



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Ана С. Дивјак

**ПРОЦЕНА УТИЦАЈА СУПЛЕМЕНТАЦИЈЕ
ВИТАМИНА D НА ИНФЛАМАЦИЈУ,
ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС И
ФУНКЦИОНАЛНОСТ ЗГЛОБА КОД
БОЛЕСНИКА СА ПРИМАРНИМ
ОСТЕОАРТРИТИСОМ КОЛЕНА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2023.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Ana S. Divjak

**PROCENA UTICAJA SUPLEMENTACIJE
VITAMINA D NA UPALU, OKSIDATIVNI
STRES I FUNKCIONALNOST ZGLOBOVA
KOD PACIJENATA SA PRIMARNIM
OSTEOARTRITISOM KOLENA**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Ana S. Divjak

**THE ASSESSMENT OF THE EFFECT OF
VITAMIN D SUPPLEMENTATION ON
INFLAMMATION, OXIDATIVE STRESS AND
JOINT FUNCTIONALITY IN PATIENTS
WITH PRIMARY KNEE OSTEOARTHRITIS**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2023.

Аутор
Име и презиме: Ана Дивјак
Датум и место рођења: 11.07.1984., Крагујевац, Србија
Садашње запослење: Универзитетски клинички центар Крагујевац, Служба за физиклану медицину и рехабилитацију, Универзитет у Крагујевцу, Факултет медицинских наука, Катедра за физикалну медицину и рехабилитацију
Докторска дисертација
Наслов: Процена утицаја суплементације витамина D на инфламацију, оксидациони стрес и функционалност зглоба код болесника са примарним остеоартритисом колена
Број страница: 108
Број слика: 66 табела, 74 фигура, 7 слика
Број библиографских података: 254
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Научна област: Медицина
Ментор: Проф. др Мирјана Веселиновић , ванредни професор за ужу научну област Интерна медицина, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 30.10.2019.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације:
IV-03-754/12 од 19.02.2020. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: 1. Проф. др Александра Томић Лучић , редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, председник; 2. Проф. др Александар Матић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан; 3. Проф. др Милан Петронијевић , редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, за ужу научну област Интерна медицина, члан.
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације: 1. , председник 2. , члан 3. , члан
Датум одбране дисертације:

Autor
Ime i prezime: Ana Divjak
Datum i mesto rođenja: 11.07.1984., Kragujevac, Srbija
Sadašnje zaposlenje: Univerzitetski klinički centar Kragujevac, Služba za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju, Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Katedra za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju
Doktorska disertacija
Naslov: Procena uticaja suplementacije vitamina D na upalu, oksidativni stres i funkcionalnost zglobova kod pacijenata sa primarnim osteoartritisom kolena
Broj stranica: 108
Broj slika: 66 tabela, 74 figura, 7 slika
Broj bibliografskih podataka: 254
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Naučna oblast: Medicina
Mentor: Prof. dr Mirjana Veselinović , vanredni profesor za užu naučnu oblast Interna medicina, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Ocena i odbrana
Datum prijave teme: 30.10.2019.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske disertacije:
IV-03-754/12 od 19.02.2020. godine
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: 1. Prof. dr Aleksandra Tomić Lučić , redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Interna medicina, predsednik; 2. Prof. dr Aleksandar Matić , vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Hirurgija, član; 3. Prof. dr Milan Petronijević , redovni profesor Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu, za užu naučnu oblast Interna medicina, član.
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije: 1. , predsednik 2. , član 3. , član
Datum odbrane disertacije:

Author
Name and surname: Ana Divjak
Date and place of birth: 11 th of July, 1984., Kragujevac, Serbia
Current employment: University Clinical Center Kragujevac, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Department of Physical Medicine and Rehabilitation
Doctoral Dissertation
Title: The assessment of the effect of vitamin d supplementation on inflammation, oxidative stress and joint functionality in patients with primary knee osteoarthritis
No. of pages: 108
No. of images: 66 tables, 74 figures, 7 pictures
No. of bibliographic data: 254
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Scientific area (UDK): Medicine
Mentor: Prof. Dr. Mirjana Veselinovic , Assoc. Professor of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 30 th of October 2019.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: IV-03-754/12 from 19 th of February 2020.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: 1. Prof. Dr. Aleksandra Tomić Lučić , full professor of the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac for the narrow scientific field of Internal Medicine, president; 2. Prof. Dr. Aleksandar Matić , associate professor of the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac for the narrower scientific field of Surgery, member; 3. Prof. Dr. Milan Petronijević , full professor of the Medical Faculty of the Military Medical Academy of the University of Defense in Belgrade, for the narrower scientific field of Internal Medicine, member.
Commission for evaluation and defense of doctoral: , president , member , member
Date of Dissertation Defense:

Захвалница

Неизмерну захвалност дугујем мом ментору професорки др Мирјани Веселиновић, која је са мном прошла дуг пут, од идеје до реализације докторске дисертације, дајући ми драгоцену стручну и пријатељску помоћ и подршку.

Искрену захвалност дугујем Декану професору др Владимиру Јаковљевићу, без чије стручне подршке израда овог доктората не би била могућа.

Велику захвалност дугујем мојим професорима и колегама на сугестијама и несебичној професионалној помоћи у експерименталном раду и изради докторског рада.

Безгранично хвала мојој породици на подршци и разумевању.

*Мојој преминулој мајци Милеви, вечној инспирацији у мом животу...
и њеној имењакињи, мојој кћерки Мили...*

САЖЕТАК:

Улога витамина D у патогенези остеоартритиса (ОА) још увек није прецизно дефинисана. ОА је често удружен са недостатком витамина D, који је распрострањен широм света. Недостатак витамина D је повезан са хроничним запаљењем. Новији докази сугеришу да витамин D као имуномодулаторни и антиинфламаторни фактор, али и као значајан антиоксиданс може да смањи инфламацију и оксидациони стрес код ОА болесника.

Циљ ове студија је да испита утицај суплементације 4000 и.ј. витамина D након 3 месеца на имунопатогенезу, оксидациони стрес, клиничке манифестације примарног ОА колена.

У истраживање су укључени болесници са примарним ОА колена из УКЦ Крагујевац. Експериментална група је била на суплементацији витамином D, док је контролна група испитаника била без суплементације. Функционално тестирање (WOMAC упитник, VAS скала), биохемијски параметри, концентрација цитокина (IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-23, IL-33, Gal-3, IL-4, IL-13), параметара оксидационог стреса (TBARS, NO₂, O₂⁻, H₂O₂, SOD, CAT, GSH) мерени су на почетку истраживања и после 3 месеца.

Тромесечна суплементација витамином D код пацијената са ОА колена имала је позитиван ефекат на клиничке манифестације, имунопатогенезу и параметре оксидационог стреса. Након суплементације витамином D дошло до повећања вредности IL-1 β , IL-23, IL-33, SOD и CAT, а до статистички значајног смањења вредности антиинфламаторног цитокина IL-13. Наши резултати су показали да суплементација витамином D има ресторативни ефекат на функцију зглоба колена, редукује бол и укоченост и повећава функционалност код пацијената са ОА колена.

Кључне речи: остеоартритис колена, витамин D, инфламација, имунопатогенеза, оксидациони стрес, бол у колону, функционалност.

SAŽETAK:

Uloga vitamina D u patogenezi osteoartritisa (OA) još uvek nije precizno definisana. OA je često udružen sa nedostatkom vitamina D, koji je rasprostranjen širom sveta. Nedostatak vitamina D je povezan sa hroničnim zapaljenjem. Noviji dokazi sugerišu da vitamin D kao imunomodulatorni i antiinflamatorni faktor, ali i kao značajan antioksidans može da smanji inflamaciju i oksidacioni stres kod OA bolesnika.

Cilj ove studija je da ispita uticaj suplementacije 4000 i.j. vitamina D nakon 3 meseca na imunopatogenezu, oksidacioni stres, kliničke manifestacije primarnog OA kolena.

U istraživanje su uključeni bolesnici sa primarnim OA kolena iz UKC Kragujevac. Eksperimentalna grupa je bila na suplementaciji vitaminom D, dok je kontrolna grupa ispitanika bila bez suplementacije. Funkcionalno testiranje (WOMAC upitnik, VAS skala), biohemijski parametri, koncentracija citokina (IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-23, IL-33, Gal-3, IL-4, IL-13), parametara oksidacionog stresa (TBARS, NO₂, O₂⁻, H₂O₂, SOD, CAT, GSH) mereni su na početku istraživanja i posle 3 meseca.

Tromesečna suplementacija vitaminom D kod pacijenata sa OA kolena imala je pozitivan efekat na kliničke manifestacije, imunopatogenezu i parametre oksidacionog stresa. Nakon suplementacije vitaminom D došlo do povećanja vrednosti IL-1 β , IL-23, IL-33, SOD i CAT, a do statistički značajnog smanjenja vrednosti antiinflamatornog citokina IL-13. Naši rezultati su pokazali da suplementacija vitaminom D ima restorativni efekat na funkciju zgloba kolena, redukuje bol i ukočenost i povećava funkcionalnost kod pacijenata sa OA kolena.

Ključne reči: osteoartritis kolena, vitamin D, inflamacija, imunopatogeneza, oksidacioni stres, bol u kolenu, funkcionalnost.

SUMMARY:

The role of vitamin D in the pathogenesis of osteoarthritis (OA) has not been precisely defined. OA is often associated with vitamin D deficiency, which is common worldwide. Vitamin D deficiency is linked with chronic inflammation. Recent evidence suggests that vitamin D as an immunomodulatory and anti-inflammatory factor, but also as a significant antioxidant, can reduce inflammation and oxidative stress in OA patients.

The aim of this study was to assess the effect of 4000 IU vitamin D supplementation after 3 months on immunopathogenesis, oxidative stress, clinical manifestations of primary knee OA.

Patients with primary knee OA from the UKC Kragujevac, were included in the research. The experimental group was supplemented with vitamin D, while the control group was without supplementation. Functional testing (WOMAC questionnaire, VAS scale), biochemical parameters, cytokine concentration (IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-23, IL-33, Gal-3, IL-4, IL-13), oxidative stress parameters (TBARS, NO₂, O₂⁻, H₂O₂, SOD, CAT, GSH) were measured at the beginning of the study and after 3 months.

Three-month vitamin D supplementation in patients with knee OA had a positive effect on clinical manifestations, immunopathogenesis and oxidative stress parameters. After supplementation with vitamin D, there was an increase in the values of IL-1 β , IL-23, IL-33, SOD and CAT, and a statistically significant decrease in the value of the anti-inflammatory cytokine IL-13. Our results showed that vitamin D supplementation has a restorative effect on knee joint function, reduces pain and stiffness and increases functionality in patients with knee OA.

Key words: knee osteoarthritis, vitamin D, inflammation, immunopathogenesis, oxidative stress, knee pain, functionality.

Садржај

1. УВОД.....	1
1.1. ОСТЕОАРТРИТИС КОЛЕНА.....	1
1.1.1. Дефиниција	1
1.1.2. Епидемиологија и етиологија	1
1.1.3. Класификација остеоартритиса колена.....	3
1.1.4. Патогенеза остеоартритиса колена	3
1.1.5. Инфламација у остеоартритису колена.....	4
1.1.6. Проинфламаторни цитокини	6
1.1.7. Антиинфламаторни цитокини у остеоартритису колена	8
1.1.8. Оксидациони стрес у остеоартритису колена	10
1.1.9. Клиничка слика остеоартритиса колена	12
1.1.10. Дијагноза остеоартритиса колена.....	13
1.1.11. Лечење остеоартритиса колена	14
1.2. ВИТАМИН D	17
1.2.1. Механизам деловања витамина D	18
1.2.2. Биолошке улоге витамина D.....	18
1.2.3. Витамин D и инфламација.....	19
1.2.4. Витамин D и имунски систем.....	20
1.2.5. Вредности витамина D у серуму	20
1.2.6. Витамин D и бол	21
1.2.7. Витамин D и остеоартритис колена	22
2. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	24
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД	25
3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ.....	25
3.2. ПОПУЛАЦИЈА ИСПИТАНИКА УКЉУЧЕНИХ У ИСТРАЖИВАЊЕ.....	25
3.3. БРОЈ ИСПИТАНИКА КОЈИ СУ ОСТАЛИ У ИСТРАЖИВАЊУ	25
3.4. УЗОРКОВАЊЕ	26
3.5. ПРОТОКОЛ ИСТРАЖИВАЊА	28
3.5.1. Варијабле које су мерене у истраживању	29
3.6. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА	33
3.7. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	33
4. РЕЗУЛТАТИ	34
4.1. ОПШТЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ УЗОРКА	34
4.1.1. Демографске карактеристике	34
4.1.2. Пол	34
4.1.3. Старост	35
4.1.4. Индекс телесне масе	35
4.1.5. Локализација остеоартритиса (лево/десно колена)	36
4.1.6. Трајање тегоба у месецима	36
4.1.7. Мануелни мишићни тест	37
4.1.8. Обим колена.....	38
4.1.9. Функционално тестирање.....	39

4.1.10. Процент бола и проценат функције колена.....	39
4.1.11. Бољитак.....	40
4.1.12. Лабораторијске анализе крви.....	40
4.1.13. Примена лекова против болова.....	41
4.1.14. Дужина примене лекова против болова у данима.....	41
4.1.15. Проинфламаторни цитокини.....	42
4.1.16. Антиинфламаторни цитокини.....	42
4.1.17. Параметри оксидационог стреса.....	43
4.2. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ГРУПУ ИСПИТАНИКА.....	44
4.2.1. Трајање тегоба у месецима.....	44
4.2.2. Мануелни мишићни тест.....	44
4.2.3. Обим колена.....	45
4.2.4. Функционално тестирање.....	45
4.2.5. Процент бола и проценат функције колена.....	47
4.2.6. Бољитак.....	49
4.2.7. Лабораторијске анализе крви.....	50
4.2.8. Примена лекова против болова.....	51
4.2.9. Дужина примене лекова против болова у данима.....	51
4.2.10. Инфламаторни цитокини.....	53
4.2.11. Антиинфламаторни цитокини.....	55
4.2.12. Параметри оксидационог стреса.....	56
4.3. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ПОЛ ИСПИТАНИКА.....	58
4.3.1. Лабораторијске анализе крви.....	58
4.3.2. Примена лекова против болова.....	59
4.3.3. Дужина примене лекова против болова у данима.....	60
4.3.4. Инфламаторни цитокини.....	61
4.3.5. Антиинфламаторни цитокини.....	62
4.3.6. Параметри оксидационог стреса.....	63
4.4. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА СТАРОСТ ИСПИТАНИКА.....	64
4.4.1. Процент бола и проценат функције колена.....	64
4.4.2. Лабораторијска анализа крви.....	65
4.5. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ МАСЕ.....	66
4.5.1. Обим колена.....	66
4.5.2. Инфламаторни цитокини.....	67
4.5.3. Антиинфламаторни цитокини.....	68
4.5.4. Параметри оксидационог стреса.....	69
4.6. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА KELLGREN AND LAWRENCE КЛАСИФИКАЦИЈУ.....	70
4.6.1. Трајање тегоба у месецима.....	70
4.6.2. Мануелни мишићни тест.....	71
4.6.3. Функционално тестирање.....	72
4.6.4. Процент бола и проценат функције колена.....	74
4.6.5. Лабораторијске анализе крви.....	75
4.6.6. Дужина примене лекова против болова у данима.....	76
4.7. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ВРЕДНОСТИ ВИТАМИНА D.....	77

