vežba, a 0,08s u kontrolnoj grupi. Prosečna promena vrednosti se statistički značajno razlikovala između grupa kod sva tri poređenja ($p<0,001$, $p<0,001$ odnosno $p<0,001$).

Tabela 9. Vrednosti promene TUG, STS, OLST u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja

	u toku 4 nedelje	u toku 12 nedelja	u periodu 4-12 nedelje
TUG(s)			
VG	$-0,49 \pm 0,68$	$-2,29 \pm 1,00$	$-1,80 \pm 0,90$
KG	$-0,06 \pm 0,39$	$-0,10 \pm 0,57$	$-0,04 \pm 0,39$
p-value ²	0,002	<0,001	<0,001
STS(s)			
VG	$-0,66 \pm 0,94$	$-2,96 \pm 1,69$	$-2,31 \pm 1,45$
KG	$-0,12 \pm 0,61$	$-0,29 \pm 0,61$	$-0,17 \pm 0,49$
p-value ²	0,004	<0,001	<0,001
OLST(s)			
VG	$0,90 \pm 0,83$	$3,10 \pm 1,26$	$2,21 \pm 1,10$
KG	$0,18 \pm 0,54$	$0,09 \pm 0,58$	$-0,08 \pm 0,58$
p-value ²	<0,001	<0,001	<0,001

² Mann-Whitney test

U ispitivanoj populaciji 91,8% imalo je vrednosti OLST testa veće od 5s na prvom merenju, odnosno 89,4% u VG i 94,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 93,8% imalo je vrednosti OLST testa veće od 5s nakon 4 nedelje, odnosno 93,6% u VG i 94,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 96,9% imalo je vrednosti OLST testa veće od 5s nakon 12 nedelja, odnosno 97,9% u VG i 96,0% u KG. Grupe su bile ujednačene u odnosu na distribuciju OLST testa >5 s u periodu praćenja ($p=0,645$, $p=1,000$, odnosno $p=1,000$)(tabela 10).

Tabela 10. Distribucija OLST testa >5s u ispitivanoj populaciji u periodu praćenja

OLST(s)	Ukupno		VG		KG		p
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Prvo merenje							
≤5s	8	8,2	5	10,6	3	6,0	0,645
>5s	89	91,8	42	89,4	47	94,0	
Nakon 4 nedelje							
≤5s	6	6,2	3	6,4	3	6,0	1,000
>5s	91	93,8	44	93,6	47	94,0	
Nakon 12 nedelja							
≤5s	9	3,1	1	2,1	2	4,0	1,000
>5s	94	96,9	46	97,9	48	96,0	

U ispitivanoj populaciji 70,1% imalo je vrednosti OLST testa veće od 10s na prvom merenju, odnosno 68,1% u VG i 72,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 63,9% imalo je vrednosti OLST testa veće od 10s nakon 4 nedelje, odnosno 55,3% u VG i 72,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 47,4% imalo je vrednosti OLST testa veće od 10s nakon 12 nedelja, odnosno 70,0% u VG i 26,0% u KG. Grupe su bile ujednačene u odnosu na distribuciju OLST testa >10s na prvom merenju ($p=0,842$) i nakon 4 nedelje ($p=0,134$). Statistički značajna razlika registrovana je nakon 12 nedelja ($p<0,001$)(tabela 11).

Tabela 11. Distribucija OLST testa >10s u ispitivanoj populaciji u periodu praćenja

OLST(s)	Ukupno		VG		KG		p
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Prvo merenje							
≤10s	29	29,9	15	31,9	14	28,0	0,842
>10s	68	70,1	32	68,1	36	72,0	
Nakon 4 nedelje							
≤10s	35	36,1	21	44,7	14	28,0	0,134
>10s	62	63,9	26	55,3	36	72,0	
Nakon 12 nedelja							
≤10s	51	52,6	14	29,8	37	74,0	<0,001
>10s	46	47,4	33	70,0	13	26,0	

U ispitivanoj populaciji 86,6% imalo je vrednosti TUG testa veće od 10s na prvom merenju, odnosno 87,2% u VG i 86,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 87,6% imalo je vrednosti TUG testa veće od 10s nakon 4 nedelje, odnosno 89,4% u VG i 86,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 23,7% imalo je vrednosti TUG testa veće od 10s nakon 12 nedelja, odnosno 34,0% u VG i 14,0% u KG. Grupe su bile ujednačene u odnosu na distribuciju TUG testa >10s na prvom merenju ($p=1,000$) i nakon 4 nedelje ($p=0,846$). Statistički značajna razlika postojala je nakon 12 nedelja ($p=0,037$)(tabela 12).

Tabela 12. Distribucija TUG testa >10s u ispitivanoj populaciji u periodu praćenja

TUG(s)	Ukupno		VG		KG		p
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Prvo merenje							
5-10s	13	13,4	6	12,8	7	14,0	1,000
10+	84	86,6	41	87,2	43	86,0	
Nakon 4 nedelje							
5-10s	12	12,4	5	10,6	7	14,0	0,846
10+	85	87,6	42	89,4	43	86,0	
Nakon 12 nedelja							
5-10s	74	76,3	31	66,0	43	86,0	0,037
10+	23	23,7	16	34,0	7	14,0	

U ispitivanoj populaciji 71,1% imalo je vrednosti TUG testa veće od 12s na prvom merenju, odnosno 68,1% u VG i 74,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 68,0% imalo je vrednosti TUG testa veće od 12s nakon 4 nedelje, odnosno 61,7% u VG i 74,0% u KG. U ispitivanoj populaciji 52,6% imalo je vrednosti TUG testa veće od 12s nakon 12 nedelja, odnosno 29,8% u VG i 74,0% u KG (tabela 13). Grupe su bile ujednačene u odnosu na distribuciju TUG testa >12s na prvom merenju ($p=0,676$) i nakon 4 nedelje ($p=0,280$). Statistički značajna razlika postojala je nakon 12 nedelja ($p<0,001$)(tabela 13).

Tabela 13. Distribucija TUG testa >12s u ispitivanoj populaciji u periodu praćenja

TUG(s)	Ukupno		VG		KG		p
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Prvo merenje							
≤12s	28	28,9	15	31,9	13	26,0	0,676
>12s	69	71,1	32	68,1	37	74,0	
Nakon 4 nedelje							
≤12s	31	32,0	18	38,3	13	26,0	0,280
>12s	66	68,0	29	61,7	37	74,0	
Nakon 12 nedelja							
≤12s	46	47,4	33	70,0	13	26,0	<0,001
>12s	51	52,6	14	29,8	37	74,0	

4.2.2. Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu FES-I i OKAT-S u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

OKAT-S test se statistički značajno povećavao u periodu praćenja u ukupnoj populaciji ($p<0,001$), u grupi koja vežba ($p<0,001$) i u kontrolnoj grupi ($p<0,001$). Na prvom merenju nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima OKAT-S testa u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,281$). Na drugom merenju vrednosti OKAT-S testa su statistički značajno bile veće u grupi koja vežba ($p<0,001$) (tabela 14).

FES-I test se statistički značajno smanjivao u periodu praćenja u ukupnoj populaciji ($p<0,001$), u grupi koja vežba ($p<0,001$) i u kontrolnoj grupi ($p<0,001$). Na prvom merenju nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima FES-I testa u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,751$). Na drugom merenju vrednosti FES-I testa su bile statistički značajno manje u grupi koja vežba ($p<0,001$) (tabela 14).

Tabela 14. Vrednosti promene OKAT-S i FES-I u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja

	Prvo merenje	12 nedelja	p-value ¹
OKAT-S			
Ukupno	3,79±1,51	6,71±2,00	<0,001
VG	3,98±1,64	8,32±0,86	<0,001
KG	3,62±1,37	5,20±1,54	<0,001
p-value ²	0,281	<0,001	
FES-I			
Ukupno	23,74±4,85	20,57±4,38	<0,001
VG	23,89±4,88	18,45±2,44	<0,001
KG	23,60±4,87	22,56±4,87	<0,001
p-value ²	0,751	<0,001	

4.2.3. Korelacija funkcionalnih testova u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

U tabeli 15. prikazana je korelacija između primenjenih testova. Korelaciona analiza je pokazala da je postojala statistički značajna korelacija između TUG testa i sledećih testova: STS ($r=0,728$, $p<0,001$), OKAT-S ($r=-0,241$, $p=0,017$), i FES-I ($r=0,541$, $p<0,001$). STS test je bio statistički značajno u korelaciji još i sa FES-I testom ($r=0,473$, $p<0,001$)(tabela 15).

Tabela 15. Korelacija testova TUG, STS, OLST i FES-I

		STS	OLST	OKAT-S	FES-I
TUG test	r	0,728**	-0,088	-0,241*	0,541**
	P	<0,001	0,394	0,017	<0,001
	N	97	97	97	97
STS test	r	1,000	-0,070	-0,136	0,473**
	p		0,497	0,185	<0,001
	N		97	97	97
OLST	r		1,000	0,025	-0,161
	p			0,807	0,115
	N			97	97
OKAT-S	r			1,000	-0,141
	p				0,169
	N				97

* $p<0,05$, ** $p<0,01$

4.2.4. Procena efekta specifično dizajniranog programa vežbi nakon 12 nedelja na vrednosti testova TUG, STS i OLST u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Tabela 16. Faktori rizika za OLST<10s nakon 12 nedelja praćenja

	B	SE	OR	95%CI		p
godine života	0,036	0,046	1,037	0,948	1,134	0,432
vitamin D	-0,013	0,013	0,988	0,962	1,013	0,342
BMI	-0,011	0,062	0,989	0,875	1,117	0,856
rana menopauza	0,451	0,563	1,570	0,521	4,732	0,423
kasna menarha	-0,510	0,670	0,600	0,161	2,234	0,446
vežbanje	1,958	0,468	7,086	2,831	17,737	<0,001
Konstanta	-4,306	3,276	0,013			0,189
Hosmer-Lemeshow	0,384					

B – koeficijent regresije, OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja

Logistička regresiona analiza je pokazala da su pacijentkinje koje nisu vežbale 12 nedelja imale 7 puta veću šansu za OLST<10s (OR 7,086, $p<0,001$) u modelu koji je korigovan za važne faktore rizika (godine života, vitamin D, BMI, ranu menopauzu i kasnu menarhu) (tabela 16. Logistička regresiona analiza je pokazala da su pacijentkinje koje nisu vežbale 12

nedelja imale 10 puta veću šansu za STS >12s (OR 10,13, p<0,001) u modelu koji je korigovan za važne faktore rizika (godine života, vitamin D, BMI, ranu menopauzu i kasnu menarhu) (tabela 17).

Tabela 17. Faktori rizika za STS>12s nakon 12 nedelja praćenja

	B	SE	OR	95%CI		P
godine života	0,138	0,053	1,148	1,034	1,274	0,009
vitamin D	0,020	0,018	1,021	0,985	1,058	0,263
BMI	0,027	0,073	1,028	0,890	1,186	0,710
rana menopauza	0,317	0,698	1,374	0,350	5,390	0,649
kasna menarha	-0,669	0,804	0,512	0,106	2,475	0,405
vežbanje	2,316	0,651	10,130	2,828	36,285	0,000
Konstanta	-12,403	4,104	0,000			0,003
Hosmer-Lemeshow	0,880					

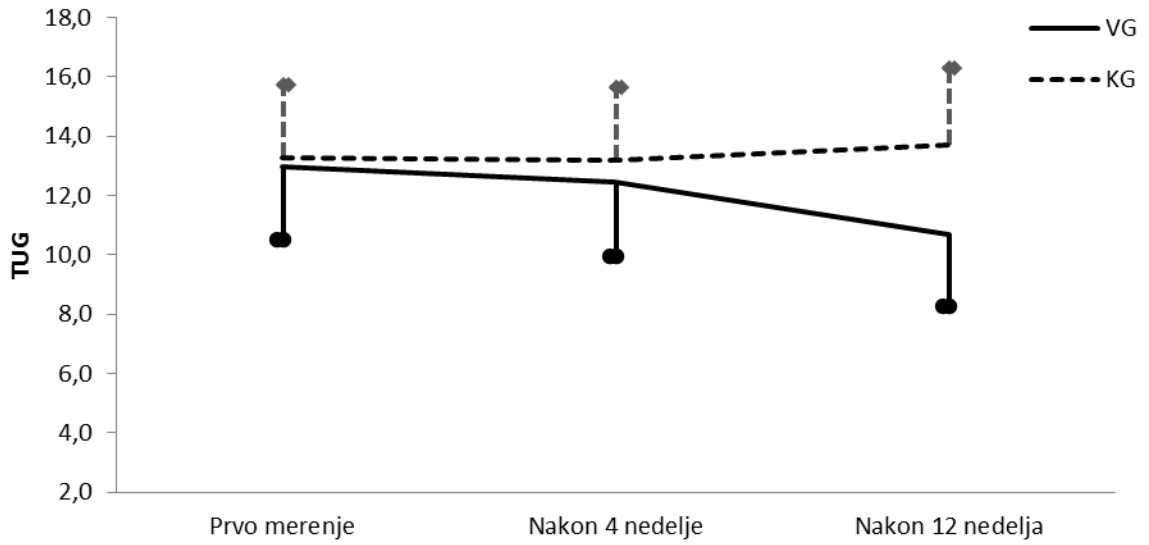
B – koeficijent regresije, OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja

Logistička regresiona analiza je pokazala da su pacijentkinje koje nisu vežbale 12 nedelja imale 9,14 puta veću šansu za TUG>12s (OR 10,13, p<0,001) u modelu koji je korigovan za važne faktore rizika (godine života, vitamin D, BMI, ranu menopauzu i kasnu menarhu)(tabela 18).

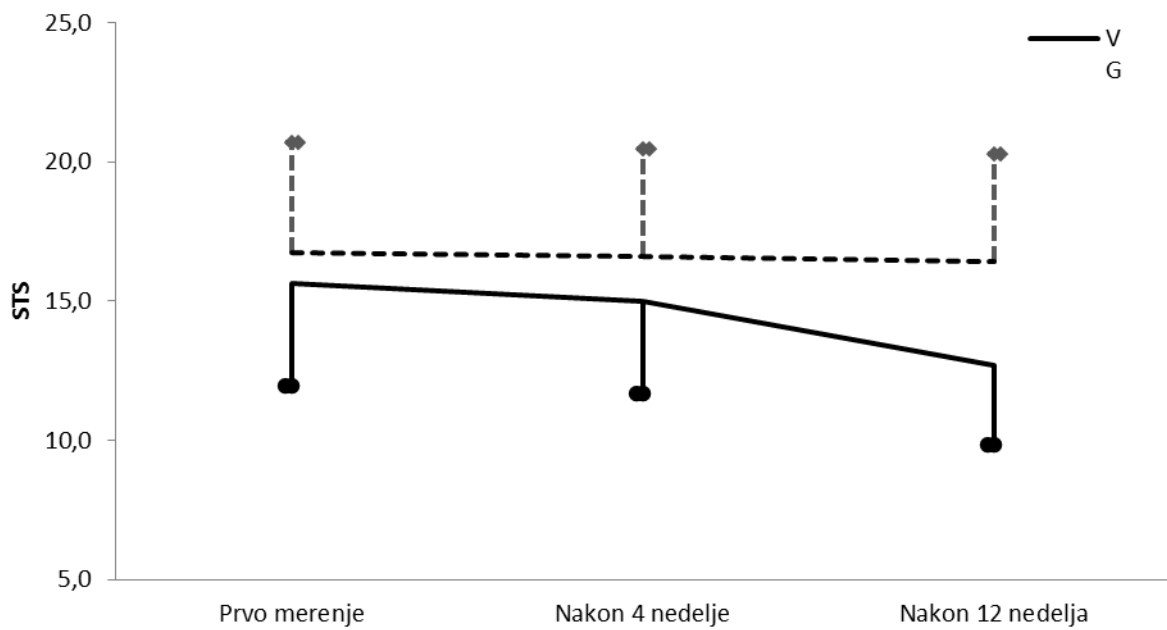
Tabela 18. Faktori rizika za TUG>12s nakon 12 nedelja praćenja

	B	SE	OR	95%CI		P
godine života	0.132	0.050	1.141	1.034	1.259	0.009
vitamin D	0.022	0.015	1.022	0.992	1.054	0.156
BMI	0.087	0.064	1.091	0.962	1.238	0.173
rana menopauza	-0.394	0.595	0.674	0.210	2.166	0.508
kasna menarha	-0.774	0.684	0.461	0.121	1.760	0.257
vežbanje	2.213	0.517	9.139	3.318	25.170	0.000
konstanta	-14.778	3.975	0.000			0.000
Hosmer-Lemeshow	0,590					

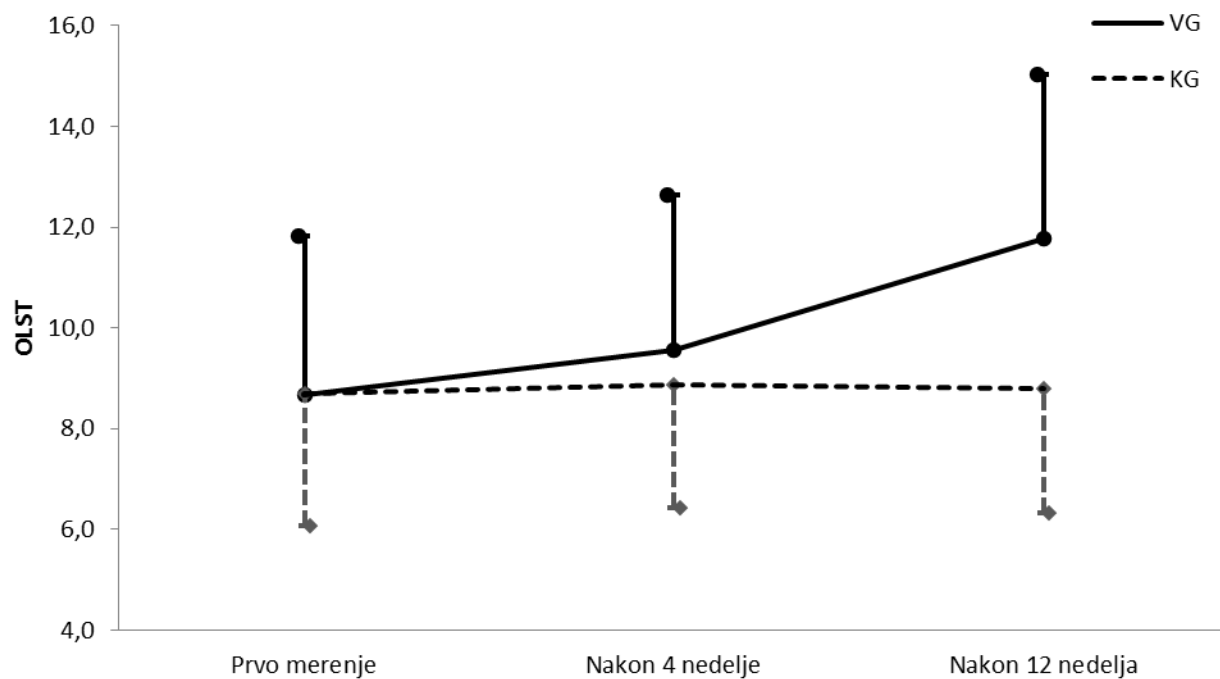
B – koeficijent regresije, OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja



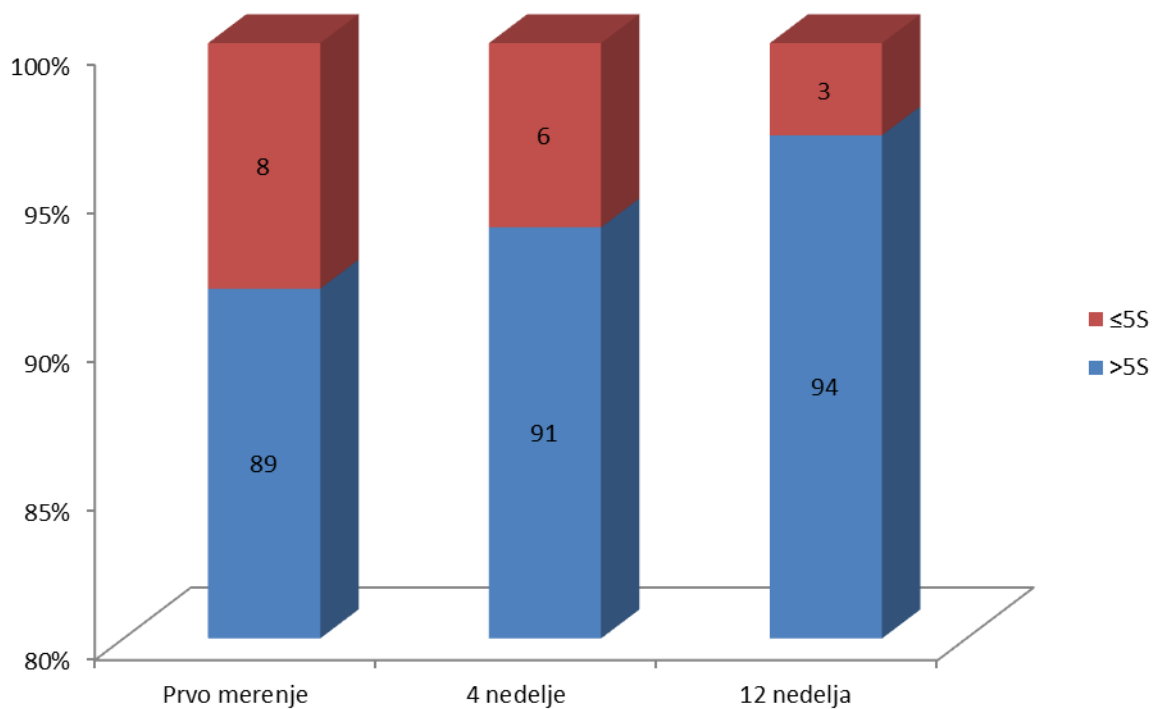
Grafikon 5. Vrednosti TUG testova u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja



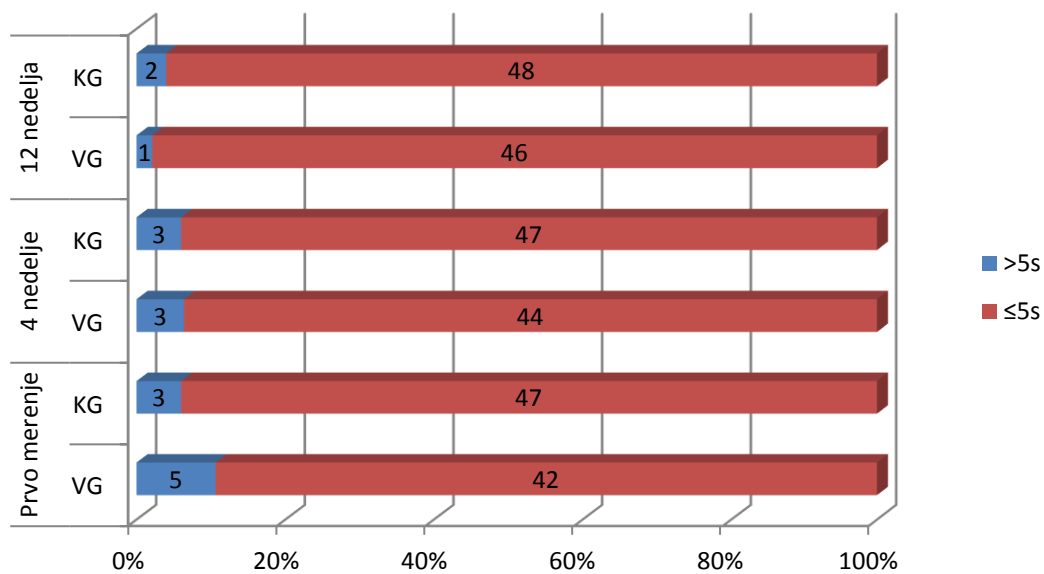
Grafikon 6. Vrednosti STS testova u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja



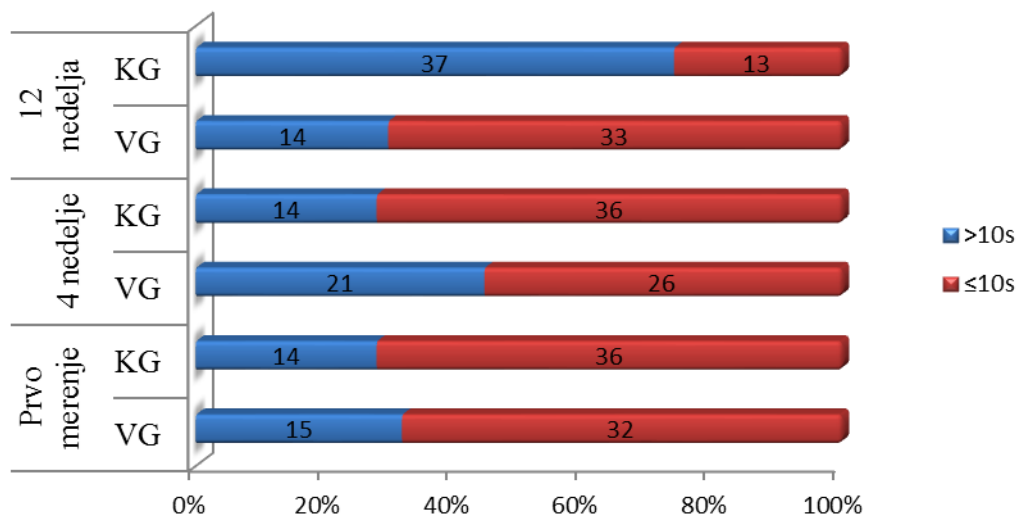
Grafikon 7. Vrednosti OLST testova u odnosu na ispitivane grupe u periodu praćenja



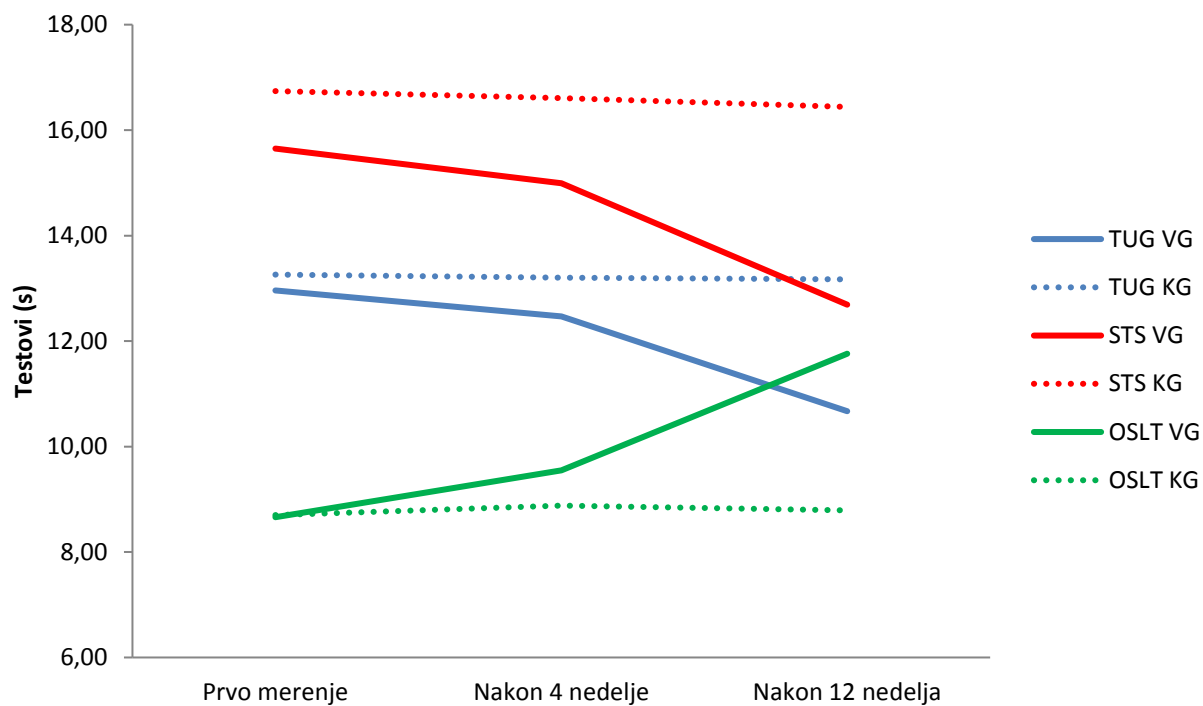
Grafikon 8. Distribucija OLST testa u ispitivanoj populaciji



Grafikon 9. Distribucija vrednosti OLST testa >5s u periodu praćenja u odnosu na ispitivane grupe



Grafikon 10. Distribucija vrednosti OLST testa >10s u periodu praćenja u odnosu na ispitivane grupe



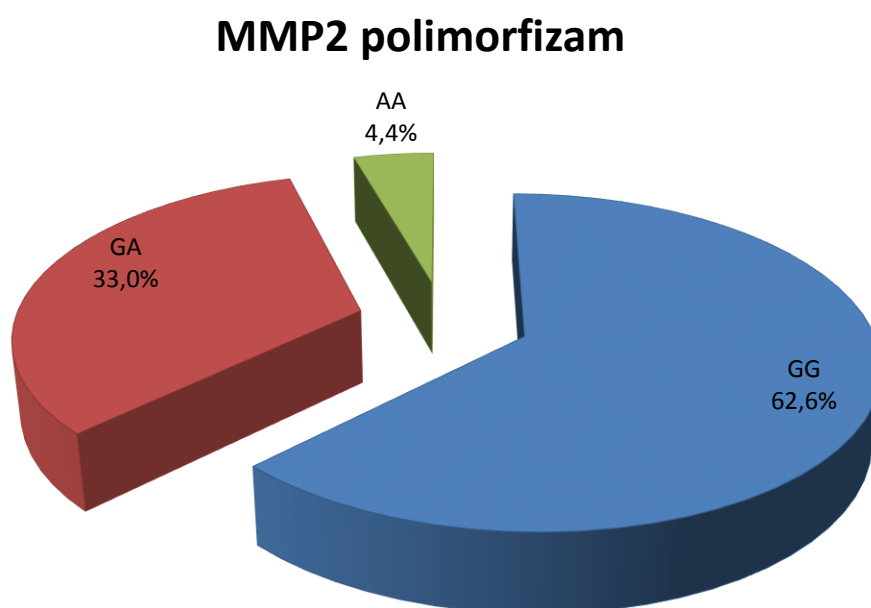
Grafikon 11. Vrednosti TUG, STS, OSLT u periodima praćenja

4.3. Molekularno-genetičko ispitivanje

4.3.1. Uticaj polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 i rs3918242 u genu za MMP-9 na funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

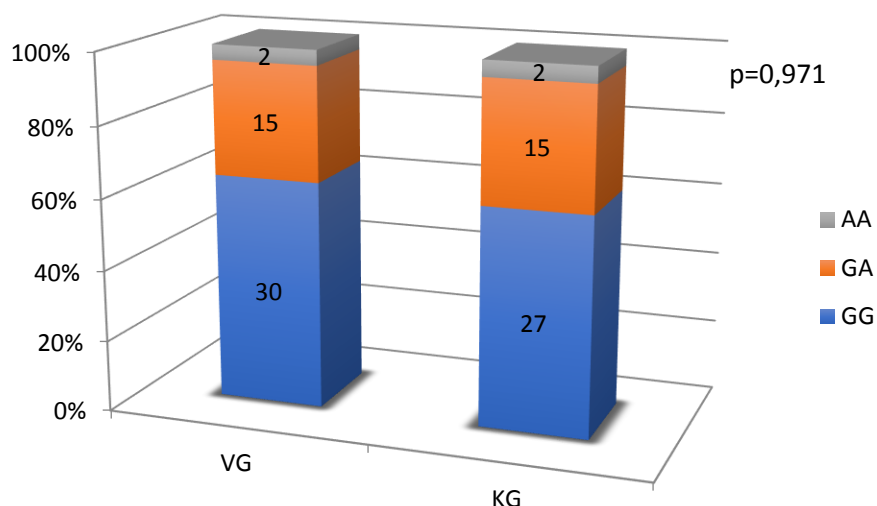
Rezultati genetičkih analiza polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2

U ispitivanoj populaciji za MMP-2 dominira GG genotip (62,6%), zatim GA genotip (33,0%). Najmanje je zastupljen AA genotip (4,4%),(grafikon 12). Frekvence alela i genotipova za MMP-2 su bile u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži u našoj populaciji, $\chi^2 = 0,004$, $p = 0,998$. Frekvencija alela bila je sledeća: G – 79.12%, A-20.88%.



Grafikon 12. Distribucija polimorfizma rs243866 u MMP-2

U VG je sledeća distribucija MMP-2 genotipova: GG – 63,8%, GA – 31,9% i AA – 4,3%, dok je u KG distribucija genotipova: GG – 61,4%, GA – 34,1% i AA – 4,5%. Učestalost genotipova je bila ujednačena u ispitivanim grupama ($p = 0,971$).



Grafikon 13. Distribucija MMP-2 polimorfizma u ukupnom uzorku (VG i KG)

Srednje vrednosti rezultata postignutih na testovima TUG, STS i OLST u ponovljenim merenjima se ne razlikuju statistički značajno u zavisnosti od MMP-2 genotipa (tabela 19).

Tabela 19. Srednje vrednosti testova u odnosu na MMP-2 genotip u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

MMP2	GG	GA+AA	p ¹
TUG0	13,33±2,13	12,67±2,89	0,255
TUG3	12,06±2,74	11,53±2,79	0,379
STS0	15,96±2,64	15,84±4,55	0,886
STS3	13,95±2,94	14,34±4,58	0,658
OLST0	8,34±2,99	9,46±2,68	0,077
OLST3	10,18±3,44	10,90±2,78	0,302

¹ t-test

Kada analiziramo sve ispitanice sa BMI<27 postojala je značajna povezanost genotipa MMP-2 sa inicijalnim vrednostima OLST testa, pre početka vežbanja (p=0,032). Ispitanice genotipa GG imale su inicijalno statistički značajno lošije rezultate u poređenju sa onima koje su imale genotip GA ili AA (8,25±3,08 vs 9,90±2,67) (tabela 20).

Tabela 20. Vrednosti testova u odnosu na MMP-2 polimorfizam u periodu praćenja kod pacijenata sa BMI<27

MMP2	GG	GA+AA	p ¹
TUG0	13,05±2,05	12,19±2,78	0,165
TUG3	11,58±2,90	11,21±2,80	0,619
STS0	15,40±2,59	15,02±4,43	0,620
STS3	13,32±2,75	13,76±4,51	0,662
OLST0	8,25±3,08	9,90±2,67	0,032
OLST3	10,45±3,76	11,11±3,11	0,467

¹ t-test

Da bi se potvrdili ovi rezultati urađena je multipla linearna regresiona analiza u kojoj smo kao kovarijate koristili godine života i BMI. Dobijeni rezultati su pokazali da je osim genotipa ($\beta=0.245$, $p=0.043$) uticaj imao i BMI ($\beta=0.271$, $p=0.026$). Srednje vrednosti testova u zavisnosti od MMP-2 genotipa kod pacijentkinja koje su vežbale se nisu razlikovale statistički značajno (tabela 21).

Tabela 21. Vrednosti testova u odnosu na MMP-2 polimorfizam u periodu praćenja u VG

MMP-2	GG	GA+AA	p ¹
TUG0	13,05±2,06	12,75±3,09	0,693
TUG3	10,62±2,25	10,75±2,79	0,859
STS0	15,83±2,95	14,98±3,91	0,405
STS3	12,27±2,29	12,25±3,34	0,982
OLST0	8,12±3,20	9,30±2,98	0,218
OLST3	11,50±3,56	12,12±2,74	0,540

¹ t-test

Vrednosti testova u odnosu na MMP-2 polimorfizam kod pacijentkinja koje su vežbale i imale BMI >27 se nisu razlikovale statistički značajno (tabela 22).