4.7.1. Трајање тегоба у месецима.....	77
4.7.2. Функционално тестирање.....	78
4.7.3. Процент бола и проценат функције колена.....	79
4.7.4. Бољитак.....	80
4.7.5. Лабораторијске анализе крви.....	81
4.7.6. Примена лекова против болова.....	82
4.7.7. Дужина примене лекова против болова у данима.....	83
4.8. АНАЛИЗА ВРЕДНОСТИ ПРЕ И ПОСЛЕ СУПЛЕМЕНТАЦИЈЕ ВИТАМИНОМ D.....	84
4.8.1. Мануелни мишићни тест.....	84
4.8.2. Функционално тестирање.....	85
4.8.3. Лабораторијске анализе крви.....	86
4.8.4. Примена лекова против болова.....	88
4.8.5. Дужина примене лекова против болова у данима.....	88
4.8.6. Инфламаторни цитокини.....	90
4.8.7. Антиинфламаторни цитокини.....	92
4.8.8. Параметри оксидационог стреса.....	93
4.8.9. Функционално тестирање.....	95
4.8.10. Лабораторијске анализе крви.....	96
4.8.11. Проинфламаторни цитокини.....	97
4.8.12. Антиинфламаторни цитокини.....	98
4.8.13. Параметри оксидационог стреса.....	99
5. ДИСКУСИЈА.....	100
5.1. УТИЦАЈ ВИТАМИНА D НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА СА ОА КОЛЕНА.....	104
5.2. СУПЛЕМЕНТАЦИЈА ВИТАМИНОМ D УТИЧЕ НА КЛИНИЧКЕ МАНИФЕСТАЦИЈЕ ПРИМАРНОГ ОА КОЛЕНА.....	105
5.3. УТИЦАЈ ВИТАМИНА D НА УПОТРЕБУ НЕСТЕРОИДНИХ АНТИИНФЛАМАТОРНИХ ЛЕКОВА И АНЛГЕТИКА У ЛЕЧЕЊУ ОА КОЛЕНА.....	107
6. ЗАКЉУЧАК.....	109
7. ЛИТЕРАТУРА.....	110

1. УВОД

1.1. ОСТЕОАРТРИТИС КОЛЕНА

1.1.1. Дефиниција

Остеоартритис (енг. Osteoarthritis) (ОА) је најчешћи облик артритиса, који углавном (85%) захвата зглоб колена (1, 2). Више деценија ОА се сматрао за болест похабаних и истрошених зглобова (енг. „wear and tear“) која настаје услед механички изазваног фокалног оштећења мишићноскелетног система повезаног са процесом старења (3). Само 10 година раније ОА је дефинисан као инфламаторно обољење синовијалних зглобова, а запаљење је описано као „некласично“. Запаљење се сматра кључном компонентом у прогресији деструкције хрскавице и кости (4). Потом је предложено да се ОА дефинише као системска болест, а не као фокална болест зглобова. Метаболички изазвано запаљење које укључује цитокине, адипокине, абнормалне метаболите, реактанте акутне фазе, недостатак витамина Д и нерегулисани метаболизам miRNA (енгл. *Micro Ribonucleic acid* – miRNA) заузима значајно место у патофизиологији ОА (5).

Средином друге деценије 21. века, многе систематске анализе серума, синовијалног ткива, синовијалне течности, зглобне хрскавице и субхондралне кости потврдиле су да је ОА инфламаторна, системска болест са абнормалним метаболичким обртом. Уствари, запаљење посредовано имунском реакцијом сматра се уобичајеним налазом у синовијалном ткиву код ОА где су инфилтрација имунских ћелија и лучење цитокина доминантан налаз (6). Предложен је патогенетски модел за ОА у коме генетски, хомеостатски и/или механички фактори изазивају оштећење зглобне хрскавице, која би могла изложити секвестриране аутоантигене специфичне за хрскавицу имунском систему. Новосинтетисани аутоантигени хрскавице промовишу активацију имунског система што резултира миграцијом, адхезијом и акумулацијом Т-ћелија, Б-ћелија и макрофага у синовији зглоба. На овај начин, цитокини и хемокини луче се из активираних имунских ћелија, а који такође укључују и активирани компоненте комплемента (7).

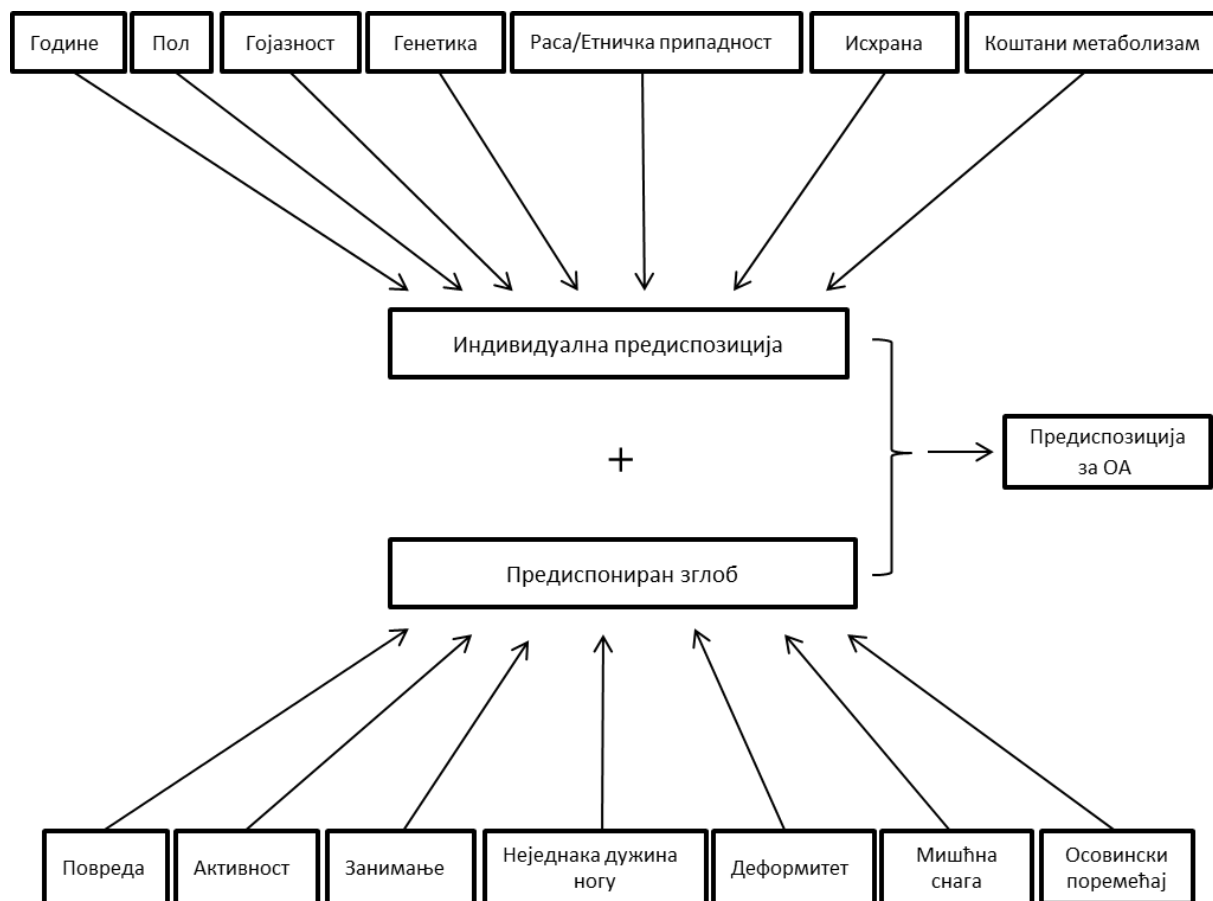
Захваљујући открићима из области молекуларне биологије, данас се ОА дефинише као сложена мултифакторијална болест (1, 8), у којој централну улогу има хронична инфламација ниског степена. Ово запаљење је карактеристично за почетни стадијум ОА, а настаје као резултат интеракције између имунског система и фактора као што су локално оштећење ткива и метаболичка дисфункција (9). Дакле, ОА је хронична болест зглобова која настаје као резултат сложеног међусобног дејства генетских, метаболичких, биохемијских и механичких фактора, што је праћено активацијом инфламаторног одговора укључујући интеракцију зглобне хрскавице, субхондралне кости и синовије (7).

1.1.2. Епидемиологија и етиологија

Хетерогена природа ОА доприноси варијабилној презентацији симптома, прогресији болести, одговору на лечење и прогнози. Процењује се да приближно 250 милиона људи широм света болује од ОА (10). Око половина популације старије од 65

година болује од ОА. После менопаузе, преваленца је већа код жена и приближно 18% жена и 9,6% мушкараца испољава знаке симптоматског ОА (1). Преваленција ОА колена значајно се повећала током последњих деценија и наставља да расте, делимично због све веће учесталости гојазности и других фактора ризика, али и независно од других узрока (11). Са епидемиолошког становишта, због великог процента људи који болује од ове болести и продуженог животног века, ОА се данас сматра за један од најзначајнијих узрока инвалидитета у свету (8). Поред наметања великог терета инвалидности, директни и индиректни трошкови ОА се континуирано повећавају, што доноси низ социоекономских последица: повећану потрошњу, смањену продуктивност, претерано коришћење ресурса здравствене заштите и свеукупни пад квалитета живота (12).

Фактори ризика за настанак и прогресију ОА колена могу се поделити на факторе индивидуалне предиспозиције и факторе предиспозиције на нивоу зглоба. Постоје различити фактори индивидуалне предиспозиције који обухватају социодемографске карактеристике (нпр. женски пол, афроамеричка раса), генетску предиспозицију, гојазност, фактори повезани са исхраном и поремећаји метаболизма кости. Фактори предиспозиције на нивоу зглоба подразумевају осовинске деформитете зглоба или неједнакост дужине доњих екстремитета, слабост флексора потколенице, учешће у одређеним професионалним/ спортским активностима и повреде зглоба (13).



Слика 1. Фактори предиспозиције за настанак ОА (Преузето од *Vina ER, Kwoh SK. Epidemiology of osteoarthritis: literature update. Curr Opin Rheumatol. 2018 Mar;30(2):160-167.* и модификовано)

1.1.3. Класификација остеоартритиса колена

ОА колена је хетерогена болест са комплексном патологијом. У недавној систематској прегледној студији идентификовано је шест варијабли које представљају шест клиничких фенотипова ОА (14). То су:

1. ОА са хроничним болом као последицом централног механизма или централне сензитизације
2. инфламаторни ОА, са високим нивоом инфламаторних цитокина
3. метаболички ОА, са преваленцом гојазности, шећерне болести и других метаболичких поремећаја
4. ОА као последица штећења метаболизма кости и хрскавице (промена локалног метаболизма)
5. ОА као последица механичке преоптерећености структура зглоба (осовински поремећаји) и
6. ОА као последица минималних промена зглоба или симптома са прогресијом током времена

1.1.4. Патогенеза остеоартритиса колена

Концепт ОА се много променио током историје. У почетку се сматрало да је ОА болест хрскавице, а данас се зна да је ОА болест целог зглоба. Главне патолошке промене у зглобовима захваћеним ОА обухватају дегенерацију хрскавице, формирање остеофита, субхондралну склерозу, синовијалну инфламацију различитог степена, дегенерацију лигамената и менискуса колена и хипертрофију зглобне капсуле (15). Такође, могу постојати промене и у периартикуларним мишићима, неравима, бурзама и локалним масним „јастучићима“ (16).

Зглобна хрскавица је аваскуларно, алимфатично и анеурално ткиво изграђено од једаног типа ћелија званих хондроцити. Осим хондроцита, хрскавица садржи екстрацелуларни матрикс (ЕЦМ), који се састоји од углавном од воде (више од 70%) и органских компоненти као што су колаген типа II, агрекан, затим, други протеоглици (декорин, бигликан и фибромодулин), колагени (типа III, VI, IX, XI, итд.), гликозаминоглици и гликопротеини (17). Зглобна хрскавица код одраслог човека није активна, налази се у неоптерећеном, уравнотеженом стању, а хондроцити су неактивне ћелије и у матриксу хрскавице има мало метаболизма. Равнотежа између производње компоненти ЕЦМ и његових деградирајућих ензима одржава се активношћу хондроцита (18). Прекомерно механичко оптерећење узрокује поремећај равнотеже између анаболичких и катаболичких процеса у хрскавици (19). У ОА хондроцити постају „активирани“ што се карактерише пролиферацијом ћелија, формирањем кластера и повећаном производњом и матриксних протеина и деградирајућих ензима матрикса. ОА хондроцити продукују бројне медијаторе укључујући IL-1 β , TNF- α , простагландине и NO (16).

У ОА долази до разградње колагена и протеогликана, главних компоненти ЕЦМ, деловањем специфичних протеиназа. Постоје 4 врсте протеолитичких ензима класификованих у односу на механизам катализе: цистинске протеиназе, аспартатне протеиназе и серинске протеиназе и металопропротеиназе. Металопропротеиназе су најважније. Излучују их хондроцити стимулирани цитокинима и факторима раста. Најзначајнији представник металопропротеиназа су матриксне металопропротеиназе (енг.

Matrix metalloproteinases - MMP) и то MMP-13 (колагеназа-3) и MMP-1 (интерстицијална колагеназа) (20). MMP-13 је најважнија због тога што највише разграђује колаген тип II, а показано је да је њена експресија у ОА изразито повећана (21). Карактеристична промена у зглобној хрскавици везана за ОА је појава фенотипа хипертрофичних хондроцита који повећано излучују MMP-13, колаген тип X и алкалну фосфатазу (22). Идентификован је транскрипциони фактор Runh2 који индукује настанак хипертрофичних хондроцита, што води ка деградацији колагена тип II, енхондралној осификацији и апоптози хондроцита (23). У разградњи протеогликана учествују и агреканизе ADAMTS (*енгл. a disintegrin and metalloproteinase withth rombospondin motifs*). За развој ОА су битне ADAMTS-4 и ADAMTS-5 (24). Уз повећану разградњу хрскавице поремећај метаболичке равнотеже у ОА укључује и недовољни репараторми и анаболички одговор ткива.

Међу молекулима одговорним за репарацију ткива наводе се коштани морфогенетски протеини (*енгл. Bone morphogenetic proteins - BMP*), инсулину сличан фактор раста-1 (*енгл. Insulin-like growth factor-1 - IGF-1*), трансформишући фактор раста- β (*енгл. Transforming growth factor beta - TGF- β*) и фактор раста фибробласта (*енгл. Fibroblast growth factor - FGF*). Наведени фактори раста имају способност преокренути катаболички процес покренут првенствено деловањем интерлеукина-1бета (*енгл. Interleukin-1 beta - IL-1 β*) (25).

Главни медијатори метаболизма хрскавице су цитокини. Каскада молекуларних догађаја који су одговорни за деградацију хрскавице обухвата нисходну регулацију антиинфламаторних цитокина (*енгл. Interleukin-4, -10, -13 – IL-4, -10 и -13*), ткивних инхибитора матриксних металопроотеиназа (*енгл. Tissue inhibitors of metalloproteinases - TIMPs*) и фактора раста (IGF-1, TGF- β , bFGF и *енгл. Bone morphogenetic proteins - BMPs*); усходну регулацију проинфламаторних цитокина као што су IL-1 β , фактор туморске некрозе алфа (*енгл. Tumor necrosis factor alpha - TNF- α*), IL-6, -8, -11, -17, -18 и продукцију MMPs, колагеназа, агреканизе, азот монооксида (NO), простагландина (*енгл. Prostaglandin-E2 – PGE-2*) и циклооксигеназе 2 (*енгл. Cyclooxygenase-2 - COX-2*) (26).

Покретањем инфламаторних процеса и катаболизма хрскавице, почетне промене које се виде као површинске фибрилације, шире се дистално, формирајући дубоке фисуре, што доводи до деламинације хрскавице откривајући калцификовану хрскавицу и субхондралну кост (27). За разлику од зглобне хрскавице, промене у субхондралној кости одликују се повећаном производњом матрикса, што доводи до задебљања кости (28). Студија Sancheza и сарадника (29) доказала је да остеобласти одговарају на механичку стимулацију, баш као и хондроцити, прилагођавајући своју метаболичку активност и секретују проинфламаторне цитокине и деградативне ензиме.

1.1.5. Инфламација у остеоартритису колена

Патогенеза ОА је резултат поремећене равнотеже проинфламаторних и антиинфламаторних медијатора, што доводи до запаљенског одговора који узрокује дегенерацију хрскавице, ремоделовање кости и пролиферацију синовијалне мембране. Запаљење у ОА је хроничног тока, благог степена (*енгл. „low-grade inflammation“*) и посредовано је првенствено урођеним имунским системом (30). MRI дијагностиком је доказано да је синовитис у ОА присутан код 95% пацијената са изливом у зглобу, као и код 75% пацијената без излива (31). Синовитис код ОА пацијената повезан је са погоршањем симптома као и структурном и радиографском прогресијом (32, 33). Урођени имунитет учествује у развоју синовитиса и покретању каскаде инфламаторних

и катаболичких процеса зглобне хрскавице што доводи до прогресије ОА (15). Главни сигнални молекули имунског система су цитокини (34).

Имунски посредована инфламација која укључује Т- и Б-ћелије, као и макрофаге, сматра се уобичајеним налазом у синовијалном ткиву, у коме се одвија инфилтрација имунским ћелијама и секреција цитокина (35). Стимулисани медијаторима запаљења, посебно IL-1 β , TNF- α , MMP и друге протеиназе индукују хондроците, синовијалне ћелије и лимфоците да производе IL-6, IL-8, IL-15, IL-17, инхибиторни фактор леукемије (енг. *Leukemia inhibitory factor* - LIF) и PGE-2 (36, 37), COX-2, фосфолипазу A2, NO и слободне радикале (38).

Најзначајнији инфламаторни цитокини су IL-1 β и TNF- α јер потстичу производњу осталих цитокина као што су IL-8, IL-6, LIF, али и сопствену производњу, и на тај начин су одговорни за иницирање инфламаторне каскаде. Катаболички делују на метаболизам хондроцита, и имају улогу у оштећењу хрскавице и прогресији ОА путем активације протеиназа (MMP и агреканаза) (39). Такође повећавају синтезу PGE-2 и индукују синтезу ADAMTS-а у хондроцитима (40). Већина активности проинфламаторних цитокина посредована је активацијом транскрипционог фактора, нуклеарног фактора капа Б (енг. *Nuclear factor kappa B* - NF- κ B), који се сматра се главним катаболичким регулаторним генским путем у хондроцитима (41). Активација NF- κ B промовише производњу хипоксија-индуцибилног фактора 2 α (енг. *Hypoxia-inducible factor-2 α* – HIF-2 α), азот-оксидсинтазе (енг. *Nitric Oxide Synthase-2* - NOS2), COX2 и IL-1 β , који промовишу запаљенски процес, индукују MMP и ADAMTS и одржавају ову аутокаталитичку каскаду синтезом IL-1 β (16). HIF-2 α индукује експресију ензима који разграђују матрикс као један од катаболичких фактора укључених у патогенезу апоптозе хондроцита који индукује прогресију ОА колена (42).

Синтезу IL-6, IL-8, IL-17 и IL-18 такође индукује IL-1 β (34). Инфламаторни ефекат IL-1 β је ублажен агонистом рецептора за IL-1 (енг. *Interleukin-1 receptor antagonist* - IL-1Ra) при чему је његова концентрација већа код пацијената са ОА у поређењу са здравим контролама (41). Осим тога, одвија се промовисање синтезе хемокина, односно IL-8, моноцитног хемоатрактантног протеина-1 (енг. *Monocyte chemoattractant protein-1* - MCP-1) и хемокинског лиганда 5 (енг. *C-C Motif Chemokine Ligand-5* - CCL5), који делују као посредници између процеса локалног запаљења ткива и ефекта имунских ћелија (44). IL-8 делује и као цитокин и као хемокин. Његов ефекат је сличан IL-1 β , а то је индукција NF- κ B, супресија пролиферације хондроцита и промоција синтезе MMP. Служи као хемокин тако што привлачи и активира неутрофиле. Мерење концентрације IL-8 у синовијалној течности показало је да корелира са степеном тежине ОА и активношћу MMP-13, док је смањена концентрација IL-8 примећена након антиинфламаторне терапије (39, 44).

IL-6, такође учествује у инфламаторном процесу код ОА. Промовише инфламацију и синтезу MMP активацијом JAK/STAT пута (енг. *The Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*) када се веже за IL-6 рецепторе, који се налазе не само на мембрани хондроцита већ и у синовијалној течности као солубилни рецептори, чије је излучивање повезано са протеолизом од стране ADAMTS-а (45). Повећана концентрација IL-6 у серуму је такође повезан са болом у раној фази ОА колена код жена (46). У експерименталним моделима је утврђено да IL-6 промовише производњу MMP-3, MMP-13 и ADAMTS, док његова инхибиција ублажава прогресију структурних лезија код ОА (47).

1.1.6. Проинфламаторни цитокини

Проинфламаторни цитокини који учествују у патогенези ОА су: TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, и LIF (48).

Интерлеукин 1-бета (*енг. Interleukin-1 beta* - IL-1 β)

Везивањем за свој рецептор (IL-1RI), IL-1 β активира сигналне путеве NF- κ B и митогеном активирани протеин киназе (*енг. Mitogen-activated protein kinases*- MAPK) који, повећањем експресије ензима ADAMTS и MAPK, доводе до катаболичких реакција, односно деградације протеогликана и оштећења колагена. Осим тога, преко истих сигналних путева, IL-1 β инхибира синтезу колагена типа II кроз супресију SOX-9 (*енг. SRY-Box Transcription Factor-9*), али и синтезу протеогликана повећањем синтезе COX-2, PGE-2 и NO. IL-1 β повећава експресију хемокина као што су IL-8, CCL2 и CCL5, као и цитокина IL-6 и TNF- α , који привлаче инфламаторне ћелије и изазивају синовијалну инфламацију, и на тај начин подстиче аутокрину секрецију. Путем сигнализације MAPK, IL-1 β индукује катаболичке реакције као што је деградација хрскавице, као доминантан процес у ОА. Смањењем експресије гена за колаген тип II и агрекана, IL-1 β смањује производњу ЕЦМ (48). IL-1 β узрокује деградацију ЕЦМ кроз индукцију колагеназа и агреканаза као што су MMP-1, MMP-3, MMP-13, ADAMTS-4 и ADAMTS-5 (49). Ови катаболички догађаји резултирају хипертрофијом хондроцита, дедиференцијацијом и на крају апоптозом (50). IL-1 β стимулише лучење IL-6, LIF и других проинфламаторних цитокина, који потенцирају катаболичке ефекте IL-1 β и истовремено су и сами катаболички медијатори (49). PGE-2, NO и COX-2 су инфламаторни медијатори које такође индукује IL-1 β (51). Ови медијатори поспешују синовијалну инфламацију, што додатно повећава секрецију IL-1 β и других цитокина и погоршава зачарани круг прогресије ОА (52).

Други важан сигнални пут у прогресији ОА посредоване IL-1 β је NF- κ B, који, када се активира, доводи до инхибиције експресије колагена типа II, повећане производње MMP (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9 и MMP-13) и ADAMTS (ADAMTS-4 и ADAMTS-5), али такође, и COX-2, iNOS, PGE-2 и NO. Поред тога, IL-1 β активирани NF- κ B пут стимулише синтезу и секрецију проинфламаторних цитокина, као што су IL-6 и TNF- α (53). IL-1 β посредована активација NF- κ B стимулише производњу различитих хемокина укључујући IL-8, MCP-1 или CCL2, CCL5, такође познат као RANTES (*енг. regulated on activation, normal T cells expressed and secreted* - RANTES) и инфламаторног протеина-1 α макрофага (*енг. Macrophage inflammatory protein-1 alpha* - MIP-1 α), који привлачењем инфламаторних ћелија појачава инфламацију у зглобу (37).

Фактор туморске некрозе алфа (*енг. Tumor necrosis factor alpha* - TNF- α)

TNF- α се везује за два изотипа мембранских рецептора TNF-1 и TNF-2. Лиганди могу да индукују два различита сигнална комплекса везивањем за TNFRF-1 рецепторе (*енг. Tumor necrosis factor receptor-1* - TNFRF-1). Комплекс 1 доводи до стимулације преживљавања ћелија и експресије NF- κ B, MAPK и AP-1, док комплекс 2 доводи до апоптозе ћелија (54). Поред тога, везивање TNF- α за TNFRF-2 активира NF- κ B и JNK (55). У хондроцитима TNF- α блокира синтезу компоненти протеогликана и колагена типа II (56). TNF- α као и IL-1 β , доводи до деградације ЕЦМ индикујући синтезу колагеназа и агреканаза као што су MMP-1, MMP-3, MMP-13 и ADAMTS-4 (57). Осим тога, TNF- α повећава синтезу IL-6, IL-8, RANTES и VEGF. Заједно са IL-1 β , TNF- α индукује продукцију iNOS, COX-2 и PGE-2, што даље повећава продукцију IL-1 β и TNF- α (38).

Интерлеукин-6 (енг. *Interleukin-6* - IL-6)

IL-6 продукују остеобласти, хондроцити и синовицити (58). IL-6 активира сигналне путеве који регулишу продукцију ензима (TIMP, MMPs и ADAMTS) као и синтезу колагена тип II и протеогликана. Дакле, IL-6 балансира између антиинфламаторних и проинфламаторних ефеката, али услед преовладавања проинфламаторног дејства долази до прогресије ОА (59).

Интерлеукин-15 (енг. *Interleukin-15* - IL-15)

Тачан механизам којим IL-15 утиче на настанак и прогресију ОА још није познат, али је познато да IL-15 појачава производњу MMP, као што је MMP-9 (60). Резултати клиничке студије показали су да је концентрација IL-15 у серуму пацијената са ОА већа него код здравих контрола. Осим тога, серумска концентрација IL-15 корелира са тежином бола мереним помоћу WOMAC скале за бол, независно од година, пола и ВМИ (61).

Интерлеукин-17 (енг. *Interleukin-17* - IL-17)

IL-17 луче помоћнички Т лимфоцити (Th17) (62). Утврђено је да IL-17 у хондроцитима изолованим из хрскавице пацијената са ОА повећава продукцију катаболичких фактора (MMP-1, -3 и -13) и смањује продукцију анаболичких фактора као што су TIMP3, колагена тип II алфа-1 (енг. *collagen type II alpha-1 chain* - COL2A1) и SOX9 (63). Такође, доказано је да IL-17 може да повећа продукцију IL-6 и TNF- α у ОА (64).

Интерлеукин-18 (енг. *Interleukin-18* - IL-18)

Концентрација IL-18 је повећана у плазми, синовијалној течности и зглобној хрскавици пацијената са ОА у поређењу са здравим контролама, што указује на повећану локалну и системску производњу IL-18 код ОА. Вредности IL-18 корелирају су са радиографским степеном болести (65). IL-18 индукује повећање броја рецептора на површини хондроцита и синтезу кључних ензима одговорних за деградацију хрскавице као што су MMP-1, MMP-3 и MMP-13 (66). Поред тога, IL-18 повећава производњу NO, цитотоксичног слободног радикала који је независан фактор у деградацији хрскавице (67). IL-18 у хондроцитима и синовиоцитима индукује појачану експресију гена за синтезу IL-6 и TNF- α (68).

Interleukin-21 - IL-21

IL-21 који секретују ћелије природне убице (енг. *Natural killer cells* – NK), Т-помоћничке тип 17 ћелије (енг. *T helper cells* – Th) и фоликуларне Т-ћелије, представља још један плејотропни цитокин укључен у имунске процесе, као и у ОА (69). У скорој студији Shan и сарадника (70) показане су повећане вредности IL-21 и потврђено је присуство IL-21-фоликуларних помоћничких Т-ћелија, што је у корелацији са тежином ОА мереном WOMAC скором и концентрацијом Ц-реактивног протеина (енг. *C-reactive protein* – CRP), што указује на потенцијалну улогу IL-21 као биомаркера ОА.

Интерлеукин-22 (енг. *Interleukin-22* - IL-22)

IL-22 је члан породице IL-10 који примарно продукују Th17 и NK ћелије, али и макрофази, неутрофили и фибробласти (71). Код пацијената са ОА, IL-22 је повећан у синовијалној течности и синовиоцитима сличним фибробластима, а IL-22 рецептори су повишени скоро десет пута у хондроцитима. Насупрот томе, није примећена разлика у концентрацији IL-22 у серуму пацијената са ОА (72). IL-22 повећавајући активност MMP-1 обавља значајну улогу у патофизиолошким механизмима ОА (73).

Интерлеукин-33 (енг. *Interleukin-33* - IL-33)

IL-33 је лиганд за рецептор T1/ST2 (енг. *IL-1 receptor-related protein ST2* - ST2L) из породице IL-1, и своје биолошке улоге остварује активацијом сигналног пута NF- κ B (74, 75). IL-33 углавном луче општећене ћелије и учествује у фацитацији имунског одговора, како урођеног тако и стеченог (76). IL-33 повећава лучење проинфламаторних цитокина, односно IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 и IL-13. Ови цитокини као и IL-33 имају значајну улогу у патогенези ОА (77).

Галектин-3 (енг. *Galectin-3* - Gal-3)

Галектин-3 (енг. *Galectin-3* – Gal-3) је члан породице галектина који везује β -галактозид са плејотропним улогама, како интра- тако и екстрацелуларно (78). Gal-3 је широко експримиран у ткивима човека, укључујући све типове имунских ћелија (макрофаге, моноците, дендритске ћелије, еозинofile, мастоците, ћелије природне убице и активирани Т и Б ћелије), затим епителне и ендотелне ћелије као и сензорне неуроне. Gal-3 испољава значајну улогу у бројним биолошким процесима укључујући раст ћелија, апоптозу, везивање pre-mRNK, диференцијацију, трансформацију, ангиогенезу, инфламацију, фиброзу и одбрану домаћина (79). Синовијални макрофаги који су локализовани у оба слоја синовијалне мембране, сматрају се главним актерима синовијалне инфламације због њихове улоге у производњи проинфламаторних цитокина или катаболичких производа, и способност да активирају суседне синовијалне фибробласте. Међутим, друге имунске ћелије (углавном Т лимфоцити), које инфилтришу синовију, такође могу да учествују у инфламацији, пошто је њихова миграција олакшана синовијалном неоваскуларизацијом. Код ОА, синовијалну инфламацију карактеришу повећани нивои Gal-3 који појачава запаљенски одговор. Повећана секреција Gal-3 корелира са синовијалном инфламацијом и дегенерацијом хрскавице и кости у ОА (80). У различитим концентрацијама, екстрацелуларни Gal-3 индукује експресију MMP3 и ADMTS5 у хондроцитима, који представљају два главна ензима одговорна за разградњу протеогликана у хрскавици (81).