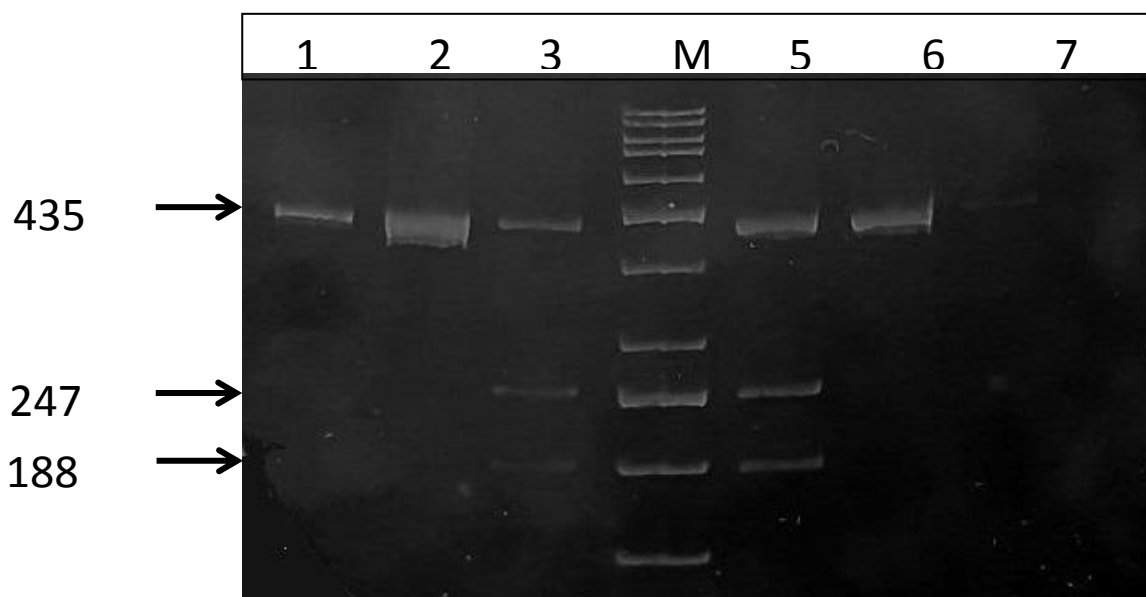
Tabela 22. Vrednosti testova u odnosu na MMP-2 polimorfizam u periodu praćenja u VG sa BMI <27

MMP2	GG	GA+AA	p ¹
TUG0	12,43±1,72	12,50±2,78	0,715
TUG3	9,93±1,80	10,33±2,70	0,612
STS0	15,37±2,93	13,73±3,14	0,138
STS3	11,94±2,17	11,46±2,92	0,590
OLST0	8,45±2,90	10,20±2,76	0,096
OLST3	11,91±3,37	12,86±2,84	0,417

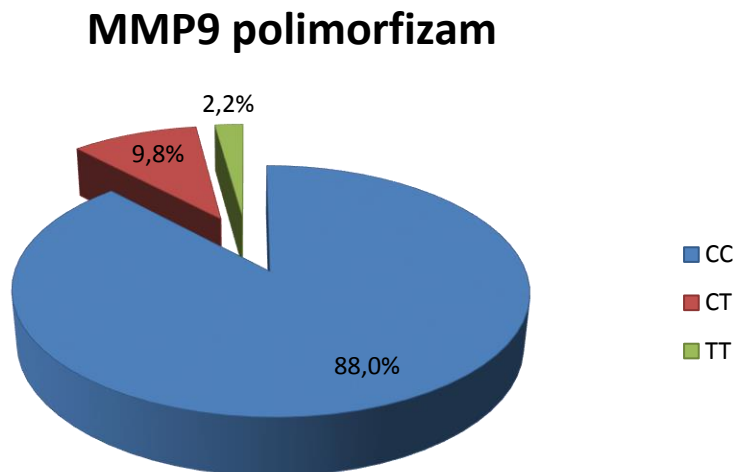
¹ t-test

Rezultati genetičkih analiza polimorfizma rs3918242 u genu za MMP-9

Figura 3. RFLP PCR za rs3918242 u MMP-9 genu; M – marker (50 bp); 1,2,6,7 – CC genotip; 3,5 – CT genotip

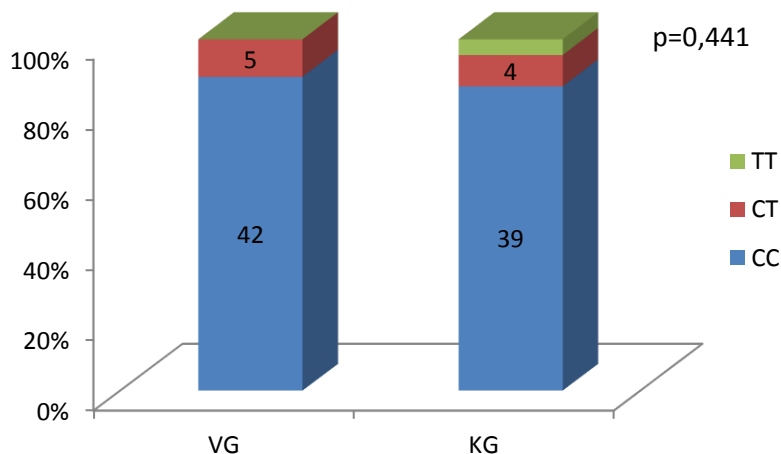


U ispitivanoj populaciji je sledeća distribucija MMP-9 genotipova: CC – 88,0%, CT – 9,8% i TT – 2,2% (grafikon 14). Frekvence alela i genotipova za MMP-9 nisu bile u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži u našoj populaciji, $\chi^2 = 5,98$ $p=0,014$. Frekvencija alela u MMP-9 polimorfizmu bila je sledeća: C – 92,93%, T- 7,07%.



Grafikon 14. Distribucija genotipova polimorfizma rs3918242 u genu za MMP-9

U VG je sledeća distribucija MMP-9 polimorfizma: CC – 89,4% i CT – 10,6%. U KG je sledeća distribucija MMP-9 polimorfizma: CC – 86,7%, CT – 8,9% i TT – 4,4%. Nije bilo razlike učestalosti genotipova između ispitivanih grupa ($p=0,441$).



Grafikon 15. Distribucija MMP-9 polimorfizma u ispitivanim grupama

Srednje vrednosti rezultata postignutih na testovima TUG, STS i OLST u ponovljenim merenjima se nisu razlikovale statistički značajno između CC i CT genotipova u celokupnoj populaciji (tabela 23). Srednje vrednosti ispitivanih testova TUG, STS i OLST u ponovljenim merenjima se nisu razlikovale statistički značajno u zavisnosti od MMP-9 genotipova kod osoba sa BMI<27 (tabela 24).

Tabela 23. Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam u periodu praćenja u ispitivanoj populaciji

MMP-9	CC	CT+TT	p ¹
TUG0	13,34±2,14	12,84±2,99	0,369
TUG3	12,06±2,72	11,73±2,86	0,612
STS0	16,06±2,99	16,07±4,85	0,976 ²
STS3	14,23±2,88	14,67±4,82	0,543 ²
OLST0	8,26±3,11	9,57±2,44	0,351 ²
OLST3	10,04±3,33	10,89±3,14	0,315 ²

¹ t-test, ² Mann –Whitney test

Tabela 24. Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam u periodu praćenja kod pacijenata sa BMI<27

MMP-9	CC	CT+TT	p ¹
TUG0	12,74±2,39	12,94±2,63	0,827
TUG3	11,54±2,86	11,51±2,88	0,978
STS0	15,54±3,78	16,89±6,19	0,855 ²
STS3	13,91±3,73	15,63±6,27	0,831 ²
OLST0	8,65±2,94	8,42±2,11	0,784 ²
OLST3	10,26±3,22	9,92±2,42	0,577 ²

¹ t-test, ² Mann –Whitney test

Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam kod pacijentkinja u VG se nisu razlikovale statistički značajno (tabela 25).

Tabela 25. Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam u periodu praćenja u VG

MMP-9	CC	CT+TT	p ¹
TUG0	12,91±2,48	13,41±2,49	0,672
TUG3	10,59±2,34	11,27±3,16	0,557
STS0	15,77±3,74	14,61±3,31	0,544
STS3	12,66±2,82	12,91±3,35	0,852
OLST0	8,67±3,25	8,57±2,69	0,918 ²
OLST3	11,78±3,40	11,55±2,01	0,796 ²

¹ t-test, ² Mann –Whitney test

Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam kod pacijentkinja u VG koje su imale BMI <27 se nisu razlikovale statistički značajno (tabela 26).

Tabela 26. Vrednosti testova u odnosu na MMP-9 polimorfizam u periodu praćenja u VG sa BMI<27

MMP-9	CC	CT+TT	p ¹
TUG0	12,34±2,24	12,48±1,58	0,910
TUG3	10,10±2,17	10,09±1,99	0,991
STS0	15,17±3,75	13,23±1,41	0,320
STS3	12,26±2,71	11,58±1,78	0,593 ²
OLST0	8,40±3,27	8,68±3,09	0,669 ²
OLST3	11,39±3,47	11,59±2,32	0,957 ²

¹ t-test, ² Mann –Whitney test

4.3.2. Uticaj MMP-2 genotipa na TUG i STS na inicijalnom merenju u ispitivanoj populaciji

Logistička regresiona analiza je pokazala da su u multivarijantnom modelu faktori rizika za vrednosti TUG >12 bili sledeći: godine života pacijentkinja (OR 1,149, p=0,007), MMP-2 genotip (OR 2,816, p=0,046) i BMI (OR 1,016, p=0,030). Povećanje životne dobi za jednu godinu povećava šansu za TUG>12s za 15% (14,9%). Pacijentkinje sa većom učestalosti GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 imaju 2,8 puta veću šansu za TUG>12s (2,816). Povećanje BMI za jednu jedinicu povećava šansu za TUG>12s za 18% (18,3)(tabela 27).

Tabela 27. Procena faktora rizika za vrednosti TUG testa>12 u ispitivanoj populaciji (multivarijantna logistička regresiona analiza)

	B	S.E.	OR	95%CI		p
godine života	0.139	0.051	1.149	1.039	1.271	0.007
BMI	0.168	0.078	1.183	1.016	1.378	0.030
vitamin D	0.028	0.016	1.028	0.997	1.061	0.078
MMP-2 genotip (polimorfizam)	1.035	0.519	2.816	1.018	7.785	0.046
Konstanta	-14.049	4.059	0.000			0.001
Hosmer-Lemeshow test	p=0,990					

B – koeficijent regresije, SE – standardna greška, OR – unakrsni odnos, 95% CI – 95% interval poverenja za unakrsni odnos

Logistička regresiona analiza je pokazala da je u multivarijantnom modelu faktor rizika za vrednosti STS >12 bio MMP-2 genotip (OR 11,606, p=0,049). Pacijentkinje sa većom učestalosti GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 imaju 11,6 puta veću šansu za STS>12s (11,606)(tabela 28).

Tabela 28. Procena faktora rizika za vrednosti STS testa>12 u ispitivanoj populaciji (multivarijantna logistička regresiona analiza)

	B	S.E.	OR	95%CI		p
godine života	0,149	0,089	1,160	0,974	1,382	0,095
BMI	0,371	0,204	1,449	0,971	2,161	0,069
LDL	1,037	0,637	2,822	0,809	9,844	0,104
MMP-2genotip (polimorfizam)	2,452	1,245	11,606	1,012	133,098	0,049
Konstanta	-19,681	8,820	0.000			0,026
Hosmer-Lemeshow test	p=0,095					

B – koeficijent regresije, SE – standardna greška, OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja

4.4. Učestalost faktora rizika za nastanak osteoporoze i faktora rizika za pad u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom i opšte demografske karakteristike ispitivane populacije

Tabela 29. Demografske i kliničke karakteristike ispitivane populacije

Karakteristike	Ukupno N=97		Grupa vežba(VG) N=47		koja Kontrolna grupa(KG) N=50		p- value ¹
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Godine života	64,32±5,22		64,40±5,45		64,24±5,04		0,741
Bračni status							
Udata	61	62,9	27	57,4	34	68,0	0,387
Razvedena	11	11,3	7	14,9	4	8,0	
Udovica	23	23,7	13	27,7	10	20,0	
Neudata	2	2,1					
Majčinstvo	88	90,7	42	89,4	46	92,0	0,922
Nulipare	9	9,3	5	10,6	4	8,0	
Školska sprema							
Osnovna škola	6	6,2	3	6,4	3	6,0	0,527
Srednja škola	65	67,0	29	61,7	36	72,0	
Viša i visoka	26	26,8	15	31,9	11	22,0	
Ekonomski status (Mesečna primanja)	30,000 (23,800-40,000)		29,000 (21,300-42,000)		32,000 (24,740-40,000)		0,573
Krvna grupa							
O	48	49,5	22	46,8	26	52,0	0,002
A	28	28,9	10	21,3	18	36,0	
B	12	12,4	6	12,8	6	12,0	
AB	9	9,3	9	19,1	0	0,0	
BMI (kg/m ²)	25,89±3,79		25,79±4,18		25,99±3,44		0,382
Visina (cm)	161,24±11,45		162,32±7,18		160,22±14,36		0,361
Težina (kg)	68,80±12,97		67,94±9,19		69,62±15,78		0,520
Obim struka (cm)	91,24±10,95		92,22±11,83		90,32±10,07		0,397
Obim kuka (cm)	106,40±8,54		105,89±8,15		106,88±8,94		0,571
Bisfosfonati							
Alendronat	77	79,4	34	72,3	43	86,0	0,158
Ibandronat	20	20,6	13	27,7	7	14,0	
T-skor L1-L4	-2,61±0,80		-2,68±0,78		-2,55±0,82		0,691
Z-skor L1-L4	-2,05±1,04		-2,14±1,06		-1,98±0,91		0,556
BMD L1-L4	0,85±0,12		0,84±0,12		0,85±0,12		0,618
T-skor femoral neck	-2,59±0,69		-2,62±0,72		-2,55±0,66		0,770
Z-skor femoral neck	-1,77±1,06		-1,89±0,91		-1,66±0,17		0,484
BMD f. neck	0,60±0,20		0,59±0,21		0,61±0,20		0,649

Analizirani su rezultati ispitivanja 97 pacijentkinja lečenih u ambulantnim uslovima, Instituta za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju, u Beogradu. Ispitivanjem su obuhvaćene postmenopauzalne pacijentkinje sa dijagnostikovanom osteoporozom.

U tabeli 29. prikazane su opšte demografske i kliničke karakteristike ispitivane populacije.

Pacijentkinje su bile prosečne životne dobi $64,32 \pm 5,22$, najmlađa je imala 47, a najstarija 70 godina. Među pacijentkinjama 53,6 % je bilo životne dobi preko 65. Sprovedenim analitičkim metodama zaključeno je da nije postojala statistički značajna razlika u godinama između grupe koja vežba (VG) i kontrolne grupe (KG) ($p=0,741$).

Prosečna vrednost T-skora na lumbalnoj kičmi (L1-L4) iznosila je $-2,61 \pm 0,80$ SD, Z-skora na istom mernom mestu $-2,05 \pm 1,04$, dok je vrednost T-skora na vratu butne kosti iznosila $-2,59 \pm 0,69$, a Z-skora na vratu butne kosti $-1,77 \pm 1,06$ SD. Najniža vrednost T-skora na oba merna mesta iznosila je $-2,5$ SD, dok je najviša vrednost T-skora L1-L4 iznosila $-4,3$ SD, a T-skora na vratu butne kosti $-4,3$ SD. Prosečna vrednost BMD L1-L4 iznosila je $0,85 \pm 0,12$, a vrata butne kosti $0,60 \pm 0,20$. Sprovedenim analitičkim metodama zaključeno je da nije postojala statistički značajna razlika u vrednostima T-skora, Z-skora i BMD na oba merna mesta između grupe koja vežba (VG) i kontrolne grupe (KG).

Profil naših pacijentkinja obolelih od osteoporoze ukazao je da je 62,9 % pacijentkinja bilo u braku, 67% pacijentkinja je imalo srednje stručno obrazovanje, 90,7% je imalo decu, a 9,3% žena su bile nulipare.

Sve pacijentkinje bile su na medikamentnoj terapiji bisfosfonatima, tokom ispitivanja, pri čemu je 77(79,4%) pacijentkinja iz ukupnog uzorka lečeno alendronatom, a 20 (20,6%) pacijentkinja ibandronatom. Primena različite terapije bila je ujednačena u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,158$).

Distribucija krvnih grupa se razlikovala statistički značajno u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,002$). Svi ostali demografski i klinički parametri su bili ujednačeni između grupa (tabela 29).

U tabeli 30. prikazani su biohemijski parametri pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.

Vrednosti kalcijuma u 24 urinu, fosfora u 24 urinu, HDL- holesterola, triglicerida i slobodnog tiroksina su se statistički značajno razlikovale među ispitivanim grupama, ali su ove vrednosti bile u referentnim granicama za ispitivanu populaciju ($p=0,025$, $p=0,025$, $p=0,025$).

Vrednosti triglicerida su bile statistički značajno veće u grupi koja vežba ($p=0,033$).

Vrednosti HDL su bile statistički značajno manje u grupi koja vežba ($p=0,032$). Prema prosečnim vrednostima ispitivana populacija je bila u deficijenciji vitaminom D

($46,68 \pm 18,00$), čije su prosečne vrednosti u grupi koja vežba iznosile $47,62 \pm 17,54$, a u grupi koja ne vežba $45,8 \pm 18,57$. Među grupama nije postojala statistički značajna razlika za vrednosti vitamina D ($p=0,455$). U odnosu na referentne vrednostima za jonizovani kalcijum, ispitivana populacija je imala blago povišene vrednosti istog ($1,35 \pm 0,26$), bez statistički značajne razlike među grupama za ovaj parameter. Ispitivane vrednosti ukupnog kalcijuma, kalcijuma u 24 urinu, fosfora, fosfora u 24h urinu, klirensa kreatinina, albumina, ukupnih proteina, PTH, TSH, slobodnog tiroksina, alkalne fosfataze, osteokalcina i beta kroslaps-a su bile u referentnim granicama u ispitivanoj populaciji. Prema prosečnim vrednostima za holesterol, ispitivana populacija je imala granično povišene vrednosti istog ($5,77 \pm 0,98$), bez statistički značajne razlike za ovaj parameter među ispitivanim grupama ($p=0,444$).

Tabela 30. Inicijalne biohemijske karakteristike pacijenkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u VG i KG

	Ukupno N=97	VG N=47	KG N=50	p- value¹
25(OH)VitD total (nmol/L)	46,68±18,00	47,62±17,54	45,8±18,57	0,455
Kalcijum u serumu (mmol/L)	2,45±0,17	2,46±0,13	2,45±0,21	0,618
Kalcijum u urinu/dan (mmol/24h)	4,36±1,69	3,95±1,77	4,74±1,54	0,025 ²
Kalcijum jonizovani (mmol/L)	1,35±0,26	1,34±0,27	1,36±0,26	0,410 ²
Fosfat neorganski u serumu (mmol/L)	1,18±0,71	1,13±0,2	1,24±0,97	0,718 ²
Fosfat neorganski u urinu/dan (mmol/24h)	15,92±6,52	17,42±6,61	14,52±6,18	0,025 ²
Kreatinin u serumu (µmol/L)	69,91±12,96	67,99±10,2	71,72±14,98	0,237
Kreatinin u urinu/24h (mmol/24h)	8,91±2,64	9,12±3,16	8,7±2,06	0,994 ²
Klirens kreatinina (ml/min)	82,85±11,97	85,62±13,83	80,25±9,32	0,009 ²
Albumin(g/L)	48,15±5,34	47,77±5,91	48,51±4,79	0,401
Ukupni proteini (g/L)	74,71±6,81	76,27±7,74	73,24±5,49	0,065
Urea (mmol/L)	5,78±1,66	5,82±1,64	5,74±1,70	0,715 ²
Kreatin kinaza (U/I)	96,74±67,26	99,00±65,94	94,62±69,08	0,453 ²
PTH intact (ng/L)	51,65±25,47	54,02±28,39	49,43±22,45	0,673 ²
FT4 (slobodni tiroksin)(pmol/L)	13,93±3,33	14,48±2,72	13,41±3,76	0,025 ²
s-TSH (ultrasenzitivni) (µIU/L)	2,57±1,61	2,66±2,02	2,49±1,1	0,520 ²
Osteocalcin (ng/ml)	25,92±11,12	25,48±12,08	26,33±10,25	0,314 ²
Beta- Cross Laps (ng/ml)	568,16±210,31	488,89±195,65	644,18±196,98	<0,001 ²
Diureza (ml)	2097,42±453,33	2023,4±476,2	2167±424,58	0,082 ²
ALP (alkalna fosfataza) (U/L)	71,99±23,31	68,78±21,29	75±30,2	0,303 ²²
Sedimentacija eritrocita	12,03±9,07	12,02±11,00	12,04±6,88	0,205 ²
Glukoza (mmol/L)	5,55±0,81	5,58±0,80	5,53±0,82	0,775 ²
Holesterol (mmol/L)	5,77±0,98	5,86±1,01	5,68±0,96	0,444
Trigliceridi (mmol/L)	1,87±0,96	1,65±0,79	2,08±1,06	0,033 ²
LDL-holesterol (mmol/L)	3,43±1,03	3,52±1,10	3,35±0,95	0,371 ²
HDL-holesterol (mmol/L)	1,47±0,35	1,55±0,34	1,40±0,34	0,032 ²

Prema prosečnim vrednostima za LDL holesterol, ispitivana populacija je imala granično povišene vrednosti za ovaj parameter ($3,43 \pm 1,03$). Međugrupna statistički značajna razlika za ovaj parameter nije postojala ($p=0,371$).

Tabela 31. i grafikon 16. pokazuju faktore rizika za osteoporozu kod pacijentkinja u obe ispitivane grupe. Procenat ustanovljenih faktora rizika prikazan je u ukupnoj populaciji ispitanika, kao i posebno u VG i KG. Najčešći faktori rizika u ispitivanoj populaciji bili su: smanjenje vrednosti vitamina D (91,8%), smanjen unos mlečnih proizvoda (87,6%), sedentarni način života (76,3%), deficijencija vitamina D (51,5%) i pozitivna porodična anamneza (48,5%).

U grupi koja vežba najzastupljeniji su bili sledeći faktori rizika: smanjena vrednost vitamina D (93,5 %), smanjen unos mlečnih proizvoda (93,6%), sedentarni način života (85,1%), pozitivna porodična anamneza (57,4%), smanjenje u telesnoj visini više od 3 cm posle 40. godine (42,6%). U kontrolnoj grupi najzastupljeniji bili su sledeći faktori rizika: smanjena vrednost vitamin D (90%), smanjen unos mlečnih proizvoda (82,0%), sedentarni način života (68,0%), smanjenje u telesnoj visini više od 3 cm posle 40. godine (55,1%) i pozitivna porodična anamneza (40,0%). Utvrđeno je da su grupe bile ujednačene u odnosu na ispitivane faktore rizika (tabela 31).

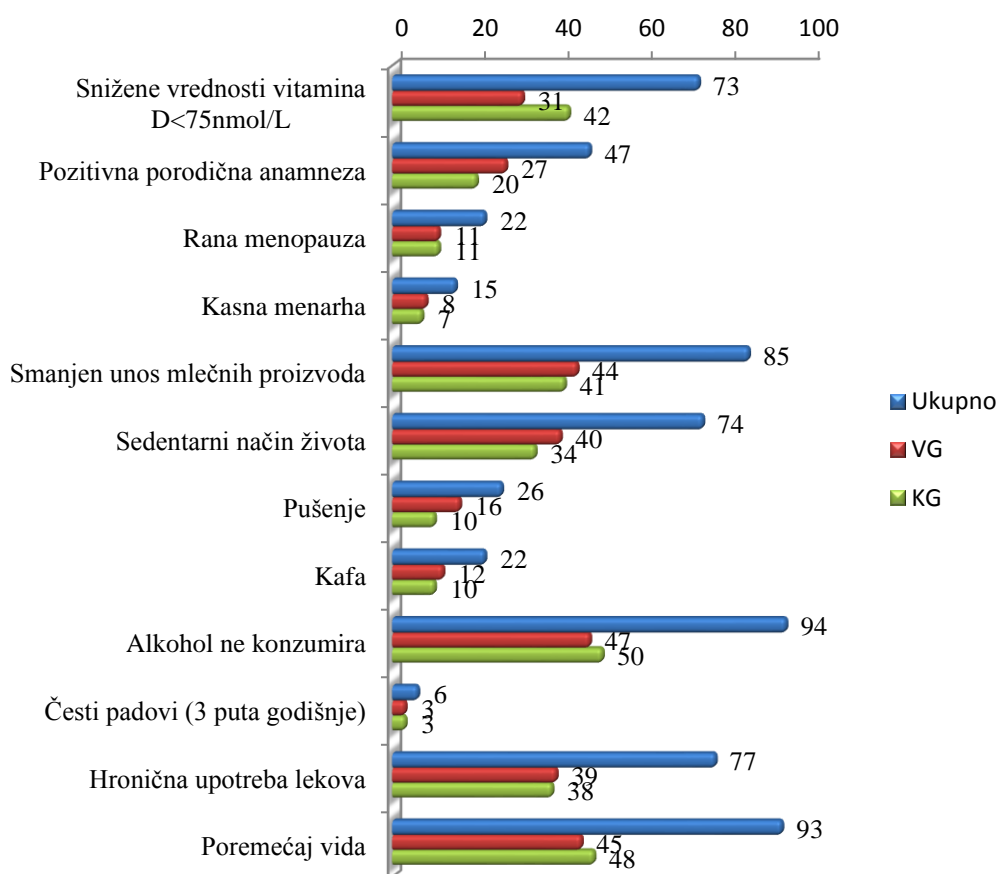
Tabela 31. Faktori rizika za osteoporozu u ispitivanoj populaciji

Faktori rizika	Ukupno		VG N=47		KG N=50		p- vredn ost ¹
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Niska telesna masa (BMI<19)	1	1,0	0	0,0	1	2,0	1,000 *
Gojaznost (BMI>30)	17	17,5	8	17,0	9	18,0	1,000
Pozitivna porodična anamneza	47	48,5	27	57,4	20	40,0	0,130
Nizak nivo vitamina D i nedovoljan boravak na suncu							
Insuficijencija <75nmol/L	24	24,7	16	34,0	8	16,0	0,084
Deficijencija <50nmol/L	50	51,5	19	40,4	31	62,0	
Teška deficijencija <30nmol/L	15	15,5	9	19,1	6	12,0	
Adekvatna >75nmol/L	8	8,2	3	6,4	5	10,0	
Rana menopauza (pre 45. godine života)	22	22,7	11	23,4	11	22,0	1,000
Smanjenje u telesnoj visini više od 3 cm posle 40. godine	47	49,0	20	42,6	27	55,1	0,305
Kasna menarha (posle 17. godine života)	15	15,5	8	17,0	7	14,0	0,896
Operacija jajnika pre 50. godine bez primene hormonske supstitucione terapije	18	18,8	7	15,2	11	22,0	0,556
Anamneza na spontane pobačaje	22	22,7	12	25,6	10	20,0	0,683
Smanjen unos mlečnih proizvoda	85	87,6	44	93,6	41	82,0	0,153
Pušenje	26	28,6	16	35,6	10	21,7	0,220
Alkohol ne konzumira			47	100,0	50	100,0	1,000
Kafa	22	23,2	12	26,7	10	20,0	0,599
Sedentarni način života	74	76,3	40	85,1	34	68,0	0,082

Smanjene vrednosti BMI imala je samo jedna pacijentkinja (1%) u ukupnom uzorku, dok je povećane vrednosti BMI imalo 17 pacijentkinja u ukupnom uzorku (17,5%), u grupi koja vežba 8, a u grupi koja ne vežba 9 pacijentkinja ($p=1,000$) (tabela 31).

91,8 % pacijentkinja u ukupnom uzorku imalo je smanjene vrednosti vitamina D.

U 24,7% pacijentkinja u ukupnom uzorku registrovana je insuficijencija vitamina D, u 51,5% pacijentkinja deficijencija vitamin D, dok je teška deficijencija registrovana u 15,5% pacijentkinja. Referentne vrednosti vitamina D bile su zastupljene u 8,2% pacijentkinja.



Grafikon 16. Distribucija faktora rizika u ispitivanoj populaciji i u odnosu na grupe

Tabela 32. pokazuje faktore rizika za pad kod pacijentkinja u obe ispitivane grupe. Procenat ustanovljenih faktora rizika prikazan je u ukupnoj populaciji ispitanika, kao i posebno u VG i KG.

Najčešće zastupljeni faktori rizika za pad u ispitivanoj populaciji bili su: poremećaj vida (95,9%), odlazak u toalet noću (68,0%), i hronična upotreba lekova za hipertenziju, hiperlipoproteinemiju i benzodiazepine zbog poremećaja sa spavanjem (72%).

Uočena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa ($p= 0,004$) za faktor rizika koji se odnosio na klizave površine u stanu, dok je za ostale faktore rizika za pad učestalost bila ujednačena među grupama (tabela 32).

Tabela 32. Faktori rizika za pad u ispitivanoj populaciji

Faktori rizika	Ukupno		VG N=47		KG N=50		p-value ¹
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
Poremećaj vida	93	95,9	45	95,7	48	96,0	1,000
Odlazak u toalet noću	66	68,0	36	76,6	30	60,0	0,125
Padovi do jednom godišnje	17	17,5	7	14,9	10	20,0	0,693
Česti padovi (3 puta godišnje)	6	6,2	3	6,4	3	6,0	1,000
Stepenice i klizave površine u stanu	16	16,5	2	4,3	14	28,0	0,004
Hronična upotreba lekova	77	79,4	39	83,0	38	76,0	0,550
Diabetes mellitus	10	10,3	7	14,9	3	6,0	0,269
Hiperlipoproteinemija(HLP)	43	44,3	23	48,9	20	40,0	0,496
Hipertenzija	61	62,9	31	66,0	30	60,0	0,692
Hipotireoza	8	8,2	6	12,8	2	4,0	0,230
Manjak sna, koristi benzodiazepine	38	39,2	19	40,4	19	38,0	0,971
Lekovi za pritisak, spavanje,hlp	70	72,2	36	76,6	34	68,0	0,473
Kucni ljubimci	32	33,0	18	38,3	14	28,0	0,389

Tabela 33. Udruženi faktori rizika i komorbiditeti

Faktori rizika	Ukupno		VG N=47		KG N=50		p-value ¹
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
smanjenje vrednosti VitD +smanjen unos mlečnih proizvoda	77	79,4	41	87,2	36	72,0	0,109
smanjenje vrednosti VitD + smanjen unos mlečnih proizvoda + pozitivna porodična anamneza	36	37,1	22	46,8	14	28,0	0,088
smanjenje vrednosti VitD + smanjen unos mlečnih proizvoda + pozitivna porodična anamneza + poremećaj vida	35	36,1	22	46,8	13	26,0	0,055
smanjenje vrednosti VitD + smanjen unos mlečnih proizvoda + pozitivna porodična anamneza + poremećaj vida + lekovi	27	27,8	17	36,2	10	20,0	<0,001

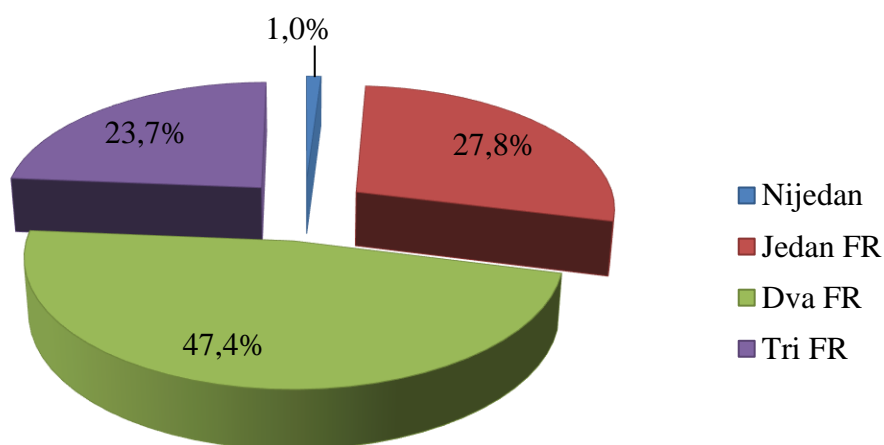
¹ Hi-kvadrat test

U tabeli 33. prikazani su udruženi faktori rizika za osteoporozu i komorbiditeti. U ispitivanoj populaciji skoro četiri petine pacijentkinja imalo je dva udružena faktora rizika, odnosno smanjenje vrednosti vitamina D i smanjen unos mlečnih proizvoda (79,4%). U grupi koja vežba taj udeo je bio nešto veći u odnosu na kontrolnu grupu (87,2% vs 72,0%, p=0,109). Tri faktora rizika, smanjenje vrednosti vitamina D, smanjen unos mlečnih proizvoda i pozitivnu porodičnu anamnezu imalo je 37,1% pacijentkinja. U VG broj pacijentkinja sa 3 pridružena faktora rizika bio je veći u odnosu na kontrolnu grupu, ali nije bilo statistički značajne razlike (46,8% vs 28,0%, p=0,088). Četiri faktora rizika, odnosno dodat i poremećaj vida imalo je 36,1% pacijentkinja u ispitivanoj populaciji. U VG je broj pacijentkinja sa 4 FR bio veći, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na kontrolnu grupu (p=0,055). Učestalost 5 faktora rizika, odnosno uz gore pobrojane i hronična upotreba lekova, prijavilo je 27,8% pacijentkinja. Učestalost 5 faktora rizika je bila statistički značajno veća u grupi koja vežba u odnosu na kontrolnu grupu (36,2% vs 20,0%, p<0,001).

U tabeli 34. prikazani su samo “major” faktori rizika i njihova zastupljenost u ispitivanoj populaciji. Polovina ispitivane populacije bila je životne dobi preko 65 godina (53,6%). U ispitivanoj populaciji 47,4% pacijentkinja bile su osobe životne dobi veće od 65 godina sa niskim nivoom vitamina D, odnosno 26,8% pacijentkinja životne dobi preko 65, sa pozitivnom porodičnom anamnezom. Sva tri major faktora imalo je 23,7% ispitivane populacije (grafikon 17). U ispitivanoj populaciji samo jedna pacijentkinja (1,0%) bila je bez major faktora rizika. Distribucija svih major faktora rizika bila je ujednačena u odnosu na ispitivane grupe (p>0,05)(tabela 34)

Tabela 34. Major faktori rizika

Major faktori rizika	Ukupno		VG		KG		p
	Broj	%	Broj	%	Broj	%	
godina života>65	52	53,6	26	55,3	26	52,0	0,901
godina života >65+nizak Vit D	46	47,4	24	51,1	22	44,0	0,777
godina života >65+ porodična anamneza	26	26,8	15	31,9	11	22,0	0,357
godina života >65+nizak vitD+ porodična anamneza	23	23,7	13	27,7	10	20,0	0,674
bez major faktora rizika	1	1,0	0	0,0	1	2,0	0,307



Grafikon 17. Distribucija major faktora rizika

U ispitivanoj populaciji 27,8% pacijentkinja imalo je 1 major faktor rizik, 47,4% pacijentkinja imalo je 2 faktora rizika, dok 23,7 pacijentkinja imalo 3 major faktora rizika, uz prisustvo minor faktora u različitom broju (grafikon 17).

5.Diskusija

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-2, MMP-9 i TIMP-a1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

U ovom istraživanju dokazan je uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na smanjenje vrednosti MMP-9 i MMP-2 i povećanje vrednosti TIMP-a1 u serumu pacijentkinja u VG.

Poznato je da se bolesti koje karakteriše prekomerni gubitak koštane mase, kao što su osteoporoza ili reumatoidni artritis, javljaju kao rezultat prekomerne koštane resorpcije i neravnoteže u modelovanju i remodelovanju kosti, što je u korelaciji sa povećanim kataboličkim procesima i povećanom osteoklastnom aktivnosti (Kanis, et al. 2019; Cosman, et al. 2014.). Ovakvi procesi vode koštanoj fragilnosti i povećanom riziku od pada i preloma. Pored značaja u prepoznavanju i modifikacija faktora rizika za osteoporozu, u cilju objašnjenja patofizioloških mehanizama odgovornih za nastanak osteoporoze neophodno je utvrditi faktore koji utiču na aktivnost i diferencijaciju osteoklasta (Rauner, et al. 2013; Fogar-Samwald, et al. 2016) i osteoblasta, kao i njihovu dinamiku promene uslovljenu primenom odgovarajućeg modaliteta lečenja. Poslednjih godina brojne studije su naglasile značaj MMP-aza u patogenezi osteoporoze, međutim molekularni mehanizmi ovog uticaja još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni te su i dalje predmet istraživanja (Henriet and Emonard, 2019).

Tokom menopauze ili nakon ovariektomije smanjuje se koncentracija estrogena i njegova deficijencija uslovljava povećanu aktivnost osteoklasta, a onda kaskadno i ekspresiju MMP-aza. Ovi mehanizmi aktivacije mogu se objasniti na nekoliko načina, međutim još uvek se sa sigurnošću ne može zaključiti da ne postoje i druge mogućnosti aktivacije. Naime, estrogenska insuficijencija povećava osteoklastogenezu povećavajući tzv. pro-osteoklastogene citokine, kao što su TNF-alfa i RANKL (Faienza, et al. 2013). Istovremeno se smanjuje i ekspresija solubilnog receptora osteoprotegerina (OPG), pri čemu opada njegova protektivna uloga, koja se ogleda u vezivanju za RANKL i blokiranju njegove aktivnosti. Deficijencija estrogena takođe remeti regularnu interakciju T-ćelija i stromalnih ćelija, što utiče na produkciju velikog broja proinflamatornih citokina. T-ćelije aktiviraju osteoklastogenezu povećanom produkcijom RANKL i sekrecijom interleukina IL-1, IL-6, interferona IFN- γ ili IL-4 (Faienza, et al. 2013), koji stimulišu produkciju MMP-aza (Li, et al. 2004).

MMP-aze, takođe često nazivane matriksini, predstavljaju Zn-zavisne proteolitičke enzime, koji su u fiziološkim uslovima inaktivni, ali njihova ekspresija može biti trigerovana različitim faktorima, endokrinim imbalanceom, citokinima, faktorima rasta i sl (Grigoryan, et al. 2017). Pokazano je da povećana osteoklastna aktivnost povećava ekspresiju MMP-9 koji stimuliše dalju resorpciju kosti od strane osteoklasta i degradaciju proteina ECM i kolagena tipa I, direktno i indirektno povećavajući produkciju citokina (Grigoryan, et al. 2017). Ova uloga MMP-9 je dobro dokumentovana u studijama na miševima, gde je pokazana korelacija između MMP-9 i invazije osteoklasta u srž dijafize (Andrea, et al. 2015). Na animalnim modelima je takođe potvrđeno da MMP-9 može biti marker osteoklastne aktivnosti (Grigoryan, et al. 2017). Metodom želatin zimografije, koja je primenjivana i u našem istraživanju, pokazano je značajno smanjenje serumske aktivnosti MMP-9 nakon primene određenog farmakološkog tretmana u ovariektomisanih pacova (Chai, et al. 2018).