1.1.7. Антиинфламаторни цитокини у остеоартритису колена

Деловање антиинфламаторних цитокина углавном укључује инхибицију синтезе инфламаторних цитокина, посебно IL-1 β , и TNF- α . Антиинфламаторни ефекти цитокини подразумевају повећање синтезе протеогликана, инхибицију апоптозе хондроцита, смањење синтезе и секреције MMP и смањење нивоа PGE-2. Међутим, ова својства треба третирати као инхибиторни ефекат на инфламаторне цитокине, а не као директне хондопротективне способности. Међутим, одређена својства антиинфламаторних цитокина превазилазе најједноставнију идеју антагонизма у односу на инфламаторне цитокине (38).

Интерлеукин-4 (енг. *Interleukin-4* - IL-4)

IL-4 има значајан хондопротективни ефекат. Он инхибира лучење MMP, смањује варијације у производњи протеогликана које постоје у ОА и последично инхибира разградњу протеогликана у зглобној хрскавици (82). Schlaak и сарадници (83) открили су да је концентрација солубилног интерлеукина-4 рецептора (sIL-4R) у серуму значајно већа код свих пацијената са ОА у поређењу са здравим контролама. IL-4 смањује синтезу инфламаторних цитокина као што су IL-1 β , TNF- α и IL-6 (84). Осим

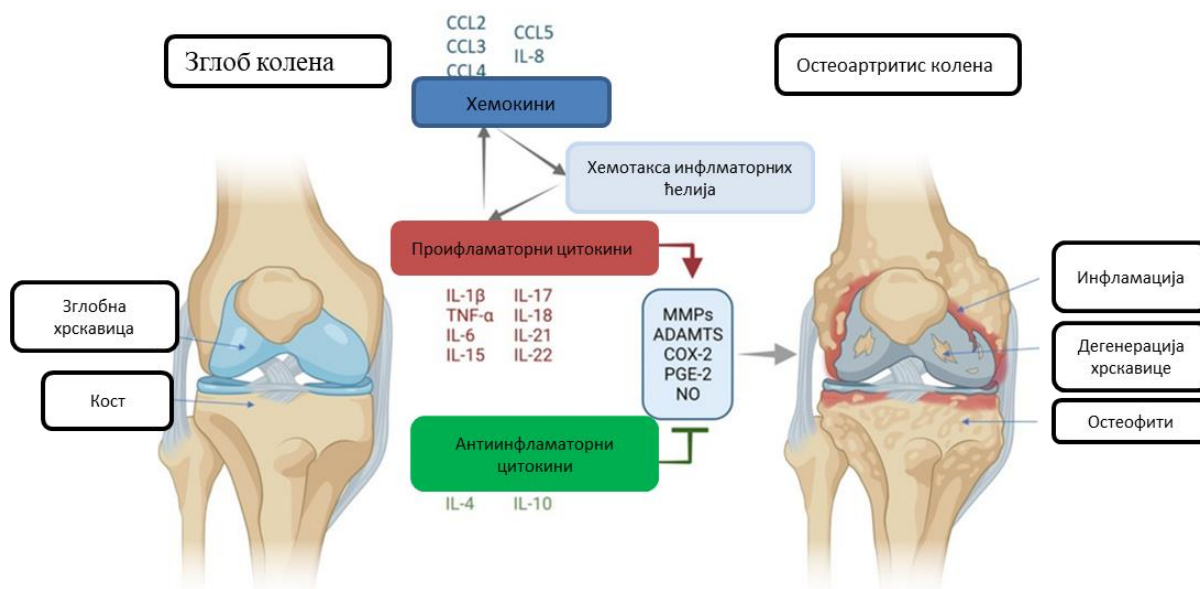
тога, IL-4 смањује секрецију и других инфламаторних медијатора PGE-2, COX-2, PLA2 и iNOS (38).

Интерлеукин-10 (енг. *Interleukin-10* - IL-10)

IL-10 испољава хондропротективни, антиапоптотички и антиинфламаторни ефекат, који су крајњи резултат стимулације синтезе колагена типа II и агрекана, као и инхибиције синтезе MMP (85). IL-10 испољава антиинфламаторна својства стимулацијом синтезе IL-1 β антагониста помоћу макрофага и инхибицијом продукције TNF- α , IL-6 и IL-12, чиме се супротставља њиховом проинфламаторном ефекту (38).

Интерлеукин-13 (енг. *Interleukin-13* - IL-13)

Анти-инфламаторни и хондопротективни ефекти IL-13 на ћелије имунског одговора, зглобне хрскавице и синовије код ОА су добро познати (86, 87). Чини се да је антиинфламаторни ефекат IL-13 у контексту ОА најважнији у погледу синовијалних фибробласта. Међутим, остала антиинфламаторна својства заснована на инхибицији секреције проинфламаторних цитокина односе ћелије као што су макрофаги, моноцити, Б ћелије, NK ћелије и ендотелне ћелије (88).



Слика 2. Шематски приказ кључних проинфламаторних процеса и фактора у патогенези ОА. IL - интерлеукин; CCL-CC - хемокин лиганд; TNF- α - фактор туморске некрозе- α ; MMP -матриксне металопротеиназе (MMPs); ADAMTS - слична дезинтегрину металопротеиназа са мотивом тромбоспондина; COX-2 - циклооксигеназа-2; PGE-2 - простагландин E2; NO - азот оксид.

(Преузето с https://www.mdpi.com/ijms/ijms-22-09208/article_deploy/html/images/ijms-22-09208-g001-550.jpg и модификовано)

1.1.8. Оксидациони стрес у остеоартритису колена

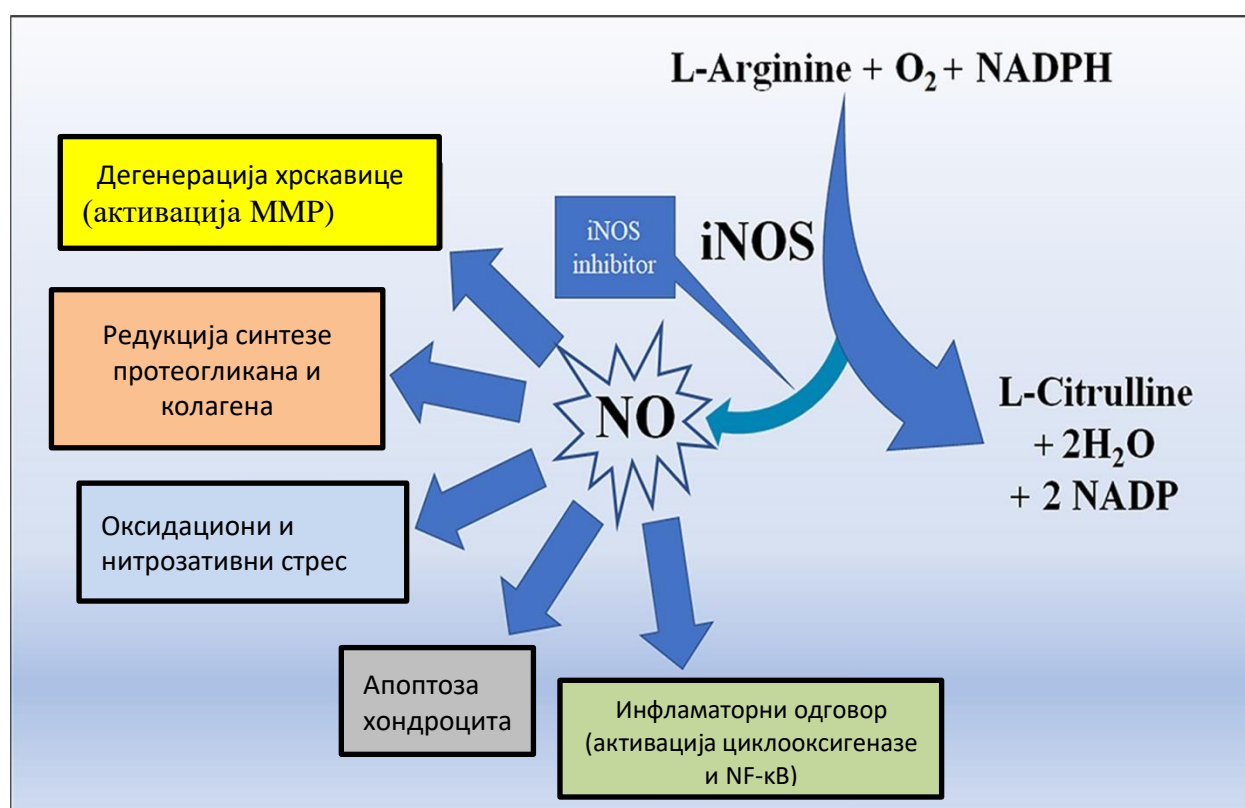
Инфламаторни медијатори битни за патогенезу ОА су и реактивни слободни радикали. Реактивне врсте кисеоника (енг. *reactive oxygen species* - ROS) су слободни радикали који садрже кисеоник, као што су водоник пероксид (H_2O_2), хидрокси радикал (OH^\cdot), супероксидни анјон (O_2^\cdot) и азот оксид (NO) и имају неспарене електроне што их чини нестабилним и високо реактивним. ROS се нормално производе у ћелијама у малим количинама и неопходни су за одржавање ћелијске хомеостазе и функције (89). Међутим, поремећај равнотеже у овом хомеостатском механизму доводи до повећане експресије инфламаторних цитокина и хемокина, што изазива оксидацију ћелијских макромолекула као што су протеини, липиди и дезоксирибонукленска киселина (енг. *Deoxyribonucleic acid* - DNA) мењајући њихову функцију. Главна места производње ROS укључују митохондрије, пероксизоми и друге мембранске структуре које садрже никотинамид аденин динуклеотид фосфат (енг. *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* – NADPH), оксидазе (енг. *Nitrite/nitrate, Nitrates* - NOX), ксантин оксидазу (енг. *Xanthine oxidase* - XO) и азот оксид синтазу (енг. *Nitric oxide synthases* - NOS) (90). iNOS представља индуцибилни облик NO, чија експресија је усходно регулисана у хондроцитима као одговор на стимулацију инфламаторних цитокина као што су IL-1 β , TNF- α , IL-17 итд (91, 92). Доказе о повећаној производњи ROS-а у ОА представљају хондроцити изоловани из хрскавице у завршној фази ОА или присуство производа пероксидације липида и нитрозилације у синовијалној течности и у хрскавици. NO појачава инфламацију активацијом NF- κ B који изазива повећану производњу IL-1 β и TNF- α (93). У патолошким условима, прекомерне количине ROS функционишу као секундарни гласници и промовишу деградацију хрскавице индукујући експресију протеаза одговорних за разградњу матрикса, смањујући синтезу ЕЦМ и индукујући апоптозу хондроцита.

У условима повећане производње ROS, ћелијски одбрамбени механизам против оксидативног стреса се активира и ефикасно уклања ROS молекуле из ћелије. Ћелијски антиоксидациони одбрамбени систем укључује различите ензиме, као што су каталаза (енг. *Catalase* – CAT), пероксиредоксини (енг. *Peroxiredoxin* - Prx), глутатион пероксидаза (енг. *Glutathione peroxidase* - GPX), NADPH, убихинон оксидоредуктаза (енг. *Ubiquinone oxidoreductase* - NQO1) и супероксид дисмутаза (енг. *Superoxide dismutase* - SOD) као и неензимске механизме, као што је глутатион (енг. *Glutathione* - GSH) (94). Експресија протеина антиоксидационог одбрамбеног система који обухватају SOD, CAT и GPX је нисходно регулисана у ОА зглобовима, што показује поремећај редокс равнотеже у ОА хрскавици (95). Митохондријална дисфункција или дерегулација експресије SOD2 може довести до прекомерне производње ROS-а што може изазвати иреверзибилно оштећење хондроцита и ћелијску смрт апоптозом или некрозом (96). Такође је доказано да NO и његови производи повећавају оштећење хрскавице током развоја ОА (95). NO се производи у хондроцитима у процесу конверзије L-аргинина у L-цитрулин у два корака који је катализован iNOS-ом чија је експресија усходно регулисана у ОА хрскавици и у хондроцитима у патолошким условима (93).

Оксидациони стрес је резултат прекомерне производње ROS-а, који превазилази капацитет ћелијског антиоксидативног одбрамбеног система за ефикасно уклањање из ћелије. Прекомерна производња ROS-а и индукција оксидационог стреса у хондроцитима су један од главних фактора који доприносе патогенези ОА (96). Многе студије су показале да су вредности ROS-а регулисане у ОА хрскавици и хондроцитима (97, 98). Повећање оксидационог стреса позитивно корелира са деградацијом колагена (98) што сугерише улогу ROS-а у катаболизму матрикса хрскавице. Такође, резултати

различитих студија показали су да NO и H₂O₂ инхибирају синтезу протеогликана, и тиме доказали улогу ROS-а у супримирању анаболизма матрикса хрскавице (99).

IL-1 β као један од најактивнијих цитокина током развоја ОА, стимулише и производњу ROS-а као што су пероксиди и хидроксиловани радикали, као и производњу NO и недостатак SOD-а. Недостатак SOD-а доводи до виших вредности супероксида. NO и супероксид ступају у реакцију и формирају пероксинитрит (100). Пероксинитрит изазва смањење синтезе колагена II који је потребан за одржавање хрскавице. Пероксидације липида током које се производи 4-хидроксиноенал, представља још један потенцијални пут којим ROS може оштетити зглоб. Снижене вредности САТ узрокују акумулацију пероксида који повећавају липидну пероксиацију која доводи до продукције 4-хидроксиноенала. У хондроцитима изолованим од ОА пацијената, 4-хидроксиноенал инхибира експресију колагена II и повећава вредности фактора који могу изазвати његову деградацију (101). Према томе, производња 4-хидроксиноенала од стране ROS-а могла би имати главну улогу у ОА (102).



Слика3. Синтеза NO и његово дејство на зглобну хрскавицу, NO-азот оксид; iNOS-индуцибилна азот оксид синтетаза; NADPH- редукован никотин амид динуклеотид фосфат; NADP- никотин амид динуклеотид фосфат.

(Преузето с <https://onlinelibrary.wiley.com/cms/asset/1854275e-03fc-4881-825f-4502f95f6c10/jcp29607-gra-0001-m.jpg?trick=1655716971730> и модификовано)

1.1.9. Клиничка слика остеоартритиса колена

Један од најдуже примењиваних клиничких критеријума за ОА колена је систем класификације који је предложило Америчко удружење за реуматизам (*енг. American College of Rheumatology – ACR*) 1986. године. Класификација се заснива на три сета критеријума, у зависности од тога да ли су лекару доступни клинички преглед и лабораторијски налаз, или клинички преглед и радиографски налаз или само клинички преглед.