Konačno, humana klinička ispitivanja potvrdila su prisustvo prekomerne ekspresije MMP-9 kod pacijenata sa dijagnostikovanom osteoporozom i hroničnom obstruktivnom bolesti pluća (HOBP), (Bolton, et al. 2009).

Najnovija humana istraživanja pokazala su da je povećana ekspresija MMP-9, kod pacijenata sa osteoporozom i HOBP-om bila statistički značajno u negativnoj korelaciji sa vrednostima BMD na vratu butne kosti, dok ova značajnost nije uočena za BMD vertebri.

Ista grupa autora potvrdila je da je povećanje serumskih vrednosti MMP-9 bilo praćeno povišenim vrednostima TNF-a i IL-6, čije su vrednosti bile statistički značajno niže u pacijenata sa HOBP-om, bez osteoporoze (Wang, et al. 2017).

U novijim istraživanjima potvrđena je korelacija između povećane ekspresije MMP-aza, posebno MMP-9 (Logar, et al. 2007), MMP-1 i MMP-2 i povećane koštane resorpcije u pacijentkinja sa osteoporozom (Galliera, et al. 2010; Wang, et al. 2017).

Povećana ekspresija MMP-aza u mnogim patološkim stanjima, kao i njihova uloga u procesima apoptoze ćelija, celularne migracije, angiogeneze, destrukcije ECM, dozvoljava njihovu upotrebu kao markera inflamacije (Jabłońska-Trypuć, et al. 2016).

Pokazano je da bisfosfonati, primenjivani kao antiresorptivni agensi, koji interaguju primarno sa osteoklastima, inhibiraju aktivnost nekoliko MMP-aza (MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -13 i -14) kroz helatni mehanizam, sugerišući krucijalnu ulogu ovih proteaza u gubitku koštane mase u osteoporozu (Murphy and Lee, 2005).

Pacijentkinje koje nisu bile uključene u program vežbi, već su bile na oralnoj terapiji bisfosfonatima i suplementaciji vitaminom D, iz kontrolne grupe, imale su nesignifikantnu promenu enzimske aktivnosti MMP-2 i MMP-9 (tabela 4).

Identifikacija molekularnih mehanizama koji imaju ulogu u procesu remodelovanja kosti, kao i njihova promena uzrokovana primenom odgovarajućeg medikamentnog i kineziterapijskog tretmana kod pacijenata sa osteoporozom, stvara osnov za nove terapijske mogućnosti.

Uprkos uticaju brojnih terapijskih modaliteta na regulaciju aktivnosti MMP-aza (Makowski, et al. 2005), još uvek nije bilo rasvetljeno kako trening snage zajedno sa aerobnim treningom i vežbama balansa utiče na promenu ovih vrednosti.

Uzimajući u obzir rezultate najnovijih studija o ulozi matriks metaloproteinaza u nastanku i remodelovanju kosti (Liang, et al. 2016; Paiva, 2014; Nascimento, et al. 2015) pretpostavili smo da bi serumske vrednosti MMP-aza i TIMP-a1 mogle poslužiti kao rani markeri za procenu terapijskog odgovora pacijentkinja sa osteoporozom. U našem istraživanju pratili smo promenu vrednosti matriks metaloproteinaza merenih u serumu pacijentkinja sa postmenopauznom osteoporozom pre i nakon primene određenog kineziterapijskog tretmana.

U našem istraživanju dokazan je uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na smanjenje vrednosti MMP-9 i MMP-2 u serumu naših pacijentkinja. Dobijeni rezultati pokazali su statistički značajno smanjenje aktivnosti serumskih MMP-aza nakon 12 nedeljnog kineziterapijskog programa u VG, kao i povećanje enzimske aktivnosti TIMP-a1, u poređenju sa pacijentkinjama koje nisu bile uključene u kineziterapijski program (KG) (tabela 1). U KG nisu registrovane ove promene nakon 12 nedeljne primene medikamentne terapije (tabela 2).

U odnosu na period praćenja unutar grupe, u VG grupi došlo je do signifikantno značajnih promena nakon 12 nedelja, dok nakon 4 nedelje ove promene nisu bile statistički značajne (tabela 2). U VG grupi nakon 4 nedelje, registrovan je blagi porast MMP-9, blago smanjenje vrednosti MMP-2 i blagi porast vrednosti TIMP-a1 (tabela 2). Ovakvi rezultati ukazuju na značajan uticaj faktora vremena kroz posmatrani period. Zaključak koji se nameće jeste da se osetljivost promene enzimske aktivnosti MMP-aza i njihova regulacija preko TIMP-a1 može registrovati sa sigurnošću najranije posle 3 meseca praćenja, zbog potrebnog perioda adaptacije na vežbu.

Poredeći serumske aktivnosti MMP-aza u okviru KG i njihovu promenu kroz vreme, nisu uočene statističke značajne razlike za oba perioda praćenja. Iako je dokazan uticaj bisfosfonata na smanjenje enzimske aktivnosti MMP-aza (Murphy and Lee, 2005), period od 3 meseca nije dovoljan da bi uslovio ovakvu statistički značajnu promenu. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je potreban duži vremenski period koji bi uslovio promenu enzimske

aktivnosti MMP-aza pod dejstvom alendronata i ibandronata. Ovi rezultati su u skladu sa dosadašnjim istraživanjima (Murphy and Lee, 2005). Interesantno je da u KG kroz posmatrane periode praćenja, postoji jedino statistički značajna promena TIMP-a1, nakon 4 nedelje, posle čega se ove vrednosti normalizuju, odnosno posle 12 nedelja nema značajnosti u poređenju sa vrednostima na početku, što se može objasniti adaptacijom organizma na primenu terapije bisfosfonatima. Hong i sar. (2015) su pokazali povećanje TIMP-1 aktivnosti nakon primene alendronata u pacova, posle 8 nedelja. Kako u dostupnoj literaturi nema istraživanja koja su proučavala promene TIMP-a1 nakon mesec dana od primene alendronate ili ibandronata, u postmenopauzalnih pacijentkinja sa dijagnostikovanom osteoporozom, potrebna su dalja istraživanja koja bi objasnila ovaj mehanizam.

Regresioni modeli korigovani za početne vrednosti MMP-aza, TIMP-a1, BMI, vitamina D, PTH, Ca i životnu dob su potvrdili rezultate koje smo dobili komparacijom između grupa u periodima praćenja (tabela 3 i 4).

Zaključak koji se nameće jeste da je specifično dizajniran program vežbi, koncipiran kroz primenu vežbi snage, balansa i aerobnog treninga, u kombinaciji sa oralnom terapijom bisfosfonatima uslovio značajnu promenu enzimskih aktivnosti MMP-aza i TIMP-a1 nakon 12 nedelja. Ovim sinergijskim efektom vežbe i oralne terapije bisfosfonatima uslovljene su rane promene pomenutih enzimskih aktivnosti.

U dosadašnjim istraživanjima dokazana je pozitivna korelacija aerobnog treninga i smanjenja vrednosti MMP-9 i MMP-2 u serumu (Nascimento, et al. 2015.), međutim rezultati istraživanja o uticaju treninga snage na aktivnost MMP-aza su bili kontroverzni. Nekoliko dostupnih podataka o treningu snage pokazuje suprotne rezultate u odnosu na naše istraživanje (Lucotti, et al. 2011; Urso, et al. 2009).

Buyukyazi G i sar. (2008) su istraživali uticaj aerobnog treninga, koncipiranog kao 8-nedeljni program brzim hodom i zaključili da nema signifikantnih promena serumskih aktivnosti MMP-9 i TIMP-a1 u postmenopauzalnih pacijentkinja (Buyukyazi, et al. 2008), pri čemu su pretpostavili da je izostanak ove korelacije uslovljen relativno niskim intenzitetom treninga (60% od max srčane frekvencije) i relativno kratkim trajanjem treninga. U cilju objašnjenja i tumačenja ovakvih rezultata istraživači su naglasili da kada je u pitanju akutno vežbanje često u cilju adaptacije na isto, u neutreniranih pacijenata, dolazi do promena u miofibrilima bazalne membrane mišića, odnosno njihovog oštećenja, što prati porast aktivnosti MMP-aza (Buyukyazi, et al. 2008). Nakon adaptacije na vežbanje ove promene se smanjuju. Takođe pokazano je da akutni kineziterapijski program nema osteogeni potencijal, te se ne može razmatrati njegov uticaj na osteoklastnu i osteoblastnu diferencijaciju. Vežbanje ostvaruje svoje osteogene efekte koji se prenose putem napona mehanotransdukcije na osteoblaste i osteocite, ali mora biti određenog trajanja, intenziteta i učestalosti (Turner, 2006).

U jednom istraživanju upoređivane su aktivnosti MMP-9 u serumu volontera koji su trčali maraton i polu-maraton, pri čemu su iste bile veće kod onih koji su trčali maraton, što pokazuje direktan uticaj trajanja treninga na vrednost MMP-9 (Reihmane, et al. 2013).

Urso i sar. su pratili i upoređivali promenu vrednosti MMP-2 i MMP-9 u zdravih osoba muškog pola, srednje životne dobi, pre i nakon 2 različita 8-nedeljna treninga, pri čemu je jedna grupa pacijenata imala vežbe sa opterećenjem sopstvenom težinom i trčanje, dok je druga grupa imala vežbe snage sa većim opterećenjima na spravama i aerobni trening sproveden kao marš (Urso, et al. 2009). U prvoj grupi ispitanika registrovana je redukcija aktivnosti MMP-2, bez promene za vrednosti MMP-9, dok je trening snage uzrokovao signifikantni porast aktivnosti MMP-9 (Urso, et al. 2009).

Suhr i sar su posmatrali grupu utreniranih volontera koji su se bavili trčanjem, pre i nakon 6-mesečnog treninga, i zaključili da nema promena vrednosti za MMP-2 i MMP-9 u ovih osoba (Suhr, et al. 2010).

Uticaj fizičke aktivnosti na promenu vrednosti koncentracija zelatinaza seruma i plazme je ispitivan u sledećim patološkim stanjima: u pacijenata sa MS-om (Roberts, et al. 2006), u pacijenata sa asimptomatskom koronarnom bolesti srca i faktorima rizika za istu (Niessner, et al. 2006) i u pacijenata sa diabetesom tipa 2 (Kadoglou, et al. 2010). U svim ovim studijama bili su posmatrani efekti brzog hoda ili trčanja. Program se razlikovao u frekvenciji i intenzitetu vežbanja, kao i u ukupnom trajanju, posmatrano od 3 do 24 nedelje. Međutim, svi programi su bili efektivni u smislu smanjenja koncentracije MMP-9, dok su vrednosti MMP-2 bile evaluirane samo u grupi pacijenata sa DM tip 2, čije se vrednosti nisu značajno menjale tokom tretmana. U istoj grupi pacijenata TIMP-2 koncentracija se povećala posle treninga, dok je TIMP-1 ostao nepromenjen (Kadoglou, et al. 2010). U pomenutim studijama smanjenje koncentracije MMP-9 bilo je praćeno smanjenjem nekoliko pro-inflamatornih markera (C-reaktivnog proteina, fibrinogena, solubilnog intracelularnog adhezionog molekula-1, solubilnog P-selektina, i makrofagnog inflamatornog proteina 1-alfa). Zabeleženo je smanjenje MMP-9 i onda kada nije registrovana signifikantna promena u telesnoj težini, koja je praćena (Kadoglou, et al. 2010).

U istraživanju Lukotija i saradnika, upoređivani su efekti 2 vrste 3-nedeljnog programa vežbi, jedan se sastojao iz aerobnog programa vežbi, a drugi iz aerobnog programa vežbi i treninga snage (Lucotti, et al. 2011). Oba programa su uključivala i hipokalorijsku ishranu i bila su praćena smanjenjem telesne težine i BMI. Aktivnost MMP-2 je bila smanjena nakon aerobnog treninga, i bila je praćena smanjenjem TNF-alfa za 20%, ali je zato zabeležen porast MMP-2 u drugoj grupi ispitanika koja je imala kombinovani program (aerobni i treninog snage). Zaključeno je da koncentracije vrednosti cirkulišuće MMP-2 mogu reflektovati uticaj različitih programa vežbi na inflamatorne markere. Smanjenje serumske aktivnosti MMP-2 je sistemski efekat koji ukazuje na brojne adaptivne mehanizme aktivirane tokom fizičke aktivnosti (Lucotti, et al. 2011).

U istraživanju Woods-a i saradnika koji su pratili efekte šestomesečnog aerobnog treninga umerenog intenziteta i hipokalorijske ishrane, potvrđeno je signifikantno smanjenje aktivnosti MMP-9 i serumskih lipida (Woods, et al. 1999).

Na animalnom modelu, Posa i saradnici su utvrdili da šestonedeljni trening trčanjem, prosečne distance 3,91+/- 1,27 km/dan, uzrokuje smanjenjem cirkulišuće MMP-2, koje je bilo u pozitivnoj korelaciji sa smanjenjem depresije ST segmenta i poboljšanjem perfuzije srca (Posa, et al. 2014).

S obzirom na nekoherentnost rezultata, iz dosadašnjih istraživanja je teško izvesti siguran zaključak o promeni MMP-azne aktivnosti uslovljene različitim vrstama vežbi, kako zbog uticaja mnogih faktora, kao što su pol i fizička kondicija, tako i zbog različitih patoloških stanja i komorbiditeta, koji menjaju ove odgovore.

Ipak sigurno je da fizička aktivnost značajno utiče na regulaciju vrednosti cirkulišućih MMP-aza, posebno ističući značaj aerobnog treninga. Kako je MMP-9 definisan kao marker inflamacije (Lo Presti, et al. 2017) aerobni trening utiče na smanjenje ove aktivnosti, što je potvrđeno i u našem istraživanju. Kada je u pitanju trening snage rezultati su kontroverzni (Urso, et al. 2009; Lucotti, et al. 2011).

Baveći se proučavanjem efekata treninga snage na cirkulišuće MMP-aze, na animalnom modelu, grupa istaknutih autora je pokazala da 8-nedeljni trening snage, utiče na smanjenje aktivnosti cirkulišućih MMP-2 i MMP-9 u komparaciji sa 4-nedeljnim treningom snage istog intenziteta koji ne vodi ovim promenama. Isti autori uporedili su i efekte 8-nedeljnog treninga snage sa kontrolnom grupom koja nije vežbala, zaključivši isto (Neto, et al. 2017). Ovi rezultati su u skladu sa našim istraživanjem, ali u literaturi postoje i studije koje dokumentuju suprotno (Urso, et al. 2009; Lucotti, et al. 2011).

Jedno od mogućih razloga nekonzistentnosti u zaključivaju, kada je u pitanju trening snage, može biti i činjenica da MMP-aze učestvuju i u angiogenezi indukovanoj vežbanjem.

Povećanje kapilarne mreže mišićnog tkiva je stimulirano treningom snage, koji uzrokuje hipertrofiju mišićnih vlakana (Lo Presti, et al. 2017.) Mehaničko opterećenje mišićnog tkiva, povećani stres krvnih sudova i lokalna ishemija su stimulusi odgovorni za angiogenezu. Pokazano je da su i MMP-2 i MMP-9 uključene u ove procese, uzrokujući proteolizu kapilarne bazalne membrane i degradaciju ECM dopuštajući endotelnim ćelijama migraciju u intersticijum i oslobađanje proangiogenetskih faktora iz ECM (Chen, et al. 2013.) U nekim istraživanjima je pokazano povećano prisustvo angiogenetskih faktora i ekspresije MMP-aza nakon akutnog vežbanja, kako u krvi (Ross, et al. 2014; Suhr, et al. 2007), tako i u mišićnom tkivu (Rullman, et al. 2009) zdravih osoba muškog pola. Uticaj mehaničkog stresa (Suht, et al. 2010) i različitim mehanizmima provocirane hipoksije (Rullman, et al. 2009; Suht, et al. 2010) su takođe bile predmet istraživanja.

Pored gore navedenih, značajno je pomenuti svakako i uticaj estrogena na koštano tkivo u smislu povećanja njegove senzitivnosti na mehaničko opterećenje (odnosno vežbu) (Lee and Lanyon, 2004). Stoga menopauza ili ovariektomija mogu uzrokovati smanjenje senzitivnosti koštanih receptora na mehaničko opterećenje, što za posledicu ima izostanak odgovora koštanog tkiva na mala opterećenja (Shiguemoto, et al. 2011), kratkog trajanja.

Naše istraživanje je pokazalo da su efekti specifično dizajniranog programa vežbi dozno-zavisni (senzitivnost) i da isti mora imati određeno trajanje (hronično vežbanje).

Postoji čvrsta veza između aktivnosti MMP-aza i biomehaničkih i fizičkih promena u koštanom tkivu, pod uticajem mehaničkog opterećenja (Lee and Lanyon, 2004.) Konačno, može se zaključiti i da je uticaj medikamentne terapije bisfosfonatima na gore navedene promene, zanemarljiv (KG), nakon 3 meseca i da je sprovođenje kompletnog tretmana, koji uključuje fizičku aktivnost, neophodno.

Uprkos heterogenosti u rezultatima istraživanja, aktivnosti MMP-aza merenih u serumu ili krvi, koje potiču iz različitih tkiva, poput koštanog, mišićnog i sl, mogu poslužiti kao biomarkeri za detekciju sistemskog odgovora na vežbu ili drugu primenjenu terapiju (bisfosfonate).

S jedne strane, regularna fizička aktivnost poput aerobnog treninga određenog trajanja pokazuje antiinflamatorni efekat, praćen smanjenjem aktivnosti MMP-9, dok se u mnogim istraživanjima prate efekti akutnog vežbanja sadržanog od ekcentričnih kontrakcija mišića, pri čemu MMP-9 predstavlja marker oštećenja mišića i ima povišene vrednosti u krvi ispitanika (Lo Presti, et al. 2017.)

Na animalnom modelu nedavno pokazano je da vežbanje izaziva značajne pozitivne efekte u prevenciji ateroskleroze i da isto vodi smanjenju vrednosti MMP-2, MMP-9, ali i lipida i nekih proinflamatornih citokina. Istraživači su naglasili da je efekat bio kratkoročan i zavistan od kontinualnosti vežbanja, odnosno da su efekti prestali brzo nakon prestanka vežbanja. MMP-aze su predložene za markere koji bi poslužili za praćenje terapijskog odgovora na vežbu (Hee, et al. 2020)

Ako pretpostavimo mogućnost uticaja vežbi, odnosno smanjenja enzimske aktivnosti MMP-9, MMP-2 i povećanja TIMP-a1 pod uticajem specifično dizajniranog programa vežbi primenjenog u ovom istraživanju, vođeni hipotezom da isti reflektuje matriksni “turnover” u pacijentkinja sa osteoporozom, merenje aktivnosti MMP-aze može biti od značaja kako za detekciju promena u patološki izmenjenom koštanom tkivu, tako i za praćenje terapijskog odgovora na propisani kineziterapijski ili neki drugi tretman.

Kako promene u koštanoj masi proističu iz usporavanja metaboličkih procesa, MMP-aze kao potencijalni markeri koštanog remodelovanja mogle bi biti od značaja za ispitivanje akutnih i hroničnih efekata kineziterapijskog tretmana na remodelovanje kosti.

Kvantifikacija koštanog tkiva, merena DXA BMD metodom, nije adekvatni prediktor koštane snage. Drugi faktori, koji determinišu kvalitet kosti, kao što su trodimenzionalna organizacija trabekula (mikroarhitektura), oblik i geometrija kosti, potencijalno prisutna

mikrooštećenja, kao i sastav koštannog matriksa (minerala i kolagna), takođe utiče na snagu kosti (Viguet-Carrin, et al, 2006). S obzirom na činjenicu da je “zlatni” standard za merenje koštane gustine i dalje DXA BMD, o čijoj se senzitivnosti i specifičnosti sve više govori, jer se ovom metodom ne mogu detektovati male i akutne promene u koštanom metabolizmu, potreba za ispitivanjem i uvođenjem novih biomarkera, koji bi bili dovoljno osetljivi da odrede odgovor kosti na određenu vežbu i tako doprinesu određivanju efekta kineziterapije na kost, svakako postoji (Jurimae, et al. 2006; Bennell, et al. 1997). Imajući u vidu da postoje značajna odstupanja i razlike u aktivnosti MMP-aza merenih u serumu, u odnosu na one merene u plazmi, kao i uticaj različitih bioloških faktora kao što su pol, godine, dnevne ili sezonske varijacije (Maïmoun and Sultana, 2011), bolja standardizacija laboratorijskog protokola bi takođe olakšala interpretaciju rezultata. Standardni protokol za određivanje markera koštanog remodelovanja u serumu podrazumeva noćno gladovanje i uzorkovanje krvi nakon 24 do 48 sati od treninga da bi se smanjila intraindividualna, interindividualna i biološka varijabilnost. Pored standardizacije protokola uzorkovanja krvi, neophodna je i standardizacije protokola vežbanja, kako bi se ove promene mogle sa sigurnošću tumačiti kao odgovor na trening.

Kako je pokazano da dobro trenirane osobe imaju relativno stabilno koštano remodelovanje tokom sportske sezone, dok kod netreniranih (sedentarnih) osoba program fizičke aktivnosti dovodi do modifikacije funkcije osteoblasta i/ili osteoklasta tokom dužeg perioda, utoliko bi upotreba MMP-aza kao potencijalnih markera koštanog metabolizma imala veći značaj u patološkim stanjima. U svakom slučaju, modifikacija zavisi od vrste, intenziteta, trajanja i učestalosti treninga.

Prema rezultatima ovog istraživanja, specifično dizajniran program vežbi, koji uključuje aerobni trening, vežbe snage i balansa, ima značajan uticaj na serumsku aktivnost MMP-9, MMP-2 i TIMP-a1 pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom. Regulacija aktivnosti MMP-9 i MMP-2, odnosno njihovo smanjenje i povećanje aktivnosti TIMP-a1, nakon 12-nedeljnog programa je značajna u odnosu na KG, koja je bila na medikamentnoj terapiji bisfosfonatima (alendronatom ili ibandronatom). U KG nisu registrovane statistički značajne promene posmatranih parametara, čime se potvrđuje značaj specifično dizajniranog program vežbi.

Bisfosfonati, kao predstavnici antiresorptivne terapije inhibiraju diferencijaciju i fuziju osteoklasta i na taj način koštano resorpciju (Suzuki, et al. 2006). Istraživanja koja su se bavila antiresorptivnim efektima alendronata, primenjenog u pacijenata sa metastatskom bolesti nakon kancera prostate, pokazala su da ova terapija utiče na smanjenje resorpcije kosti smanjenjem ekspresije CD44, CD44/ MMP-9 kompleksa, kao i sekrecije i migracije MMP-9 (Samanna, et al. 2007). Iako su dosadašnja ispitivanja potvrdila da alendronat, kao i risendronat i raloksifen, kroz različite mehanizme, utiču na modifikaciju, odnosno smanjenje MMP-9 aktivnosti, kroz duži vremenski period, (Maugeri, et al. 2004), njena uloga u dijagnozi osteoporoze i/ili praćenju odgovora na tretman, još uvek nema klinički značaj.

Poznato je da TIMP-1 kao prirodni inhibitor MMP-aza, inhibira njihovu proteolitičku aktivnost formirajući nekovalentni kompleks, otporan na denaturaciju i proteolitičku degradaciju. Stoga je balans između aktivnosti MMP-aza i TIMP-a1 izuzetno značajan, jer ukazuje na proces eventualnog remodelovanja kosti (Paiva and Granjeiro, 2017).

Iako sa relativno malim brojem ispitanika i relativno kratkim periodom praćenja, ovo je prva randomizovana prospektivna studija u kojoj je dokumentovana promena serumskih aktivnosti MMP-aza i njihova regulacija preko TIMP-a1, nakon primene 3-mesečnog specifično dizajniranog programa vežbi i medikamentne terapije bisfosfonatima u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.

Zbog strogih inklusionih i eksklusionih kriterijuma, kao i striktno supervizije oformljena je relativno mala grupa ispitanika. Veće randomizovane multicentrične kontrolisane studije biće

neophodne u cilju dalje potvrde naših rezultata, ali i preciznijeg definisanja molekularnih mehanizama istih, kako kod pacijenata sa osteoporozom, tako i kod onih sa osteopenijom, u oba pola.

Iako obećavajuća, primena MMP-aza kao markera koštanog remodelovanja je još uvek eksplorativna, i veća istraživanja su neophodna pre njihove primene u kliničke svrhe. S druge strane veća znanja o uticaju vežbi na aktivnost i regulaciju MMP-aza mogla bi doprineti maksimiziranju benefita od vežbanja, propisanog u cilju prevencije, dijagnostike i terapije.

Svakako može se zaključiti da 3-mesečni trening koji se sastoji iz aerobnog treninga, vežbi snage i balansa ima značajan uticaj na enzimsku aktivnost MMP-2 i MMP-9 i njihovu regulaciju preko TIMP-a1, u postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom. Pozitivna korelacija MMP-9, MMP-2 i TIMP-a1 sugeriše da je u postmenopauzalnih pacijentkinja, uključenih u redovnu fizičku aktivnost, enzimska aktivnost regulisana ovom interakcijom.

Uzevši u obzir kompleksnost lečenja osteoporoze, zaključeno je da primena programa vežbi, u trajanju od tri meseca, zajedno sa odgovarajućom farmakoterapijom indukuje smanjenje aktivnosti MMP-aza, i povećanje TIMP-a1, dok ova promena nije signifikantna posle primene farmakološkog tretmana. Stoga, MMP-aze mogu predstavljati i nove terapijske targete za prevenciju i lečenje osteoporoze. Selektivna inhibicija enzimske aktivnosti MMP-aza može predstavljati potencijalno novu antiresorptivnu strategiju.

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

U ovom istraživanju pokazano je poboljšanje funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom nakon sprovedenog specifično dizajniranog programa vežbi.

Prema preporukama Međunarodne asocijacije za borbu protiv osteoporoze (National Osteoporosis Foundation-NOF) (Kanis, et al. 2019; Kanis et al. 2013), kao i Kanadskog udruženja za zdrave kosti (Giangregorio, et al. 2015), ali i drugih (Camach, et al. 2016; Karlsson, et al. 2012; Senderovich, et al. 2017), program određenog tipa vežbi mora biti sastavni deo lečenja pacijenata sa osteoporozom i podrazumeva primenu vežbi sa opterećenjem sopstvenom težinom, vežbi snage i balansa, o čemu je bilo više reči u uvodu ovog rada.

Primena fizičke aktivnosti kao sastavnog dela terapijskih procedura koje se moraju primenjivati u lečenju pacijenata sa osteoporozom, osim što utiče na enzimsku aktivnost MMP-aza, značajno utiče na funkcionalni ishod pacijentkinja sa sniženom koštanom gustinom, čiji se značaj posebno ogleda u prevenciji nastanka pada i preloma. Kako se kvantitavna definicija osteoporoze postavlja merenjem T-skora (Kanis, et al. 2019; Camacho, et al. 2016), primarni cilj terapije jeste popravljavanje ove vrednosti. Međutim, pored kvantitativnog dijagnostičkog i terapijskog pristupa lečenju, klinički cilj tretmana jeste primarno redukcija mogućnosti nastanka osteoporotične frakture (Cosman, et al. 2014; Kanis, et al. 2004; Giangregorio, et al. 2015), ali i povećanje mineralne koštane gustine na premenstrualni nivo, poboljšanje snage kosti i mišića, poboljšanje balansa, kao i poboljšanje kognitivnih i drugih funkcija, pod uticajem redovne fizičke aktivnosti, što smo potvrdili ovim istraživanjem.

Kako osteoporoza afektira mnoge aspekte svakodnevnog života, traganje za multikomponentnim programom vežbi koji bi uslovio najbolji funkcionalni ishod, još uvek je predmet istraživanja, zaključeno je u velikoj meta-analizi, koja je analizirala 1587 citata, od kojih je 2113 pacijenata iz 28 studija, ispunilo kriterijume za uključivanje (Varahra, et al. 2018).

U ovom istraživanju predložen je multikomponentni program vežbi, koji se sastojao iz vežbi snabe, balansa i aerobnog treninga po tipu brzog hoda u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u Srbiji, pri čemu je dokazano da isti nakon 3 meseca statistički značajno popravljaju njihovu mišićnu snagu, procenjuvanu TUG i STS testom, statatički balans, meren OLST testom, smanjuje strah od pada, procenjuvan FES-I upitnikom i povećava znanje o osteoporozi, mereno OKAT-S upitnikom.

Pacijentkinje iz VG imale su statistički signifikantno bolji funkcionalni status, meren gore navedenim parametrima, u odnosu na pacijentkinja iz KG. Primena multikomponentnog specifično dizajniranog programa vežbi neophodna je u lečenju pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom zaključili smo uvidom u rezultate istraživanja.

Pored toga, nameće se i sekundarni zaključak koji se odnosi na neophodnost primene određenih testova i upitnika, i standardizacije istih, u cilju što preciznije procene funkcionalnog statusa postmenopauzalnih pacijentkinja u Srbiji, kako zbog daljeg unapređenja njihovog kliničkog statusa, tako i zbog identifikacije promena funkcionalnog statusa tokom tretmana i komparacije efikasnosti nakon primene različitih tretmana.

Osteoporoza ili često nazivana “tihi kradljivac kostiju” ili “tiha epidemija veka”, je asimptomatska i često bude dijagnostikovana kasno, odnosno kada se desi prelom. Fizička aktivnost ima za cilj da smanji rizik od pada, kao i strah od pada kod ovih pacijenata.

Prema preporukama internacionalnog vodiča za prevenciju i definisanje faktora rizika (Kanis, et al. 2019; Kanis et al. 2013), testovi kao što su STS i TUG test, kao i OLST za determinisanje statičkog balansa, su najčešće korišćeni testovi za procenu mobilnosti, snage donjih ekstremiteta i predikciju rizika za pad (Lundin, et al. 2014).

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu TUG i STS testa

Za procenu funkcionalne mobilnosti, TUG test je našao široku primenu u pacijenata sa osteoporozom.

Smanjenje brzine hoda i dužine koraka fiziološki je deo procesa starenja, a posebno je prisutan kod pacijenata sa dijagnostikovanom osteoporozom i predstavlja važan indikator rizika za pad u ovih pacijenata. Pokazano je da osobe koje su doživele pad imaju smanjenu brzinu hoda i kraću dužinu koraka u odnosu na osobe koje nisu padale (Meyer, 2010; Verghese, et al. 2009). Takođe je utvrđeno da osobe sa brzinom hoda manjom od 100cm/s imaju 1,5 puta veći rizik za pad od osoba sa većom brzinom hoda (Verghese, et al. 2009). Istraživači su potvrdili da ove osobe imaju veću verovatnoću da padnu u kući, jer su manje aktivne.

Meta-analiza pokazala je da smanjena brzina hoda nastala usled poremećaja balansa i mišićne snage, nezavisno od kognitivnih faktora ima značajan uticaj na veličinu rizika za pad (Menant, et al. 2014). U nedavno objavljenom istraživanju Baydan i sar. pokazano je da smanjena brzina hoda u osoba sa kognitivnim oštećenjima, može biti prediktor višestrukih padova (Baydan, et al. 2020).

Istraživači u Australiji su u 10-godišnjoj longitudinalnoj studiji, na 1126 ispitanika ženskog pola, pokazali značaj primene TUG testa u predikciji nevertebralnih fraktura i fraktura kuka (Kun Zhu, et al. 2011). Zaključili su da je učestalost javljanja nevertebralnih i fraktura kuka, u osoba sa vrednostima TUG testa ispod 10,2 sekunde i BMD-om kuka u fiziološkim granicama bila 19,3% i 32,3%; u osoba sa vrednostima TUG testa preko 10,2 sekunde i sniženom BMD kuka (T-skor ispod 1SD), 31,3% i 50,3%. Učestalost ispitivanih fraktura u pacijentkinja sa TUG testom ispod 10,2 sekunde i sniženom BMD kuka iznosila je 30,1% i 55,9% (Zhu, et al. 2011). Iz navedenog je pokazano da TUG test predstavlja nezavisni

prediktor nevertebralnih i fraktura kuka, i može poslužiti i za skrining pacijenata sa rizikom za frakturu, nezavisno od merenja BMD-a (Zhu, et al. 2011).

U meta-analizi koja je sumirala rezultate 21 istraživanja, predstavljene su srednje vrednosti TUG testa za određenu životnu dob, koje iznose prosečno 8,1 s za osobe od 60. do 69. godina života, 9,2 s, za osobe od 70 do 79.god.životu, i 11,3 s, za osobe preko 80.god.životu (Bohannon, 2006).

Meta-analize novijeg datuma preporučuju upotrebu TUG testa, kao jednostavne alatke za procenu rizika za pad, ali u kombinaciji sa još jednim testom, kako bi se povećala senzitivnost procene rizika (Park, 2017).

Lusardi i sar. (2017) su u meta-analizi procenjivali vrednosti TUG preko 12 sekundi i STS preko 12 sekundi i potvrdili pozitivnu korelaciju sa rizikom za pad.

Izometrička i dinamička snaga mišića su sa godinama sve manje, pri čemu se STS test najčešće upotrebljava za procenu mišićne snage, posebno donjih ekstremiteta, odnosno snage kvadriceps femorisa, u pacijenata sa osteoporozom, kao i u pacijenata sa osteopenijom i sarkopenijom.

Nedavno je održan simpozijum eksperata iz Evrope i Kine, sa ciljem unapređenja strategija lečenja osteoporoze, osteoartritisa i sarkopenije, pri čemu je predložena rutinska klinička upotreba TUG i STS testa u cilju pravovremene identifikacije problema, i primene adekvatnog tretmana (Xia, et al. 2019). Zaključeno je da je identifikacija funkcionalnog statusa neophodna, jer vodi boljem kliničkom tretmanu, ranijoj identifikaciji promene, boljem razumevanju potreba stanovništva, boljoj stratifikaciji pacijenata za kliničke trajale, komparaciji ishoda različitih intervencija, kao većoj adherenciji i motivisanosti pacijenata za lečenje (Xia, et al. 2019).

U našem istraživanju pokazano je da program vežbi poboljšava statistički značajno vrednosti STS i OLST već nakon mesec dana, dok kod pacijentkinja iz KG nisu zabeležene ove promene. Međutim i pored ovog značajnog napretka, pacijentkinje su prema normativnim vrednostima ovih testova za datu životnu dob (Shumway-Cook, et al. 2000; Tiedemann, et al. 2008) i dalje bile u riziku za pad. Tek nakon 12 nedelja praćenja, prema vrednostima TUG testa pacijentkinje iz VG nisu bile u visokom riziku za pad, dok su prema vrednostima STS testa i dalje bile u povećanom riziku, ali značajno manjem nego na početku istraživanja. Ovaj podatak nedvosmisleno upućuje na neophodnost dužine trajanja treninga, odnosno značajnost hroničnog i kontinuiranog vežbanja kroz duži vremenski period. Napretci koji su postignuti, su iako značajni, nedovoljni i potreban je dalji nastavak treninga da bi se ostvarili željeni ciljevi. TUG i STS su se prosečno smanjili za 2,29s i 2,96s u VG, dok su u KG ove promene iznosile 0,10s i 0,29s.

Korelaciona analiza između primenjenih testova potvrdila je pozitivnu korelaciju između TUG testa i STS testa (tabela 15).

Neophodno je naglasiti da su u ovo istraživanje uključene postmenopauzalne ne-hospitalizovane, odnosno ambulantne pacijentkinje, potpuno samostalne u obavljanju svih aktivnosti dnevnog života i sposobne da hodaju bez pomagala, a čije su prosečne vrednosti TUG i STS testova bile preko 12 s, u obe ispitivane grupe (za TUG 12,96±2,46 u VG i 13,26±2,47 u KG, odnosno za STS 15,65±3,68 u VG i 16,74±3,95 u KG), što ukazuje na rizik od pada koji je prisutan u naših pacijentkinja u komparaciji sa normativnim vrednostim testova (Xia, et al. 2019; Khalid, et al. 2016; Shumway-Cook, et al. 2016; Tiedemann, et al. 2008; Springer, et al. 2007). Ovo je prva studija u kojoj je dokumentovana prosečna vrednost TUG testa u postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom, bez frakture, u Srbiji, u urbanoj sredini.

U našem istraživanju nakon mesec dana nisu uočena statistički značajna poboljšanja za vrednosti TUG testa u obe grupe, što ukazuje na neophodnost dužeg vežbanja u cilju

postizanja benefita od primenjenog kineziterapijskog tretmana. Ova poboljšanja uočena su nakon 12 nedelja. Zaključili smo da je uspešnost terapije dozno zavisna od faktora vremena. Međutim regresioni modeli korigovani za početne vrednosti testova TUG, STS i OLST, BMI, vitamin D, PTH, Ca i životnu dob su potvrdili rezultate koje smo dobili samom komparacijom između grupa u periodima praćenja, ali su pokazali i da nakon 4 nedelje u VG grupi postoji statistički značajno poboljšanje u svim testovima, uključujući i TUG (tabela 7). To nas je ohrabrilо da zaključimo da je svakako i kratkotrajni program od mesec dana dao očekivane rezultate, kao i da je potreban kontinuitet da bi se efekti poboljšali i održali.

Istraživači iz Turske su ispitivali efekte vežbi balansa na statički i dinamički balans kod pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, nakon 12- nedeljnog treninga, trajanja 1 h dnevno, učestalosti 3 puta nedeljno (Dizdat, et al. 2018). Pacijentkinje, životne dobi 50-70.god., bile su raspoređene u 3 grupe, pri čemu je jedna grupa imala vežbe balansa, druga vežbe snage, a treća aerobni trening. Nakon 12 nedelja, statistički značajno poboljšanje za vrednosti TUG i BBS (Berg Balnace) testa, kojima je praćen dinamički balans, bilo je prisutno samo u prvoj grupi koja je sprovodila vežbe balansa. U istoj grupi došlo je i do poboljšanja vrednosti statičkog balansa, čija su merenja vršena na balans platformi (Dizdat, et al. 2018).

Taxiera i sar.(2010) su pokazali efikasnost osamnaestonedeljnog treninga snage donjih ekstremiteta (DE) i propriocepcije u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, pri čemu su zabeležena statistički značajna poboljšanja za TUG i BBS test, kao i kvalitet života.

Burke i sar. (2010) su potvrdili efikasnost vežbi balansa i snage DE u poboljšanju posturalne kontrole i mišićne snage u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, nakon 8 nedelja treninga. Očuvanje propriocepcije donjih ekstremiteta, posebno kolena i skočnog zgloba, veoma je važan faktor u regulaciji mišićne kontrakcije i potpune aktivacije, i signifikantno je povezan sa mišićnom slabosti i poremećajima propriocepcije, usled artikularne deaferentacije i posledične diskoordinacije (Van Der Esch, et al. 2007). Ova korelacija upravo objašnjava kako program snage uslovljava adekvatan balans i prevenira nastanak pada.

Miko i saradnici (2017) su pokazali efekte 12-mesečnog senzomotornog programa vežbi na posturalnu kontrolu i frekvenciju pada u osteoporotičnih pacijentkinja u Mađarskoj, koristeće TUG test i Berg-Balans test. Iste testove primenjivali su i istraživači iz Brazila, pokazujući značajne efekte vežbanja nakon 12 meseci (Madureira, et al. 2007).

Swanenburg i sar. (2007) su dokazali da 3-mesečni program vežbi balansa i istezanja u kombinaciji sa suplementacijom vitamina D i kalcijuma, rezultuje smanjenjem frekvencije pada kod pacijentkinja sa osteoporozom ili osteopenijom, životne dobi preko 65.godina. Kako su pratili pacijente nakon 6, 9 i 12 meseci, utvrdili su da je kod pacijentkinje iz eksperimentalne grupe bilo čak 89% manje padova(experimentalna grupa pre/posle 8/1 pad; kontrolna grupa pre/posle 5/6 padova) (Swanenburg , et al. 2007).

U poređenju sa drugim istraživanjima, početne vrednosti TUG testa naših ispitanica su više, ali su značajno niže, u odnosu na pacijentkinje sa osteoporozom i frakturom kuka (Galetić, 2016; Kocić, et al. 2017). Istraživanje sprovedeno u Novom Sadu, pokazalo je da su pacijentkinje sa osteoporozom i prelomom kuka imale prosečne vrednosti TUG testa pre rehabilitacije 31,3 s, dok je posle 6 meseci od sprovedenog rehabilitacionog tretmana ovo vreme iznosilo 13,6s (Galetić, 2016).

Ipak ove vrednosti nam mogu poslužiti samo orijentaciono, jer naše pacijentkinje nisu imale prelom i stacionarnu rehabilitaciju. Još jedno slično istraživanje obuhvatilo je 100 postmenopauzalnih pacijentkinja iz Niša, prosečne životne dobi preko 65 godina, pokazavši prosečne srednje vrednosti za TUG test 16,40s, a STS test 12,00 s. Kod pacijentkinja nije merena BMD, metodom centralne denzitometrije (Kocić, et al. 2017).

Kako su prosečne početne vrednosti TUG testa u našem istraživanju bile veće od “cut of” vrednosti normiranih za mobilnost i rizik za pad za datu životnu dob, zaključeno je da naše pacijentkinje nisu u adekvatnoj fizičkoj formi, odnosno da su u većem riziku za pad od pacijentkinja iste životne dobi u drugim populacijama (Springer, et al. 2007; Shumway-Cook, et al. 2000). Ipak potrebna su dalja istraživanja u cilju definisanja ovih vrednosti i u ruralnoj sredini, i komparacije istih sa populacijom pacijentkinja iz susednih evropskih zemalja.

Interesantno je da je primećeno statistički značajno poboljšanje za vrednosti STS testa kod pacijentkinja iz KG, nakon 12 nedelja, koje nisu bile uključene u program vežbi, što verovatno predstavlja uticaj farmakoterapije (bisfosfonatima i vitaminom D), što je potvrđeno nedavno u istraživanjima (Harada, et al. 2015; Li, et al. 2018.) U istraživanju Harade i sar. (2015) u retrospektivnoj, kontrolisanoj kohorti, pokazano je da monoterapija alendronatom, ne samo da popravlja BMD, već i mišićnu masu, merenu praćenjem promena apendikularne mišićne mase (ASM) i skeletnog indeksa (SMI), DXA metodom.

U nedavno objavljenom istraživanju Nana i sar. (2018), pokazan je značajan uticaj suplementacije alfa-kalcidolom na poboljšanje mišićne mase u pacijentkinja životne dobi preko 65 godina, koje su imale osteoporozu ili osteopeniju. Signifikantno poboljšanje mišićne snage, praćene TUG i STS testom, verifikovano je 3 meseca nakon suplementacije. Prosečna vrednost ukupnog poboljšanja TUG i STS testa iznosila je 0,76 s, odnosno 1,18s. Pacijentkinje kojima je bilo potrebno više od 12 s da reprodukuju ove testove su imale veći rizik za pad i zadobijanje nevertebralne frakture, zaključili su istraživači (Nan, et al. 2018). Naše poboljšanje je u korelaciji sa ovim istraživanjem posmatrano za STS test, ali ne i za TUG test.

Grupa saradnika iz Turske ukazala je na uticaj vrednosti vitamina D na funkcionalne parametre praćene TUG i STS testom, zaključivši da su pacijentkinje sa serumskim vrednostima 25OHVITD ispod 15 ng/ml imali statistički veće vrednosti TUG i STS testa (16,0s za TUG i 18,2 s za STS), u komparaciji sa pacijentkinjama čije su serumske vrednosti 25OHVITD bile preko 15ng/ml (13,8 za TUG i 16,0 za STS) (Nurdan, et al. 2014). U pomenutom istraživanju potvrđena je korelacija između vitamina D i mišićne snage i balansa, što ukazuje na potrebe za adekvatnom suplementacijom, ali istraživanje se nije bavilo uticajem programa vežbi na ove funkcionalne ishode.

Istraživači iz Švajcarske i Nemačke su na najvećem broju ispitanika, pokazali su da 3-mesečna terapija alfa-kalcidolom i alendronatom značajno smanjuje rizik za pad i prelom. Istraživanjem je obuhvaćeno 2579 učesnika, pri čemu je 92,4 % ispitanika bilo ženskog pola, a od toga je njih 89,7% imalo postmenopauzalnu osteoporozu. Njihova prosečna životna dob iznosila je 74,1 god., prosečan BMI 26,4 kg/m², i kod 55% pacijentkinja zabeležena je pozitivna anamneza za pad u prethodnoj godini. Prevalenca vertebralnih i nevertebralnih fraktura iznosila je 62,9%, odnosno 61,4%. Procenat pacijenata sposobnih da izvedu STS test za manje od 10 s, nakon 3 meseca, porastao je sa 26,3% na 42,9%, dok se procenat za sposobnost izvođenja TUG testa za manje od 10 s povećao sa 30,6% na 55%. Ukupno poboljšanje STS testa iznosilo je 2,3s, a TUG testa 2,4s (Schacht and Ringe, 2011).

U našem istraživanju u KG poboljšanje STS testa je bilo manje nego u gore navedenim istraživanjima, dok poboljšanje TUG testa nije registrovano. Poboljšanje vrednosti STS testa kod naših pacijentkinja iz KG, može se objasniti uticajem medikamentne terapije na ishod funkcionalnog statusa. Ipak komparativnom analizom efikasnosti terapijskih tretmana između VG i KG, statistički značajno funkcionalno poboljšanje imale su pacijentkinje koje su vežbale.

Za razliku od pacijentkinja iz KG, pacijentkinje iz VG su imale i statistički značajno poboljšanje za vrednosti OLST testa. Za procenu statičkog balansa tokom mirnog stajanja korišćen je OLST, koji se brzo i lako izvodi, ne zahteva dodatnu propratnu opremu, osim štoperice. Dobijeni rezultati pokazali su statistički značajno poboljšanje u oba perioda

praćenja, kako nakon 4, tako i nakon 12 nedelja u VG. U KG ova poboljšanja nisu verifikovana.

Logističkom regresionom analizom potvrđen je značajan efekat vežbanja. Pacijentkinje koje nisu vežbale 12 nedelja imale su 10 puta veću šansu za lošije vrednosti STS testa (preko 12s), 9,14 puta veću šansu za lošije vrednosti TUG testa (preko 12s), i 7 puta veću šansu za lošije vrednosti OLST testa (ispod 10s) u modelu koji je korigovan za važne faktore rizika (godine života, vitamin D, BMI, ranu menopauzu i kasnu menarhu) (tabela 16, 17, 18). Ovakvi podaci nedvosmisleno upućuju na neophodnost uključivanja naših pacijentkinja u specifično dizajniran program vežbi što je pre moguće.

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu OLST testa

Sa starenjem, a posebno u pacijenata sa dijagnostikovanom osteoporozom dolazi do postepenog smanjenja funkcije vizuelnog, propioceptivnog i vestibularnog sistema, i smanjenja sposobnosti za brzu i efikasnu kontrakciju mišića DE, što ima za posledicu poremećaj statičkog i dinamičkog balansa, i manifestuje se otežanim stajanjem i hodom (Honaker and Shepard, 2010.) Pokazano je da su loš balans i mobilnost značajni prediktori padova i mortaliteta kod žena starijih od 65 i više godina života (Blain, et al. 2010). Pokazano je takođe da starije osobe koje su doživele pad imaju lošiji balans i manju snagu mišića DE od onih osoba koje nikada nisu doživele pad. Kontrola balansa i posturalna kontrola su od suštinskog značaja za pokretljivost i stabilnost i njihovi deficiti dovode do povećanog rizika za pad (Noohu, et al. 2014).

Sve češće se govori o važnosti prevencije pada, ali se na žalost, još uvek više vremena posvećuje lečenju njegovih posledica. Bez obzira na statističke pokazatelje, pad nije prirodni deo procesa starenja, te se kroz različite programe vežbi može uticati na njegovo smanjenje.

U ovom istraživanju pokazan je značajan uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na poboljšanje statičkog balansa merenog OLST testom, a samim tim i smanjenje rizika za pad kod pacijentkinja sa osteoporozom (Springer, et al. 2007; Michikawa, et al. 2009).

U randomizovanom istraživanju Gianoudisa i sar. proučavan je efekat 12 mesečnog programa vežbi balansa i vežbi sa opterećenjem sopstvenom težinom, u 162 ispitanika, prosečne životne dobi 67 godina, sa faktorima rizika za pad i/ili niskim BMD. Istraživači su zaključili da ovakav program vežbi ukoliko se sprovodi 3 puta nedeljno dovodi do značajnog poboljšanja BMD na vratu butne kosti i lumbalne kičme, mišićne snage i dinamičkog balansa, procenjivanog STS testom, u poređenju sa kontrolom (Gianoudis, et al. 2014).

U meta-analizi koja je analizirala 12 randomizovanih kontrolisanih studija (RCT) zaključeno je da se najbolji efekti na funkcionalni status i posebno prevenciju pada, ostvaruju primenom kombinovanih vežbi, prvenstveno treninga snage i balansa, sa posebnim osvrtom na značaj dugotrajne primene treninga. Savetovana je primena programa minimum 6 meseci i minimum 2 puta nedeljno (Silva, et al. 2013).

Od kada su Gehlsen i sar. predložili OLST test kao senzitivnu metodu za procenu fragilnosti u osoba starije životne dobe (Gehlsen, et al. 1990), ovaj test je široko primenjivan (Lundin, et al. 2014; Oliveira, et al. 2018; Ourigan, et al. 2008; Navennkumar and Krishnakumar, 2019; Mancini and Horak, 2010; Michikawa, et al. 2009; Komatsu, et al. 2006; Bergman, et al. 2001; Vellas, et al. 1997). Prema podacima iz literature, osobe koje nisu u stanju da održe balans na jednoj nozi u trajanju od 5 sekundi, imaju 2,1 puta veći rizik za pad od individua koje mogu uraditi ovaj test za duže vreme (preko 5 sekundi) (Navennkumar and Krishnakumar, 2019; Bergman, et al. 2001, Vellas, et al. 1997).

U našem istraživanju 7,2% pacijentkinja je imalo vrednosti OLST testa ispod 5 sekundi.

Jonson i sar. (2004) su identifikovali 2 odvojene posturalne faze neophodne za izvođenje OLST. Tokom dinamičke faze, nastaje rapidno smanjenje varijabilnosti amplitude sile zemljine teže, zbog posturalnog prilagođavanja ispitanika da popravi svoju ravnotežu, a koje nastupa pri prebacivanju težine na 1 nogu. Promene u amplitudi sile nastaju u prvih 5 s, zaključili su autori. Tokom druge faze, statički posturalni ekvilibrium ima zadatak da održi balans na 1 nozi, i varijabilnost sile je minimalna. Zaključeno je da stariji pacijenti imaju poteškoće sa statičkom fazom, uslovljenih otežanim posturalnim prilagođavanjem tokom prve faze, zbog veće varijabilnosti amplitude sile gravitacije i/ili mišićno-skeletnog statusa. Predloženo je da prvih 5 s bude od presudnog značaja za tumačenje vrednosti OLST u starijih pacijenata (Jonson, et al. 2004).

Springer i sar. su predložili normativne vrednosti testa pokazavši da je prosečno vreme izvođenja testa zavisno od godina života, i treba da iznosi 25,1 s, u zdravih osoba životne dobi između 60 i 69 godina života (Springer, et al. 2007), dok se ono dramatično smanjuje posle 7. dekade života (Lundin, et al. 2014). Prosečne predložene normativne vrednosti testa za pacijentkinje životne dobi 40-49g. iznose 40,4s, sa otvorenim očima, odnosno 7,4s, sa zatvorenim očima, za pacijentkinje dobi 50-59g, 36,0s, odnosno 5,0s, za pacijentkinje 60-69 g. 25,1s, odnosno 2,5s, za pacijentkinje 70-79 g, 11,3s, odnosno 2,2s. Isti autori predložili su upotrebu ovog testa za kvantifikaciju statičkog balansa u cilju procene "fraility" sindroma, participacije u aktivnosti svakodnevnog života, procene funkcije stajanja i hoda, i mogućnosti nastanka pada i preloma. Lundin i sar. (2013) su zaključili da OLST test ima prediktivnu sposobnost sličnu kao FRAX, dok je korelacija vrednosti OLST i rizika za nastanak frakture kuka bila linearna. Ova kohorta obuhvatila je 351 ispitanicu, životne dobi 69 do 79 godina života, čijim testiranjem je utvrđeno da se povećanjem OLST za 1 sekund, smanjuje mogućnost nastanka frakture kuka za 5 %. Ispitanice su podeljene u 2 grupe, prema rezultatima testa, u zavisnosti od toga da li su isti mogle izvesti za manje od 10 sekundi, ili su mogle duže od 10 sekundi izvoditi test. Pokazano je da one pacijentkinje koje imaju vrednosti na OLST manje od 10 sekundi, imaju 2,6 puta veći rizik za nastanak frakture kuka (Lundin, et al. 2013).

U studiji Karkkainena i sar., bili su uključeni pacijenti starije životne dobi, veće telesne težine, i BMI, i sa većim prevalencom sekundarne osteoporoze, pri čemu je 8,1% ispitanika, sa rezultatima OLST manjim od 10 sekundi, imalo frakturu kuka, dok je čak 19,4% ispitanika čiji su rezultati OLST iznosili manje od 10 sekundi imalo ovaj prelom. Istraživači su ukazali na aditivni efekat OLST i FRAX-a, koji rezultira 2 puta većom učestalošću frakture kuka (Karkkainen, et al. 2008).

Grupa autora je predložila da maksimalno vreme za izvođenje testa bude limitirano i iznosi 45 s (Hurvitz, et al. 2001). U našem istraživanju nijedna pacijentkinja nije uspela da uradi test za 45s.

U našem istraživanju kao "cut of" vrednost posmatrano je vreme od 10 s, kako bismo postigli univerzalnost u grupama.

Uzimajući u obzir normativne vrednosti za OLST (Lundin, et al. 2014; Oliveira, et al. 2018; Ourigan, et al. 2008; Navennkumar and Krishnakumar, 2019; Mancini and Horak, 2010; Michikawa, et al. 2009; Komatsu, et al. 2006; Bergman, et al. 2001; Vellas, et al. 1997), u našem istraživanju je zaključeno da pacijentkinje sa postmenopauzalnom osteoporozom u Srbiji imaju visok rizik za pad (prosečno u VG/ $8,66 \pm 3,17$, odnosno KG/ $8,70 \pm 2,62$).

U kohorti sprovedenoj u Finskoj, pokazano je da nemogućnost stajanja na dominantnoj nozi sa otvorenim očima, 10 sekundi, 9 puta povećava mogućnost nastanka frakture kuka (Karkkainen, et al. 2008).

U našem istraživanju čak 66% pacijentkinja imalo je vrednosti OLST testa ispod 10 sekundi u VG, i 72 % u KG. Kako je ovo prva studija koja je pokazala prosečne vrednosti OLST testa za postmenopauzalne pacijentkinje sa osteoporozom, bez frakture, u Srbiji, ove vrednosti bi

mogle da posluže kao normativne, za našu grupu ispitanica. Ipak, randomizovane studije sa većim brojem ispitanica, koje bi uključivale pacijentkinje iz ruralnih i urbanih sredina, kako onih sa osteoporozom, tako i sa osteopenijom i zdravih ispitanica su neophodne u budućnosti. Nameće se i potreba za definisanjem uniformnog modela za praćenje prediktivnih faktora rizika za pad i njegovom implementacijom u vodiče dobre kliničke prakse u Srbiji, čime bi se značajno olakšale mogućnosti evaluacije, praćenja i modifikacije ovih faktora. Kako je OLSST dobar prediktor pada, i ima dobru test-retest reproducibilnost i pouzdanost (Wolinsky, et al. 2005; Franchignoni, et al. 1998), a jednostavan je i brzo se izvodi, trebalo bi da bude rutinski primenjivan u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

U studiji koja se bavila prevencijom pada pokazano je da vežbe balansa koje se sprovode 3h nedeljno imaju prednost u odnosu na ostale tipove vežbi u cilju prevencije pada i smanjenja incidence istog (Duchkam, et al. 2015).

Procena faktora rizika za pad treba da bude integralni deo prevencije nastanka istih u osoba sa osteoporozom i da podrazumeva primenu određenih testova za procenu hoda, mišićne snage i balansa, analizu ranijih povreda, hroničnih bolesti, primene lekova, sagledavanje problema sa sluhom i vidom, problema i prepreka u svakodnevnom okruženju, kognitivne i dr. poremećaje.

Rezultati ove studije ukazuju na značaj primene multikomponentnog programa vežbi, gde svakako značajno mesto zauzimaju vežbe balansa, u cilju korekcije gore navedenih faktora. Multimodalan program koji pored vežbi balansa, sadrži i vežbe snage umerenog do visokog intenziteta u kombinaciji sa aerobnim treningom ostvaruje značajne efekte na muskuloskeletni status i neophodna je njegoa implementacija u vodiče dobre kliničke prakse, ali i motivacija pacijenata za redovnim i dugotrajnim sprovođenjem istog, kao i promenom životnih navika .

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu FES-I testa

Ovo kontrolisano, randomizovano istraživanje, sa striktnim kriterijumima za uključanje i isključenje iz istog, je prvo u Srbiji, koje je pokazalo da specifično dizajniran program vežbi poboljšava funkcionalni status pacijentkinja sa osteoporozom nakon 4 i 12 nedelja praćenja. Takođe ovo je prvo randomizovano istraživanje u našoj populaciji, koje pokazuje uticaj ovakvog programa na smanjenje straha od pada i povećanje znanja o osteoporozu.

Strah od pada direktno je povezan sa samopouzdanjem pri izvođenju svakodnevni životnih aktivnosti (Kocic, et al. 2016), pri čemu direktno vodi restrikciji u obavljanju istih. Dosadašnja istraživanja su pokazala da je mala fizička aktivnost u direktnoj korelaciji sa većim strahom od pada u starijih osoba (Jefferis, et al. 2014; Mendes da Costa, et al. 2012). Jefferis i sar.(2014) su pokazali da veće prisustvo straha od pada i smanjen stepen obavljanja svakodnevni aktivnosti nisu povezani sa pozitivnom anamnezom o prethodnom padu. Strah od pada ima dugoročne negativne konsekvence na fizičko i fiziološko funkcionisanje u pacijenata starije životne dobi, kao što su izbegavanje svakodnevni aktivnosti, (Jefferis, et al. 2014; Mendes da Costa, et al. 2012), gubitak nezavisnosti i smanjenje kvaliteta života (Lach, 2005; Kumar, et al. 2014). Strah od pada može se javiti nakon negativnog iskustva posle pada, ali i bez prethodnog negativnog iskustva vezanog za pad (Lach, 2005). Istraživanja su pokazala da je prevalenca straha od pada zastupljena od 21% do 85% kod osoba koje su prethodno doživele pad, a 33% do 46% kod osoba koje nisu prethodno padale (El-Río-Valeiras, et al. 2016; Scheffer, et al. 2008). Grupa autora je zaključila da 2 ili više prethodno doživljena pada, predstavljaju nezavisni prediktor za povećanje straha od pada, merenog FES upitnikom (Lach, 2005; Scheffer, et al. 2008). Iako strah od pada, sam po sebi, ne predstavlja problem, ukoliko vodi izbegavanju sprovođenja svakodnevni aktivnosti

dnevnog života, odnosno redukciji funkcionalne mobilnosti, postaje faktor rizika i prediktivni faktor budućih padova (Deshpande, et al. 2008; Kempen, et al. 2008). Kao što je već više puta navedeno u ovom istraživanju, razlozi za povećanim rizikom od pada u osteoporotičnih pacijenata su multifaktorijalni, uključujući medicinske, fiziološke i faktore sredine (Rubenstein, et al. 2006).

Tokom fiziološkog procesa starenja, smanjenje mišićne mase i snage, pogoršanje balansa i redukcija mobilnosti, su razlozi smanjenja nezavisnosti u svakodnevnom funkcionisanju, koji su kod pacijenata sa osteoporozom još izraženiji. Pokazano je da je učestalost padova i straha od pada, povezana sa potrebom za institucionalizacijom u starijih osoba (Baranzini, et al. 2009). Statistike pokazuju da preko 50% osoba, koje žive u domovima za starija lica doživi nekoliko padova godišnje (Baranzini, et al. 2009). Istraživanja daju podatke o većoj prisutnosti straha od pada u osoba ženskog pola (Mendes da Costa, et al. 2012; Scheffer, et al. 2008; Kumar, et al. 2014; Malini, et al. 2016). Kocić i sar. (2016) su dokazali signifikantnu povezanost straha od pada, merenog FES-I upitnikom i funkcionalnog statusa, merenog BBS, STS i TUG testom u pacijentkinja životne dobi preko 65 godina.

Nedavno publikovan Kohranov revijalni rad pokazao je da ne postoji dovoljno dokaza koji ukazuju na uticaj vežbanja na smanjenje straha od pada i uputili su na dalja istraživanja (Kendrick, et al. 2014).

Imajući u vidu prevalencu padova godišnje, i povećan strah od pada, važno je razumeti kako je strah od pada povezan sa funkcionalnim statusom pacijentkinja sa osteoporozom, u cilju razvoja boljih preventivnih strategija za nastanak istih. U našem istraživanju pokazano je da specifično dizajniran program vežbi statistički značajno smanjuje strah od pada, meren FES-I upitnikom, u komparaciji sa vrednostima iz KG. Korelaciona analiza primenjenih testova potvrdila je pozitivnu korelaciju između TUG i STS testa sa FES testom (tabela 25), što dodatno potvrđuje činjenicu da bolja fizička spremnost smanjuje strah od pada kod naših pacijentkinja. Povećanjem snage DE i brzine hoda, smanjuje se strah od pada.

Merenja su rađena pre započinjanja terapije i 3 meseca od primene iste, pri čemu su se vrednosti FES-I testa statistički značajno smanjile u periodu praćenja u ukupnoj populaciji, odnosno potvrđena je značajna promena vrednosti i u kontrolnoj grupi pacijentkinja, koje nisu vežbale. Ovakvo poboljšanje objasnili smo učinkom medikamentne terapije primenjene u naših pacijentkinja.

Prema prosečnoj vrednosti FES-I testa u ispitivanoj populaciji ($23,74 \pm 4,85$) zaključeno je da su naše pacijentkinje umereno zabrinute, što je moglo predstavljati razlog u limitaciji svakodnevnih aktivnosti. Uvidom u odgovore i skorove, nije bilo nijedne pacijentkinje koja je imala maksimalnu zabrinutost (64 skor), kao nijedne sa minimalnom zabrinutosti (16 skor). Upitnik je popunjavao u okviru sastavnog intervjua, pri razgovoru između pacijentkinje i lekara, a ne samostalno, što je doprinelo većoj komplijansi (100% popunjeno) (Hauer, et al. 2010).

Dobra fizička spremnost može doprineti održanju funkcionalne nezavisnosti u starijoj populaciji i definiše se kao kapacitet individue da odgovori na aktivnosti dnevnog života sigurno i nezavisno, bez zamora (Rikli, et al. 2004). Koncept je multidimenzionalan i podrazumeva adekvatnu mišićnu snagu, aerobne aktivnosti, fleksibilnost, odnos masnog i mišićnog tkiva, dinamički i statički balans i mobilnost (Rikli, et al. 2004).

Možemo slobodno reći da je sa istom idejom koncipiran program u našem istraživanju, doprineo pored gore navedenih promena, i povećanju znanja o osteoporozi, merenog OKAT-S upitnikom, validiranog za srpsku populaciju (Tadić, 2012).

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu OKAT-S upitnika

Kako se osteoporozna naziva i tihom epidemijom 21.veka, osnovni razlog zbog kojeg je neophodna ne samo edukacija zdravstvenih radnika, već i samih pacijenata jeste smanjenje posledica ove bolesti, kao što su rizik za pad i prelom. Razumevanje prevencije, nastanka i progresije bolesti, sagledavanje njenih posledica, kao i modifikacije istih, su od ključne važnosti za naše pacijente u cilju povećanja svesnosti o neophodnosti prevencije iste, sprovođenju preventivnih rehabilitacionih programa, kontrole faktora rizika, skrininga DXA BMD metodom, povećavanju samopouzdanja i samokontrole tokom lečenja (Werner, 2005), povećanja adhezije ka lečenju, smanjenja straha od pada i što veće nezavisnosti u svakodnevnom funkcionisanju. Uzevši u obzir sve ove parametre, smatrali smo da je edukacija pacijentkinja i povećanje znanja o osteoporozu, ne manje važan faktor od ostalih, značajan za kompletan funkcionalni ishod.

U našem istraživanju OKAT-S test se statistički značajno povećavao u ispitivanoj populaciji. Statistička značajnost uočena je u obe grupe, nakon 3 meseca. Komparativnom analizom efikasnosti između grupa zaključeno je da su statistički bolje rezultate ostvarile pacijentkinje iz VG grupe, jer su one u svakodnevnoj komunikaciji sa medicinskim osobljem imale prilike da unaprede svoje znanje značajnije. Program u VG grupi je bio efikasniji. Ipak kako su i pacijentkinje iz KG dolazile na redovne kontrole i bile motivisane da se leče i one su ostvarile značajan boljitak.

Pacijentkinje nisu imale programe i časove edukacije, već su kroz specifično dizajnirani program vežbi i svakodnevnu saradnju sa stručnim fizioterapeutima i redovnim lekarskim kontrolama, povećavale svest i usvajale znanja o ovoj bolesti. Sve pacijentkinje bile su izuzetno motivisane i zadovoljne specifično dizajniranim programom vežbi, kao i saradnjom sa lekarom i terapeutom, te smatramo da je upravo takva saradnja odgovorna za veće usvajanje znanja o osteoporozu, mereno OKAS-S upitnikom.

Prosečna vrednosti OKAT-S tačnih odgovora u našem istraživanju iznosila je 3,79 (SD=1,51), što je predstavljalo 42,11% od maksimalno mogućih tačnih odgovora i odgovarala je skromnom znanju o osteoporozu.

Pre početka ispitivanja nije bilo nijedne pacijentkinje sa svim pogrešnim ili svim tačnim odgovorima u obe ispitivane grupe. Nakon evaluacije koja je učinjena posle 3 meseca, u ukupnoj populaciji 26% pacijentkinja imalo je maksimalni broj tačnih odgovora. Ova zastupljenost je varirala među grupama značajno, odnosno maksimalno znanje usvojile su pacijentkinje iz VG grupe u najvećoj meri. U VG grupi nakon 3 meseca 51% ispitanica imao je maksimalno znanje, mereno OKAT-S testom, a samo 2% ispitanica u KG. Ovakva razlika potvrđuje efikasnost terapije u VG.

Korelaciona analiza između testova potvrdila je negativnu korelaciju između TUG testa i OKAT-S testa (tabela 15), što dodatno objašnjava učinak na stepen znanja postignut u grupi koja vežba.

Vujasinović Stupar N. i sar. (2017) su ispitivali znanje o osteoporozu kod 132 postmenopauzalne pacijentkinje u Srbiji, ali se nisu bavili uticajem bilo kakve intervencije ili programa na promenu istog (Vujasinović-Stupar, et al. 2017). Njihovo istraživanje je pokazalo da je znanje pacijentkinja variralo i iznosilo je od 27,94% do 74,26% tačnih odgovora, pri čemu je prosečan OKAT-S skor bio 4,5 (SD=2,55), što je predstavljalo 50% od maksimalno mogućeg skora. Samo 2 pacijentkinje (1,47%) su dale sve pogrešne odgovore, dok je 11(8,09%) njih odgovorilo sve sa potpunom tačnošću. Kod 40,91% pacijentkinja je registrovana postmenopauzalna osteoporozna, dok je kod 34,51% registrovana prethodna fraktura. Istraživači su zaključili da je znanje pacijentkinja iz urbane sredine, u Srbiji, nisko i da su potrebna dalja istraživanja u cilju definisanja adekvatnih programa i intervencija koje će ovo znanje povećati, odnosno smanjiti mogućnosti posledica osteoporozne (Vujasinović-Stupar, et al. 2017). Naši rezultati o prosečnom znanju su u korelaciji sa

prethodno opisanim istraživanjem, a naša intervencija je pokazala kako se isto menja u skladu sa primenom programa.

Istraživanje koje je sprovedeno u Beogradu, i testiralo je 250 studentkinja Farmaceutskog fakulteta, pokazalo je nizak stepen znanja o osteoporozu, sa skorom od 41,55% od maksimalnog (Tadic, et al. 2012), slično kao u našem istraživanju.

Sva ova istraživanja sprovedena u Srbiji govore o potrebama za daljom sistematskom edukacijom stanovništva i potrebama za promovisanjem zdravog stila života.

“Osteoporosis Knowledge Assessment Tool”, odnosno OKAT originalno je dizajniran i testiran na populaciji žena Australije, životne dobi od 25 do 44. god., među kojima su takođe zabeležene niske vrednosti upitnika. Pacijentkinje su bile prosečne životne dobi 37,8 god., a postignuti skor iznosio je 44% od maksimalnog (Winzenberg, et al. 2003).

Upozoravajuće nizak stepen znanja o osteoporozu registrovan je u jednom istraživanju u Siriji, gde su testirane studentkinje medicinske škole, čiji je skor iznosio 39,6% (Sayed-Hassan, et al. 2013).

Pokazana je efikasnost primene obrazovanog programa za starije osobe u pogledu promocije znanja i ponašanja (Huang, et al. 2002). Znanje o promenljivim faktorima rizika, kao što su pušenje, nedostatak fizičke aktivnosti, adekvatna nutriticija i suplementacija, kao i drugi, treba da budu meta preventivnih programa (Riaz, et al. 2008).

Korišćeni OKAT-S upitnik je jednostavan, koncizan i lak instrument za procene znanja o osteoporozu. Upitnik je validiran za srpsku populaciju, pokazuje visoku pouzdanost i psihometrijske karakteristike (Tadic, et al. 2012; Winzenberg, et al. 2005), te se može koristiti u svakodnevnoj kliničkoj praksi, kako za procenu znanja o osteoporozu na samom početku lečenja, tako i kroz periode praćenja, u cilju provere i kontrole usvajanja znanja nakon primene različitih intervencija.

OKAT-S je jednako kao i FES-I, popunjavao u intervjuu sa pacijentom, tako da je komplijansa popunjenosti istog bila 100% (Hauer, et al. 2010).

U brojnim istraživanjima je pokazano da postoji nizak nivo znanja o osteoporozu i faktorima rizika za istu, ali još uvek ne postoji revijalni rad ili meta-analiza koja bi ukazala na tip intervencije koja najbolje popravlja isto. Procena znanja o osteoporozu, kao i njegovo povećanje uslovljeno specifično dizajniranim programom vežbi u ovom istraživanju, može poslužiti za definisanje protokola zdravstvenih programa šire populacije.

Edukacija pacijenata o osteoporozu i povećanje svesti stanovništva je neophodno, kako bi pacijenti mogli aktivno da učestvuju u lečenju. Veće znanje o osteoporozu može doprineti smanjenju morbiditeta, mortaliteta, produženju radnog veka i direktnom smanjenju ekonomskih troškova, koji su najčešće posledica pada i preloma. Adherencija ka lečenju može biti povećana i kontinuitet u lečenju održiv, ukoliko se poveća znanje o osteoporozu, što treba da bude predmet daljih istraživanja.

Kod pacijenata sa postmenopauzalnom osteoporozom od izuzetne je važnosti procena rizika za pad, koja treba da bude deo svakodnevnog rutinskog pregleda, a ne privilegija samo određenog broja pacijenata i zadatak samo jednog broja lekara. Ovakva procena treba da podrazumeva: multidimenzionalnu procenu faktora rizika za pad i korekciju potencijalno modifikujućih faktora. Ciljevi i zadaci multidimenzionalne procene treba da budu usmereni ka identifikaciji ovih faktora radi sprovođenja odgovarajućeg programa vežbi.

Rizik za pad u pacijenata sa osteoporozom se smanjuje sa povećanjem nivoa fizičke aktivnosti, što ukazuje na pozitivan efekat fizičke aktivnosti na balans, snagu mišića i parametre hoda. Redovno sprovođenje specifično dizajniranog programa vežbi predstavlja najefikasniju strategiju u prevenciji posledica osteoporoze, odnosno pada i preloma. Preventivni programi vežbi kako kod pacijenata sa postmenopauzalnom osteoporozom, tako i kod pacijenata sa osteopenijom, ali i urednim DXA nalazom u određenoj životnoj dobi, treba da budu bazirani na utvrđivanju faktora rizika za pad i prelom, i na medicini zasnovanoj na

dokazima. Najbolji su multikomponentni programi vežbi usmereni na poboljšanje mišićne snage, balansa, fleksibilnosti i izdržljivosti.

Specifično dizajniran program vežbi, koji je primenjen u našem istraživanju pokazao se efikasnim u poboljšanju funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom, poboljšanjem mišićne snage i balansa, ali i poboljšanju njihovog socijalnog i mentalnog stanja, odnosno smanjenjem straha od pada i povećanjem znanja o osteoporozu. Jedna od njegovih najvećih prednosti je mogućnost njegove šire primene u široj društvenoj zajednici, kako u pacijenata sa osteoporozom, tako i onih sa osteopenijom. Program zahteva malo opreme, ima male materijalne troškove i može lako biti implementiran u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Takođe se može izvoditi i u kućnim uslovima, nakon sprovedene edukacije pacijenta.

Redovna fizička aktivnost mora postati neizostavna mera u svrhu prevencije ne samo pada i preloma u pacijentkinja sa osteoporozom, već u cilju prevencije zdravlja zdravih starijih osoba. Činjenica je da i sama spoznaja o tome da se redovno vežba i čini nešto za svoje zdravlje, povećava samopouzdanje i nezavisnost u svakodnevnom funkcionisanju. Limitiran je broj istraživanja koji se bavi uticajem vežbanja na strah od pada i znanje o osteoporozu. Rezultati našeg istraživanja upućuju na neophodnost timskog rada i saradnje između lekara, pacijenta i fizioterapeuta, jer ista doprinosi povećanju usvajanja znanja o osteoporozu, što povećava komplikansu lečenja i smanjuje mogućnost greške.

U dostupnoj literaturi nema dovoljno randomizovanih, dobro dizajniranih, standardizovanih studija, koje dokumentuju efikasnost multikomponentnih programa vežbi, određenog intenziteta, trajanja i učestalosti na funkcionalni ishod pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom među srpskom populacijom. Ovako koncipiran program vežbi, koji je primenjen u našem istraživanju, ima potencijal da promoviše medicinu zasnovanu na dokazima i ohrabri pacijentkinje sa osteopenijom i osteoporozom da učine nešto za svoje zdravlje.