Клинички и лабораторијски	Клинички и радиографски	Клинички
<p>Бол у колелу присутан већи део дана, месец дана, уз најмање пет од следећих критеријума:</p> <p>старост >50 година, укоченост до 30 минута, крепитације током активних покрета, осетљивост коштаных проминенција, без повишене локалне температуре, SE (брзина седиментације еритроцита) <40 mm/h, RF вредности (фактор реуматизма) <1:40, синовијална течност типична за ОА (2 од 3: бистар, вискозан, број леукоцита мањи од 2000 у мл)</p>	<p>Бол у колелу у колелу присутан већи део дана, месец дана, уз најмање један од следећих критеријума:</p> <p>старост >50 година, укоченост <30 минута, крепитације током активних покрета са присуством остеофита на ивицама зглоба</p>	<p>Бол у колелу присутан већи део дана, месец дана, уз најмање три од следећих критеријума:</p> <p>старост >50 година, јутарња укоченост <30 минута, крепитације при активним покретима, осетљивост коштаных избочина, коштано задебљање колена на прегледу, без повишене локалне температуре</p>
<p>Сензитивност: 92 % Специфичност: 75 %</p>	<p>Сензитивност: 91 % Специфичност: 86 %</p>	<p>Сензитивност: 95 % Специфичност: 69 %</p>

Слика 4. ACR (American College of Rheumatology) критеријуми за постављање дијагнозе остеоартритиса колена (Преузето од *Arden N, Blanco F, Cooper C, Guermazi A, Hayashi D, Hunter D, Javaid MK, Rannou F, Roemer FW and Reginster JY: Atlas of osteoarthritis. Springer Healthcare Ltd. 69–82. 2014.* и модификовано)

Zhang и сарадници су у име Европског удружења реуматолога (*енг. European League Association Rheumatology - EULAR*) дали клиничке критеријуме за постављање дијагнозе ОА колена. Наиме аутори су приметили да иако се радиографија често користи као „златни стандард“ за дијагнозу, није једини маркер за дијагнозу ОА. Навели су да се поуздана дијагноза може поставити без радиографског налаза чак и ако радиографија изгледа нормално, код особа старијих од 40 година са: болом у колелу који се појачава током кретања; само краткотрајном јутарњом укоченосту; ограничењем функције; и једним или више типичних налаза током клиничког прегледа (крепитације, ограничен обим покрета зглоба, задебљање кости тј палпабилни остеофити). EULAR је такође дао препоруку да све пацијенте са болом у колелу треба испитати ради искључења дијагнозе ОА (103).

Клиничка слика ОА колена обухвата симптоме и знаке. Симптоми ОА су бол, смањена функција колена, укоченост, оток, мишићна слабост, деформтет, крепитације и

нестабилност колена. Знаци ОА су увећање или проширење зглоба, измењен ход, напетост колена, ограничење покрета, деформитет и нестабилност (104).

Бол је први и најдоминантнији симптом ОА и понекад се описује као бол у дубини. Бол у колenu обично се погоршава са стајањем и ходањем, док се смањује током мировања. Иако је типично интермитентан, бол може постати константан. Код ОА колена, бол се често локализује дуж медијалне зглобне линје или у дисталном сегменту пателофеморалне везе. Медијални бол је обично у корелацији са структурним променама, пошто је медијални компартмент је захваћен у 70% случајева ОА колена (105). Код пацијената који имају ОА латералног компартмента, бол и крепитације су локализовани у латералном сегменту колена а артритична деструкција се манифестује као валгус деформитет потколенице (106).

Укоченост код ОА се обично јавља ујутру, након периода мировања или изузетно увече. Обично пролази за неколико минута и смањује се са покретима зглоба, за разлику од укочености код реуматоидног артритиса која обично траје дуже од 30 минута.

Смањење обима покрета или функције зглоба колена. Како ОА напредује, смањује се обим покрета у зглобу (105). То доводи до губитка функције, што је, поред болова, главни разлог због ког се пацијенти јављају лекару. Губитак функције може довести до потешкоћа са одређеним свакодневним активностима, као што је пењање уз степенице, ходање и обављање кућних послова.

Крепитације се најчешће јављају код ОА колена. Могу се осетити при палпацији зглоба приликом извођења пасивних покрета, а понекад се чују при активним покретима зглоба (107).

Контрактуре меког ткива у унапредовалом стадијуму ОА могу довести до варус или валгус деформитета колена и узрокују нестабилност зглоба (108).

Иако није уобичајено код ОА колена, могу се наћи синовијални изливи дуж медијалне линије зглоба и у супрапателарној бурзи. Дистензија због синовијалног излива може довести до флексионе контрактуре колена. У унапредовалом стадијуму могу се јавити осетљивост при палпацији и бол при пасивном покрету (105).

1.1.10. Дијагноза остеоартритиса колена

Дијагноза се може поставити на основу анамнестичких података и клиничког прегледа. Најчешће коришћена радиолошка метода за потврду клиничке дијагнозе остеоартритиса је нативна радиографија (109) која се може користити за утврђивање степена оштећења зглоба и праћење прогресије болести. Стандардни радиографски снимци раде се у две равни: антеропостериорној и латералној пројекцији, у стојећем положају (110).

Антеропостериорном и латералном радиографијом у стојећем положају можда се неће приказати патолошке промене у почетној фази ОА тако да нормални радиолошки налаз не искључује дијагнозу ОА (111). Радиолошки налаз подразумева појаву остеофита, субхондралних циста, субхондралну склерозу и сужење зглобног простора које се оцењује коришћењем Kellgren–Lawrence скале или K-L скале (112), дефинисане још 1957. године коју је прихватила Светска здравствена организација (*енг. World Health Organisation* - WHO) 1961. године (113). Ова класификација се заснива на радиографским променама које захватају оболели зглоб и разликују се 4 степена (114). (Слика 5.)



Слика 5. Kellgren-Lawrence скала ОА: А - I степен суспектно сужење зглобног простора и минимални, почетни остеофити; В - II степен јасни остеофити са суспектним, могућим сужењем зглобног простора; С - III степен више од 50% сужења зглобног простора, округли феморални кондили, узнапредовала субхондрална склероза, узнапредовали остеофити; D – IV степен деструкција зглоба, сужење зглобног простора, субхондралне цисте тибијалних и феморалних кондила, сублуксација зглоба. (Преузето од *Hayashi D, Roemer FW, Jarraya M, Guermazi A. Imaging in osteoarthritis. Radiologic Clinics. 2017 Sep 1;55(5):1085-102.*)

Док је конвенционална радиографија је златни стандард за постављање дијагнозе ОА у клиничкој пракси и истраживањима, ОА се може дијагностиковати и другим методама, попут нуклеарне магнетне резонанце (*енг. Magnetic resonance imaging – MRI*), компјутеризоване томографије (*енг. Computed tomography – CT*) или ултразвучног прегледа колена (115). MRI може визуализовати све структуре зглоба (тј. хрскавицу, менискусе, субарткуларну коштану срж и синовију) и зато може приказати колена као цео орган тродимензионално, што директно помаже у процени морфологије хрскавице и састава. Ултразвук је у поређењу са MRI економичнији модалитет за визуелизацију зглоба колена и користи се за процену излива и остеофита, међутим, мање је сензитиван у погледу степена сужења зглобног простора (116).

1.1.11. Лечење остеоартритиса колена

До данас, ОА колена се не може излечити. Циљеви лечења ОА првенствено су усмерени на смањење бола и побољшање функције, и коначно на заустављање прогресије болести, што заузврат може смањити утицај ОА на мобилност и квалитет живота пацијента и довести до смањења потребе за аналгетикама и одложити операцију замене зглоба на дужи период, са последичним смањењем потрошње здравствених ресурса. Лечење ОА треба да буде индивидуално прилагођено пацијенту, а у складу са специфичним потребама пацијента и према налазима клиничког прегледа (104).

Препоруке за лечење ОА дали су различити водичи попут: European League Against Rheumatism (EULAR) (105), European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) (117), затим Osteoarthritis Research Society International (OARSI) (118), American College of Rheumatology (ACR) (119) као и American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) (120).

Према препорукама AAOS, главни терапијски правци у третману ОА колена су физикална терапија, лекови и оперативно лечење. Пацијентима са ОА колена препоручују се терапеутске вежбе (за јачања периарткуларне мускулатуре и вежбе ума и тела као што су таи-чи и јога), модалитети физикалне терапије, редукација телесне

тежине и коришћење нестероидних антиинфламаторних лекова (*енг. Non-steroidal anti-inflammatory drugs – NSAID*) (било орално или топикално) и Tramadol-a. Све остале терапијске опције попут акупунктуре, масаже, електротерапије, ношења различитих ортоза и уложака, оралне употребе лекова (Acetaminophen, Glucosamine, Chondroitine), интраартикуларних инекција (кортикостероида, хијалуронске киселине, регенеративних процедура), или оперативног лечења (као што је артроскопски дебридмана са или без аугментације регенеративним процедурама, менисцектомија), и на крају нефиксираних протетских процедура су у већој или мањој мери оспорене или се препоручују уз мањак експертског консензуса. У оквиру оперативног лечења, консензусом се препоручује само уградња протезе колена (уз препоруке избегавања код млађих особа) и остеотомије (у случају постојања осовинских деформитета доњег екстремитета) (120).

OARSI препоруке су нешто опширније и обухватају три групе терапијских модалитета (121):

1. Нефармаколошко лечење у које спадају едукација, вежбе у кући, физикална терапија, јога, аеробик, вежбе мишићне снаге, хидротерапија, балнеотерапија, пливање и вежбе у води, кинезитејпинг, смањење телесне тежине, шетња, ношење ортоза колена, ношење различитих ортоза и растеретних уложака итд.
2. Фармаколошко лечење према овим препорукама подразумева Acetaminophene, NSAID (орално и топикално), Capsaicin, интраартикуларне терапије кортикостероида и хијалуронске киселине, препарати Glucosamine и Chondroitine Sulfate, Diacerin, опиоиди у случају израженог бола.
3. Оперативно лечење. OARSI препоручује уградњу тоталне и уникондиларне ендопротезе, остеостомију и различите поштедне (*енг. „joint preserving“*) процедуре, артроскопски дебридман, лаважу и на крају артродезу.

Са изузетком артропластике зглобова и регенеративних терапија, већина третмана за бол у колону код ОА су палијативне природе. Третмани су подељени у зависности од стадијума ОА и степена инвалидитета пацијента. Конзервативно лечење укључује модификацију стила живота, губитак телесне масе, ако је потребно, вежбе и едукацију. NSAID треба сматрати првом линијом за симптоматску контролу бола. Опиоиди имају минималну корист код ОА и повезани су са нуспојавама и ризицима, стога се употреба не препоручује. Интраартикуларне ињекције кортикостероида или хијалуронске киселине су добро прихваћен третман за привремено ублажавање симптома. Биолошка терапија која подразумева примену плазме обогаћене тромбоцитима PRP (*енг. Platelet-Rich Plasma – PRP*) или мезенхималних матичних ћелија, предложена је за ублажавање инфламаторне дегенерације хрскавице код ОА и потенцијално ремоделовање зглоба. Помоћни лекови као што су инхибитори Cathepsin-a K, Wnt инхибитори, анаболички фактори раста, инхибитори фактора раста нерава, проучавају се као средство не само за смањење бола код ОА колена, већ и за потенцијално заустављање прогресије структурног оштећења. За пацијенте са узнатредовалим ОА колена код којих је конзервативни третман био неефикасан и који су кандидати, тотална замена зглоба је дефинитиван третман (122).

Recommendation	ACR		EULAR		AAOS		OARSI	
	Knee	Hip	Knee	Hip	Knee	Hip	Knee	Hip
Non-Pharmacological Treatments								
Weight Loss recommended for individuals who are overweight or obese	●	●	●	●	●		●	●
Self-Management/Education Programs which may include goal setting, skill building, education about exercise and medication	●	●	●	●	●		●	●
Physical exercise Can include aerobic exercise, strengthening, neuromuscular training, isometric exercises; a combination of these exercises is advised.	●	●	●	●	●		●	●
Balance Training	●	●					●	●
Yoga	●						●	●
Tai Chi	●	●					●	●
Cognitive Behavioral Therapy	●	●						●
Acupuncture	●	●			●		●	●
Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS)	●	●			●			
Pharmacological Treatments								
Oral NSAIDs	●	●		●	●	●	●	●
Topical NSAIDs	●				●	●	●	
Acetaminophen Provides only short-term relief	●	●			●		●	●
Tramadol	●	●			●			
Non-Tramadol Opioids	●	●					●	●
Duloxetine	●	●					●	●
Glucosamine or Chondroitin	●	●			●	●	●	
Hyaluronic Acid Injection	●	●			●	●	●	●
Glucocorticoid Steroid Injection	●	●			●	●	●	●
Growth Factor Injections and/or Platelet Rich Plasma	●	●			●			

LEGEND	
●	Strongly recommended
●	Conditionally recommended
●	Conditionally recommended against
●	Strongly recommended against
●	Inconclusive

Слика 6. Препоруке АСR, EULAR, AAOS и OARSI водича за третман ОА. (Преузето с <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8225295/bin/nihms-1705936-t0005.jpg>)

1.2. ВИТАМИН D

Витамин D је почетком 20. века окарактерисан као витамин иако он заправо није есенцијални дијететски суплемент. Данас је познато да је то стероидни хормон, који за разлику од других витамина, може да се синтетише у људском организму (123). Два најважнија биошка облика витамина D су: витамин D₂ (ergokalciferol) и D₃ (holekalciferol) (124). Витамин D₃ се ендогено синтетише у кожи и природно се налази у масној риби и уљу јетре бакалара. Витамин D₂ се синтетише из ергостерола и налази се у квасцу и печуркама (123). Витамин D₃ се уноси у организам путем хране или дијететских суплемената (око 20% витамина D₃ конзумирањем намирница животињског порекла, а највише рибљег уља) или се синтетише у кожи (80%) након излагања сунчевим зрацима (125). За синтезу витамина D₃ у кожи неопходно је излагање ултравиолетним Б зрацима (*енг. Ultraviolet B light – UVB*) на таласној дужини од 290-315 nm (126). 7-Dehidroholesterol (провитамин D₃) се претвара у облик превитамина D₃ (prekalciferol) након излагања UVB зрацима (127) који се затим под утицајем телесне температуре изомеризује у термички стабилнији облик витамина D₃ (128).

Витамин D, било добијен ендогеном синтезом након излагања коже сунцу, или унет преко хране и дијететских суплемената је биолошки неактиван (било витамин D₂ или D₃) и мора се подвргнути активацији кроз 2 узастопне реакције ензимске хидроксилације које се одигравају у јетри и бубрезима (129).

Када витамин D уђе у циркулацију, он се лабаво везује за витамин D везујући протеин, за транспорт у друге органе и складишти се у масном ткиву. Прво се у јетри метаболише помоћу 25-хидроксилазе (CYP2R1) у 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) или calcidiol. Овај метаболит витамина D представља главни циркулишући облик витамина D који одражава статус витамина D (126). Циркулишући 25(OH)D се затим конвертује у бубрезима, помоћу 25-hidroksivitamin D-1 α -hidroksilaze (CYP27B1), у активни облик, 1,25-dihidroksivitamin (1,25(OH)₂D) или калцитриол (130). Ова реакција се одиграва у митохондријама ћелија проксималних увијених тубула, и регулисана је нивима калцијума (Ca²⁺) и фосфата (P) у крви у уском опсегу, а преко паратиroidног хормона (PTH) и FGF-23 (131). 1,25(OH)₂D може деловати као супресор CYP27B1, иако је механизам није у потпуности разјашњен (132).

Недостатак Ca²⁺ и P у серуму као и повећан ниво PTH стимулишу хидроксилацију 25(OH)D₃ при чему настаје 1,25(OH)₂D₃. Насупрот томе, пад нивоа PTH стимулише ослобађање FGF-23 који инхибира реналну хидроксилацију 25(OH)D₃ и настанак 1,25(OH)₂D₃. Сам 1,25(OH)₂D₃ такође може деловати као супресор, уколико га има довољно, јер активира ензим 25-hidroksivitamin D-24-hidroksilaze (CYP24A1). 1,25(OH)₂D₃ инхибира бубрежну 1 α -hidroksilazu директно и индиректно супресијом експресије и производње PTH. CYP24A1 је одговоран не само за деградацију 1,25(OH)₂D₃, већ и за катаболизам његовог прекурсора, 1,25(OH)D₃, и доводи до стварања хидросолубилне карбоксилне киселине, неактивног метаболита који се из организма излучује путем жучи (133).