Dramatično povećanje starije populacije, učestalost osteoporoze u pacijenata oba pola, broj osteoporotičnih fraktura koji se desi u svetu u svakom trenutku, kao i stopa morbiditeta, ali i mortaliteta koje sa sobom nose, nedvosmisleno nameću zaključak o potrebi primene individualizovanih, specifično dizajniranih programa vežbi i sve veće potvrde efikasnosti istih u cilju zaustavljanja progresije i prevencije posledica ove bolesti.

Širenje znanja i dobrih rehabilitacionih programa u budućnosti, trebalo bi da predstavljaju ključne ciljeve u pravcu definisanja globalne strategije za smanjenje rizika za pad i prelom, kako kod pacijenata sa osteoporozom, tako i kod zdravih individua, ali i promocije zdravog starenja. S druge strane, kliničko definisanje funkcionalnog statusa je neophodno u cilju praćenja efikasnosti terapije, odnosno vežbe, kao i modifikacije iste, i testovi primenjeni u ovom istraživanju mogli bi da posluže za izradu protokola za procenu funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom.

Molekularno –genetičko ispitivanje

Uticaj polimorfizama gena rs243866 za MMP-2 i rs3918242 za MMP-9 na funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Osteoporoza je multifaktorska bolest, uzrokovana multiplim genetskim faktorima i faktorima sredine, kao i njihovom interakcijom (Golchin, et al. 2016). Pozitivna porodična anamneza kod bližih srodnika predstavlja jedan od značajnih faktora rizika.

Ispitivanje povezanosti genskih polimorfizama i BMD-a, odnosno rizika od nastanka osteoporoze, i osteoporotičnih preloma počinje 1994.godine (Morrison, et al. 1994). Do sada su ispitivani polimorfizmi za oko 100 gena ("VDR, ER, COL1A1, COL1A2, MTHFR,

MTRR, laktozu, IL-1, IL-1R, IL-6, IL-10, TNF α , TNFR2, TGF β 1, pre-pro NPY, ApoE 4, hormon rasta, receptor hormona rasta, IGF-1, LRP5, LRP6, aromatazu, SHBG, leptin, leptinski receptor, CYP1A1, CYP1B1, CYP17, CYP 19, COMT, TNFRSF1/B, matriks metaloproteinazu, BMP2, BMP4, α 2-HS glikoprotein, androgeni receptor, kalcitonin, kalcitonin receptor, dopaminski receptor D4, paraoksonazu 1 i 2, PTH, PTHR, kalcijum receptor, RIL, IL1R antagonist, SOST, RUNX2/CBFA1, glukokortikoidni receptor, receptor hemokina, matriks GLA protein, ACE1, PPAR γ , PPARGC1, kloto, β 3-adrenergički receptor, CCR3, MCP1, MCP2, Wernerovu helikazu, DLX 6, DBP, kolagenazu, prokolagen tip 1, osteokalcin, osteopontin, FOXC2, perilipin, FR2B, osteoprotegerin, promoter regiju gena za RANKL, sintetazu NO, CbR2, promoter regiju gena za OSCAR, urokinazu, POMC, alkalnu fosfatazu, lipooksigenazu, ALOX 12, ALOX 15, ANKH, fosfodiesterazu, AHSB, R12, RIZ, CLCN7, DRD4, ALDH2, CD38, PLOD1, PAI-1, CALM2, QPCT, ROR2, KIT, farnezil difosfat sintaza, katalaza, GGCX, TNSF11”), (Jeličić, 2008).

Kako je predmet ovog istraživanja bio uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na promenu enzimske aktivnosti MMP-9 i MMP-2 u serumu pacijentkinja sa osteoporozom, jedan deo našeg istraživanja odnosi se na ispitivanje uticaja funkcionalnih polimorfizama u genima za MMP-9 i MMP-2 na ishod primenjenog programa vežbi.

Polimorfizam rs3918242 u promotorskom regionu gena za MMP-9 predstavlja supstituciju citozina timinom na poziciji -1562. Pokazano je da prisustvo T alela povećava aktivnost promotora, a time i ekspresiju MMP-9 gena (Wang, et al. 2018; ElWassefy, et al. 2019).

U promotoru gena za MMP-2 nalazi se polimorfizam rs243866 koji dovodi do zamene guanina adeninom na poziciji -1575. Prisustvo G alela povezano je sa povećanom ekspresijom MMP-2 gena (Usategui, et al. 2019).

Razlikama u ekspresiji MMP-9 i MMP-2 u koštanom i mišićnom tkivu, usled prisustva funkcionalnih genskih polimorfizama (Fiotti, et al. 2009), pokušali smo da objasnimo različit odgovor koštanog i mišićnog tkiva na isti program vežbi.

U našem radu ispitivali smo uticaj polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 kao i rs3918242 u genu za MMP-9 na efikasnost specifično dizajniranog programa vežbi, čije smo benefite potvrdili kroz promenu enzimske aktivnosti MMP-aza i funkcionalnog statusa naših pacijentkinja.

Posmatrana grupa je bila grupa koja je imala specifično dizajnirani program vežbi. Učestalost MMP-2 i MMP-9 polimorfizma bila je ujednačena u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,971$ i $p=0,939$), što je omogućilo sagledavanje učestalosti frekvencije alela za MMP-2 i MMP-9 u ispitivanoj populaciji (grafikon 14 i 15). Upoređivanjem navedenih polimorfizama za MMP-2 i MMP-9 sa funkcionalnim testovima, TUG, STS i OLST, nakon 12 nedelja primene programa, nije utvrđena statistički značajna korelacija između ovih PM i funkcionalnog ishoda. Vrednosti testova u odnosu na MMP-2 i MMP-9 polimorfizam kod pacijentkinja koje su vežbale se nisu statistički značajno razlikovale. Distribucija genotipova i alela polimorfizama za MMP-2 i MMP-9 nije pokazala statistički značajne rezultate. Kada su analizirane sve ispitanice u ukupnom uzorku (97) i kada su iz analize isključene pacijentkinje sa prekomernom telesnom težinom (BMI preko 27) zaključeno je da postoji značajna povezanost genotipa MMP-2 sa rezultatima postignutim na OLST testu pre početka vežbanja ($p=0,032$). Ispitanice genotipa GG postigle su statistički značajno lošije rezultate od onih koje imaju genotip GA ili AA ($8,25\pm 3,08$ vs $9,90\pm 2,67$).

Kako u ispitivanoj populaciji za MMP-2 dominira GG genotip (62,6%), to znači da većina pacijentkinja ima genetske predispozicije za lošijim balansom, odnosno da žene koje imaju ređi alel za MMP-2 imaju bolje rezultate u OLST.

U studiji Fotija i sar. (2009) prvi put je pokazana asocijacija polimorfizma MMP-9 (Cytosine-Adenine microsatellite 13-27 CA) i treninga snage, kod zdravih ispitanika u Italiji. Istraživači su primenili 24- nedeljni multikomponentni program vežbi. Intenzitet vežbanja je

povećavan postepeno, tako da je prve 3 nedelje podrazumevao adaptaciju na vežbu, narednih 14 nedelja primenjen je progresivni porast intenziteta vežbi, da bi poslednjih 7 nedelja bio primenjen najveći nivo opterećenja. Maksimalna izometrijska snaga kvadricepsa merena je dinamometrijom. Povezanost između odgovora na primenjeni trening i polimorfizama u genu za MMP-1 (G+/- u -1607) i MMP-3 (5A/6A u -1171) nije potvrđena (Fotti, et al. 2009).

Prisustvo i značaj polimorfizama u genima za MMP-aze ispitivano je u nekoliko različitih bolesti, pri čemu su rezultati kontradiktorni (Perez, et al. 2015). Potvrđena je povezanost različitih polimorfizama u genu za MMP-9 i infarkta miokarda (Perez, et al. 2015), diskus hernije (Jing, et al. 2018.), peridontitisa (Hardi, et al. 2017).

Istraživanja novijeg datuma potvrdila su korelaciju između polimorfizma rs3918242 u genu za MMP-9 i moždanog udara (Wang, et al. 2018), kao i korelaciju ovog PM i sniženih vrednosti vitamina D (Wassefyb, et al.2019), ali njegov značaj u programima vežbi još uvek nije utvrđen.

Potvrđena je povećana ekspresija MMP-2 nakon treninga snage visokog intenziteta (Deus, et al. 2011), ali ne i povezanost sa polimorfizmom u genu za MMP-2. Grupa autora iz Rusije pokazala je povezanost polimorfizma u genu za MMP-9 i BMD-a u postmenopausalnih pacijentkinja sa dijabetesom tip II (Fazullina, et al. 2018).

Meta analiza novijeg datuma utvrdila je da ne postoji jasna korelacija između polimorfizma rs243865 u genu za MMP-2 i hipotrofije mišića, povezana sa starenjem (Usategui, et al. 2019).

Interesovanje za proučavanjem povezanosti genskih polimorfizama i fizičke aktivnosti je veliko (Pareja-Galeano, et al. 2014; Santos-Reboucas, et al. 2006; Sanchis-Gomar, 2012). Dosadašnja istraživanja pokazuju da fizička aktivnost može modulirati epigenetske mehanizme u bolestima kao što su kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti, kancer i metabolički sindrom (slika 14) (Pareja-Galeano, et al. 2014; Santos-Reboucas, et al. 2006; Sanchis-Gomar, 2012). Kada je reč o osteoporozi ne postoje ovakvi dokazi, premda kako sedentarni način života predstavlja faktor rizika za mnoge bolesti, može se na indirektan način zaključiti da povezanost postoji. Potreba za boljom standardizacijom metodologije istraživanja i primena kompjuterskih merenja i akcelerometrije u cilju definisanja intenziteta, trajanja i učestalosti kineziterapijskog tretmana, pomogla bi u objektivizaciji dobijenih rezultata.

S tim u vezi, nedavno je definisan program internacionalne kolaboracije za Sport i fizičku aktivnost, pod nazivom “ Athlome Project Consortium” koji se bavi istraživanjima genoma i drugih markera (tzv. “genomic” i “omic” markera) vezanih za fizičku aktivnost (Pitsiladis, et al. 2016). Trenutno obuhvata 15 zemalja širom sveta i ima za cilj identifikaciju epigenetskih alteracija koje utiču na “atletske performanse” individue. Povodom toga definisan je:

-” Gene SMART” program (“Skeletal Muscle Adaptive Response to Training”), sa zadatkom da identifikuje genomske i proteomske modifikacije koje predstavljaju prediktivne faktore u odgovoru skeletnih mišića na trening visokog intenziteta,

-“NTR “program (“Netherlands Twin Register”), fokusiran na proučavanje odnosa između genetičkih i faktora sredine koji definišu individualne razlike u fizičkim performansama ličnosti, kao i

-“LCR-HCR” program (zasnovan na” Low Capacity Rats-High Capacity Rats” modelu), koji se bavi utvrđivanjem korelacije između individualnog kapaciteta za vežbanje i rizika za nastanak bolesti individue (Grazioli, at al. 2017).

Uprkos brojnim prednostima molekularnih mehanizama u identifikaciji i razumevanju bolesti sa poligenskom osnovom, kao što je osteoporoza, u našem istraživanju zaključeno je, da ne postoji direktna asocijacija između polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 kao i rs3918242 u genu za MMP-9 i promena uslovljenih vežbanjem.

12-nedeljni specifično dizajniran program vežbi utiče na promenu funkcionalnog statusa i enzimisku aktivnost MMP-9 i MMP-2 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, ali nije asociiran sa ispitivanim polimorfizmima. Polimorfizmi gena za MMP-9 i MMP-2 nisu modulatori individualne osetljivosti na vežbu u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u Srbiji.

Rezultati pokazuju da varijabilnost gena za MMP-2 i MMP-9 ne utiče na ispoljavaje individualnih razlika u doseganju različitih funkcionalnih ishoda, uslovljenih fizičkom aktivnosti, u postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom koje su imale specifično dizajniran program vežbi.

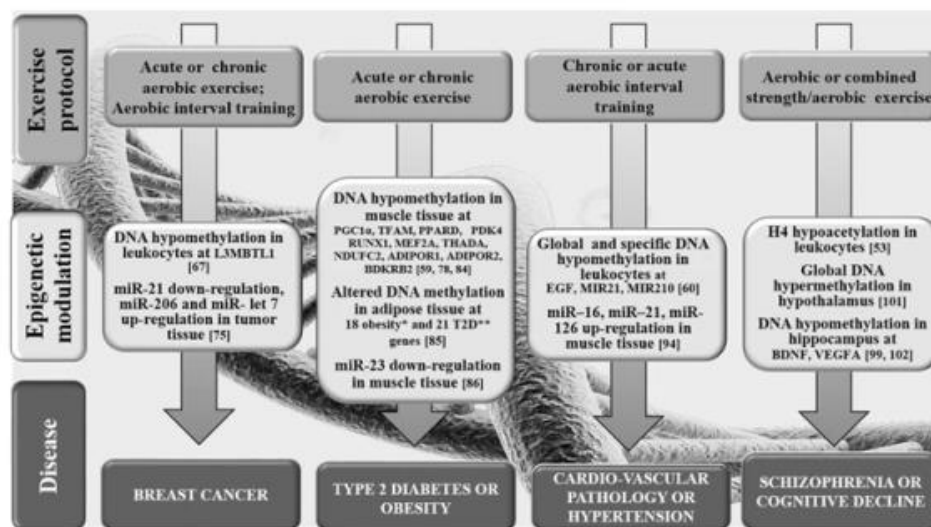
Osnovna limitacija ovog dela istraživanja jeste relativno mali broj ispitanica, zbog strogih kriterijuma za uključenje i isključenje iz studije. Sledeća limitacija jeste kratak period praćenja, od 3 meseca. Izbor funkcionalnih testova (STS, TUG i OLST), na koje smo se ograničili prilikom istraživanja, a čiju smo asocijaciju sa navedenim polimorfizmima ispitivali, takođe može biti jedan od razloga koji je uticao na krajnji ishod rezultata. Primena akcelerometrije i kompjuterskih merenja mogla bi biti više zastupljena u metodologiji budućih istraživanja.

Potreban je svakako veći broj randomizovanih, kontrolisanih studija, sa većim brojem ispitanika, dužim periodom praćenja, korelacijom sa različitim brojem testova funkcionalnog ishoda, u svetu i kod nas, kako bi se potvrdili rezultati našeg istraživanja.

Kako bismo izbegli porodičnu stratifikaciju, bilo kakvi srodnici nisu uključeni u istraživanje.

Naši rezultati predstavljaju skroman, ali značajan doprinos nauci i praksi, jer je pretragom dostupne literature, zaključeno da je ovo prva studija koja se bavila ispitivanjem povezanosti rs243866 u genu za MMP-2 kao i rs3918242 u genu za MMP-9 i funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, praćenog setom navedenih testova.

Bolje razumevanje molekularne fiziologije i genskog uticaja na rezultate postignute nakon fizičke aktivnosti (indirektnog uticaja na kost), doprineće optimizaciji kineziterapijskog tretmana prilagođenog svakom pojedinačnom pacijentu sa postmenopauzalnom osteoporozom.



Slika 14. Protokoli vežbanja primenjeni u humanim i animalnim istraživanjima koja su se bavila proučavanjem vežbama-uslovljenih epigenetskih modulacija u određenim bolestima i /ili određenim genima (kandidatima za datu bolest).

preuzeto sa : <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-017-4193-5>
BMC Genomics volume 18, Physical activity in the prevention of human diseases: role of epigenetic modification

Korelacija polimorfizama gena rs243866 za MMP-2 i rs3918242 za MMP-9 i funkcionalnih testova u pacijentkinja sa postmeopauzalnom osteoporozom

Kako u grupi koja vežba nismo uočili uticaj ispitivanih polimorfizama na funkcionalni ishod pacijentkinja, posmatrali smo učestalosti ovih polimorfizama u ukupnom uzorku. Učestalost polimorfizma rs243866 u genu za MMP-2 i rs3918242 u genu za MMP-9 bila je ujednačena u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,939$), što ukazuje na homogenost među grupama.

U ukupnom uzorku analizom svih ispitanica sa BMI<27 potvrđena je značajna povezanost genotipa MMP-2 sa početnim vrednostima OLST testa, merenim pre početka vežbanja ($p=0,032$). Ispitanice genotipa GG imale su inicijalno statistički značajno lošije rezultate od onih koje su imale genotip GA ili AA ($8,25\pm 3,08$ vs $9,90\pm 2,67$), na samom početku istraživanja. Multipla linearna regresija je potvrdila da osim genotipa uticaj na vrednosti OLST testa ima i BMI. Ovakva povezanost nije uočena za BMI veće od 27, kao ni za MMP-9 polimorfizam u ukupnom uzorku.

Logističkom regresionom analizom u multivarijantnom modelu uočeno je da veća učestalosti GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 predstavlja prediktor lošijeg funkcionalnog statusa merenog TUG i STS testom u ispitivanoj populaciji.

Iako u grupi koja vežba, nismo uočili statistički značajnu korelaciju između analiziranih polimorfizama i funkcionalnog ishoda, korelacija između GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 i testova na samom početku istraživanja, odnosno u skrining periodu, može biti značajna u sagledavanju budućeg ishoda naših pacijentkinja i što preciznijih definisanja budućih ciljeva rehabilitacionog tretmana. Takođe identifikacija pacijentkinja sa većom učestalošću GG genotipa u polimorfizmu za MMP-2 može poslužiti za identifikaciju pacijentkinja sa osteoporozom koje imaju predispoziciju za lošijim funkcionalnim statusom. Ako se daljim istraživanjima na većem broju ispitanika, potvrdi da je ispitivani polimorfizam prediktor lošijeg funkcionalnog statusa, terapija bi se mogla prilagođavati strogo prema potrebama pojedinca.

Učestalost faktora rizika za nastanak osteoporoze i faktora rizika za pad u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom i opšte demografske karakteristike ispitivane populacije

Postmenopauzalne pacijentkinje sa dijagnostikovanom osteoporozom u ovom istraživanju su bile prosečne životne dobi $64,32 \pm 5,22$, kada je učestalost ove bolesti veoma zastupljena. Najmlađa pacijentkinja imala je 47 godina, kada se ova bolest ređe dijagnostikuje. Pacijentkinja je zbog faktora rizika upućena na DXA test, čime je dijagnoza potvrđena. Sve pacijentkinje bile su iz urbane sredine, najveći broj ispitanica imao je srednju stručnu spremu (67,0%), udatih je bilo 62,9 %, razvedenih 11,3%, udovica 23,7%.

Sve pacijentkinje lečene su bisfosfonatima, čiji je izbor učinjen u skladu sa preporukama Evropskog udruženja za borbu protiv osteoporoze (Kanis, et al. 2013), tako da je 79,4 % pacijentkinja bilo na oralnoj terapiji alendronatom, dok je 20,6% bilo na terapiji ibandronatom. U ukupnom uzorku 9,3% pacijentkinja su bile nulipare.

Prosečna vrednost T-skora na lumbalnoj kičmi u ispitivanom uzorku iznosila je $-2,61 \pm 0,80SD$, a na vratu butne kosti $-2,59 \pm 0,69SD$, pri čemu je maksimalna vrednost istog, na oba merena mesta iznosila $-4,3SD$. Ovaj skor prema definiciji odgovara teškoj osteoporozu (Kanis, et al. 2019; Kanis et al. 2013) i značajno povećava rizik za nastanak frakture. Prema proceni eksperata iz oblasti osteoporoze centralni DXA BMD nalaz može imati prognostički značaj za nastanak frakture. Smanjenje koštane gustine za 1 SD (oko 10% koštane mase) povećava rizik za frakturu za 1,4 do 2,6 puta (Kanis, et al. 2004). S druge strane smanjenje rizika za frakturu direktno je praćeno povećanjem mineralne gustine kosti (Kanis, et al. 2008).

S obzirom na produženi životni vek, broj osoba sa osteoporotičnim frakturama neprestano raste. Frakture su značajan zdravstveni i društveni problem, zbog velike učestalosti i velike stope smrtnosti u pacijenata starije životne dobi. Stoga je neophodno rano postavljanje dijagnoze osteoporoze i prevencija nastanka osteoporotične frakture, odnosno definisanje faktora rizika (FR) za nastanak iste. Snižena BMD, merena DXA metodom, je nezavistan i siguran faktor rizika za frakturu, ali ne i jedini (Kanis, et al. 2019). Međutim DXA nalaz nije dovoljan i jedini pokazatelj procene rizika za pad i prelom, zbog čega se sve više istraživanja bavi proučavanjem FR i njihovom pravovremenom detekcijom.

Istraživanje sprovedeno u SAD-u na oko 200000 ispitanica, pokazalo je da su niskoenergetsku frakturu imale pacijentkinje sa prosečnim T-skorom $1,8SD$ (Siris, 2004), što dodatno potencira prepoznavanje ovih faktora. Njihova udruženost takođe povećava sklonost ka prelomu, nezavisno od T-skora.

Poznato je da postoji više upitnika o verifikaciji FR za osteoporozu i osteoporotičnu frakturu, među kojima je najpoznatiji Fracture Risk Assessment (FRAX), koji omogućava procenu desetogodišnjeg rizika za frakturu kosti. Međutim FRAX je, prema incidenci frakture i faktora rizika populacije Velike Britanije, stvoren u Velikoj Britaniji (Hans, et al. 2011), i do danas nije kalibrisan za srpsku populaciju. Stoga bi podaci o FR za osteoporozu i osteoporotičnu frakturu iz naše studije mogli da posluže u cilju kalibrisanja i definisanja istog.

U našem istraživanju podaci o faktorima rizika za osteoporozu i osteoporotičnu frakturu dobijani su kroz intervju sa pacijentom, pri čemu je lekar popunjavao kratak anketni list o prisustvu ovih faktora. Upitnik je sastavljen na osnovu FR za osteoporozu koji su predloženi u upitniku FRAX (Hans, et al. 2011), IOF-a (International Osteoporosis Foundation, dostupan na: www.iofbonehealth.org), kao i grupe autora iz Novog Sada koja je prema sličnim uputstvima formirala upitnik o proceni FR za pacijentkinje u Srbiji (Ilić, 2016). Dodatna pitanja o sklonosti ka padu uvrstili smo u upitnik, prema preporukama STEADI “(Stopping Elderly Accidents, Deaths, and Injuries) vodiča (Stevens and Phelan, 2013).

Kako je sprovedeno randomizovano ispitivanje, sa strogo definisanim faktorima za uključenje i isključenje, pacijentkinje koje su imale sekundarnu osteoporozu ili niskoenergetsku frakturu su isključene iz istraživanja, te ovi faktori nisu razmatrani.

Takođe je potrebno istaći da su svi ispitanici bile osobe ženskog pola (oko 40% žena i 13% muškaraca životne dobi preko 50 ima rizik na nastanak osteoporotičnog preloma), bele rase (žene bele rase imaju od 2 do 5 puta veći rizik za nastanak osteoporozu), preko 45.godina života (kod pacijentkinja sa preko 45.god.života verovatnoća za zadobijanje osteoporotičnih fraktura povećava se za 8 puta, linearno sa godinama života) i nedovoljno fizički aktivni (manja od 30 minuta dnevno), stoga o ovim faktorima rizika neće biti reči u daljem tekstu.

Od suštinskog je značaja njihovo prisustvo, jer sa sniženim T-skorom, u ukupnom početnom zbiru, sve pacijentkinje su pre započinjanja primene terapije, pri samom skriningu imale svih ovih prisutnih 5 FR (među kojima je jedini promenljiv, na koji možemo uticati, fizička aktivnost).

Utvrđivani faktori rizika za pojavu osteoporozu u ispitivanoj populaciji su sledeći:

1. niska telesna masa ($BMI < 19 \text{ kg/m}^2$),
2. pozitivna porodična anamneza na niskoenergetsku frakturu,
3. nizak nivo vitamina D i nedovoljan boravak na suncu (kraći od deset minuta dnevno, bez suplementacije vitaminom D),
4. rana menopauza (pre 45. godine života),
5. česti padovi (preko 3 puta godišnje),
6. smanjenje u telesnoj visini više od 3 cm posle 40. godine ,
7. kasna menarha (posle 17.godine života),
8. operacija jajnika pre 50. godine bez primene hormonske supstitucione terapije,
9. anamneza na spontane pobačaje,
10. smanjen unos mlečnih proizvoda (bez suplementacije kalcijumom),
11. pušenje,
12. konzumiranje alkohola-2 i preko 2 jedinice alkohola dnevno (1 jedinica je definisana kao konzumiranje 250 ml piva ili 80 ml vina ili 25 ml rakije ili nekog drugog žestokog pića),
13. konzumacija kafe preko 3 šoljice dnevno,
14. sedentarni način života.

Razmatrani faktori rizika za pad i mogućnost zadobijanja osteoporotične frakture su sledeći:

1. poremećaj vida (katarakta, staračka dioptrija, gde se vid koriguje naočalama),
 2. odlazak u toilet noću,
 3. prisustvo stepenica i klizavih površina u stanu,
 4. prisustvo komorbidita i hronična upotreba farmakoterapije,
- Snižena vrednost vitamina D je nezavistan faktor rizika za pad, ali kako je jedan od predisponirajućih faktora za nastanak osteoporozu, opisan je kroz faktore rizika za istu. U tabeli 4. prikazana je zastupljenost FR u ukupnom uzorku kod naših pacijentkinja.

Indeks telesne mase – BMI (kg/m^2)

U našem istraživanju prosečne vrednosti BMI pacijentkinja iznosile su $25,89 \pm 3,79$, pri čemu je samo jedna pacijentkinja (1% ukupnog uzorka) imala nizak BMI, što znači da kako u ukupnom uzorku, tako i među grupama, nizak BMI nije predstavljao FR za osteoporozu. Registrovan je znatno veći procenat gojaznih pacijentkinja (17,7%).

Iako nizak BMI predstavlja “major” faktor rizik za osteoporozu, istraživanja ukazuju na povezanost gojaznosti i osteoporozu (Cao, 2011). Smatra se da je primarni razlog tome nedovoljna fizička aktivnost i insuficijencija vitamina D, ali i izvor proinflatornih citokina

i adipokina iz adipocita, koji povećavaju aktivnost osteoklasta i resorpciju kosti (Gudmundsdottir, et al. 2010).

Premolar i sar.(2011) su potvrdili statistički značajnu korelaciju gojaznosti ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) i niske BMD, u uzorku od 1377 postmenopauzalnih gojaznih pacijentkija sa niskoenergetskom frakturom. Kontrolnu grupu predstavljale su postmenopauzalne gojazne pacijentkinje bez pozitivne anamneze na niskoenergetsku frakturu. Razlozi su veće mehaničko opterećenje organizma i loša distribucija masnog tkiva, kao i povećana količina istog na račun smanjenja mišićne mase (Premaor, et al. 2011).

Pozitivna porodična anamneza na osteoporozi i frakturu predstavljaju značajan (major) faktor rizika za istu. Osteoporoza je multifaktorijalna bolest, sa poligenomskom osnovom (Lee, et al. 2010; Qin, et al. 2016), pa je detekcija ovog faktora izuzetno važna, kako u cilju sprečavanja nastanka komplikacija bolesti, tako i u pravcu ranog skrininga na istu.

Velika meta-analiza novijeg datuma pokazala je da je stopa gubitka trabekularne kosti veća u pacijentkinja sa pozitivnom porodičnom anamnezom na osteoporozi i frakturu (Prior, et al. 2016). U našoj grupi ispitanica 48,5% pacijentkinja ima pozitivnu porodičnu anamnezu na osteoporotičnu frakturu, a nije prethodno upućeno na DXA skrining.

Insuficijencija vitamina D i nedovoljan boravak na suncu (kraći od deset minuta dnevno, bez suplementacije vitamina D)

Smanjenje vrednosti vitamina D bio je najzastupljeniji faktor rizika za ispitivanu populaciju, pri čemu je 91,8% pacijentkinja u ukupnom uzorku imalo smanjenje ove vrednosti.

Vitamin D, kao jedan od najvažnijih Ca-regulatornih hormona promoviše normalnu koštanu mineralizaciju i koštanu gustinu putem povećanja intestinalne i tubularne apsorpcije kalcijuma i regulisanja procesa koštanog remodelovanja (Filipović, et al. 2015). Ovaj efekat ostvaruje preko PTH (paratiroidnog hormona), koji povećava renalnu sintezu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, a potom vitD_3 povećava reapsorpciju kalcijuma iz bubrežnih tubula.

Vitamin D₃ (holekalciferol) je liposolubilni vitamin, koji, pod dejstvom UV zraka, nastaje iz svog provitamina – 7-dehidroholesterolu u koži. Vitamin D₃ (holekalciferol) nastavlja hidrosilaciju u jetri i prelazi u 25-hidroksikolekalciferol (kalcidiol), gde može ostati deponovan duže vreme. U bubrezima se pretvara u svoj glavni biološki aktivni oblik – kalcitriol (1,25-dihidroksiholekalciferol) (Christakos, et al. 2015).

Održavanje homeostaze i konstantne koncentracije kalcijuma i fosfata u plazmi predstavlja primarnu ulogu vitamina D. Na taj način omogućava se intestinalna resorpcija ovih minerala i njihovo deponovanje u kostima. Efekti koji se odnose na koštani metabolizam, u prisustvu adekvatne koncentracije vitamina D jesu povećana ugradnja kalcijuma u koštani materijal, antiresorptivno i anaboličko dejstvo na koštani metabolizam, kao i inhibicija hipersekrecije parathormona. Svoje antiresorptivno delovanje u kostima ostvaruje preko osteoblasta, za čije se receptore vezuje i na taj način pospešuje lučenje osteokalcina, alkalne fosfataze, IGF-1, IGF-2, kolagena tipa I (Hou, et al. 2018). Pored toga, pokazano je da vitamin D reguliše ekspresiju gena i u drugim tkivima uključujući ćelije imunog sistema, mišića, reproduktivnih organa i krvnih sudova, te u slučaju njegovog deficita može doći do pojave zamora u mišićima, poremećaja koordinacije, većeg rizika za pad, ali i većeg rizika za nastanak autoimunih, malignih i dr. bolesti (Christakos, et al. 2015; Sadayuki, et al. 2014).

U slučaju nedostatka ili smanjenih vrednosti vitamina D, poremećena je ili onemogućena intestinalna resorpcija kalcijuma, što za posledicu ima mobilizaciju kalcijuma iz kostiju i gubitak koštane mase. Jedan od najčešćih razloga promena na kostima jeste nedostatak vitamina D₃ (Filipović, et al. 2015). Vitamin D i njegov nedostatak vezuju se za različite razloge, među kojima su najčešći u oba pola sledeći: fiziološki procesi starenja koji remete njegovu resorpciju i sintezu, ali i pretvaranje u aktivni oblik u koži, nedovoljno izlaganje

suncu i korišćenje zaštitnih faktora, redukcije funkcije D- receptora (VDR), oštećenje bubrežne funkcije ($CrCl < 65$ ml/min). Kod oštećenja bubrežne funkcije savetuje se suplementacija aktivnim oblikom vitamina D (hormonom, umesto vitaminom). Poznato je da je estrogen kofaktor sinteze D-hormona u bubrežima. To je još jedan razlog nedostatka vitamina D u menopauzi, posebno u ženskoj populaciji.

Pored njegove značajne i presudne uloge u koštanom metabolizmu, ističe se i uloga u pravilnom funkcionisanju imunološkog sistema, neuroprotektivno dejstvo i sl (Sadayuki, et al. 2014; Bischoff-Ferrari, et al. 2009; Nieves, et al. 2008; Holick, et al. 2011; Filipović, et al. 2015).

U našem istraživanju pokazano je da postoji insuficijencija i deficijencija vitamina D u populaciji. Prosečna vrednost vitamina D u ukupnom uzorku bila je $46,68 \pm 18,00$ nmol/L, pri čemu je kod 24,7% registrovana insuficijencija, kod 51,5 % deficijencija, a kod 15,5 % teška deficijencija vitamina D. Samo u 8,2 % pacijentkinja vrednost vitamina D bila je u referentnim granicama. Supstitucija vitamina D je neophodna u postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom iz više razloga, ali prvenstveno zbog njegove antifrakturne efikasnosti. Velika Kohranova revijska studija koja je analizirala 45 istraživanja (84585 ispitanika ukupno), među kojima 43 randomizovana, pokazala je značaj suplementacije vitamina D i kalcijuma. U 9 studija sa 24749 ispitanika, nije utvrđena antifrakturna efikasnost vitamina D, ali je u 8 studija sa 46658 ispitanika potvrđena antifrakturna efikasnost za frakturu kuka (Handoll, 2009). Meta-analiza iz 2019.godine nije potvrdila antifrakturni efekat vitamina D u populaciji, ispitujući uticaj istog na 34243 pacijenta, od kojih je 2843 imalo frakturu na malu trauma, od kojih 740 frakturu kuka. Pri tom su analizirane primene različitih doza vitamina D, od 400 do 30000 i.j., koje su pacijenti koristili (Yao, 2019).

Nedavno publikovana meta-analiza, sprovedena na 10777 postmenopauzalnih pacijentkinja sa osteoporozom, bavila se procenom uticaja različitih terapijskih modaliteta na poboljšanje BMD. Samo suplementacija vitamina D, ali i suplementacija vitamina D u kombinaciji sa vitaminom K, estrogenom, odgovarajućim programom vežbi i kalcijumom dala je signifikantno bolje rezultate u smislu poboljšanja BMD na LS kičmi u odnosu na placebo tretman. Kombinacija vitamina D i estrogena dala je najbolje rezultate u smislu poboljšanja BMD LS kičme, dok je za poboljšanje BMD-a u predelu vrata najbolji rezultat postignut primenom estrogena i kalcijuma (Xu, et al. 2020).

U meta-analizi koja je uključila 41738 ispitanika, iz 20 studija, životne dobi preko 60 god., sa 5916 fraktura, od kojih 3237 fraktura kuka, pokazala je da visoke vrednosti serumskog vitamina D smanjuju rizik za frakturu kuka u osoba preko 60 godina. Ista grupa autora nije pokazala korelaciju između serumskih vrednosti vitamina D i ukupnog frakturnog rizika (Wang, et al. 2020).

Rana menopauza definisana je kao prestanak cikličnih aktivnosti žene pre 45.godine života, i predstavlja faktor rizika za osteoporozu i aterosklerozu (EIu, et al. 2014).

U našem uzorku 22,7% je imalo ovaj FR.

U velikoj i prvoj meta-analizi iz 2019.godine koja se bavila povezanošću rane menopauze pre 45.godine i frakturnog rizika, pokazano je da rana menopauza implicira povećanje rizika za frakturu uopšte, bilo da je reč o frakturi kuka ili vertebre. Studija je obuhvatala uzorak od 462393 pacijentkinje, među kojima je registrovano 12130 fraktura (Anagnostis, et al. 2019) .

Smanjenje u visini preko 3 cm

Smanjenje telesne visine predstavlja razliku između maksimalne telesne visine individue i trenutne visine. U ispitivanoj populaciji 49% pacijentkinja je imalo ovaj FR. On može biti indirektni pokazatelj prisustva kompresivnih vertebralnih fraktura, najčešće asimptomatskih i nedijagnostikovanih, međutim radiografskim snimanjem LS kičme kod naših pacijentkinja

ovaj razlog je isključen. U sistematskoj reviji iz 2009. pokazana je značajna učestalost smanjenja u visini i čestih padova u pacijentkinja sa osteoporozom (Waugh, et al. 2009; Hans, et al. 2011).

Kasna menarha posle 14.godine života

Razlozi zbog kojih kasna menarha može biti jedan od FR za osteoporozu, jesu svakako kraća ekspozicija estrogenu tokom života, posebno 17 β -estradiolu, i njegova povezanost sa smanjenom BMD, tokom života (Qiang Zhang, et al. 2018). Pokazano je da postoji signifikantna korelacija između kasne menarhe i niske BMD LS kičme, posebno u prisustvu konzumacije veće količine kafe, alkohola i nedovoljne fizičke aktivnosti (Chang, et al. 2017), dok još uvek nema dovoljno dokaza o povezanosti sa BMD vrata butne kosti. Grupa autora je pokazala da je kasna menarha jeste ona nakon 13.god.života i da predstavlja FR za osteoporozu (Mendoza-Romo, et al. 2013). U zavisnosti od etičke pripadnosti (Karapanou and Papadimitriou, 2010), date su preporuke, u odnosu na koje je kasna menarha u našoj populaciji definisana kao ona koja se javila posle 17.godine, što je zabeleženo u 15,5 % ispitanica.

Operaciju jajnika pre 50. godine bez primene hormonske supstitucione terapije imalo je 18,8% pacijentkinja, dok je spontane pobačaje imalo 22,7% pacijentkinja. Iako u sistematskim revijskim radovima još uvek nema dovoljno signifikantnih dokaza koji impliciraju čvrstu vezu između ovariektomije i veće incidence osteoporoze, pouzdano se zna da je ista razlog prevremenog gubitka estrogena, usled čega nastaju neželjene posledice na koštani i kardiovaskularni sistem i ukupni kvalitet života (Vermeulen, et al. 2016).

Smanjen unos mlečnih proizvoda bez suplementacije kalcijuma prijavilo je 87,6% pacijentkinja iz ukupnog uzorka. Iako su ove pacijentkinje imale svest o tome da je kalcijum neophodan za pravilan koštani metabolizam, nisu koristile suplementaciju kalcijuma.

Teorija evolucije kaže da je ljudski život počeo u morskoj vodi, bogatoj kalcijumom, nakon čega je usledila adaptacija na kopnene uslove života, siromašne ovim mineralom. Brojni homeostatski mehanizmi koji su se razvili kod čoveka i viših sisara imaju za cilj da održe koncentraciju kalcijuma u krvi u uskim granicama. Uloge kalcijuma su brojne, odgovoraaan je za postizanje optimalne čvrstine kosti i zuba, zajedno sa magnezijumom učestvuje u kontrakciji i relaksaciji skeletne muskulature, prevenira gubitak BMD u osteoporozu, ima ulogu u održavanju pravilnog srčanog ritma i prenosa nervnih impulsa, reguliše procese difuzije i osmoze kroz ćelijsku membranu. Od ukupnih 1000-1200 g kalcijuma koji se nalazi u ljudskom organizmu, 99% je ugrađeno u kosti, a preostalih 1% intra i ekstra-celularno u telesnim tečnostima. U plazmi se nalazi u jonizovanom obliku (oko 45%), vezan za proteine plazme (45%) i oko 10 % u kompleksu sa citratima, laktatima, bikarbonatima i dr. Za održavanje njegove koncentracije u plazmi odgovorni su PTH, vitamin D (1,25(OH)2D3) i kalcitonin i neki tiroidni hormoni, u manjoj meri. PTH kontroliše metabolizam kalcijuma u organizmu, prvenstveno ispoljavajući svoje delovanje na kostima i bubrezima. Nizak nivo cirkulišućeg kalcijuma je najjači stimulator lučenja PTH iz paratireoidnih žlezda. Svoje proresorptivno delovanje PTH ostvaruje tako što stimuliše sintezu RANKL-a, a smanjuje sintezu OPG, što ubrzava resorpciju kosti i dovodi do oslabljanja kalcijuma u cirkulaciju. Pretpostavlja se da svoje dejstvo PTH ispoljava preko IGF-1 i preko citokina (Piri, et al. 2016; Fischer, et al. 2018). Kalcitonin u hiperkalcemiji smanjuje resorpciju kalcijuma u tankom crevu i povećava njegovu eliminaciju putem bubrega. Svoje dejstvo ispoljava vezujući se za osteoklaste, gde inhibira njihovu diferencijaciju i sazrevanje i ubrzava njihovu apoptozu. Smanjen nivo serumskog kalcitonina dovodi do ubrzane razgradnje kosti, smanjenja koštane mase i povećanog frakturnog rizika (Fischer, et al. 2018).

Potrebe za kalcijumom zavise od više faktora, kao što su životna dob, pol, fiziološke potrebe organizma i dr. Dnevne potrebe za kalcijumom iznose od 800 do 1300 mg, o čemu je već bilo reči u prethodnom tekstu (Kanis, et al. 2019).

Uprkos brojnim kontroverzama vezanim za preparate kalcijuma i kardiovaskularni rizik, dijetetski unos kalcijuma je često manji od optimalnog među određenim grupama u populaciji, a kontroverze nisu potvrđene. Prema najnovijim preporukama NOF-a, zaključeno je da upotreba kalcijuma i vitamina D vodi umerenom smanjenju rizika za nastanak osteoporotičnih fraktura, dok se samo suplementacijom kalcijuma, bez vitamina D, ne postiče isti efekat. U istom vodiču nije potvrđeno da suplementi kalcijuma uzrokuju kardiovaskularni događaj, prema dosadašnjim istraživanjima (Kanis, et al. 2019; Rizzoli, 2014).

Istraživanje grupe autora iz Niša, na uzorku od 121 postmenopauzalne pacijentkinje (bez dijagnostikovane osteoporoze), životne dobi 51 do 84 god., korišćenjem upitnika o učestalosti unosa namirnica, pokazalo je da je prosečan dnevni unos kalcijuma u toku godinu dana bio u proseku 910 mg, a kretao se od 310,3 do 1008 mg dnevno. Utvrđeno je da je 60% ispitanica u menopauzi imalo manji unos kalcijuma dnevno od preporučenih vrednosti za datu životnu dob (Lazarević, i sar. 2007). Ako se uzme u obzir činjenica da su pre 20 godina, istraživanja sprovedena u našoj zemlji pokazala da je unos kalcijuma hranom nizak, neophodna je edukacija kako zdravstvenog osoblja, tako i stanovništva o korekcijama u načinu ishrane i potrebama za suplementacijom (Savezni zavod za zaštitu i unapređenje zdravlja, 2000). Meta-analizom observacionih studija pokazano je protektivno dejstvo povećanog unosa kalcijuma hranom u prevenciji fraktura kod žena u menopauzi, osim u Kini gde se pokazalo da je unos kalcijuma hranom, bez obzira na povećanje unosa, bio i dalje nizak, odnosno da je nemoguće dnevne potrebe za kalcijumom obezbediti ishranom (Xu, et al. 2004).

Pored nedovoljnog unosa hranom, usled nedostatka vitamina D i estrogena, smanjena je i intestinalna resorpcija kalcijuma, te je njegova nadoknada neophodna iz više razloga (Kanis, et al. 2019). Udružen sa pušenjem pokazalo se da predstavlja značaj razlog povećanog gubitka koštane mase (Michaelson, et al. 2003). Pri anketiranju pacijenata obratili smo pažnju na nutriciju, odnosno kroz koje namirnice pacijenti uzimaju Ca, pošto je pokazano da mleko nije najbolji izvor kalcijuma. Mleko se pasterizuje, pri čemu se uništava fosfataza, enzim neophodan za resorpciju kalcijuma. U jednoj studiji u SAD-u, na čak 72737 ispitanika pokazano je da upotreba mleka ne prevenira rizik od nastanka frakture kuka (Feskanich, et al. 2003). Jogurt, kiselo mleko, zeleno povrće, mediteranska ishrana sa dosta ribe, obezbeđuje adekvatan unos ovog elementa hranom.

Osnovni razlozi zbog kojih je izbegavana suplementacija kalcijumom jeste rizik od nastanka neželjenog kardiovaskularnog događanja, pre svega u vidu ishemijske bolesti srca i moždanog udara, koji su i dva glavna uzroka kardiovaskularnog mortaliteta (Bolland, et al. 2008; Reid, et al. 2011). Mihelson i sar. (2013) su pratili 61433 pacijentkinja punih 19 godina. Zaključeno je da su pacijentkinje koje su konzumirale više od 1400 mg kalcijuma dnevno imale veću stopu smrtnosti od različitih uzroka nego žene koje su konzumirale između 600 mg i 1000 mg dnevno, ali ne i povećanu učestalost cerebrovaskularnih insulta (Mihelson, et al. 2013). Druga grupa autora je pokazala da 36282 postmenopauzalnih pacijentkinja, životne dobi od 50 do 79 godina koje su svakodnevno uzimale 1000 mg kalcijuma i 400 i.j. vitamina D ima rizik za neželjeni događaj jednak placebo (Hsiam, 2013). Wang i sar. su analizom 17 studija (od 1996. do 2009. god analizom radova iz MEDLINE, EMBASE, i Cochrane Centralnog registara) utvrdili da suplementi kalcijuma imaju minimalne negativne efekte na kardiovaskularni sistem (Wang, et al. 2009).

Osnov za očuvanje koštane gustine tokom života zavisi od postignutog maksimuma čvrstine kosti u pubertetu, od kvaliteta osteoidne supstance i uravnotežene ugradnje minerala, prvenstveno kalcijuma u koštani matriks.

Prema preporukama najnovijeg vodiča za osteoporozu iz 2019.godine ukupna dnevna suplementacija kalcijuma, u osoba starije životne dobi treba da iznosi od 500 do 1200 mg (Kanis, et al. 2019), u zavisnosti od načina ishrane, uz obaveznu suplementaciju vitamina D.

Loše navike (pušenje, konzumacija kafe i alkohola)

-Pušenje

Pušenje je FR za nastanak mnogih hroničnih nezaraznih bolesti, u velikoj meri za osteoporozu. Brojna su istraživanja koja dokazuju ovu tvrdnju (Kanis, et al. 2005; Tamaki, et al. 2010; Ma L, et al. 2010; Gupta, et al. 2014; Kanis, et al. 2019; Cosman, et al. 2014; Giangregorio, et al. 2015). 28,6% naših pacijentkinja bile su aktivni pušači (10 i više cigareta dnevno).

-Konzumacija alkohola

Konzumiranje veće količine alkoholnih pića pospešuje resorpciju kosti i remeti homeostazu osteoblasta i osteoklasta (Maurel, 2012; Jakobsen, et al. 2013), posebno ako je udružen sa većim konzumiranjem kafe i hipoproteinskom ishranom (Ilich, et al. 2009). Meta analiza iz 2019.godine potvrdila je korelaciju između konzumacije alkohola i osteoporoze, pokazavši da čak 1-2 pića dnevno 1,34 puta povećavaju rizik za nastanak osteoporoze, dok 2 i više alkoholnih pića dnevno ovaj rizik povećava 1,63 puta (Cheraghi, et al. 2019) . U našem istraživanju nijedna pacijentkinja nije imala ovaj FR.

-Konzumacija kafe

Poznato je da je veća konzumacija kafe, preko 3 šoljice dnevno, razlog povećane urinarne ekskrecije kalcijuma, što posebno u osoba starije životne dobi, može uzrokovati povećani gubitak BMD (Kim, 2014). Grupa autora iz Švedske pokazala je da je konzumacija 330 mg kofeina dnevno, što je ekvivalentno 4 šolje dnevno (600 ml) povezana sa umerenim rizikom za osteoporotičnu frakturu, posebno kod osoba sa niskim unosom kalcijuma. Stoga je adekvatna supstitucija vitamina D i Ca neophodna u ovoj ciljnoj populaciji (Hallstrom, et al. 2016). U ukupnom uzorku 23,2 % pacijentkinja konzumiralo je veće količine kafe dnevno.

Sedentarni način života

Sedentarni stil života i smanjena fizička aktivnost jedan je od važnih FR za nastanak osteoporoze, o čemu je bilo dosta reči u uvodu ovog istraživanja (Kanis, et al. 2019; Ahmad, et al. 2015). U našem istraživanju 76,3% pacijentkinja je vodilo sedentarni način života.

Poslednjih godina, sedentarni način života postaje novi faktor rizika za zdravlje uopšte, jer je u korelaciji sa povećanim kardiometaboličkim biomarkerima i bolestima, ali i povećanom stopom mortaliteta, nevezano od stepena fizičke utreniranosti osobe (Daly, 2017). Pokazano je da je dugotrajno sedenje nezavisni faktor rizika za smanjenje mišićne mase i snage, smanjenje mobilnosti i povećanje stepena onesposobljenosti zaključeno je u radu grupe eksperata koja se bavila ovom problematikom, sa jedinstvenom porukom o potrebama za vežbanjem i kretanjem pod sloganom "sedi manje, kreći se više"(Daly, 2017).

Skлонost ka čestim padovima u našem istraživanju bila je procenjivana brojem padova godišnje, pri čemu je zabeležen broj od 3 i više padova u godini dana, koji je smatran za visokim rizikom za pad, kao i 1 pad u poslednjih godinu dana. Pad je sam po sebi nezavistan faktor rizika za prelom, a sklonost ka istom povećava se sa brojem godina života i prisustvom komorbiditeta (oštećenjem vida ili sluha). Detekcija ovog FR i smanjenje incidence istog neophodna je u starijoj populaciji, posebno u pacijenata sa osteoporozom (Karlsson, et al. 2013). Pad može biti uzrokovan različitim razlozima, i zavisi od individualnih i faktora okoline (slika 15) (Phalen, 2015). Sa povećanim prisustvom ovih razloga, povećava se i incidenca nastanka pada i zadobijanja osteoporotične frakture, ali i druge povrede. Stoga

smanjenje modifikujućih FR za pad treba da predstavlja neophodan deo strategije terapijskog tretmana pacijenata sa osteoporozom, ali i svih gerijatrijskih pacijenata.

U našem istraživanju u ukupnom uzorku, samo 6 pacijentkinja, odnosno 6,2% je dalo podatke da često pada (3 puta i više), dok je 1 pad u proteklih godinu dana imalo 17,5% pacijentkinja.

Žene imaju veću sklonost ka padu (30.3%) od muškaraca (26.5%) ($p < 0.01$), i češće zadobijaju povrede zbog pada (12.6% u komparaciji sa 8.3%; $p < 0.01$) utvrdila je grupa autora iz Centra za Bolesti i prevenciju istih iz SAD-a, koja je analizirala incidence pada na 27000 odraslih osoba oba pola. Isti autori zaključili su da od ukupnog broja ispitanika koji padne, polovina nikada ne prijavi pad svom lekaru. Pri tome je pod rizikom za pad podrazumevan 1 pad u poslednjih godinu dana. Neophodan skrining faktora rizika za pad i prevencija istog, prema ovim istraživačima podrazumeva: skrining na pad, dobijanje anamnestičkih podataka o komorbiditetima i farmakoterapiji koju pacijent koristi i moguća korekcija iste, skrining na insuficijenciju vitamina D i njegova suplementacija (Bergen, et al. 2014; Stevens, et al. 2012; Jones, et al. 2011).

Svi zdravstveni radnici, fizijatri, medicinske sestre, fizioterapeuti, radni i okupacioni terapeuti, lekari opšte prakse, farmakolozi, internisti i dr. trebalo bi da se intenzivno bave prepoznavanjem ovih faktora u gerijatrijskoj populaciji, kažu preporuke (Bergen, et al. 2014; Gillespie, et al. 2012). Američko i Britansko Udruženje za starije osobe (The American and British Geriatrics Societies :AGS/BGS) izdalo je vodič sa preporukama za prevenciju pada, namenjen prvenstveno primarnoj zdravstvenoj zaštiti, sa multifaktorijalnim pristupom za prevenciju akcidenta uslovljenog padom, koji podrazumeva: skrining na pad, procenu hoda i balansa, reevaluaciju hronične upotrebe lekova, proskripciju programa snage i aerobnog treninga i suplementaciju vitamina D. Ovakav pristup je pokazao smanjenje rizika za pad za 24% (Gillespie, et al. 2012). Utemeljen na ovim principima, predložena je tzv.” STEADI “(Stopping Elderly Accidents, Deaths, and Injuries) inicijativa u cilju implementacije ovih odrednica u sistem primarne zdravstvene zaštite (Stevens and Phelan, 2013). STEDI podrazumeva da se na prvom pregledu pacijenta anamnestički notiraju 3 podatka: 1) podatak o broju padova(dovoljan je jedan) u protekloj godini i zajedno podatak o zabrinutosti i strahu od pada; 2) podatak o hroničnoj upotrebi lekova, 3) i vrednostima vitamina D.

Na osnovu preporuka za procenu FR za pad, koji u posebno vulnerabilnoj grupi pacijentkinja sa sniženom gustinom kosti, mogu imati dalekosežne posledice, razmatrali smo sledeće faktore:

Individualni faktori	Pad	Faktori sredine
Godine života		Upotreba lekova
Kognitivni deficit		Vrsta obuće
Brzina, snaha donjih ekstremiteta,		Upotreba pomagala
Poremećaj balansa		Okruženje
Senzorni deficit		Upotreba alkohola i droga
Hronične i akutne bolesti		Pomoć i nege drugog lica

Slika 15. Multifaktorijalni uzroci za pad

preuzeto sa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707663/>

Poremećaj vida, odlazak u toalet noću, prisustvo stepenica i klizavih površina u stanu i hroničnu upotrebu lekova. Ovi faktori nisu direktni uzroci smanjenja BMD, ali su bili predmet ovog istraživanja u sklopu dodatne procene rizika za frakturu.

Oslabljen vid, poremećaj oštine vida, katarakta, glaukom i/ili nošenje bifokalnih ili multifokalnih naočara može dovesti do povećanog rizika za pad. Pokazano je da multifokalna sočiva smanjuju oštrinu vida pri detekciji predmeta u okruženju. Starijim osobama savetuje se korišćenje nemultifokalnih sočiva, posebno u spoljašnjoj sredini (Dionyssiotis, et al. 2012), zbog prevencije pada.

Vodič koji se bavio pitanjima prevencije nastanka pada sa posebnim osvrtom na intaktan vid, navodi da korekcija vida u osoba koje su u povećanom riziku za pad, može oko 25% smanjiti mogućnost nastanka istog, što znači da će svaki četvrti pad biti izbegnut (Phelan, et al. 2015). U osnovne faktore za korekciju prema ovoj grupi autora, spadaju korekcija vida, balansa, farmakoterapije koju pacijent koristi i sigurnosti postignute u kućnom ambijentu, koja podrazumeva izbegavanje klizavih površina u stanu, pragova i stepenica, kao i odlazak u toilet noću (Dionyssiotis, et al. 2012; Phelan, et al. 2015). U ispitivanoj populaciji 95,9% pacijentkinja je imalo neki poremećaj vida. Istraživanje autora iz Novog Sada, koje se bavilo proučavanjem faktora rizika zastupljenih u srpskoj populaciji pokazalo je da osobe koje vid koriguju naočarima, a imaju preko 65.godina života, imaju 1,7 puta veći rizik da dožive pad u odnosu na osobe iste starosne dobi koje ne nose naočare (Aleksić, 2019).

U našem istraživanju, odlazak u toalet noću prijavilo je čak 68,0% ispitanika, a prisustvo klizavih površina u stanu 16,5% ispitanica, o čemu takođe treba dodatno voditi računa.

U ukupnom uzorku, 79,4% pacijentkinja dalo je podatak o hroničnoj upotrebi lekova, od čega 62,9% zbog hipertenzije, 44,3% zbog hiperlipoproteinemije, 39,2% zbog slabog sna i poteškoća sa spavanjem. Pri tome 72,2% pacijentkinja koristio je više različitih lekova.

Posebno nas je zanimalo koliko pacijentkinja ima prisutan jedan ili više major faktor rizika (tabela 6), jer njihova identifikacija mora biti prepoznata u cilju pravovremenog DXA skrininga. Statistički podaci su pokazali da samo 1 pacijentkinja nije imala prisutan „major“ faktor rizika, dok je 23,1% pacijentkinja imao po 3 „major“ faktora rizika, uz udružene minor faktore u različitom procentu. Zaključak da ovi faktori u populaciji postmenopauzalnih pacijentkinja i dalje ostaju neprepoznati se nametnuo kao ishod ovakve procene.

Učestalost gotovo svih faktora rizika je bila ujednačena između ispitivanih grupa, i možemo reći da su grupe bile homogene.

Nameće se zaključak da su najzastupljeniji faktori rizika za osteoporozu u ispitivanoj populaciji: ishrana siromašna kalcijumom (87,6%), sedentarni način života (76,3%), smanjenje u telesnoj visini oko 3 cm posle 40.godine (49,0%) i pozitivna porodična anamneza(48,5%).

Nameću se dodatno faktori rizika za pad sa svojom visokom učestalošću, kao što su poremećaj vida (95,9%) i odlazak u toalet noću (68,0%). Kako su ovo uglavnom modifikujući FR, doprinos ovog istraživanja leži kako u njihovoj detekciji, tako i u preduzimanja mera i postupaka u cilju njihove prevencije, sa zajedničkim ciljem, sprečavanjem frakturnog ishoda. Takođe značaj i učestalost ovih faktora može doprineti standardizaciji i definisanju upitnika za faktore rizika za osteoporozu i pad, za srpsku populaciju. Isti bi mogao da omogući pravovremeni skrining pacijenata za osteoporozu i sklonost ka padu. Na taj način bi ovi faktori mogli da predstavljaju preskrining strategiju za procenu riziko incidenci.

Pored definisanja FR zanimalo nas je kolika je učestalost udruženih „major“ FR u ispitivanoj populaciji (tabela 34). U ispitivanoj populaciji skoro četiri petine ima dva udružena „major“ faktora rizika, odnosno smanjenje vrednosti vitamina D i smanjen unos mlečnih proizvoda (79,4%), što značajno povećava frakturni rizik, dok tri „major“ faktora rizika ima 37,1% populacije (smanjenje vrednosti vitamina D, smanjen unos mlečnih proizvoda i pozitivnu

porodičnu anamnezu). Dodatno prepoznati faktori rizika za pad, kao što su poremećaj vida i hronična upotreba lekova, udruženi sa gore navedena 3 “major” faktora rizika, prisutni su u 27,8% pacijentkinja.

Pored detaljne identifikacije faktora rizika za osteoporozu i sklonosti ka padu, zanimalo nas je kakva je distribucija krvnih grupa u našoj populaciji, kao i ekonomski status pacijentkinja, kao dodatnih potencijalno mogućih faktora rizika.

Prema distribuciji krvnih grupa, nultu krvnu grupu, koja je inače najzastupljenija u populaciji, imalo je 49,5% ispitanica u ukupnom uzorku. Sa 28,9% bila je zastupljenost grupe A (+/-), dok su se A(+/-) i AB ređe javljale. Kako do sada nije bilo istraživanja o povezanosti krvnih grupa i osteoporoze zanimalo nas je da li postoji veća učestalost jedne krvne grupe u odnosu na drugu u našem uzorku. S obzirom na činjenicu da je krvna grupa 0 najzastupljenija, ovi rezultati se moraju potvrditi daljim istraživanjima.

Louie i sar. su pokazali veću učestalost krvne grupe A kod pacijenata sa osteoporozom (Loue, et al. 1998). Druga grupa autora je pokazala da su pacijentkinje koje imaju krvnu grupu AB imale statistički značajno niži BMD skor ($0.71 \pm 0.10 \text{ g/cm}^2$ i $0.59 \pm 0.09 \text{ g/cm}^2$) u predelu lumbalne kičme i vrata butne kosti od pacijentkinja koje su imale 0 krvnu grupu ($0.87 \pm 0.13 \text{ g/cm}^2$ and $0.76 \pm 0.12 \text{ g/cm}^2$). Prevalenca osteoporoze sa niskim vrednostima T-skora na vratu butne kosti bila je 2,3 puta veća, a sa niskim T-skorom na lumbalnoj kičmi 1,7 puta veća od pacijentkinja sa 0 krvnom grupom (Weon Choi, Hwan Pa, 2003). Seyfizadeh i sar. u svom istraživanju, na 990 ispitanika, oba pola, pokazali su da ne postoji korelacija između ABO krvnih grupa i povećane učestalosti osteoporoze i osteopenije (Seyfizadeh, et al. 2018)

Grupa autora iz Kine na 1453 ispitanika, ženskog pola, životne dobi 50 do 80 god., pokazala statistički značajnu povezanost krvnih grupa A, B, i AB sa pojavom osteoporoze, u odnosu na 0 krvnu grupu (protektivna), čak i kada je značajnost prilagođena za godine života i konzumiranje cigareta (Lu, et al. 2011). Istraživanje koje je obuhvatilo 2987 pacijenata iz Engleske, pokazalo je povezanost A krvne grupe i veće učestalosti intrakapsularnih fraktura femura, sa manjom učestalošću ekstrakapsularnih /intertrohanteričnih fraktura u odnosu na pacijente koji nisu imali krvnu grupu A. Takođe je pokazano da pacijenti sa A krvnom grupom imaju veći mortalitet nakon frakture od pacijenata koji nemaju A krvnu grupu. Autori smatraju da se ova povezanost može objasniti genskim polimorfizmima u daljim budućim istraživanjima (Uzoigwe, et al. 2015), što ima za posledicu novu stratifikaciju faktora rizika za frakturu kuka i definisanje preventivnih strategija. Buduća istraživanja treba da rasvetle ove molekularne interakcije. Identifikacija genetskih PM i njihove asociranosti sa određenim genotipom odgovornim za frakturu može doprineti definisanju adekvatnijeg i preciznijeg frakturnog algoritma.

Iz socioepidemiološke anamneze dobili smo podatke o materijalnom statusu naših pacijentkinja (tabela 29), što je bilo značajno ispod proseka za našu zemlju.

Studija preseka u Kolumbiji, na uzorku od 1443 osoba ženskog pola, većinom domaćica, pokazala je veću učestalost osteoporoze i osteopenije u pacijentkinja sa lošijim ekonomskim statusom, povezanim sa hipoproteinskom ishranom, niskim BMI, lošijim životnim navikama (Londono, et al. 2013) Slične rezultate dobila je i grupa autora iz Irana. U istraživanju sprovedenom u istočnoj Evropi pokazano je da je nizak ekonomski status povezan sa insuficijencijom vitamina D, povišenim vrednostima parathormona, povećanom telesnom težinom i BMI, smanjenom BMD na lumbalnoj kičmi i povećanom prevalencom niskoenergetskih fraktura, jednako i vertebralnih i fraktura kuka (Navarro, et al. 2012). Pacijentkinje sa lošijim ekonomskim statusom iz Koreje imale su veću učestalost osteoporoze i osteoporotične frakture od onih koje su bile u boljoj ekonomskoj situaciji (Sung, et al. 2016). Studija koja se bavila proučavanjem povezanosti zadobijene prve osteoporotične frakture i niskog ekonomskog statusa i niskog znanja o osteoporozu, potvrdila je ovu

povezanost u pacijentkinja ženskog pola u Portoriku (Díaz-Correa, et al. 2014). Nedavno objavljena meta-analiza u USA, je pokazala da je učestalost osteoporoze bila veća kod pacijentkinja sa lošijim ekonomskim statusom, nižim obrazovanjem (srednja škola i manje) među nezaposlenima (Tsai, 2019).

Izgleda da mit o tome da je osteoporoza prisutnija u Zapadnim zemljama sa boljim ekonomskim standardom počinje da bleđi. Veći procenat dijagnostikovanja osteoporoze, savremenija aparaturna tehnika za istu, veća svest stanovništva o frakturnom riziku koji osteoporoza sa sobom nosi, kao i veći broj publikacija iz razvijenih zemalja, mogu biti razlozi ove zablude. Nizak ekonomski status povezan je sa brojnim faktorima rizika koji mogu doprineti ranijem razvoju osteoporoze, ali i drugih bolesti. Naše istraživanje potvrđuje ovu tvrdnju.

Faktori rizika za osteoporozu su aditivni, odnosno ne treba da se tumače odvojeno i nezavisno jedan od drugoga. U preporukama najistaknutijih organizacija za borbu protiv osteoporoze, naznačeno je da ukoliko osoba životne dobi preko 50.godina, ima najmanje 1 major ili najmanje 2 minor faktora rizika, treba da bude upućena na DXA BMD merenje. Prisustvo gore navedenih faktora rizika u našoj populaciji nameće neophodnost prepoznavanja istih.

Identifikacija frakturnog rizika za osteoporozu, od izuzetnog je značaja iz više razloga:

- zbog detekcije pacijentkinja sa faktorima rizika i njihovog ranog skrininga (pre 65.god.),
- moguće prevencije nastanka osteoporoze, korekcijom modifikujućih faktora rizika i odgovarajućom medikamentnom terapijom (primarna prevencija fraktura),
- prevencije progresije osteoporoze nakon nastanka niskoenergetskih fraktura (sekundarna prevencija fraktura).

Neophodno je dalje:

- Bolje rasvetljavanje molekularnih mehanizama o ulozi MMP-aza u koštanom remodelovanju poslužilo bi boljoj proceni maksimizacije efekata vežbanja u cilju prevencije, dijagnostike i terapije.
- Bolja standardizacija kineziterapijskih protokola i implementacija istih u sisteme primarne i sekundarne zdravstvene zaštite omogućila bi efikasniji način lečenja pacijenata sa osteoporozom.
- Strategija modifikacije stila života i promene životnih navika, integracije definisanih kineziterapijskih protokola i održivosti kontinualnog sprovođenja istih pomogla bi u prevenciji nastanka osteoporoze i dalekosežnih posledica koje sa sobom nosi, ali i u promociji zdravog starenja.

6.Zaključci

Na osnovu dobijenih rezultata **osnovni zaključci** su sledeći:

1. Specifično dizajnirani program vežbi smanjuje enzimsku aktivnost MMP-2 i MMP-9, i povećava aktivnost TIMP-a1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom posle 12 nedelja od primene istog.
2. Specifično dizajnirani program vežbi ne utiče na promenu enzimske aktivnosti MMP-2 i MMP-9, i aktivnosti TIMP-a1 u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom posle 4 nedelja od primene istog.
3. Efekti specifično dizajniranog programa vežbi su vremenski zavisni, odnosno enzimske promene aktivnosti MMP-aza i TIMP-a1 se mogu registrovati sa sigurnošću 12 nedelja nakon primene treninga.
4. Specifično dizajnirani program vežbi utiče na poboljšanje funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom, merenim odgovarajućim funkcionalnim testovima nakon 12 nedelja od primene istog.
5. Specifično dizajnirani program vežbi utiče na promenu STS i OLSST, ali ne utiče na promenu TUG testa posle 4 nedelje od primene istog u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.
6. Efekti specifično dizajniranog programa vežbi su vremenski zavisni, odnosno promene funkcionalnog statusa se mogu registrovati sa sigurnošću 12 nedelja nakon primene treninga.
7. Ne postoji uticaj genotipova i alela polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 i rs3918242 u genu za MMP-9 na ishod funkcionalnog statusa u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom koje su imale specifično dizajniran program vežbi.
8. Prema distribuciji faktora rizika za osteoporozu u pacijentkinja sa T-score ispod -2.5 SD pokazalo se da su najzastupljeniji: smanjenje vrednosti vitamina D (91,8%), smanjen unos mlečnih proizvoda (87,6%), sedentarni način života (76,3%), i pozitivna porodična anamneza (48,5%).

Sekundarni zaključci su sledeći:

9. MMP-2, MMP-9 i TIMP-1 mogu poslužiti kao potencijalni biomarkeri u proceni terapijskog odgovora na odgovarajući tretman (kineziterapijski, antiresorptivni i dr.) u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.
10. Set funkcionalnih testova TUG, STS i OLSST se preporučuje za evaluaciju funkcionalnog statusa pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom u svakodnevnoj kliničkoj praksi.
11. Medikamentna terapija bisfosfonatima i suplementacija vitamina D i kalcijuma utiče na poboljšanje STS testa nakon 12 nedelja u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, koje nisu uključene u program vežbi.
12. Analizom polimorfizma rs243866 u genu za MMP-2 u ukupnom uzorku pokazano je da: kod svih ispitanica sa BMI<27 postoji statistički značajna povezanost analiziranog polimorfizma sa rezultatima postignutim na inicijalnom OLSST testu. GG u polimorfizmu za MMP-2 može poslužiti u skrining metodi pacijentkinja sa lošijim balansom, merenim OLSST testom.
13. GG genotip u polimorfizmu za MMP-2 predstavlja prediktor inicijalno lošijeg funkcionalnog statusa procenivanog TUG i STS testom u ispitivanoj populaciji.
14. Specifično dizajniran program vežbi utiče statistički značajno na smanjenje straha od pada u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, u VG grupi, nakon 12 nedelja.

15. Strah od pada u pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom iz KG, nakon 12 nedelja je značajno manji u odnosu na strah prisutan pre sprovođenja programa.
16. Komparativnom analizom efikasnosti tretmana iz VG i KG zaključeno je da je strah od pada statistički značajno manji u grupi koja je imala specifično dizajniran program vežbi.
17. U ispitivanoj populaciji prisutna je umerena zabrinutost za pad prema vrednostima FES-I testa ($23,74 \pm 4,85$), što može predstavljati razlog limitacija u svakodnevnim aktivnostima.
18. Dostupnost informacijama, odnosno stepen znanja o osteoporozu u Srbiji se menja u skladu sa brojem poseta lekaru i edukacije od strane istog.
19. U našem istraživanju OKAT-S test se statistički značajno povećava u ispitivanoj populaciji, odnosno u grupi koja vežba i u kontrolnoj grupi, nakon 12 nedelja.
20. Komparativnom analizom efikasnosti između grupa zaključeno je da su statistički bolje rezultate u usvajanju znanja o osteoporozu ostvarile pacijentkinje koje su imale specifično dizajnirani program vežbi.
21. Prosečna vrednost OKAT-S upitnika u ispitivanoj populaciji iznosila je 42,11% od maksimalnog mogućeg skora, što odgovara skromnom znanju o osteoporozu.
22. Korelaciona analiza primenjenih testova je pokazala da postoji statistički značajna pozitivna korelacija između TUG i STS testa, TUG i FES-I testa, STS i FES-I testa, odnosno negativna korelacija između TUG i OKAT-S testa.
23. Funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom nakon sprovođenja specifično dizajniranog programa vežbi je značajno bolji u odnosu na status pre sprovođenja programa.
24. Svim pacijentima sa sniženom koštanom gustinom preporučuje se specifično dizajniran program vežbi kao sastavni deo terapije osteoporoze.
25. Pacijentkinje koje su lečene bisfosfonatima, a nemaju specifično dizajniran program vežbi, nemaju poboljšanje funkcionalnog statusa kao pacijentkinje koje imaju kompletan farmakološki i nefarmakološki tretman.
26. Funkcionalna procena pacijentkinja sa osteoporozom je neophodna u cilju praćenja procene efikasnosti terapije i eventualne modifikacije iste.
27. Procena funkcionalnog statusa treba da podrazumeva primenu TUG, STS i OLST testa, koji su laki i jednostavni za izvođenje.
28. Procena funkcionalnog statusa savetuje se pre i nakon završenog programa lečenja, ali se u zavisnosti od individualnih performansi pacijentkinja, i procene lekara, može obavljati i više puta tokom lečenja.
29. Primena FES-I i OKAT-S preporučuje se u proceni funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom, u cilju efikasnijeg terapijskog tretmana, usled smanjenja straha od pada i povećanja znanja o osteoporozu.
30. Identifikacija faktora rizika za osteoporozu treba da služi kao pomoćna preskrining metoda u proceni pacijentkinja za skrining DXA BMD metodom.
31. Procena faktora rizika za pad može biti od pomoći u procesu identifikacije postmenopauzalnih pacijentkinja koje su u riziku za isti.
32. Prema distribuciji udruženih faktora rizika za osteoporozu u pacijentkinja sa T-score ispod -2.5 SD pokazalo se da skoro četiri petine ispitanica (79,4%) ima dva udružena "major" faktora rizika, dok 37,1% ispitanica ima tri udružena "major" faktora rizika.
33. Prema distribuciji faktora rizika za pad u pacijentkinja sa T-score ispod -2.5 SD pokazalo se da su najzastupljeniji: poremećaj vida (95,9%), hronična upotreba lekova (72%), potreba za noćnim ustajanjem (68,0%).
34. U ispitivanoj populaciji nizak BMI nije predstavljao faktor rizika za osteoporozu (1%).
35. U ispitivanoj populaciji samo 1 pacijentkinja (1%) nije imala nijedan major faktor rizika za osteoporozu. 99% anketiranih ispitanica imalo je minimum 1 major faktor rizika, a njih 23,7% po 3 major faktora rizika, uz prisutne minor faktore u različitom procentu.

36. Primena specifično dizajniranog programa vežbi je efikasan način za poboljšanje funkcionalnog statusa pacijentkinja sa osteoporozom i treba da bude sastavni deo svake terapijske strategije za lečenje osteoporoze.

7.Literatura

Aleksić J. Parametri koštane strukture i snage u proceni rizika za prelom kod žena u postmenopauzalnom periodu: Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet; 2019.

Abrahamsen B, Brask-Lindemann D, Rubin K, Schwarz P. A review of lifestyle, smoking and other modifiable risk factors for osteoporotic fractures. *Bonekey Rep.* 2014;3:574.

Abukhadir S, Mohamed N, Mohamed N. Pathogenesis of alcohol-induced osteoporosis and its treatment: a review. *Curr Drug Targets.* 2013;14(13):1601-10.

Adami G, Saag KG. Glucocorticoid-induced osteoporosis: 2019 concise clinical review. *Osteoporos Int.* 2019;30(6):1145-56.

Adler RA, El-Hajj Fuleihan G, Bauer DC, Camacho PM, Clarke BL, Clines GA et al. Managing Osteoporosis Patients after Long-Term Bisphosphonate Treatment. Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 2016; 31(1): 16–35.

Al Aqeel A, Al Sewairi W, Edress B, Gorlin RJ, Desnick RJ, Martignetti JA. Inherited multicentric osteolysis with arthritis: a variant resembling Torg syndrome in a Saudi family. *Am J Med Genet.* 2000;93(1):11–8.

Alagiakrishnan K, Juby A, Hanley D, Tymchak W, Sclater A. Role of vascular factors in osteoporosis. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences.* 2003;58(4):362–6.

Alexander CM, Hansell EJ, Behrendtsen O, et al. Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation. *Development.* 1996;122(6):1723–36.

Alexandre TS, Meira DM, Rico NC, Mizuta SK. Accuracy of Timed Up and Go Test for screening risk of falls among community-dwelling elderly. *Brazilian Journal of Physical Therapy.* 2012;16(5):381-8.

Alghadir AH, Gabr SA, Al-Eisa E. Physical activity and lifestyle effects on bone mineral density among young adults: sociodemographic and biochemical analysis. *J Phys Ther Sci.* 2015;27(7):2261–70.

Allori AC, Sillon AM, Warren SM. Biological basis of bone formation, remodeling, and repair-part II: extracellular matrix. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14(3):275-83.

Al-Mayouf SM, Majeed M, Hugosson C, Bahabri S. New form of idiopathic osteolysis: nodulosis, arthropathy and osteolysis (NAO) syndrome. *Am J Med Genet.* 2000;93(1):5–10.

Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw.* 2018;18(1):8.

American Geriatrics Society, British Geriatrics Society and American Academy of Orthopaedic Surgeons Panel on Falls Prevention. *J Am Geriatr Soc.* 2001; 49:664–72.

Anagnostis P, Siolos P, Gkekas NK, Kosmidou N, Artzouchaltzi AM, Christou K et al. Association between age at menopause and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2019;63(2):213–24.

Association CM. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis. Scientific Advisory Board, Osteoporosis Society of Canada. *CMAJ*. 1996;155(8):1113-33.

Aveiro M, Granito RN, Navega MT, Driusso P, Oishi J. Influence of a physical training program on muscle strength, balance and gait velocity among women with osteoporosis. *Rev Bras Fisioter*. 2006;10(4):441-8.