1.2.1. Механизам деловања витамина D

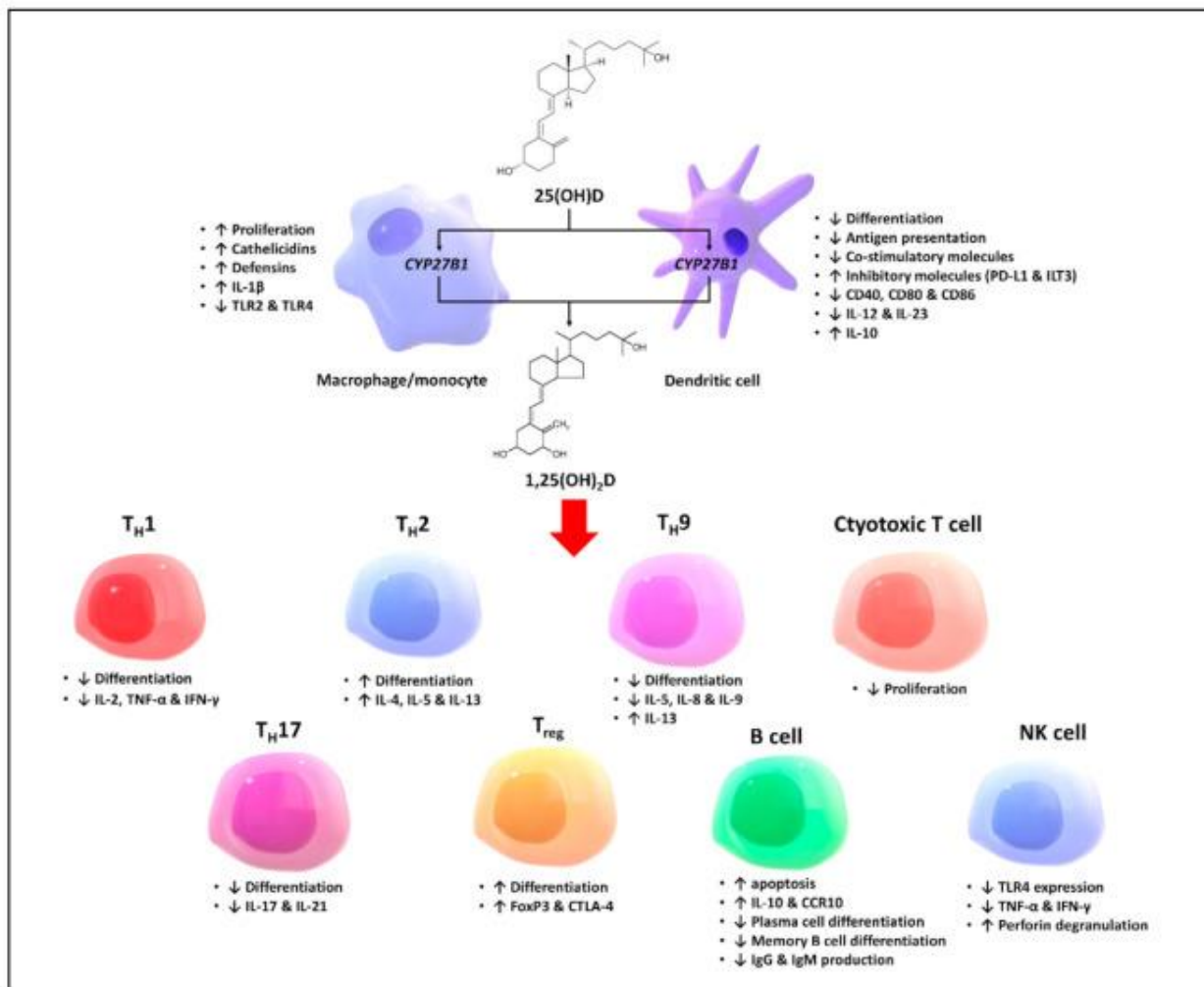
Након завршене хидроксилације, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ се везује за интрацелуларни нуклеарни рецептор витамина D (енг. *Vitamin D receptor* - VDR) да би извршио своје биолошке функције (130). Многе студије су показале да витамин D има вишеструке ефекте на биолошке процесе који регулишу метаболизам Ca^{2+} и P, као пролиферацију ћелија, диференцијацију, апоптозу, имунску регулацију, стабилност генома и неурогенезу. VDR рецептори делују као фактори транскрипције у циљним ћелијама након формирања хетеродимера са ретиноидним X рецептором. Овако димеризован комплекс, у промоторским регионима циљних гена или на удаљеним местима се везује за VDR елемент, где позитивно или негативно регулише њихову експресију (134). Утицајем на транскрипцију гена витамин D остварује своје геномске ефекте (135). Брзи тј. негеномски ефекти се стварају преко мембранских рецептора и огледају се у активацији различитих сигналних молекула и повећању пропустљивости ћелијске мембране за Ca^{2+} и хлор (Cl) (136).

1.2.2. Биолошке улоге витамина D

Биолошки ефекти витамина D подељени су у две категорије: прва, у метаболизму Ca^{2+} и P, разматра се класична активност; и друга, која подразумева улогу витамина D у пролиферацији и диференцијацији ћелија (137). Примарна улога витамина D је одржавање концентрације Ca^{2+} и P у физиолошком опсегу, који је неопходан за несметано одвијање метаболизма кости, тако што утиче на њихову апсорпцију у цревима, излучивање путем бубрега и на мобилизацију Ca^{2+} из кости (123). Када се серумски ниво Ca^{2+} смањи, стимулише се лучење PTH и активира се синтеза calcitriola. И PTH и calcitriol стимулишу реапсорпцију и мобилизацију Ca^{2+} у бубрезима и из кости. Насупрот томе, ако се нивои Ca^{2+} у серуму повећају, секреција PTH опада, што доводи до смањења calcitriola као и мобилизације Ca^{2+} . Ако нивои Ca^{2+} у серуму постану превисоки, парафоликуларне ћелије штитасте жлезде луче calcitonin, који блокира мобилизацију Ca^{2+} из кости и стимулишу излучивање Ca^{2+} и P (138). Calcitriol делује директно на 3 циљна ткива (танко црево, бубреге и кости) ради одржавања оптималног нивоа Ca^{2+} у серуму. Calcitriol регулише минерализацију кости тако што везивањем за VDR у цревима повећава ресорпцију Ca^{2+} и P, а у бубрезима повећава реапсорпцију Ca^{2+} у дисталним тубулима, а инхибира реапсорпцију P. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ такође има директне ефекте на кост стимулишући рецепторске активаторе NF- κB зависне ресорпције кости и изазива експресију остеокалцина, главног неколагеног протеина у скелету (139). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ директно инхибира производњу PTH, што доводи до смањене ресорпције костију и индукује производњу FGF-23 у остеоцитима, што доводи до повећаног излучивања фосфата у урину (131). Calcitriol регулише ремоделовање и раст кости, активирањем диференцијације хондроцита и повећањем нивоа Ca^{2+} и P у серуму. Као последица недостатка витамина D настаје неадекватна минерализација скелета (140).

Први доказ улоге витамина D ван скелетног система представља присуство VDR у већини других ткива укључујући кожу, масно ткиво, скелетне мишиће, ендокрини панкреас, имунске ћелије, ћелије јајника, крвне судове и мозак (141). Витамин D регулише пролиферацију и диференцијацију ћелија и има значајни улогу у антиинфламаторном одговору и имунској регулацији. Опсервационе студије сугеришу да високе концентрације витамина D у серуму имају протективну улогу у

кардиоваскуларним болестима, дијабетес мелитусу и колоректалном карциному (142). Докази о ванскелетним ефектима $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ укључују антимикуробну заштиту, имунорегулацију, антиинфламаторна и антиканцерогена дејства, смањење оксидационог стреса, ксенобиотичку детоксикацију, неуропротективне улоге и кардиоваскуларни заштитни ефекат (143).



Слика 7. Ефекти витамина Д на ћелије урођеног и стеченог имунитета (Преузето с <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8508879/bin/ijms-22-10659-g003.jpg>)

1.2.3. Витамин D и инфламација

Активирани макрофаги и моноцити, изазвани излагањем инфламаторном цитокини као што је интерферон-гама (енг. *Interferon-gamma* – IF-γ) и сигнализација TLR (енг. *Toll-like receptors*), експримирају CYP27B1 који претвара 25(OH)D у $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ који делује аутокринно и паракринно у регулацији урођеног и стеченог имунског система (144). Показало се да $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ стимулише пролиферација макрофага и производњу IL-1β као и ендогеног антимикуробног пептида, као што су кателицидини и дефензини (145). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ регулише функцију и диференцијацију антиген презентујућих ћелија (енг. *Antigen-presenting cells* - APC) смањењем презентације антигена и повећањем

експресије инхибиторних молекула на површини ћелије, и на тај начин инхибира сазревање ћелија са очувањем незрелог фенотипа (146). Ову улогу остварује смањењем експресије главног хистокompatибилног комплекса класе II (*енг. Major histocompatibility complex type II*- МНС II) и костимулаторних молекула као што су кластери диференцијације (*енг. Cluster of differentiation* - CD), CD40, CD80 и CD86, потребни за активацију дендритских и других APC, инхибирајући производњу IL-12 и IL-23 и стимулишући продукцију антиинфламаторног цитокина као што је IL-10 (147). Поред тога, 1,25(OH)₂D снижава експресију TLR на моноцитима и инхибира пропродукцију IL-2, IL-6 и IL-17 (148).

1.2.4. Витамин D и имунски систем

Познато је да 1,25(OH)₂D модулише адаптивни имунски систем активирањем VDR експримираног од стране APC и активираних Т и Б лимфоцита, што, генерално, резултира у преласку имунског статуса из проинфламаторног у неактивно стање. 1,25(OH)₂D инхибира пролиферацију Т лимфоцита и регулише производњу цитокина са различитим ефектима на диференцијацију појединих подгрупа Т лимфоцита. Промовише прелазак имунског одговора са Т помоћничких тип 1 (*енг. T helper cells* - Th1), Th9 и Th17 ћелија на Т помоћнички тип 2 (Th2) имунски одговор и олакшава диференцијацију регулаторних Т ћелија (*енг. Regulatory T cells* - Treg) (149). Укупан ефекат је прелазак са више инфламаторног Th1/Th17 одговора на мање инфламаторни профил Th2/Treg (150). Иако се мало зна о директном утицају 1,25(OH)₂D на цитотоксичне лимфоците, верује се да 1,25(OH)₂D може супримирати пролиферацију цитотоксичних лимфоцита на основу запажања да суплементација високих доза витамин D3 је повезана са повећањем односа CD4/CD8 (151).

1,25(OH)₂D, поред утицаја на Т лимфоците преко вишеструких механизма инхибира пролиферацију и диференцијацију Б ћелија, као и секрецију имуноглобулина од стране Б лимфоцита када су у хиперактивном стању. Индукује апоптозу активираних Б ћелија и плазма ћелија, чиме инхибира формирање плазма ћелија (152). Calcitriol директно промовише пропродукцију антиинфламаторних цитокина као што су IL-10 и CCR10 (*енг. C-C Motif Chemokine Receptor 10*) и инхибира диференцијацију зрелих Б ћелија у меморијске Б ћелије и плазма ћелија (153,154), и због таквог ефекта верује се да, инхибицијом производње антитела, 1,25(OH)₂D може имати користи у смањењу ризика и тежине аутоимуних поремећаја посредованих аутоантителима, као што је као системски еритемски лупус и дијабетес мелитус типа 1 (155, 156).

1.2.5. Вредности витамина D у серуму

Граничне вредности за дефицијенцију (недостатак) и инсуфицијенцију (недовољност) нису засноване на дистрибуцији резултата у здравој популацији, већ на вредностима РТН које су инверзно повезане са циркулишућим 25(OH)D₃ све док се ниво 25(OH)D₃ креће у распону 30-40 ng/ml (75-100 nmol/L). При тим вредностима 25(OH)D₃, концентрација РТН у крви је најнижа, а апсорпција Ca²⁺ максимална због чега многи експерти сматрају да су то оптималне вредности витамина D у крви (125, 157). Кад ниво 25(OH)D₃ падне испод 20 ng/ml (50 nmol/L), вредности РТН су повећане (секундарни хиперпаратироидизам), интенстинална апсорпција Ca²⁺ је смањена, а коштани

метаболизам је поремећен. Према препорукама од стране Америчког Ендокринолошког друштва (*енг. Endocrine Society - ES*) оптимална вредност витамина D за одрасле је између 30 и 60 ng/ml. Смернице у клиничкој пракси дефинишу ниво витамина D <30 ng/ml, као неадекватан. Прецизније, вредности витамина D између 29 и 21 ng/ml су дефинисане као инсуфицијентне, вредности <20 ng/ml, као дефицијентне и вредности <10 ng/ml као озбиљано дефицијентне (150).

Процењује се да око милијарду људи у свету има дефицијенцију или инсуфицијенцију витамина D (125). У Европи око 40 % популације има ниво 25(OH)D₃ нижи од 20 ng/ml (50 pmol/L) (158). Поред тога што је проблем дефицијенције и/или инсуфицијенције витамином D просторно распрострањен, такође је заступљен у готово свим старосним групама (159).

1.2.6. Витамин D и бол

Недостатак витамина D је повезан са болом код мишићно-скелетних болести укључујући ОА (160). Вишеструки механизми објашњавају утицај витамина D на бол. Calcitriol као неуроактивни стероид модулише неуронску екситабилност и неуротрансмитере у мозгу и на тај начин активира различите сигналне путеве. Витамин D утиче на активност простагландина инхибирањем COX-2 експресије и стимулисањем експресије 15-простагландин дехидрогеназе (*енг. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase - 15-PGDH*) који разграђују простагландине. Поред тога, calcitriol инхибира синтезу iNOS-а, ензима који је одговоран за производњу NO, у макрофагима које активира микроглија и у астроцитима. NO је значајан неуротрансмитер који учествује у ноцицептивном процесу. Познато је да витамин D делује на бројне инфламаторне путеве који су повезани са развојем и присуством хроничног бола. Витамин D позитивно регулише трансформишући фактор раста бета-1 (*енг. Transforming growth factor beta-1 - TGF-1β*) и IL-4 који су нађени у астроцитима и микроглији. TGF-1β супримира активност IF-γ, TNF-α, и разне T ћелије као што су IL-1 и IL-2. Може нисходно да регулише активност имунских ћелија путем супресије рецептора цитокина (као што је рецептор за IL-2). Витамин D супримира TNF-α и фактор стимулације колонија макрофаг (*енг. Macrophage Colony-Stimulating Factor - M-CSF*) у астроцитима и микроглији. Такође, витамин D нисходно регулише функцију неутрофила и инхибира Th лимфоците. Делује на имунске ћелије као што су астроцити, макрофаги и фагоцити (моноцити и неутрофили). Витамин D делује као модулатор имунског система преко синтезе или ослобађања рилизинг хормона за хормон раста, простагландина D₂, аденозина и NO. Поред тога модулише имунски одговор деловањем на проинфламаторне медијаторе попут цитокина и хемокина, посебно IL-1β и TNF-α, а укључујући NF-κB, и IL-2, IL-6 и CRP-а. Calcitriol инхибира продукцију IL-2, IL-17 и IL-21, а стимулише продукцију IL-4 и IL-10 преко T ћелијског одговора (161). Витамин D има важну улогу у регулацији концентрације Ca²⁺ у серуму и у синтези мишићних протеина. Поред тога, повећава ниво Ca²⁺ у серуму који је неопходан за контракцију мишића, а синтеза протеина утиче на раст мишића (162). VDR су експримирани у мишићном ткиву. Преко директног утицаја на мишићно ткиво витамин D побољшава мишићно-скелетну функцију (163). Недостатак витамина D првенствено погађа бржа и јача мишићна влакна тип 2. Ово може објаснити зашто суплементација витамином D побољшава снагу проксималних мишића (164).