Azevedo A, Prado AF, Feldman S, de Figueiredo FAT, Dos Santos MCG, Issa JPM. MMPs are Involved in Osteoporosis and are Correlated with Cardiovascular Diseases. *Curr Pharm Des*. 2018;24(16):1801-10.

Baranzini F, Diurni M, Ceccon F, et al. Fall-related injuries in a nursing home setting: is polypharmacy a risk factor? *BMC Health Serv Res*. 2009;9:228.

Bass, S, Delmas, P.D, Pearce, G, Hendrich, E, Tabensky, A, Seeman, E. The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is regionspecific. *Journal of Clinical Investigation*. 1999;104:795 – 804.

Baydan M, Caliskan H, Balam-Yavuz B, Aksoy S, Böke B. The Interaction Between Mild Cognitive Impairment with Vestibulo-ocular Reflex, Dynamic Visual Acuity and Postural Balance in Older Adults. *Exp Gerontol*. 2020;130:110785.

Bentz AT, Schneider CM, Westerlind KC. The relationship between physical activity and 2-hydroxyestrone, 16 α -hydroxyestrone, and the 2/16 ratio in premenopausal women (United States). *Cancer Causes & Control*. 2005;16(4):455-61.

Bergen G, Stevens MR, Burns ER. Falls and Fall Injuries Among Adults Aged ≥ 65 Years - United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(37):993–8.

Bergman G, Deuretzbacher G, Heller M, Graichen F, Rohlmann A, Strauss J et al. Hip contact forces and gait patterns from routine activities. *Journal of biomechanics*. 2001;34(7):859-71.

Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ*. 2009;339:b369.

Block GA, Raggi P, Bellasi A, Kooienga L, Spiegel DM. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2007;71(5):438–41.

Bohannon RW. Reference values for the timed up and go test: a descriptive meta-analysis. *J Geriatr Phys Ther*. 2006;29(2):64–8.

Bolland MJ, Barber PA, Doughty RN, et al. Vascular events in healthy older women receiving calcium supplementation: randomised controlled trial. *BMJ*. 2008;336(7638):262–6.

Bolland MJ, Grey A, Avenell A. Effects of vitamin D supplementation on musculoskeletal health: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(11):847–58.

Bolton CE, Stone MD, Edwards PH, Duckers JM, Evans WD, Shale DJ. Circulating matrix metalloproteinase-9 and osteoporosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chron Respir Dis*. 2009;6(2):81–7.

Bonaiuti D, Arioli G, Diana G, Franchignoni F, Giustini A, Monticone M et al. SIMFER rehabilitation treatment guidelines in postmenopausal and senile osteoporosis. *Eura Medicophys*. 2005;41(4):315–37.

Bonner FJ Jr, Sinaki M, Grabois M, et al. Health professional's guide to rehabilitation of the patient with osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2003;14:S1.

Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982, 14(5):377–81.

Burke TN, França FJ, Ferreira de Meneses SR, Cardoso VI, Marques AP. Postural control in elderly persons with osteoporosis: Efficacy of an intervention program to improve balance and muscle strength: a randomized controlled trial. *Am J Phys Med Rehabil*. 2010;89(7):549–56.

Buyukyazi G et al. The effects of an 8-week walking program on serum lipids, circulation matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in post-menopausal women. *Turk J Biochem*. 2008, 33(4):154–62.

Büyükyazı G, Ulman C, Taneli F, et al. The effects of an 8-week walking program on serum lipids, circulation matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in post-menopausal women. *Turk J Biochem*. 2008;33(4):154–72.

Camacho PM, Petak SM, Binkley N, Clarke BL, Harris ST, Hurley DL et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Clinical Practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocrine Practice*. 2016;22(4):1–42.

Cao J. Effects of obesity on bone metabolism. *J Orthop Surg Res*. 2011;6:30.

Chang HK, Chang D-G, Myong J-P, Kim J-H, Lee S-J, Lee YS, et al., Bone mineral density among Korean females aged 20–50 years: influence of age at menarche (The Korea National Health and Nutrition Examination Survey), *Osteoporos Int* 2017 (2008–2011):1–8.

Chen Q, Jin M, Yang F, et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013:928315.

- Chen YW, Ramsook AH, Coxson HO, Bon J, Reid WD. Prevalence and Risk Factors for Osteoporosis in Individuals With COPD: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest*. 2019;156(6):1092–110.
- Cheraghi Z, Doosti-Irani A, Almasi-Hashiani A, Baigi V, Mansournia N, Etminan M et al. The effect of alcohol on osteoporosis: A systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend*. 2019;197:197–202.
- Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(7):1510–30.
- Choi JW, Pai SH. Associations Between ABO Blood Groups and Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Ann Clin Lab Sci*. 2004;34(2):150-3.
- Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3(3):131-9.
- Coppock H.A., White A, Aplin J.D, Westwood M. Matrix metalloprotease-3 and 9 proteolyze insulin-like growth factor-binding protein 1. *Biol Reprod*. 2004; 71(2): 438-43.
- Cosman F, de Beur SJ, LeBoff M, Lewiecki E, Tanner B, Randall S, et al. Clinician’s guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporosis international*. 2014;25(10):2359-81.
- Daly RM. Exercise and nutritional approaches to prevent frail bones, falls and fractures: an update. *Climacteric*. 2017;20(2):119–24.
- Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour J-P, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan G-H, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporosis Int*. 2010;21(7):1151-4.
- De Kam D, Smulders E, Weerdesteyn V, Smits-Engelsman BC. Exercise interventions to reduce fall-related fractures and their risk factors in individuals with low bone density: a systematic review of randomized controlled trials. *Osteoporos Int*. 2009;20(12):2111–25.
- de Melo Ocarino N, Serakides R. Effect of the physical activity on normal bone and on the osteoporosis prevention and treatment. *Rev Bras Med Esporto*. 2006;12(3).
- Demissie S, Dupuis J, Cupples LA, Beck TJ, Kiel DP, Karasik D. Proximal hip geometry is linked to several chromosomal regions: genome-wide linkage results from the Framingham Osteoporosis Study. *Bone*. 2007;40(3):743-50.
- Deng FY, Xiao P, Lei SF, et. al. Bivariate whole genome linkage analysis for femoral neck geometric parameters and total body lean mass. *J Bone Miner Res*. 2007;22(6):808-16.
- Deshpande N, Metter EJ, Lauretani F, Bandinelli S, Guralnik J, Ferrucci L. Activity restriction induced by fear of falling and objective and subjective measures of physical function: a prospective cohort study. *J Am Geriatr Soc*. 2008;56(4):615–20.

- Díaz-Correa LM, Ramírez-García LM, Castro-Santana LE, Vilá LM. Osteoporosis knowledge in patients with a first fragility fracture in Puerto Rico. *Bol Asoc Med P R*. 2014;106(1):6–10.
- Dizdar M, Irdesel JF, Dizdar OS, Topsaç M. Effects of Balance-Coordination, Strengthening, and Aerobic Exercises to Prevent Falls in Postmenopausal Patients With Osteoporosis: A 6-Month Randomized Parallel Prospective Study. *J Aging Phys Act*. 2018;26(1):41-51.
- Duckham RL, Masud T, Taylor R, et al. Randomised controlled trial of the effectiveness of community group and home-based falls prevention exercise programmes on bone health in older people: the Pro Act 65+ bone study. *Age Ageing*. 2015;44(4):573–9.
- Dudarić, L, Cvek S, Cvijanović O, Fužinac-Smojver A, Čelić T, Martinović D. Osnove biologije koštanog tkiva. *Medicina fluminensis*. 2014;50(1): 21-38.
- Egeblad M, Shen HC, Behonick DJ, et al. Type I collagen is a genetic modifier of matrix metalloproteinase 2 in murine skeletal development. *Dev Dyn*. 2007;236(6): 1683–93.
- Ehrlich P, Lanyon L. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporosis international*. 2002;13(9)
- Elliot-Gibson V, Bogoch ER, Jamal SA, Beaton DE. Practice patterns in the diagnosis and treatment of osteoporosis after a fragility fracture: a systematic review. *Osteoporosis Int*. 2004;15:767-78.
- El-Río-Valeiras M, Gayoso-Diz P, Santos-Pérez S et al. Is there a relationship between short FES-I test scores and objective assessment of balance in the older people with age-induced instability? *Arch Gerontol Geriatr*. 2016; 62:90–6.
- Engsig MT, Chen Q-J, Vu TH, Pedersen A-C, Therkidsen B, Lund LR, et al. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *The Journal of cell biology*. 2000;151(4):879-90.
- Erjavec I. Utjecaj serotoninemije na metabolizam koštane pregradnje [Effect of serotoninemia on bone remodeling metabolism]: Sveučilište u Zagrebu; 2014.
- Ewald D .Osteoporosis, Prevention and detection in general practice. 2012; (3)41: 104-8. Facts F. National Osteoporosis Foundation web site. 2012.
- Faienza MF, Ventura A, Marzano F, Cavallo L. Postmenopausal osteoporosis: the role of immune system cells. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:575936.
- Faryal M, Ernesto C. Secondary osteoporosis: pathophysiology and management. *Eur J Endocrinol*. 2015;173(3):131–151.
- Fávaro-Moreira NC, Krausch-Hofmann S, Matthys C, Vereecken C, Vanhauwaert E, Declercq A et al. Risk Factors for Malnutrition in Older Adults: A Systematic Review of the Literature Based on Longitudinal Data. *Adv Nutr*. 2016;16;7(3):507-22.

- Feng X. Chemical and Biochemical Basis of Cell-Bone Matrix Interaction in Health and Disease. *Curr Chem Biol.* 2009;3(2): 189–96.
- Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(2):504–11.
- Fiotti N, Deiuri E, Altamura N, et al. Body composition and muscular strength changes after moderate activity: association with matrix metalloproteinase polymorphisms. *Arch Gerontol Geriatr.* 2009;49(1):83–94.
- Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.
- Föger-Samwald U, Vekszler G, Hörz-Schuch E, Salem S, Wipperich M, Ritschl P, et al. Molecular mechanisms of osteoporotic hip fractures in elderly women. *Experimental gerontology.* 2016;73:49-58.
- Franchignoni F, Tesio L, Martino MT, Ricupero C. Reliability of four simple, quantitative tests of balance and mobility in healthy elderly females. *Aging (Milano).* 1998;10(1):26–31.
- Frost M. A determinant of bone architecture: the minimum effective strain. *Clin Orthop* 1983; 175: 286-92.
- Galetić G. Quality of life after hip surgery and medical rehabilitation in elderly. University of Novi Sad, Medical Faculty; 2016.
- Gallieraa, G. Banfic, M.M. Corsia. Human bone disorders: Pathological role and diagnostic potential of matrixmetalloproteinasesE. *Int j Biochem Cell Biol.* 2010; 42(10)1590-3.
- Gardinier JD, Mohamed F, Kohn D H. PTH signaling during exercise contributes to bone adaptation. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2015;30(6):1053–63.
- Gehlsen G, Whaley M. Falls in the elderly: part II, balance, strength and flexibility. *Arch Phys Med Rehabil.* 1990; 71:739-41.
- General OotS. Bone health and osteoporosis: a report of the Surgeon General. 2004.
- Geoffroy V, Marty-Morieux C, Le Goupil N, et al. In vivo inhibition of osteoblastic metalloproteinases leads to increased trabecular bone mass. *J Bone Miner Res.* 2004;19(5):811–22.
- Geudens I, Gerhardt O. Coordinating cell behaviour during blood vessel formation. *Development.*2011;138(21):4569–83.
- Giangregorio LM, McGill S, Wark JD, Laprade J, Heinonen A, Ashe MC et al. Too Fit To Fracture: outcomes of a Delphi consensus process on physical activity and exercise recommendations for adults with osteoporosis with or without vertebral fractures. *Osteoporosis Int.*2015;26(3):891-910.

Gianoudis J, Bailey CA, Ebeling PR, et al. Effects of a targeted multimodal exercise program incorporating high-speed power training on falls and fracture risk factors in older adults: a community-based randomized controlled trial. *J Bone Miner Res.* 2014; 29:182–9141.

Gillespie LD, Robertson MC, Gillespie WJ, et al. Interventions for preventing falls in older people living in the community. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(9) : CD007146.

Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(9):607–15.

Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 2000;342(20):1478–83.

Gopcevic K, Rovcanin B, Kekic D, Krivokapic Z, Dragutinovic V. Matrix metalloproteinase-2 and -9, lactate and malate dehydrogenase and lipid peroxides in sera of patients with colorectal carcinoma. *Folia Biologica.* 2017;63:190-6.

Gopcevic K. Metaloproteinaze celijskog matriksa - struktura i funkcija. *Hemijski pregled* 2010, 51 (5): 111-117.

Gordon JA, Tye CE, Sampaio AV, Underhill TM, Hunter GK, Goldberg HA. Bone sialoprotein expression enhances osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *Bone.* 2007;41(3):462–73.

Grazioli E, Dimauro I, Mercatelli N, Wang G, Pitsiladis Y, Di Luigi L, et al. Physical activity in the prevention of human diseases: role of epigenetic modifications. *BMC genomics.* 2017;18(8):802.

Greenblatt M, Tsai J, Wein M. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone. *Clinical Chemistry,* 2017. 63:2 464–74.

Grigoryan A, Dimitrova A, Kostov K, Ruseva A, Atanasova M, Blazhev A, Betova T. Serum concentrations of matrix metalloproteinase-9, -13 and TIMP-1 in an ovariectomized wistar rat model of osteoporosis. *Archives of the Balkan Medical Union.* 2017;52(4):391-6.

Grossman JM, Gordon R, Ranganath VK, Deal C, Caplan L, Chen W, et al. Recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010;62:1515–26.

Gross J, Lapiere CM: Collagenolytic activity in amphibian tissues: A tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 48: 1014-1022, 1962

Gudmundsdottir SL, Oskarsdottir D, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Risk factors for bone loss in the hip of 75-year-old women: A 4-year follow-up study. *Maturitas.* 2010;67(3):256-61.

- Guerrini MM, Takayanagi H. The immune system, bone and RANKL. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2014;561:118–23.
- Guideline for the prevention of falls in older persons. American Geriatrics Society, British Geriatrics Society, and American Academy of Orthopedic Surgeons Panel on Falls Prevention. *J Am Geriatr Soc*. 2001; 49(5):664–72.
- Guo Y, Wang Y, Liu Y, et al. MicroRNA-218, microRNA-191, microRNA-3070a and microRNA-33 are responsive to mechanical strain exerted on osteoblastic cells. *Molecular Medicine Reports*. 2015;12(2):3033–8.
- Gupta S, Ahsan I, Mahfooz N, Abdelhamid N, Ramanathan M, Weinstock-Guttman B. Osteoporosis and multiple sclerosis: risk factors, pathophysiology, and therapeutic interventions. *CNS Drugs*. 2014;28(8):731-42.
- Haaland DA, Cohen DR, Kennedy CC, Khalidi NA, Adachi JD, Papaioannou A. Closing the osteoporosis care gap: increased osteoporosis awareness among geriatrics and rehabilitation teams. *BMC Geriatr*.2009;9:28.
- Haeusler G, Walter I, Helmreich M, Egerbacher M. Localization of matrix metalloproteinases, (MMPs) their tissue inhibitors, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in growth plates of children and adolescents indicates a role for MMPs in human postnatal growth and skeletal maturation. *Calcif Tissue Int*. 2005;76(5):326–35.
- Halleen JM, Tiitinen SL, Ylipahkala H, Fagerlund KM, Väänänen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRACP 5b) as a marker of bone resorption. *Clin Lab*. 2006;52(9-10):499-509.
- Hallström H, Wolk A, Glynn A, Michaëlsson K. Coffee, tea and caffeine consumption in relation to osteoporotic fracture risk in a cohort of Swedish women. *Osteoporos Int*. 2006;17(7):1055–64.
- Hamilton J, Swan D, Jamal A. The effects of exercise and physical activity participation on bone mass and geometry in postmenopausal women: a systematic review of pQCT studies. *Osteoporosis International*. 2010;21(1):11–23.
- Handoll H. Update of a systematic review of vitamin D for preventing osteoporotic fractures. *Inj Prev*. 2009;15(3):213.
- Hankenson KD, Dishowitz M, Gray C, Schenker M. Angiogenesis in bone regeneration. *Injury*.2011;42(6):556–61.
- Hannon, R., Eastell, R. Preanalytical Variability of Biochemical Markers of Bone Turnover. *Osteoporos Int*.2000; 6:30-44.
- Hans DB, Kanis JA, Baim S, Bilezikian JP, Binkley N, Cauley JA, et al. Joint official positions of the International Society for Clinical Densitometry OsteoporosInt 24:23–57and International Osteoporosis Foundation on FRAX(®). Executive summary of the 2010 Position Development Conference on Interpretation and use of FRAX® in clinical practice. *J Clin Densitom*. 2011;14(3):171-80.

Harada, A, Ito S, Matsui Y, Sakai Y, Takemura M, Tokuda H et al. Effect of alendronate on muscle mass: Investigation in patients with osteoporosis. *Osteoporosis and Sarcopenia*.2015; 1(1) 53–8.

Hauer K, Yardley L, Beyer N, Kempen G, Dias N, Campbell M, et al. Validation of the Falls Efficacy Scale and Falls Efficacy Scale International in geriatric patients with and without cognitive impairment: results of self-report and interview-based questionnaires. *Gerontology*. 2010;56(2):190-9.

Hausdorff JM, Alexander NB. *Gait disorders: evaluation and management*: Taylor & Francis US; 2005.

Henriet, Patrick ; Emonard, Hervé. Matrix metalloproteinase-2: Not (just) a “hero” of the past. *Biochimie*.2019; 166:223-32

Hernlund E, Svedbom A, Ivergard M, et al. Osteoporosis in European Union: medical management, epidemiology and economic burden. *Arch Osteoporosis*. 2013; 8:136.

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.

Honaker JA, Shepard NT. Age effect on the Gaze Stabilization test. *Journal of Vestibular Research: Equilibrium and Orientation*. 2010; 23;20(5):357-62.

Hourigan SR, Nitz JC, Brauer SG, O’Neill S, Wong J, Richardson CA. Positive effects of exercise on falls and fracture risk in osteopenic women. *Osteoporosis Int*. 2008; 9: 1077–86.

Huang L, Chen S, Yu Y, Chen P, Lin Y. The effectiveness of health promotion education programs for community elderly. *J Nurs Res*. 2002;10(4):261–70.

Hurvitz EA, Richardson JK, Werner RA. Unipedal stance testing in the assessment of peripheral neuropathy. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2001;82(2):198-204.

Ilić J. Povezanost između različitih faktora rizika za pojavu osteoporoze i koštane mase u postmenopauzних žena : Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet; 2016.

Ilich JZ, Cvjetic S, Baric IC, Cecic I, Saric M, Crncevic-Orlic Z, et al. Nutrition and lifestyle in relation to bone health and body weight in Croatian postmenopausal women. *Int J Food Sci Nutr*. 2009;60(4):319-32.

Influence of Exercise Program on Serum Matrix Metalloproteinases and Functional Status in Women With Postmenopausal Osteoporosis. *ClinicalTrials.gov*: NCT03816449.

Inoue K, Mikuni-Takagaki Y, Oikawa K, Itoh T, Inada M, Noguchi T, et al. A crucial role for matrix metalloproteinase 2 in osteocytic canalicular formation and bone metabolism. *J Biol Chem*.2006; 281(44):33814–24.

- Ito S, Harada A, Kasai T, Sakai Y, Takemura M, Matsui Y, et al. Use of alfacalcidol in osteoporotic patients with low muscle mass might increase muscle mass: an investigation using a patient database. *Geriatr Gerontol Int.* 2014;14:122-8.
- Itoh T, Ikeda T, Gomi H, Nakao S, Suzuki T, Itohara S. Unaltered secretion of beta-amyloid precursor protein in gelatinase A (matrix metalloproteinase 2)-deficient mice. *J Biol Chem.* 1997;272(36):22389–92.
- Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J Enzyme Inhib Med Chem.*2016;31(1):177–83.
- Jakobsen A, Laurberg P, Vestergaard P, Andersen S. Clinical risk factors for osteoporosis are common among elderly people in Nuuk, Greenland. *Int J Circumpolar Health.* 2013;72(1):19596.
- Jaoude J, Koh Y. Matrix metalloproteinases in exercise and obesity. *Vasc Health Risk Manag.* 2016;12:287.
- Jefferis BJ, Iliffe S, Kendrick D, Kerse N, Trost S, Lennon LT et al. How are falls and fear of falling associated with objectively measured physical activity in a cohort of community-dwelling older men? *BMC Geriatr.* 2014;14:114.
- Jelčić J. Odnos polimorfizma gena za vitamin-D receptor, alfa-1 lanac kolagena I i estrogeni receptor i koštane mase u bolesnika s hipertireozom. Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet; 2008.
- Jones TS, Ghosh TS, Horn K, Smith J, Vogt RL. Primary care physicians perceptions and practices regarding fall prevention in adults 65 years and over. *Accid Anal Prev.* 2011;43:1605–9.
- Jonsson E, Seiger A, Hirschfeld H. One-leg stance in healthy young and elderly adults: a measure of postural steadiness? *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2004; 19(7):688–94.
- Kadoglou NP, Vrabas IS, Sailer N, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.*2010;36:144–51.
- Kammerer CM, Schneider JL, Cole SA, Quantitative trait loci on chromosomes 2p, 4p, and 13q influence bone mineral density of the forearm and hip in Mexican Americans. *J Bone Miner Res.*2003;18(12):2245-52.
- Kang L, Chen X, Han P, Ma Y, Jia L, Fu L et al. A screening tool using five risk factors was developed for fall-risk prediction in Chinese community-dwelling elderly individuals. *Rejuvenation Res.* 2018;21(5):416–22.
- Kanis J, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.*2019;30:3-44.
- Kanis JA, Johnell O, De Laet C, Johansson H, Oden A, Delmas P et al. A meta-analysis of previous fracture and subsequent fracture risk. *Bone.*2004;35(2):375-82.

Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005; 16(2):155-62.

Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y, on behalf of the Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2013; 24:23–57.

Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Strom O, Borgstrom F, Oden A. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX-assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos Int.* 2008;19(10):1395-408.

Kanis JA, Reginster JY, Kaufman JM, Ringe JD, Adachi JD, Hiligsmann M, et al. A reappraisal of generic bisphosphonates in osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2012; 23(1):213-21.

Kanis JA. Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. WHO Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield. 2007.

Karapanou O, Papadimitriou A. Determinants of menarche. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2010;8(1):115.

Karkkainen M, Rikkonen T, Kroger H, Sirola J, Tuppurainen M, Salovaara K et al. Association between functional capacity tests and fractures: an eight-year prospective population-based cohort study. *Osteoporos Int.* 2008;19(8):1203–10.

Karlsson MK, Magnusson H, von Schewelow T, Rosengren BE. Prevention of falls in the elderly--a review. *Osteoporos Int.* 2013;24(3):747–62.

Karlsson MK, Rosengren BE. Physical Activity as a Strategy to Reduce the Risk of Osteoporosis and Fragility Fractures. *Int J Endocrinol Metab.* 2012; 10(3): 527–36.

Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2017;26(6):10.

Kemmler W, Haberle L, von Stengel S. Effects of exercise on fracture reduction in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2013; 24(7): 1937–50.

Kempen GI, Yardley L, van Haastregt JC et al. The Short FES-I: a shortened version of the falls efficacy scale-international to assess fear of falling. *Age Ageing.* 2008;37(1):45–50.

Kendrick D, Kumar A, Carpenter H, Zijlstra GA, Skelton DA, Cook JR et al. Exercise for reducing fear of falling in older people living in the community. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;11:CD009848.

Kenkre JS, Bassett J. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018; 55(3): 308–27.

Kim J, Jang HJ, Schellingerhout D, Kang JW, Choi S, Oh H, et al. Effects of exercise training and detraining on atheromatous matrix metalloproteinase activity in mice. *Atherosclerosis.* 2020.

Kim K, Punj V, Kim JM, et al. MMP-9 facilitates selective proteolysis of the histone H3 tail at genes necessary for proficient osteoclastogenesis. *Genes Dev.* 2016;30(2):208–19.

Kim S.Y. Coffee Consumption and Risk of Osteoporosis. *Korean J Fam Med.* 2014; 35:1.

Klein-Nulend J., Bacabac R. G., Bakker A. D. Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *European Cells and Materials.* 2012;24:278–91.

Kocic M, Stojanovic Z, Lazovic M, Nikolic D, Zivkovic V, Milenkovic M, et al. Relationship between fear of falling and functional status in nursing home residents above 65 years old. *Geriatr Gerontol Int.* 2017;17:1470-6.

Kodama D, Saito M, Matsumoto W et al. Longer dinucleotide repeat polymorphism in matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene promoter which correlates with higher HTLV-I Tax mediated transcriptional activity influences the risk of HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neuroimmunol.* 2004; 156(1-2):188-94.

Komatsu T, Kim KJ, Kaminai T, Okuizumi H, Kamioka H, Okada S et al. Clinical factors as predictors of the risk of falls and subsequent bone fractures due to osteoporosis in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2006;24(5):419-24.

Korpelainen R, Keinanen-Kiukaanniemi S, Nieminen P, Heikkinen J, Vaananen K, Korpelainen J. Long-term outcomes of exercise: follow-up of a randomized trial in older women with osteopenia. *Arch Intern Med.* 2010;170(17):1548–56.

Kostek M.C, Delmonico M.J, Reichel J.B, Roth S.M, Douglass L, Ferrell R.E, et al. Muscle strength response to strength training is influenced by insulin-like growth factor 1 genotype in older adults. *J Appl Physiol.* 2005;98(6):2147-54.

Kovács E, Prókai L, Mészáros L, Gondos T. Adapted physical activity is beneficial on balance, functional mobility, quality of life and fall risk in community-dwelling older women: A randomized single-blinded controlled trial. *Eur J Rehabil Med.* 2013; 49: 301–10.

Krum SA. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2011;112(2):401–8.

Kumar A, Carpenter H, Morris R, Iliffe S, Kendrick D. Which factors are associated with fear of falling in community-dwelling older people? *Age Ageing.* 2014;43(1):76–84.

La Rocca G, Pucci-Minafra I, Marrazzo A, Taormina P, Minafra S. Zymographic detection and clinical correlations of MMP-2 and MMP-9 in breast sera. *Br J Cancer.* 2004;90:1414-21.
Lach HW. Incidence and risk factors for developing fear of falling in older adults. *Public Health Nurs.* 2005; 22(1):45–52.

Lang T, Le Blanc A, Evans H, Lu Y, Genant H, Yu A. Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2004;19(6):1006–12.

Lassen NE, Andersen TL, Pløen GG, Søre K, Hauge EM, Harving S, et al. Coupling of Bone Resorption and Formation in Real Time: New Knowledge Gained From Human Haversian BMUs. *J Bone Miner Res.* 2017;32(7):1395-405.

Lazarević K, Mitrović V, Ilić M. Životne navike i rizik za nastanak osteoporoze kod žena u postmenopauzi. *Balneoklimatologija.* 2007; 31:159-63.

Le NT, Xue M, Castelnoble LA, Jackson CJ. The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front Biosci.* 2007; 12:1475-87.

Lee KCL, Lanyon LE. Mechanical loading influences bone mass through estrogen receptor α . *Exerc Sport Sci Rev.* 2004;32:64–8.

Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between osteoprotegerin polymorphism and bone mineral density: a meta analysis. *Mol Biol Rep.* 2010; 37 (1):227-34.

Lešić A, Bumbaširević M, Jarebibiški M, Pekmezović T. Incidencija preloma kuka u populaciji Beograda 1999-2000 god. projekcije do 2020. godine. *Acta chirurgica Iugoslavica,* 2005;52(2):95-9.

Li J, Liao E, Dai R, Wei Q, Luo X. Effects of 17 β -estra-diol on the expression of interstitial collagenases-8 and-13 (MMP-8 and MMP-13) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in ovariectomized rat osteoblastic cells. *J Mol Histol.* 2004; 35(8-9):723-31.

Li L, Chen X, Lv S, et al. Influence of exercise on bone remodeling-related hormones and cytokines in ovariectomized rats: a model of postmenopausal osteoporosis. *PLoS ONE.* 2014;9(11).

Li N, Jiang Y, He S, Zhao Z, Sun J, Li M et al. Efficacy and safety of alfacalcidol in Chinese postmenopausal women aged over 65 with osteoporosis or osteopenia. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(47).

Liang H, Xu J, Xue M, Jackson C. Matrix metalloproteinases in bone development and pathology: current knowledge and potential utility. *Metalloproteinases Med.* 2016; 3: 93-102.

Lieu S, Hansen E, Dedini R, et al. Impaired remodeling phase of fracture repair in the absence of matrix metalloproteinase-2. *Dis Model Mech.* 2011;4(2):203–11.

Lloyd A, Lang H, Zhang Y, et al. Interdependence of muscle atrophy and bone loss induced by mechanical unloading. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2014;29(5):1118–30.

Lo Presti R, Hopps E, Caimi G. Gelatinases and physical exercise: A systematic review of evidence from human studies. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(37):8072.

Logar DB, Komadina R, Prezelj J, Ostanek B, Trost Z, Marc J. Expression of bone resorption genes in osteoarthritis and in osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2007;25:219–25.

Londono J, Valencia P, Santos AM, Gutiérrez F.L, Baquero R, Valle-Oñate R. Risk factors and prevalence of osteoporosis in premenopausal women from poor economic backgrounds in Colombia. *Int J Womens Health*. 2013; 5: 425–30.

Lourie JA. Is there an association between ABO blood groups and primary osteoarthritis of the hip? *Ann Hum Biol*. 1983;10(4):381–3.

Lu BB, Li KH. Association between ABO blood groups and osteoporosis severity in Chinese adults aged 50 years and over. *J Int Med Res*. 2011;39(3):929–33.

Lucotti P, Monti LD, Setola E, et al. Aerobic and resistance training effects compared to aerobic training alone in obese type 2 diabetic patients on diet treatment. *Diabetes Res ClinPract*.2011;94:395–403.

Lundin H, Säaf M, Strender LE, Nyren S, Johansson SE, Salminen H. One-leg standing time and hip-fracture prediction. *Osteoporos Int*.2014 ;25(4):1305-11.

Lusardi MM, Fritz S, Middleton A, Allison L, Wingood M, Phillips E et al. Determining Risk of Falls in Community Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis Using Posttest Probability. *J Geriatr Phys Ther*. 2017;40(1):1–36.

Ma L, Zheng LW, Sham MH, Cheung LK. Uncoupled angiogenesis and osteogenesis in nicotine compromised bone healing. *J Bone Miner Res*. 2010;25(6):1305-13.

Madden MC, Byrnes WC, Lebin JA, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 response to eccentric exercise of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol*. 2011; 111(8):1795–805.

Zhu K, Devine A, Lewis J, Dhaliwal S, Prince R. Timed Up and Go test and bone mineral density measurement for fracture prediction. *Arch intern med*.2011;171(18):1655-61.

Madsen DH, Jurgensen HJ, Ingvarsen S, et al. Differential actions of the endocytic collagen receptor uPARAP/Endo180 and the collagenase MMP-2 in bone homeostasis. *PloS One*. 2013;8(8).

Madureira MM, Ciconelli RM, Pereira RM. Quality of life measurements in patients with osteoporosis and fractures. *Clinics*. 2012;67(11):1315-20.

Madureira MM, Takayama L, Gallinaro AL, Caparbo VF, Costa RA, Pereira RMR. Balance training program is highly effective in improving functional status and reducing the risk of falls in elderly women with osteoporosis: A randomized controlled trial. *Osteoporosis Int*.2007;18(4):419–25.

Maïchuk EI, Voevodina IV, Mitrokhina TV, Makarova IA, Iureneva SV. The risk of atherosclerosis and osteoporosis development in post-ovariectomy syndrome women during hormone replacement therapy. *Ter Arkh*. 2014;86(8):75-9.

Makowski GS, Ramsby ML. Calibrating gelatin zymograms with human gelatinase standards. *Anal Biochem*.1996;236:353–6.

Malini FM, Lourenço RA, Lopes CS. Prevalence of fear of falling in older adults, and its associations with clinical, functional and psychosocial factors: the Frailty in Brazilian Older People-Rio de Janeiro study. *Geriatr Gerontol Int*. 2016; 16(3): 336–44.

Mancini M, Horak FB. The relevance of clinical balance assessment tools to differentiate balance deficits. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2010;46(2):239-48.

Marenzana M, Shipley AM, Squitiero P, Kunkel JG, Rubinacci A. Bone as an ion exchange organ: evidence for instantaneous cell-dependent calcium efflux from bone not due to resorption. *Bone*. 2005;37(4):545–54.

Marijanac A. Uticaj modela programa vežbanja na koštanu gustinu i biohemijske markere koštanog remodelovanja kod žena u pre- i postmenopauzi: Univerzitet u Novom Sadu, Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja; 2018.

Markham A. Romosozumab: First Global Approval. *Drugs*. 2019;79(4):471–6.

Marković K. Efekti balneo fizikalne terapije na funkcionalni status muskulature trupa kod snižene koštane gustine: Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet; 2008.

Martignetti JA, Aqeel AA, Sewairi WA, et al. Mutation of the matrix metalloproteinase 2 gene (MMP2) causes a multicentric osteolysis and arthritis syndrome. *Nat Genet*. 2001;28(3):261–5.

Maurel DB, Boisseau N, Benhamou CL, Jaffre C. Alcohol and bone: review of dose effects and mechanisms. *Osteoporos Int*. 2012;23(1):1-16.

Mendes da Costa E, Peppersack T, Godin I, Bantuelle M, Petit B, Levêque A. Fear of falling and associated activity restriction in older people. results of a cross-sectional study conducted in a Belgian town. *Arch Public Health*. 2012;70(1):1.

Mendoza-Romo MA, Ramírez-Arriola MC, Velasco-Chávez JF, Rivera-Martínez JG, Nieva-de Jesús RN, Valdez-Jiménez LA. Paridad y menarquia como factores de riesgo de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas mexicanas [Parity and menarche as risk factors of osteoporosis in postmenopausal Mexican women]. *Ginecol Obstet Mex*. 2013;81(3):133–9.

Meyer K. Gait Speed as a Fall Predictor for Elderly Patients in Rehabilitation. 2010.
Michaelson K, Melhus H, Belloc R, Wolk A. Dietary calcium and vitamin D intake in relation to osteoporotic fracture risk. *Bone*. 2003;32(6):694-703.

Michikawa T, Nishiwaki Y, Takebayashi T, Toyama Y. One-leg standing test for elderly populations. *J Orthop Sci*. 2009;14(5):675-85.

Mikó I, Szerb I, Szerb A, Poor G. Effectiveness of balance training program in reducing the frequency of falling in established osteoporotic women: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil*. 2017;31(2):217-24.

Milinković N. Significance of the determination of biomarkers of bone resorption and formation in patients with end-stage renal disease. University of Belgrade, Faculty of pharmacy; 2014.

Miyaura C, Inada M, Suzawa T, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ichikawa A, et al. Impaired bone resorption to prostaglandinE2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *J Biol Chem.*2000;275:19819–23.

Mohamed JS, Lopez MA, Boriek AM. Mechanical stretch up-regulates microRNA-26a and induces human airway smooth muscle hypertrophy by suppressing glycogen synthase kinase-3 β . *The Journal of Biological Chemistry.* 2010;285(38):29336–47.

Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.*1994;367:284-7.

Mosig RA, Dowling O, DiFeo A, et al. Loss of MMP-2 disrupts skeletal and craniofacial development and results in decreased bone mineralization, joint erosion and defects in osteoblast and osteoclast growth. *Hum Mol Genet.* 2007;16(9):1113–23.

Mosig RA, Martignetti JA. Loss of MMP-2 in murine osteoblasts upregulates osteopontin and bone sialoprotein expression in a circuit regulating bone homeostasis. *Dis Model Mech.* 2013;6(2):397–403.

Mousa S, Rasheedy D, El-Sorady K, Mortagy M. Beyond mobility assessment: Timed up and go test and its relationship to osteoporosis and fracture risk. *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics.*2016;7(2):48-52.

Mousa SM, Rasheedy D, El-Sorady KE, Mortagy AK. Beyond mobility assessment: timed up and go test and its relationship to osteoporosis and fracture risk. *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics.* 2016;7(2):48-52.

Murphy G, Lee MH. What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage? *Ann Rheum Dis.* 2005; 64(4):44–7.

Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-4.

Nascimento D et al. The response of matrix metalloproteinase-9 and -2 to exercise. *Sports Med.* 2015; 45:269-78.

Nascimento Dda C, Durigan Rde C, Tibana RA, Durigan JL, Navalta JW, Prestes J. *Sports Med.* The response of matrix metalloproteinase-9 and -2 to exercise. 2015; 45(2):269-78.

Navarro Mdel C, Saavedra P, Jódar E, Gómez de Tejada MJ, Mirallave A, Sosa M. Osteoporosis and metabolic syndrome according to socio-economic status, contribution of PTH, vitamin D and body weight: The Canarian Osteoporosis Poverty Study (COPS). *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;78(5):681–6.

Navennkumar K, Krishnakumar R. Study on Single Leg Stance Test as an Outpatient Assessment Tool in spine Examination. *The Journal of Spinal Surgery.*2019;6(1):11-15.

Neve A, Corrado A, Cantatore FP. Osteoblast physiology in normal and pathological conditions. *Cell Tissue Res.* 2011;343(2):289-302.