1.2.7. Витамин D и остеоартритис колена

Витамин D делује на многе структуре зглоба, укључујући хрскавицу, субхондралну кост и периартикуларне мишиће, који имају важне улоге у развоју и прогресији ОА колена (165). ОА је често удружен са недостатком витамина D углавном код старијих људи. Доказано је да се способност људске коже да производи витамин D смањује у старости (166). Недостатак или дефицијенција витамина D дефинисана углавном као серумска концентрација $25(\text{OH})_2\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$, веома је распрострањена широм света, са стопом преваленције око 40% у Европи (128). Улога недостатка витамина D у патогенези ОА је контроверзна. Смањена серумска концентрација витамина D је предиктор за инциденцу ОА колена (167). Епидемиолошке студије показале су да је ниска серумска концентрација 25-hidroksivitamina D повезана са већом преваленцом радиографски потврђеног ОА колена, високим ризиком од прогресије и са јачим болом у колону (168). Проспективна кохортна студија на 1248 пацијената са ОА колена коју су спровели Bergink и сарадници (169) показала је да смањен прехранбени унос витамина D повећава ризик од прогресије ОА колена. Побољшање статуса витамина D код старијих особа могло би да има протективну улогу у развоју и погоршању ОА колена, посебно код особа са остеопорозом.

Резултати рандомизованих контролираних студија о суплементацији витамина D код пацијената са ОА колена су контрадикторни (170). Мета-анализа којом је обухваћено 15 студија показала је јаку повезаност између $25(\text{OH})\text{D}_3$ и губитка хрскавице у зглобу колена. Такође, Сао и сарадници (171) су приметили да постоје умерено јаки докази који подржавају позитивну повезаност смањених вредности витамина D и радиографског степена ОА колена. Насупрот овим резултатима, Felson и сарадници (172) су у две лонгитудиналне студије открили да не постоји повезаност између смањеног нивоа витамина D и структурног погоршања у ОА (сужење зглобног простора мерено радиографијом и губитак хрскавице детектован магнетном резонанцом - МРИ). У VIDEO студији, пацијенти са инсуфицијенцијом витамина D и ОА колена су рандомизирани да примају или витамин D_3 или плацебо. Суплементација витамином D_3 није успорила прогресију сужавања зглобног простора нити је утицала на WOMAC скор (173). Међутим, после две године, ефузијски синовитис (верификован помоћу МРИ) остао је стабилан у групи која је била на суплементацији витамином D, али се повећао у групи која је примала плацебо (174). Испитаници са нормалним вредностима 25-hidroksivitamina D такође су имали мањи губитак тибјалне хрскавице, мање повећање ефузијског синовитиса и мање смањење функције у поређењу са испитаницима са константно недовољним вредностима (175).

Бол је главни симптом ОА, посебно у колону. Сматра се да је бол узрокован различитим факторима укључујући запаљење синовијалне мембране и раст ноцицептивних нерава кроз субхондралну кост у зглобну хрскавицу (176). Студије су показале неконзистентне резултате о вези витамина D са болом код ОА. У двогодишњој студији у којој су пацијенти са симптоматском ОА колена орално супституисани различитим дозама *holekalciferola* или примали плацебо, није регистровано смањење у WOMAC скали за бол нити је смањено пропадање хрскавице (177). Поред тога, у кохортној студији Хертфордшира у којој је учествовало 787 испитаника у Уједињеном Краљевству, унакрсна анализа није пронашла повезаност између вредности витамина D и радиографског степена ОА колена, али је показана значајна повезаност између витамина D и бола у колону (178). Међутим, лонгитудинална студија која је обухватила 769 испитаника открила је да умерен недостатак витамина D (серум $25(\text{OH})\text{D}_3 = 25 \text{ pmol/L}$) фактор предикције резултата WOMAC скале за бол у колону током 5 година

(179). Двоструко слепа, плацебо контролисана пилот студија показала је да група пацијената са ОА колена која је примала витамин D током једне године, имала је нешто ниже резултате на WOMAC скали за бол и функцију у односу на контролну групу која је примала плацебо (180). Недостатак витамина D доводи до погоршања бола, поремећаја функције и лошијег квалитет живота код пацијената са ОА колена (181). Смањена серумска концентрација витамина D је фактор ризика за развој и погоршање бола у колону, као и предиктор за инциденцу ОА колена. Доказано је да нормализација вредности витамина D код дефицијенције смањује бол у колону код пацијената са ОА колена. Поред тога, повећање серумских концентрација CRP, TNF и IL-6 је праћено погоршањем бола у ОА колена (182).

Мишићна слабост квадрицепса је чест и рани симптом ОА колена који се јавља чак пре радиографског испољавања ОА колена и бола у колону. Недостатак витамина D је повезан са слабошћу квадрицепса код испитаника са ОА колена у поређењу са здравим контролама (183). Вредности витамина D у серуму су у обрнутој корелацији са снагом и функцијом мишића доњих екстремитета, а смањена концентрација витамина D у серуму је детерминанта мишићне снаге квадрицепса. Дакле, суплементација витамином D може да смањи бол у колону јачањем мишићне снаге квадрицепса код пацијената са дефицијенцијом витамина D и ОА колена (184, 185).

Серумски Ц-реактивни протеин (*енг. C-reactive protein - CRP*) је повишен код ОА колена. Поред тога, серумски CRP и IL-6 су предиктивни фактори за губитак хрскавице и настанак ОА колена. Пораст проинфламаторних цитокина у серуму је повезан са мишићном слабошћу и поремећајем функције код старијих особа, затим са развојем ОА колена, као и са мишићном слабошћу код пацијената са ОА колена (186). Обзиром да је инсуфицијенција и дефицијенција витамина D широко распрострањена, а снижена концентрација витамина D може значајно да допринесе прогресији и степену тежине болног ОА колена, може да се закључи да суплементација витамином D је умерено једноставна и релативно јефтина терапија за пацијенте са ОА колена. Упркос двосмислености, витамин D је атрактивна терапијска алтернатива јер модулише механичке (тј. мишићну слабост квадрицепса) и биохемијске (тј. инфламаторне цитокине) факторе који допринесе патогенези ОА колена (150).

2. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

А. Главни циљ

Испитати утицај суплементације 4000 i.j. витамина D након три месеца на имунопатогенезу, оксидациони стрес и клиничке манифестације код болесника са примарним ОА колена.

У складу са основним циљем истраживања дефинисани су следећи задаци:

1. Испитати утицај суплементације витамина D на имунопатогенезу и параметре оксидационог стреса код примарног ОА колена.
2. Испитати утицај суплементације витамина D на клиничке манифестације примарног ОА колена.
3. Испитати цитокински профил код болесника са примарним ОА колена пре и након суплементације витамина D и упоредити га са клиничким манифестацијама.
4. Испитати параметре оксидационог стреса код болесника са примарним ОА колена пре и након суплементације витамина D и упоредити их са клиничким манифестацијама.
5. Утврдити повезаност серумских вредности 25-hidroksivitamina D3 и активности инфламације, оксидационог стреса и клиничких манифестација код болесника са примарним ОА колена.
6. Испитати утицај суплементације витамина D на употребу нестероидних антиинфламаторних лекова и аналгетика код ОА колена.

Б. Радне хипотезе

Примарна хипотеза:

1. Суплементација 4000 i.j. витамина D након три месеца мења инфламаторни одговор и оксидациони стрес деловањем на компоненте урођене имуности као и на параметре оксидационог стреса, и на тај начин модификује ток и исход лечења примарног ОА колена.

Секундарне хипотезе:

1. Постоји повезаност серумских вредности 25-hidroksivitamina D3 и активности инфламације, оксидационог стреса као и клиничких манифестација код болесника са примарним ОА колена.
2. Суплементација 4000 i.j. витамина D након три месеца смањује потребу за коришћењем нестероидних антиинфламаторних лекова и аналгетика код примарног ОА колена.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Истраживање је реализовано на Клиници за ортопедију и трауматологију, Универзитетског клиничког центра Крагујевац, у Служби за лабораторијску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац, на Институту за кардиоваскуларну физиологију, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу и у Центру за молекулску медицину и истраживања матичних ћелија, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Истраживање је спроведено уз одобрење Етичког комитета Универзитетског клиничког центра Крагујевац (решење број 01/17-4317 од 23.10.2017. године).

3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Студија је дизајнирана као проспективна, рандомизирана клиничка студија у којој је испитиван утицај суплементације 4000 i.j./dan витамина D током три месеца код болесника са примарним ОА колена.

3.2. ПОПУЛАЦИЈА ИСПИТАНИКА УКЉУЧЕНИХ У ИСТРАЖИВАЊЕ

У истраживање је укључено 120 болесника са примарним ОА колена. који су испуњавали све укључујуће критеријуме и нису имали ни један искључујући. Пре укључивања у истраживање, од свих испитаника је обезбеђен информисани писани пристанак уз пуну обавештеност.

3.3. БРОЈ ИСПИТАНИКА КОЈИ СУ ОСТАЛИ У ИСТРАЖИВАЊУ

У истраживање је укључено укупно 120 болесника, а завршило је 80 болесника. У све четири групе укључено је 30 испитаника. На контролу (3. месец истраживања), 6 болесника није дошло из личних разлога, с обзиром да је истраживање реализовано у време епидемије COVID 19 и 1 болесник није дошао из непознатих разлога. Укупно 23 болесника је завршило истраживање из експерименталне групе са нормалним вредностима витамина D. Из експерименталне групе са инсуфицијенцијом витамина D, 4 болесника се нису јавила на контролу из личних разлога и 2 болесника су одустала због финансијске немогућности набавке лека. Укупно 24 болесника из ове групе завршило је истраживање. На контролу из експерименталне групе са дефицијенцијом витамина D, 9 болесника није дошло из личних разлога и 3 болесника због незадовољства лечењем. Из ове групе је искључено 4 болесника због непоштовања протокола (узимање витамина D у мањој дози од испитиване) И код једног болесника WOMAC упитник је био некомплетан и нечитко попуњен, па подаци нису ушли у обраду. Из експерименталне групе са дефицијенцијом витамина D у истраживању је остало 13 болесника. У контролну групу је укључено 30 болесника. Из ове групе 6 болесника нису се јавила на контролу из личних разлога а због актуелне COVID 19 епидемије, 2 болесника из непознатог разлога и 1 болесник услед смртног исхода као

последнице акутног можданог удара није завршио истраживање. Укупно 20 болесника из контролне групе остало је у студији.

3.4. УЗОРКОВАЊЕ

Укључујући критеријуми за експерименталну групу:

1. Мушкарци и жене
2. Старост од 45 до 65 година
3. Жене у постменопаузи (од последње менструације је прошло најмање 2 године)
4. Примарни ОА колена дијагностикован на основу клиничких критеријума *American College of Reumatology* (ARA)
5. *Kellgren and Lawrence* (K-L) радиографски ОА II и III степена (благ до умерен радиографски ОА)
6. Перзистентан бол у зглобу колена ($VAS \geq 40mm$), током последњих месец дана и дуже
7. Потписан информисани пристанак за учешће у студији

Искључујући критеријуми за експерименталну групу:

1. Тежак остеоартритис колена према K-L класификацији (IV степен)
2. Секундарни остеоартритис, септички остеоартритис, секундарна реуматоидна или системска болест која захвата зглоб колена
3. Активан остеоартритис са интраартикуларном ефузијом
4. Присуство ендопротезе колена
5. Повреда зглоба колена током последња 3 месеца
6. Интраартикуларна апликација кортикостероида или артроскопија зглоба колена током последњих 6 месеци
7. Преосетљивост на витамин D
8. Стања и болести које могу да ометају апсорпцији витамина D (синдром малапсорпције, гастритис, спру, колитис, гастректомија)
9. Болести које носе ризик од хиперкалцијемije као што су примарни хиперпаратиреоидизам, саркоидоза, лимфом, туберкулоза
10. Употреба суплемената који садрже витамин D > 2000 i.j., глукозамин сулфат или хондроитин сулфат током последња 3 месеца
11. Употреба антикоагуланата, паратиреоидног хормона, кортикостероида, тиазидних диуретика, антиконвулзива
12. Употреба лекова који могу утицати на коштани метаболизам (бисфосфонати, хормонска супституциона терапија, калцитонин, модулатори естрогенских рецептора) током последње 2 године
13. Примена физикалне терапије током последња 2 месеца
14. Клиренс креатинина мањи од 30 ml/min (тешка бубрежна инсуфицијенција)
15. Тешка срчана инсуфицијенција (NYHA класификација 4 степен)
16. Малигнитет
17. Акутна респираторна инфекција потврђена на основу клиничких и лабораторијских налаза

Укључујући критеријуми за контролну групу:

1. Мушкарци и жене
2. Старост од 45 до 65 година
3. Жене у постменопаузи (од последње менструације је прошло најмање 2 године)
4. Примарни остеоартритис колена дијагностикован на основу клиничких АРА критеријума
5. К-Л радиографски ОА II и III степена (благ до умерен радиографски ОА)
6. Перзистентан бол у зглобу колена ($VAS \geq 40mm$), током последњих месец дана и дуже
7. Потписан информисани пристанак за учешће у студији

Искључујући критеријуми за контролну групу:

1. Остеоартритис (тежак или секундарни)
2. Повреда зглоба колена током последња 3 месеца
3. Преосетљивост на витамин D
4. Стања и болести које могу да ометају апсорпцији витамина D (синдром малапсорпције, гастритис, спру, колитис, гастректомија)
5. Болести које носе ризик од хиперкалцијемije примарни хиперпаратиреоидизам, саркоидоза, лимфом, туберкулоза
6. Употреба суплемената који садрже витамин D током последња 3 месеца
7. Употреба антикоагуланата, паратиреоидног хормона, кортикостероида, тиазидних диуретика, антиконвулзива
8. Употреба лекова који могу утицати на коштани метаболизам (бисфосфонати, хормонска супституциона терапија, калцитонин, модулатори естрогенских рецептора) током последње 2 године
9. Клиренс креатинина мањи од 30 ml/min
10. Тешка срчана инсуфицијенција (NYHA класификација 4 степен)
11. Малигнитет
12. Акутна респираторна инфекција потврђена на основу клиничких и
13. лабораторијских налаза

Испитаници који су испуњавали критеријуме за учешће у истраживању су насумично распоређени на основу компјутерски генерисане листе случајних бројева, у једну од две групе, било у експерименталну групу са суплементацијом витамина D или контролну групу без суплементације. Касније је експериментална група на основу измерених серумских концентрација витамина D подељена, па су испитаници разврстани на четири групе:

1. Прву, експерименталну групу испитаника сачињавало је 30 болесника са примарним ОА колена којима је измерена серумска концентрација $25(OH)D_3$ мања од 20ng/ml.
2. Другу, експерименталну групу испитаника сачињавало је 30 болесника са примарним ОА колена којима је измерена серумска концентрација $25(OH)D_3$ од 21 до 29ng/ml.
3. Трећу, експерименталну групу испитаника сачињавало је 30 болесника са примарним ОА колена којима је измерена серумска концентрација $25(OH)D_3$ већа од 30ng/ml.
4. Четврту, контролну групу испитаника сачињавало је 30 болесника са примарним ОА колена

3.5. ПРОТОКОЛ ИСТРАЖИВАЊА

Испитаници су регрутовани из укупне популације са примарним ОА колена који су се лечили у амбуланти Клинике за ортопедију и трауматологију, Универзитетског клиничког центра Крагујевац. Испитаници су укључени у истраживање непосредно након прегледа у амбуланти Клинике за ортопедију и трауматологију, Клиничког центра Крагујевац, уколико испуњавају укључујуће и немају ни један искључујући критеријум. Сви испитаници су информисани о циљевима истраживања и дали су писану сагласност да се подаци о њиховом лечењу укључе у истраживање. Писани информисани пристанак је обезбедио лечећи ортопед који је истовремено и коистраживач.