- Nichols A, Niagro D, Borke L, Cuenin F. Mechanical stretching of mouse calvarial osteoblasts in vitro models changes in MMP-2 and MMP-9 expression at the bone-implant interface. *Journal of Oral Implantology*.2016;42(2):138–44.
- Niessner A, Richter B, Penka M, et al. Endurance training reduces circulating inflammatory markers in persons at risk of coronary events: impact on plaque stabilization? *Atherosclerosis*.2006;186:160–5.
- Nieves JW, Barret-Connor E, Siris ES, Zion M, Barlas S, Chen YT. Calcium and vitamin D intake influence bone mass, but not short-term fracture risk, in Caucasian postmenopausal women from the National Osteoporosis Risk Assessment (NORA) study. *Osteoporos Int*. 2008;19(5):673-9.
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*. 2001; 285(6): 785–95.
- Nikander R, Sievanen H, Heinonen A, et al. Targeted exercise against osteoporosis: a systematic review and meta-analysis for optimizing bone strength through life. *BMC Med*.2010;8:47.
- Nikander R, Sievanen H, Heinonen A, Daly RM, Uusi-Rasi K, Kannus P. Targeted exercise against osteoporosis: a systematic review and meta-analysis for optimizing bone strength through life. *BMC Med*. 2010;8:47.
- Nishizawa Y, Nakamura T, Ohta H, Kushida K, Gorai I, Shiraki M, et al. Guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2005;23(2):97-104.
- Nyman JS ,Lynch CC ,Perrien DS ,Thiolloy S , O'Quinn EC ,Patil CA et al. Differential effects between the loss of MMP-2 and MMP-9 on structural and tissue-level properties of bone.*JBMR*.2011;26(6):1252-60.
- Ohshiba T, Miyaura C, Inada M, Ito A. Role of RANKL-induced osteoclast formation and MMP-dependent matrix degradation in bone destruction by breast cancer metastasis. *Br J Cancer*. 2003;88(8):1318–26.
- Oliveira MR, Vieira ER, Gil AWO, Fernandes KBP, Teixeira DC, Amorim CF, et al. One-legged stance sway of older adults with and without falls. *PLoS ONE*.2018; 13(9).
- Organization WH. WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. 2011. World Health Organization: Geneva, Switzerland. 2013.
- Organization WH. World report on ageing and health: World Health Organization; 2015.
- Ortega N, Behonick DJ, Colnot C, Cooper DN, Werb Z. Galectin-3 is a downstream regulator of matrix metalloproteinase-9 function during endochondral bone formation. *Mol Biol Cell*. 2005;16(6):3028–39.

- Osteoporosis Society of Canada. Osteoporosis to the Third Millennium: Priorities for Prevention and Treatment. Summary Report;1996.
- Painter SE, Kleerekoper M, Camacho PM. Secondary osteoporosis: a review of the recent evidence. *Endocr Pract.* 2006;12:436–45.
- Paiva K, Granjeiro J. Bone tissue remodeling and development : focus on matrix metalloproteinase functions. *Arch Biochem Biophys.*2014; 561:74-87.
- Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, García-Giménez JL. Physical exercise and epigenetic modulation: elucidating intricate mechanisms. *Sports Med.* 2014;44: 429–36.
- Park SB, Kim J, Jeong JH, et al. Prevalence and Incidence of Osteoporosis and Osteoporotic Vertebral Fracture in Korea: Nationwide Epidemiological Study Focusing on Differences in Socioeconomic Status. *Spine (Phila Pa 1976).* 2016; 41(4):328–36.
- Park SH. Tools for assessing fall risk in the elderly: a systematic review and meta-analysis. *Aging Clin Exp Res.* 2018;30(1):1–16.
- Pentyala S, Mysore P, Pentyala S, Rahman A, Urbanczyk K, Tumillo T. Osteoporosis in Female Athletes. *Int J Clin Ther Diagn.* 2013;21(1), 5-11.
- Pietschmann P, Mechtcheriakova D, Meshcheryakova A, Föger-Samwald U, Ellinger I. Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review. *Gerontology* 2016; 62:128-37.
- Pietschmann P. Mechtcheriakova D. Meshcheryakova A. Föger-Samwald U. Ellinger I. Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review. *Gerontology* 2016; 62: 128-37.
- Pioletti PD. Biomechanics and tissue engineering. *Osteoporosis Int.* 2011;22:2027-31.
- Pitsiladis YP, Tanaka M, Eynon N, Bouchard C, North KN, Williams AG, et al. Athlome project consortium: a concerted effort to discover genomic and other “omic” markers of athletic performance. *Physiological genomics.* 2016;48(3):183-90.
- Pocock NA, Eisman JA, Hoppeier JL, Yeates MG, Sambrook PN, Ebert S. Genetic determinants of bone mass in adults: a twin study. *J Clin Invest.*1987;80:706-10.
- Ponce M, Fischer K, Hildebrand D, Kuo T. Preventing Falls Among Adults Aged 65 Years and Older. LA County Department of Public Health Px for Prevention.2010; 1(7):1-6.
- Pouresmaeili F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, Goh YM. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14:2029–49.
- Premaor MO, Ensrud K, Lui L, Parker RA, Cauley J, Hiller TA et al. Risk factors for nonvertebral fracture in obese older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(8):2414-21.
- Prideaux M, Staines KA, Jones ER, Riley GP, Pitsillides AA, Farquharson C. MMP and TIMP temporal gene expression during osteocytogenesis. *Gene Expr Patterns.* 2015;18(1–2):29–36.

Prior JC, Hitchcock CL, Vigna YM, Seifert-Klauss V. Premenopausal Trabecular Bone Loss is Associated with a Family History of Fragility Fracture. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2016;76(8):895–901.

Qin J, Yang NL. Relationship between serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and bone mineral density in postmenopausal women. *Chin J Osteoporos.* 2008; 14(4):245–8.

Ralston SH, Galwey N, Mackay I, et al. Loci for regulation of bone mineral density in men and women identified by genome wide linkage scan: The FAMOS study. *Hum Mol Genet.* 2005;14:943–51.

Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML, et al. Large scale evidence for the effect of the COLIA1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: The GENOMOS study. *PLoS Med.* 2006;3(4).

Ramasamy SK, Kusumbe AP, Schiller M, et al. Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. *Nature Communications.* 2016;7.

Ramasamy SK, Kusumbe AP, Wang L, Adams RH. Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone. *Nature.* 2014;507(7492):376–80.

Rauner M, Sipos W, Thiele S, Pietschmann P. Advances in osteoimmunology: pathophysiologic concepts and treatment opportunities. *International archives of allergy and immunology.* 2013;160(2):114-25.

Reid IR, Bolland MJ, Avenell A, Grey A. Cardiovascular effects of calcium supplementation. *Osteoporos Int.* 2011;22(6):1649–58.

Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Does calcium supplementation increase cardiovascular risk? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;73(6):689–95.

Reid IR, Bolland MJ, Sambrook PN, Grey A. Calcium supplementation: balancing the cardiovascular risks. *Maturitas.* 2011;69(4):289–95.

Reihmane D, Jurka A, Tretjakovs P, et al. Increase in IL-6, TNF- α , and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113:851–8.

Reponen P, Sahlberg C, Munaut C, Thesleff I, Tryggvason K. High expression of 92-kDa type IV collagenase (gelatinase) in the osteoclast lineage during mouse development. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;732:472–75.

Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys.* 1998;20(2):92–102.

Riaz M, Abid N, Patel J, Tariq M, Khan MS, Zuberi L. Knowledge about osteoporosis among healthy women attending a tertiary care hospital. *J Pak Med Assoc.* 2008;58(4):190–4.

Rikli R, Jones C, Hanson T. Senior fitness test: fysisk formåen hos ældre: manual og referenceværdier. København: FADL's Forlag. 2004.

- Rizzoli R. Nutritional aspects of bone health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014; 28:795-808.
- Roberts CK, Won D, Pruthi S, et al. Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors. *J Appl Physiol.* (1985) 2006; 100(5):1657–65.
- Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of *sost*/sclerostin. *J Biol Chem.* 2008; 283(9): 5866-75.
- Rocha-Braz MG, Ferraz-de-Souza B. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(4):391–401.
- Rocherort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporosis Int.* 2010; 21:1457-69.
- Ross MD, Wekesa AL, Phelan JP, et al. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Med Sci Sports Exerc.* 2014;46:16–23.
- Rubenstein LZ, Josephson KR. Falls and their prevention in elderly people: what does the evidence show? *Med Clin North Am.* 2006; 90(5):807–24.
- Rullman E, Norrbom J, Strömberg A, et al. Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985) 2009; 106(3):804–12.
- Russo D, Miranda I, Ruocco C, et al. The progression of coronary artery calcification in predialysis patients on calcium carbonate or sevelamer. *Kidney Int.* 2007;72(10):1255–61.
- Rutherford O, Jones D. The relationship of muscle and bone loss and activity levels with age in women. *Age and Aging.* 1992;21(4):286-93.
- Rutter J.L, Mitchell T.I, Buttice G, Meyers J, Gusella J.F, Ozelius L.J, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription. *Cancer Res.* 1998;58(23):5321-5.
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC et al. International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001 Feb 15;409(6822):928-33.
- Sakakura Y, Shide N, Tsuruga E, Irie K, Yajima T. Effects of running exercise on the mandible and tibia of ovariectomized rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism.* 2001;19(3):159–67.
- Samanna V, Ma T, Mak TW, Rogers M, Chellaiah MA. Actin polymerization modulates CD44 Surface expression, MMP-9 activation, and osteoclast function. *J Cell Physiol.* 2007;213(3):710-20.

Sanchis-Gomar F, Garcia-Gimenez JL, Perez-Quilis C, Gomez-Cabrera MC, Pallardo FV, Lippi G. Physical exercise as an epigenetic modulator: eustress, the “positive stress” as an effector of gene expression. *J Strength Cond Res.* 2012; 26:3469–72.

Santos RVT, Viana VAR, Boscolo RA, et al. Moderate exercise training modulates cytokine profile and sleep in elderly people. *Cytokine.* 2012;60(3):731–5.

Santos-Reboucas CM, Pimentel MM. Implication of abnormal epigenetic patterns for human diseases. *Eur J Hum Genet.* 2006;15:10–7.

Sato K, Iemitsu M, Matsutani K, Kurihara T, Hamaoka T, Fujita S. Resistance training restores muscle sex steroid hormone steroidogenesis in older men. *The FASEB Journal.* 2014;28(4):1891–7.

Savezni zavod za zaštitu i unapređenje zdravlja. Statistički godišnjak o narodnom zdravlju i zdravstvenoj zaštiti u SR Jugoslaviji, Beograd. 2000.

Sayed-Hassan R, Bashour H, Koulsi A. Osteoporosis knowledge and attitudes: a cross-sectional study among female nursing school students in Damascus. *Arch Osteoporos.* 2013;8:149.

Scheffer AC, Schuurmans MJ, van Dijk N, van der Hooft T, de Rooij SE. Fear of falling: measurement strategy, prevalence, risk factors and consequences among older persons. *Age Ageing.* 2008;37(1):19–24.

Senderovich H, Tang H, Belmont S. The Role of Exercises in Osteoporotic Fracture Prevention and Current Care Gaps. Where Are We Now? Recent Updates. *Rambam Maimonides Med J.* 2017; 8(3).

Seyfizadeh N, Seyfizadeh N, Negahdar H, Hosseini SR, Nooreddini H, Parsian H. ABO Blood Group and Prevalence of Osteoporosis and Osteopenia in the Elderly Population: An Amirkola Health and Ageing Project (AHAP)-Based Study. *J Clin Densitom.* 2018;21(2):200–4.

Shapses SA, Cifuentes M, Spevak L, et al. Osteopontin facilitates bone resorption, decreasing bone mineral crystallinity and content during calcium deficiency. *Calcif Tissue Int.* 2003;73(1):86–92.

Shiguemoto G, Prestes J, Leite RD, Pereira G, Pontes C, D'avila F, et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. *Scandinavian journal of medicine & science in sports.* 2012;22(5):607-17.

Shimokawa Ki K, Katayama M, Matsuda Y, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 activities in human seminal plasma. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(1):32–6.

Shumway-Cook A, Brauer S, Woollacott M. Predicting the probability for falls in community-dwelling older adults using the Timed Up & Go Test. *Phys Ther.* 2000; 80:896–903.

Shyu KG, Wang BW, Wu GJ, Lin CM, Chang H. Mechanical stretch via transforming growth factor- β 1 activates microRNA208a to regulate endoglin expression in cultured rat cardiac myoblasts. *European Journal of Heart Failure*. 2013;15(1):36–45.

Silva RB, Eslick GD, Duque G. Exercise for falls and fracture prevention in long term care facilities: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14:685–9.

Sinaki M, Itoi E, Wahner HW, Wollan P, Gelzcer R, Mullan BP, Collins DA, Hodgson SF. Stronger back muscles reduce the incidence of vertebral fractures: a prospective 10 year follow-up of postmenopausal women. *Bone*. 2002;30(6):836-41.

Siris SE. Bone Health Menopause: Assessing Who is At Risk of Developing Osteoporosis. Satellite Symposium at IOF World Congress on Osteoporosis;2004.

Springer BA, Marin R, Cyhan T, Roberts H, Gill NW. Normative Values for the Unipedal Stance Test with Eyes Open and Closed. *J Geriatr Phys Ther*. 2007; 30(1):8-15.

Status in Women With Postmenopausal Osteoporosis. *ClinicalTrials.gov*: NCT03816449

Steffensen B, Wallon UM, Overall CM. Extracellular matrix binding properties of recombinant fibronectin type II-like modules of human 72-kDa gelatinase/type IV collagenase. High affinity binding to native type I collagen but not native type IV collagen. *J Biol Chem* 1995;270:11555-6.

Stevens JA, Ballesteros MF, Mack KA, Rudd RA, DeCaro E, Adler G. Gender differences in seeking care for falls in the aged Medicare population. *Am J Prev Med*. 2012;43:59–62.

Stevens JA, Phelan EA. Development of STEADI: a fall prevention resource for health care providers. *Health Promot Pract*. 2013;14(5):706–14.

Stupar N, Radojčić Lj, Tadić I, Pavlov-Dolijanović S. Osteoporosis-related knowledge among Serbian postmenopausal women. *Vojnosanit Pregl*. 2017;74(5): 445–9.

Suhr F, Brixius K, de Marées M, et al. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J Appl Physiol*. (1985) 2007; 103(2):474–83.

Suhr F, Rosenwick C, Vassiliadis A, et al. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short- and long-track elite runners. *Scand J Med Sci Sports*. 2010; 20:441–8.

Suominen H. Muscle training for bone strength. *Aging Clin Exp Res*. 2006; 18(2) : 85-93.

Suzuki K, Takeyama S, Sakai Y, Yamada S, Shinoda H. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: Inhibitory effects of bisphosphonates on the differentiation and activity of osteoclasts. *J Pharmacol Sci*. 2006;100:189–194.

Swanenburg J, de Bruin ED, Stauffacher M, Mulder T, Uebelhart D. Effects of exercise and nutrition on postural balance and risk of falling in elderly people with decreased bone mineral density: randomized controlled trial pilot study. *Clin Rehabil*. 2007;21(6):523–34.

Sydo N, Abdelmoneim S, Mulvagh SL, Merkely B, Gulati M, Allison TG, et al. Relationship Between Exercise Heart Rate and Age in Men vs Women. *Mayo Clin Proc.* 2014; 89(12):1664-72.

Tadic I, Stevanovic D, Tasic L, Vujasinovic Stupar N. Development of a shorter version of the osteoporosis knowledge assessment tool. *Women Health.* 2012; 52(1):18–31.

Tadić I. The application of factor analysis in studies of psychometric properties of osteoporosis knowledge assessment questionnaire and quality of life questionnaire for patients with osteoporosis. University of Belgrade, Faculty of Pharmacy;2012.

Tamaki J, Iki M, Sato Y, Kajita E, Kagamimori S, KagawaY, et al. Smoking among premenopausal women is associated with increased risk of low bone status: the JPOS Study. *J Bone Miner Metab.* 2010;28(3):320-7.

Teixeira LE, Silva KN, Imoto AM, et al. Progressive load training for the quadriceps muscle associated with proprioception exercises for the prevention of falls in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized controlled trial. *Osteoporos Int.* 2010;21(4):589–96.

Thulkar J, Singh Sh, Sharma Sh, Thulkar T. Preventable risk factors for osteoporosis in postmenopausal women: Systematic review and meta-analysis. *J Midlife Health.* 2016; 7(3):108–13.

Tiedemann A, Shimada H, Sherrington C, Murray S, Lord S. The comparative ability of eight functional mobility tests for predicting falls in community-dwelling older people. *Age Ageing.* 2008; 37(4):430-5.

Tinetti ME, Richman D, Powell L. Falls efficacy as a measure of fear of falling. *J Gerontol* 1990; 45:239–43.

Tong X, Chen X, Zhang S, Huang M, Shen X, Xu J, Zou J. The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. *Biomed Res Int.* 2019; 2019: 8171897.

Tsai AJ. Disparities in osteoporosis by race/ethnicity, education, work status, immigrant status, and economic status in the United States. *Eur J Intern Med.* 2019;64:85–9.

Urso ML, Pierce JR, Alemany JA, et al. Effects of exercise training on the matrix metalloproteinase response to acute exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2009;106:655–63.

U.S. Department of Health and Human Services. Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General, 2004.

Uzoigwe CE, Smith RP, Khan A, Aghedo D, Venkatesan M. Association of ABO blood group with fracture pattern and mortality in hip fracture patients. *Ann R Coll Surg Engl.* 2014;96(6):442–5.

Van der Esch M, Steultjens M, Harlaar J, Knol D, Lems W, Dekker J. Joint proprioception, muscle strength, and functional ability in patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.*2007;57(5):787–93.

Varahra A, Rodrigues IB, MacDermid JC, Bryant D, Birmingham T. Exercise to improve functional outcomes in persons with osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2018;29(2):265-86.

Varghese S, Canalis E. Alendronate stimulates collagenase 3 expression in osteoblasts by posttranscriptional mechanisms. *J Bone Miner Res.* 2000; 15(12): 2345–51.

Vartio T, Baumann M. Human gelatinase/type IV procollagenase is a regular plasma component. *FEBS Lett.*1989;255:285–9.

Vellas B, Waney S, Romero L, Baumgartner R, Rubenstein L, Garry P. One/leg balance is an predictor of injurious falls in older persons. *J Am Geriatr Soc.*1997; 45:735-8.

Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue damage in vivo. *J Bone Miner Res.* 2000;15:60-7.

Vergheze J, Holtzer R, Lipton B, Richard, Wang Cuiling. Quantitative Gait Markers and Incident Fall Risk in Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009; 64(8): 896–901.

Vermeulen RFM, Beurden MV, Korse CM, Kenter GG. Impact of risk-reducing salpingo-oophorectomy in premenopausal women. *Climacteric.* 2017;20(3):212–21.

Viguet-Carrin S, Garnero P, Delmas PD. The role of collagen in bone strength. *Osteoporos Int.* 2006;17(3):319–36.

Vu TH, Shipley JM, Bergers G, et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell.* 1998;93(3):411–22.

Wang N, Chen Y, Ji J, Chang J, Yu S, Yu B. The relationship between serum vitamin D and fracture risk in the elderly: a meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research.* 2020;(15):81.

Wang X, Tian D, Wang J, Ouyang X. Research on the Role of Matrix Metalloproteinase in the Patients with Stable Phase COPD Accompanied by Osteoporosis. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine.*2017; 5(1):19-25.

Waugh EJ, Lam MA, Hawker GA, McGowan J, Papaioannou A, Cheung AM, et al. Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 year old women: a systematic review of the literature. *Osteoporos Int.*2009;20(1):1-21.

Werner P. Knowledge about osteoporosis: assessment, correlates and outcomes. *Osteoporos Int.* 2005;16(2):115–27.

Winzenberg TM, Oldenburg B, Frenkin S, Jones G. The design of a valid and reliable questionnaire to measure osteoporosis know-ledge in women: The Osteoporosis Knowledge Assessment Tool (OKAT). *BMC Musculoskel Dis.* 2003;4(1):17.

Wolff J. *Das Gesetz der Transformation der Knochen.* Berlin: Hirschwald; 1892. Received for publication 28 October 1991 Accepted in revised Jbrm 20 January 1992. 1986.

Wolinsky FD, Miller DK, Andresen EM, Malmstrom TK, Miller JP. Reproducibility of physical performance and physiologic assessments. *J Aging Health.* 2005; 17(2): 111–24.

Woods JA, Ceddia MA, Wolters BW, Evans JK, Lu Q, McAuley E. Effects of 6 months of moderate aerobic ex-ercise training on immune function in the elderly. *Mechanisms of Ageing and Development.* 1999; 109:1-19.

Wyandt HE, Tonk VS. *Atlas of human chromosome heteromorphisms:* Springer; 2004.

Xia W, Cooper C, Li M, Xu L, Rizzoli R, Zhu M et al. East meets West: current practices and policies in the management of musculoskeletal aging. *Aging Clin Exp Res.* 2019;31(10):1351-73.

Xia W, Cooper C, Li M, Xu L, Rizzoli R, Zhu M, et al. East meets West: current practices and policies in the management of musculoskeletal aging. *Aging Clin Exp Res.* 2019; 31(10): 1351–73.

Xu L, Mceduft P, D Este C et al. Does dietary calcium have a protective effect on bone fractures in women. A meta-analysis of observational studies. *Br J Nutr.* 2004;91: 625-34.

Xu Z, Wang H, Shi Y, Shen Q. Impact of calcium, vitamin D, vitamin K, oestrogen, isoflavone and exercise on bone mineral density for osteoporosis prevention in postmenopausal women: a network meta-analysis. 2020;123(1):84-103.

Yao P, Bennett D, Mafham M, Lin X, Chen Z, Armitage J et al. Vitamin D and Calcium for the Prevention of Fracture: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open.* 2019;2(12):e1917789.

Yardley L, Beyer N, Hauer K, Kempen G, Piot-Ziegler C, Todd C. Development and initial validation of the Falls Efficacy Scale-International (FES-I). *Age Ageing.* 2005;34(6):614-9.

Yehya N, Yerrapureddy A, Tobias J, Margulies SS. MicroRNA modulate alveolar epithelial response to cyclic stretch. *BMC Genomics.* 2012;13.

Yoshiya S. The effects of exercise and sports activities on bone and joint morbidities. *Clinical Calcium.* 2017;27(1):39–43.

Yuan Y, Chen X, Zhang L, et al. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology.* 2016;122(2):122–30.

Zhang L, Chun C, Yang Y, et al. Vitamin D deficiency/insufficiency is associated with risk of osteoporotic thoracolumbar junction vertebral fractures. *Med Sci Monit.* 2019;25:8260–8.

Zhang PF, Pan L, Luo ZY, Zhao HJ, Cai SX. Interrelationship of circulating matrix metalloproteinase-9, TNF- α , and OPG/RANK/RANKL systems in COPD patients with osteoporosis. *COPD*. 2013;10(6):650–6.

Zheng X, Zhang Y, Guo S, Zhang W, Wang J, Lin Y. Dynamic expression of matrix metalloproteinases 2, 9 and 13 in ovariectomy-induced osteoporosis rats. *Exp Ther Med*. 2018;16(3):1807–13.

Zhang Q, Greenbaum J, Zhang W-D, Sun C-Q, Deng H-W. Age at menarche and osteoporosis: a Mendelian randomization study. *Bone*. 2018;117:91-7.

Zhu K, Devine A, Lewis J, Dhaliwal S, Prince R. Timed Up and Go test and bone mineral density measurement for fracture prediction. *Arch intern med*. 2011;171(18):1655-61.

Spisak skraćenica

ADŽ	Aktivnosti dnevnog života
ASZ	Aktivnosti samozbrinjavanja
BMD	Mineralna koštana gustina
BMI	Indeks telesne mase
BSP	Koštani sijaloprotein
DXA BMD	Centralna osteodenzitometrija
ECM	Ekstracelularni matriks
FR OP	Faktori rizika za osteoporozu
kDa	Kilodaltona
M-CSF	Faktor rasta koji stimulise makrofagne kolonije
MMP	Matriksmetaloproteinaze
MMP-2	Matriksmetaloproteinaza 2
MMP-9	Matriksmetaloproteinaza 9
NOF	Nacionalno društvo za borbu protiv osteoporoze
OP	Osteoporoza
OPG	Osteoprotegerin
PM	Polimorfizmi
PTH	Paratiroidni hormone
RANK	Nuklearni faktora kapa B
RANKL	Ligand receptor za aktivaciju nuklearnog faktora kapa B
RCT	Randomizovane kontrolisane studije
SD	Standardna devijacija
SIOP	Steroido-indukovana osteoporoza
SZO	Svetska zdravstvena organizacija
T3	Trijod tironin
T4	Tetraod tironin(Tiroksin)
TIMP-1	Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1
TNF- α	Faktor nekroze tumora-a
TRAP	Tartarat rezistentna kisela fosfataza
β CrossLaps	C-terminalni telopeptid (product degradacije zrelog kolagena tipa I)

Tamara Filipović, rođena je 05.08.1980. godine u Kosovskoj Mitrovici. Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu završila je 2006. godine sa prosečnom ocenom **9,81**. Fakultet za menadžment, Univerziteta Megatrend završila je 2006. godine sa prosečnom ocenom 8.65 i stekla zvanje menadžer u zdravstvu.

Od 2008-2012. god. bila je zaposlena kao klinički lekar u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije, u Beogradu. Od 2012. god. zaposlena je u Institutu za rehabilitaciju u Beogradu. Specijalistički ispit iz fizikalne medicine i rehabilitacije položila je 5.6.2016. godine sa ocenom odličan. Od 2016. radi kao lekar specijalista fizikalne medicine i rehabilitacije i kao klinički asistent na predmetu Fizikalna medicina i rehabilitacija Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Specijalističke akademske studije iz oblasti Balneoklimatologija završila je 2010. godine, na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. 2017. godine položila je Evropski ispit iz oblasti fizikalne medicine i rehabilitacije, u okviru Evropskog borda za fizikalnu i rehabilitacionu medicine (sertifikat broj **2789**).

Odlukom Naučnog veća Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu 26.11.2018. odobrena je tema za izradu doktorske disertacije iz oblasti Melekularne medicine, pod nazivom: "Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijenatkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom". Protokol istraživanja je odobren od strane etičkog odbora Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu 10.12.2019 (sa brojem protokola 61206-4993/2-19). Izvršena je registracija istraživanja na sajtu www.clinicaltrial.gov (ClinicalTrials.gov identifier) i dobijen je odgovarajući identifikacioni broj (*NCT number: NCT03816449*).

Tokom dosadašnjeg rada učestvovala je kao istraživač u naučnim projektima iz oblasti fibromialgije (DS-5565) i osteoartritisa kuka i kolena (A4091064 i A4091058). Edukaciju iz oblasti osnovnog, višeg i visokog nivoa iz tradicionalne medicine i akupunkture, u okviru Evropskog centra za mir i razvoj završila je 2013. godine, kada je stekla zvanje sertifikovanog akupunturologa. Završila je edukaciju iz shock wave i kinesio taping terapije (osnovni nivo). Aktivni je učesnik simpozijuma iz oblasti terapije bola (BISOP). Predavač je na domaćim i stranim naučnim skupovima. Autor je i koautor naučnih radova u brojnim domaćim i stranim časopisima. Član je Srpskog lekarskog društva, Srpskog i Evropskog udruženja za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju.

Uz izuzetna zalaganja u stručnom i naučnom radu, dr Tamara Filipović ostvarena je kao supruga i majka.

Prilozi

1. Obaveštenje ispitanika za učešće u istraživanju
2. Pristanak ispitanika za učešće u istraživanju
3. Upitnik FES
4. Upitnik OKAT-s
5. Izjava o autorstvu
6. Izjava o istovetnosti štampane I elektronske verzije doktorskog rada
7. Izjava o korišćenju doktorskog rada

OBAVEŠTENJE ISPITANIKA ZA UČEŠĆE U ISTRAŽIVANJU:

„Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom“

Institut za rehabilitaciju, Medicinski fakultet, Beograd

Porivamo Vas i molimo da učestvujete u istraživanju „Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom“. Pre nego što se odlučite da li da učestvujete, važno je da razumete zašto se ovo istraživanje obavlja i šta ono podrazumeva. Molimo Vas da pre nego što pristanete da učestvujete u ovom istraživanju pažljivo pročitate sledeće informacije.

Ukoliko je nešto nejasno ili ukoliko želite više informacija biće nam drago da odgovorimo na svako Vaše pitanje. Možete se posavetovati i sa ljudima u koje imate poverenja. U svakom trenutku možete slobodno prekinuti svoje učešće u studiji bez obaveze da objašnjavate razloge.

Šta je cilj istraživanja uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom?

Osteoporoza je hronična, sistemska i najčešća metabolička koštana bolest, koja se odlikuje smanjenjem koštane mase i remodelovanjem mikroarhitekture kosti, što za rezultat ima veću fragilnost kosti i povećani rizik od frakture. Oko 40% žena u postmenopauzi do kraja života doživeće prelom neke kosti.

Smatra se da je bolest multifaktorijalna. U cilju objašnjenja patofizioloških mehanizama odgovornih za nastanak osteoporoze neophodno je utvrditi faktore koji utiču na aktivnost i diferencijaciju osteoklasta i osteoblasta, kao i njihovu dinamiku promene uslovljenu primenom odgovarajućeg tretmana.

Cilj ovog istraživanja će biti ispitivanje uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza (MMPaza) seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, u smislu detekcije MMP-aza kao potencijalno ranih markera za procenu terapijskog odgovora pacijentkinja sa osteoporozom.

-U ovom istraživanju biće praćene promene serumskih aktivnosti MMPaza kao i tkivnog inhibitora matriks metaloproteinaze 1 (TIMP-1) u serumu pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, koje su na medikamentoznoj terapiji, pre i nakon primene specifično dizajniranog programa vežbi.

-Funkcionalni genski polimorfizmi (PM), modulirajući ekspresiju ispitivanih MMP-aza, mogu biti asocirani sa različitim odgovorom naših pacijentkinja na primenu istog programa vežbi. Stoga će cilj ovog istraživanja biti i analiza uticaja polimorfizama rs243866 u genu za MMP-2 kao i rs3918242 u genu za MMP-9 na efikasnost specifično dizajniranog programa vežbi kod pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.

-Takođe, predmet istraživanja će biti i procena efekata specifično dizajniranog programa vežbi na funkcionalni status pacijentkinja sa osteoporozom, praćenih odgovarajućim funkcionalnim testovima.

Zašto ste Vi izabrani?

S obzirom da želimo da unapredimo dosadašnja istraživanja iz ove oblasti, želimo da na većem broju postmenopauzalnih pacijentkinja pratimo efekte specifično dizajniranog programa vežbi kakvim biste se Vi bavile. Informacije koje ćemo pratiti mogu koristiti boljem razumevanju biohemijskih promena, uključenih u proces remodelovanja kosti, koje nastaju nakon primene odgovarajućeg tretmana, odnosno medikamentozne terapije i specifično dizajniranog programa vežbi. Smanjenje enzimске aktivnosti matriks metaloproteinaza seruma, nakon primene odgovarajućeg programa fizičke aktivnosti i medikamentozne terapije, bi bilo od značaja za ranu procenu terapijskog odgovora. Nakon primene terapije, ukoliko odgovor izostaje, ista bi mogla da se prilagođava pacijentkinji sve do postizanja optimalnog terapijskog efekta.

Takođe, rezultati ovog istraživanja mogu ukazati na značaj polimorfizama za ispitivane MMP-aze, kao potencijalnih dijagnostičkih indikatora u identifikaciji pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom čiji odgovor na odgovarajući program vežbi izostaje. Istraživanje povezanosti između polimorfizma za navedene MMPaze i fizičke aktivnosti bi pomoglo, ne samo u određivanju značaja ovih enzima kao modulatora individualne osetljivosti pacijentkinja na odgovarajuću vrstu vežbe, već bi i indirektno ukazalo na potencijalni Vaš veći rizik od posledica ove bolesti.

Uticaj specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom

Institut za rehabilitaciju, Beograd

PRISTANAK ISPITANIKA ZA UČEŠĆE U ISTRAŽIVANJU

Ime učesnika _____

Ispitanik br: _____

Potpisivanjem ovog pristanka potvrđujem da:

- Dobila sam usmena i pisana obaveštenja o načinu i ciljevima izvođenja gore navedenog istraživanja i pročitala sam i razumela dobijena obaveštenja.
- Imaola sam dovoljno vremena da razmotrim svoje učešće i imala sam prilike da postavljam pitanja i na sva svoja pitanja dobila sam zadovoljavajuće odgovore.
- Shvatam da je moje učešće dobrovoljno i da mogu slobodno bilo kada da prekinem sa učešćem u istraživanju uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, a da za to ne moram da navodim razlog, i da to ni na koji način neće uticati na moje buduće lečenje.
- Shvatam da isključivo medicinski profesionalci, medicinsko osoblje Instituta za rehabilitaciju, Univerziteta u Beogradu, mogu imati pristu mom zdravstvenom dosijeu kako bi obezbedili da se istraživanje uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, provodi korektno i da se podaci ispravno evidentiraju. Svi lični podaci smatraće se STROGO POVERLJIVIM.
- Shvatam da se podaci sakupljeni tokom mog učešća u ovom istraživanju uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom, unose u bazu podataka i analiziraju, i da će se koristiti isključivo u naučne svrhe.
- Dobiću jedan potpisan i datiran primerak ovog obaveštenja.
- Saglasna sam da učestvujem u ovom istraživanju uticaja specifično dizajniranog programa vežbi na enzimsku aktivnost matriks metaloproteinaza seruma i funkcionalni status pacijentkinja sa postmenopauzalnom osteoporozom.

Lekar:

Datum: _____ Potpis: _____
Ime _____

(štampano): _____

Pacijent:

Datum: _____ Potpis: _____
Ime _____

(štampano): _____




Prilog 3: FES I upitnik

		Nimalo zabrinut	Pomalo zabrinut	Dosta zabrinut	Veoma zabrinut
1	Čišćenje kuće (usisavanje, brisanje prašine...)				
2	Oblačiti se i skidati se				
3	Pripremanje jednostavnih jela				
4	Okupati se i tuširati se				
5	lći u kupovinu				
6	Sedati i ustajati iz stolice				
7	lći uz ili niz stepenice				
8	Šetati po komšiluku				
9	Dohvatiti nesto iznad glave ili na podu				
10	Javiti se na telefon pre nego što prestane da zvoni				
11	Hodati po klizavoj površini (mokra, ledena)				
12	Posetiti prijatelja ili rodjaka				
13	Šetati na mestima gde je gužva				
14	Šetati na neujednačenoj površini (stenovitoj, delimično asfaltiranoj)				
15	Šetati uz i niz nagib				
16	Izaći na događaje (okupljanje porodice, izaći u klub..)				
UKUPNO					
TOTAL					/64

Prilog 4: Kratka verzija upitnika za procenu znanja o osteoporozi (OKAT-S)

UPITNIK ZA PROCENU INFORMISANOSTI O OSTEOPOROZI

Molimo Vas da na dole postavljena pitanja iskreno odgovorite tako što ćete navedenu tvrdnju obeležiti kao „Tačno“, „Netačno“ ili „Ne znam“ u prostor predviđen za odgovor.

1. Osteoporoza je često praćena simptomima (npr. bolom), pre nego što nastane prelom kosti. Tačno Netačno Ne znam
 2. Osteoporoza se češće javlja kod muškaraca. Tačno Netačno Ne znam
 3. Pušenje doprinosi razvoju osteoporoze. Tačno Netačno Ne znam
 4. Žene bele rase, u poređenju sa ženama drugih rasa, imaju najveći rizik za nastanak preloma. Tačno Netačno Ne znam
 5. Do 80. godine života, većina žena oboli od osteoporoze. Tačno Netačno Ne znam
 6. Genetska predispozicija za osteoporozu je značajan faktor rizika. Tačno Netačno Ne znam
 7. Umerene količine alkohola dnevno (2 jedinice) imaju mali uticaj na nastanak osteoporoze. Tačno Netačno Ne znam
- | | | |
|---|--|--|
|  <p>Pivo (4% alkohola)
250ml = 1 jedinica
500ml = 2 jedinice</p> |  <p>Vino (12,5% alkohola)
80ml = 1 jedinica</p> |  <p>Žestoka pića (40% alkohola)
25ml = 1 jedinica</p> |
|---|--|--|
8. U prvih deset godina od početka menopauze, gubitak koštane mase je mali. Tačno Netačno Ne znam
 9. Hormonska terapija, primenjena bilo kada nakon menopauze, sprečava dalji gubitak koštane mase. Tačno Netačno Ne znam

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Јаснара Грунчић
broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom *

Утицај специфично дозираних дозирања лекови на струмску активност
матрикс металопротеиназе серума и функционални статус доцисетина
са доклетолаузалном остеопорозом

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 31.03.2020.

Јаснара Грунчић

Prilog 6:

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Đanađa Ćurina

Broj upisa _____

Studijski program monografija meruzina

Naslov rada Uloga elektronske digitalne biblioteke u stvaranju akademskog
naslova nauke i funkcionisanje sistema u digitalnoj akademskoj
okolini

Mentor sa izobrazbeno-naučnom odgovornošću

Prof. dr Miroslav Petrović
Potpisani Đanađa Ćurina

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 31. 03. 2020.

Đanađa Ćurina

Prilog 7:

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Изјава о коришћењу
магистарског дисертационог рада на тему: Улога електронских архивских система у функционисању савремених организација
која је моје ауторско дело.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 31. 03. 2020.

Stana Jovanović