По обезбеђеном писаном пристанку, прикупљени су анамнестички подаци током индивидуалног разговора са болесником. Лекар у амбуланти је обавио клинички преглед који обухвата следећа мерења: мерење обима колена, мерење обима покрета у зглобу колена и мерење снаге мишића квадрицепса на основу мануелног мишићног теста (ММТ). Потом су спроведена антропометријска мерења и функционално тестирање. Клинички преглед, антропометријска мерења као и функционално тестирање предвиђеним скалама је обављено два пута, на почетку и на крају истраживања. Радиографски снимак оба колена урађен је на почетку истраживања. Студијске процедуре укључивале су узимање узорака крви и одређивање биохемијских параметара, затим параметара имунопатогенезе и оксидационог стреса код примарног ОА колена. Поступак прикупљања узорака поновљен је и после три месеца, односно на крају истраживања.

Третман код испитаника у експерименталним групама започет је нултог дана и трајао је три месеца континуирано, применом осам капи оралног раствора Holecalfiferola, што одговара 4000 i.j. витамина D (Vigantol® препарат, 20000 i.j./ml, оралне капи, раствор; INN: Holecalfiferol; Merck KGaA, Darmstadt, Germany), који се примењивао једном дневно у кућним условима. Испитаници који су испуњавали критеријуме за контролну групу у овој студији нису користили витамин D, али су такође, дошли на контролни преглед у заказаном термину после три месеца.

Свим болесницима са примарним ОА колена саветовано је да код појаве бола прво да растерете зглоб (одмор најмање 2 сата). Уколико не дође до смањења бола (подношљив бол) сваком болеснику током трајања истраживања дат је савет да за купирање болова користи таблете Acetaminophen-a у дози од 500 mg са максималном дневном дозом од 3g, или стандардну терапију нестероидним антиинфламаторним лековима (NSAID) Ibuprofen у дози 400 mg, једна таблета три пута дневно или Diklofenak-natrijum од 75 mg, две капсуле дневно. Како би се пратила доследност у узимању витамина D сви болесници су обучени да свакодневно воде дневник о евиденцији узимања витамина D. Такође, болесницима је обезбеђен и дневник о евиденцији узимања аналгетика и NSAID-a у који су свакодневно уписивали податке који се односе на врсту лека и дужину примене одговарајућег лека изражену бројем дана. Испитаници су обавештени да на контролни преглед, на крају истраживања донесу наведене дневнике.

3.5.1. Варијабле које су мерене у истраживању

У овом истраживању праћени су следећи параметри:

- ✓ Полна и старосна структура испитаника
- ✓ Дужина трајања тегоба (месеци)
- ✓ Обим колена
- ✓ Обим покрета у зглобу колена
- ✓ Мишићна снага мишића квадрицепса према ММТ-у
- ✓ Нумеричка вредност ВМІ-а
- ✓ WOMAC упитник
- ✓ VAS скор
- ✓ K-L скор
- ✓ Параметри крвне слике (број леукоцита - Le)
- ✓ Биохемијски параметри:
 - концентрација 25(OH)D₃
 - Калцијум (Ca²⁺)
 - Седиментација еритроцита (SE)
 - Ц-реактивни протеин (CRP)
- ✓ Маркери инфламације
 - Проинфламаторни цитокини (IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-23, IL-33, Gal-3)
 - Антиинфламаторни цитокини (IL-4, IL-13)
- ✓ Маркери оксидационог стреса
 - прооксиданси: индекс липидне пероксидације (TBARS), азот диоксид (NO₂), супероксидни ањон (O₂⁻), водоник пероксид (H₂O₂)
 - антиоксиданси: супероксид дизмутаза (SOD), каталаза (CAT) и редуковани глутатион (GSH)

За евалуацију ефекта суплементације 4000 i.j./dan витамина D након три месеца код свих испитаника који испуњавају критеријуме за учешће у студији, спроведени су следећи прегледи и мерења:

1. Анамнестички подаци

Током индивидуалног разговора са испитаником на почетку студије.

2. Физикални преглед

Мерење обима колена. Мерење је вршено уз помоћ центиметарске траке, преко средине чашице (лат. Patellae) при чему је болесник заузимао лежећи супинирани положај са опруженим зглобом колена.

Мерење обима покрета колена. Мерење је спроведено уз помоћ гравитационог угломера, при чему је мерен обим покрета у правцу максималне флексије и екстензије колена. Обим флексије/екстензије мерен је у степенима.

Мерење снаге мишића квадрицепса (musculus quadriceps femoris). Мерење је спроведено на основу – мануелног мишићног теста (ММТ) према општим принципима мерења. Оцене по ММТ-у за мишић квадрицепс су: 3 - пун обим покрета колена уз савлађивање земљине теже; 4 - пун обим покрета уз изванотпор; 5 - пун обим покрета уз максималан отпор.

Физикални преглед испитаника спроведен је на почетку и на крају истраживања.

3. Антропометријска мерења

Подразумевала су мерење телесне тежине (kg) и телесне висине (cm). Телесна тежина је мерена на стојећој ваги, телесна висина на антро, а током мерења испитаници су били лагано обучени и без обуће. Ове мере узимане су ради израчунавања вредности индекса телесне масе ($BMI=kg/m^2$).

4. Одређивање клиничког скорa

За процену интензитета клиничких манифестација болести и праћење клиничке ефикасности суплементације витамина D коришћени су болест специфични, валидирани упитници и скале: WOMAC упитник (*енг. Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index*) и Визуелно аналогна скала (*енг. Visual analogue scale -VAS*). Тестирање предвиђеним скалама је обављено два пута, на почетку и на крају истраживања.

VAS скала која представља 100mm дугу хоризонталну линију са јасно дефинисаним границама од „нема бола“ до „најгорег могућег бола“. Интензитет бола мери се у милиметрима почев од нуле до места које је пацијент обележио, и означава интензитет бола у тренутку попуњавања упитника.

WOMAC упитник састоји се из три дела:

I део упитника обухвата питања у вези са интензитетом бола у колену (5 питања, скор од 0 до 20), при ходу по равној подлози; при пењању и силажењу низ степенице; током ноћи; при мењању положаја (седење или лежање) и при стајању.

II део упитника обухвата питања која се односе на укоченост зглоба (2 питања, скор од 0 до 8). Питања се односе на податаке о укочености зглоба у јутарњим часовима и у току дана.

III део упитника подразумева питања која се односе на функционални статус болесника, односно потешкоће током обављања активности дневног живота (АДЖ) (17 питања, скор од 0 до 68). Питања се односе на податаке о потешкоћама при пењању и силажењу уз и низ степенице; при устајању из седећег положаја; при уласку у кревет; при стајању, сагињању, седењу, одмору; могућности обављања лакших и тежих кућних послова; потешкоћама при уласку или изласку из аутомобила или аутобуса; при уласку у каду; при коришћењу тоалета; при куповини; при обувању или изувању чарапа.

WOMAC упитник је попуњавао испитаник (обележавањем са "X") одабиром неког од понуђених одговора: 0-ни мало; 1- благо; 2- умерено; 3- озбиљно; 4- јако. Питања су се односила на стање болесника током последњих 48 сати. Сваки део се сабира појединачно, где виши скор указује на лошије здравље и лошију физичку функцију.

5. Радиографија оба колена (антеро-постериорни правац)

Урађена је према важећем протоколу. На основу радиографског налаза колена, одређен је степен анатомских промена зглоба помоћу K-L класификације. Категоризација болесника је извршена на почетку истраживања. Постоје четири степена анатомског оштећења зглоба код традиционалне (класичне) K-L класификације:

I степен - почетни остеофити на коштаном еминенцијама; означава постојање сумње на OA колена.

II степен - умерено сужење зглобног простора, почетна субхондрална склероза; означава благу форму OA.

III степен - сужење зглобног простора које је веће од 50%, округли феморални кондили, узнапредовала субхондрална склероза, узнапредовали остеофити; означава умерени облик ОА.

IV степен - деструкција зглоба, значајно сужење зглобног простора, субхондралне цисте тибјалних и феморалних кондила, сублуксација зглоба; означава тежак облик ОА.

6. Мерење биохемијских параметара

За одређивање концентрације $25(\text{OH})\text{D}_3$, Ca^{2+} , SE, Le и CRP-а свим испитаницима венепункцијом кубиталне вене узето је 15ml крви на почетку истраживања и поново након три месеца. Након узорковања и обележавања узорака, епрувете су однете у Службу за лабораторијску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац. Потом се крв центрифугирала, а одвојени серум се користио за непосредно одређивање биохемијских параметара. Узорке крви је узимао квалификовани медицински техничар уз поштовање важећих стандарда за биохемијске анализе, а даљи поступак са узорцима спроведен је од стране специјалисте медицинске биохемије.

7. Мерење цитокина

Концентрације цитокина у серуму (IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-23, IL-33, Gal-3, IL-4, IL-13) мерене су комерцијалним високоосетљивим сетовим за ензимски имуносорбентни тест (енг. *Enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA) према утврђеном протоколу произвођача (*R&D Systems, Minneapolis, MN, USA*) на почетку и по завршетку истраживања. Од болесника су узимани узорци крви из периферне вене, у запремини од 5ml, према важећим стандардима за биохемијске анализе. Након узорковања у EDTA епруветама и обележавања узорака, крв је центрифугирана на 4°C у року од 30 мин (10 min. на 2000g), а издвојени серум је замрзнут на -20°C до извођења анализе. Резултати су изражени као пикограми по милилитру серума пацијента (pg/ml). Наведена испитивања су спроведена у лабораторијама Центра за молекулску медицину и истраживања матичних ћелија, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

8. Мерење параметара оксидационог стреса

На почетку студијског периода, након укључивања у студију, и после тромесечне суплементације витамином D, узимани су узорци венске крви испитаника за одређивање параметара оксидационог стреса и ензима антиоксидативне заштите организма. Прооксидациони параметри (TBARS, NO, O $_2^-$ и H $_2$ O $_2$) и параметри антиоксидационе заштите (SOD, CAT и GSH) су мерени спектрофотометријском методом из плазме и еритроцита. За узорковање крви коришћен је вакутајнер са цитратним пуфером волумена 5ml (3,2% натријум-цитрат; 109 mmol/L). Након узимања, крв се центрифугирала на 3000 обртаја (rpm) 10 минута и издвајала се плазма а затим се спроводило испирање еритроцита на следећи начин. У односу 1:3 додаје се хладан физиолошки раствор и центрифугира на 3000 rpm 10 минута. Наведени поступак се понавља 3 пута. Након трећег пута, одстрани се супернатант, издвоји се 1ml еритроцита и дода 3ml хладне дестиловане воде. Тако одвојена плазма и еритроцити чувају се на температури од -20°C до почетка извођења експеримената. Сви поменути параметри оксидационог стреса мерени су на почетку истраживања и након три месеца. У узорцима плазме одређивани су следећи параметри: TBARS, H $_2$ O $_2$, NO $_2^-$ и O $_2^-$. У узорцима хемолизата, одређивана је активност ензима антиоксидативне заштите: CAT, GSH и SOD. Све методе одређивања биомаркера оксидационог стреса спроведене су на апарату *Shimadzu UV-1800UV-VIS spectrophotometer, Japan* у лабораторијама Института за

кардиоваскуларну физиологију, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

3.6. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Величина узорка је израчуната на основу средње вредности серумске концентрације hs-CRP-а публиковане у студији сличног дизајна (187). Студијски узорак је израчунат узимајући α као 0.05 и снагу студије од 0.8 за Student-ов t -тест (упарених узорка), поредећи групе међусобом (у оба смера), према статистичком програму G*Power 3.1.9. За израчунавање величине узорка коришћена је средња вредност серумске концентрације hs-CRP након суплементације витамина D која је износила је -1,9 $\mu\text{g/ml}$ са стандардном девијацијом (SD) од $\pm 2,8 \mu\text{g/ml}$, док је средња вредности серумске концентрације hs-CRP у контролној групи износила -0.003 $\mu\text{g/ml}$ са стандардном девијацијом (SD) од $\pm 2,0 \mu\text{g/ml}$. Утврђени број испитаника износи 25 за сваку групу, али да би повећали статистичку значајност укључићемо 30 испитаника у свакој групи.

3.7. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Статистичка обрада података урађена је у програму *IBM SPSS Statistics v.21*. Подаци су прво приказани дескриптивно коришћењем табела и графикана. Напрекидне променљиве приказане су коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања а графички коришћењем хистограма. Категоријске променљиве приказане су коришћењем апсолутне и релативне учесталости а графички коришћењем кружног и стубичастог графикана.

Провера нормалности расподеле података урађена је коришћењем *Kolmogorov-Smirnov* теста за случај да је било више од 50 испитаника у групи односно *Shapiro-Wilk* теста за случај да је било мање од 50 испитаника у групи. У односу на ове резултате извршен је избор тестова значајности.

За анализу нумеричких вредности у односу на категоријске променљиве (све су имале само по две групе) коришћен је Student-ов t -тест за независне узорке уколико су подаци пратили нормалну расподелу односно *Mann-Whitney U* тест уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. За графички приказ статистички значајних резултата коришћен је стубичасти односно правоугаони графикон.

За анализу нумеричких вредности у односу на тренутка пре и после суплементације витамином D, коришћен је Student-ов t -тест за упарене узорке уколико су подаци пратили нормалну расподелу и *Wilcoxon*-ов тест уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. За графички приказ статистички значајних резултата коришћен је стубичасти односно правоугаони графикон.

За анализу повезаности између нумеричких променљивих коришћен је метод корелације и регресије, односно тумачене су вредности *Pearson*-овог коефицијента корелације уколико су подаци пратили нормалну расподелу односно *Spearman*-овог коефицијента корелације уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. За графички приказ статистички значајних резултата коришћен је дијаграм растурања.

За анализу повезаности између категоријских променљивих коришћен је *Hi-kvadrat* тест (χ^2 тест) за независне узорке а за графички приказ статистички значајних резултата коришћен је стубичасти кластер графикон.

Резултати су сматрани статистички значајним уколико је значајност (p вредност) била мања или једнака 0,05.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. ОПШТЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ УЗОРКА

4.1.1. Демографске карактеристике

У наше истраживање укључено је 120 испитаника са ОА колена, од којих је 90 испитаника примало витамин D, док 30 испитаника који су чинили контролну групу, није примало витамин D. Истраживање је завршило укупно 60 испитаника из све 3 експерименталне групе, а 20 испитаника из контролне групе. Већину су сачињавале жене (55%). Просечна старост испитаника је била $57,33 \pm 4,21$ година (опсег од 45 до 65 година), са трајањем тегоба у просеку $23,73 \pm 10,29$ месеци. Захваћеност колена је била следећа: 42 испитаника (35%) је имало левострани ОА, а 78 испитаника (65%) деснострани ОА. Средња вредност индекса телесне масе (ВМИ) износила је $29,58 \pm 2,97 \text{ kg/m}^2$. Током физикалног прегледа колена установљено је да је обим колена просечно износио $41,46 \pm 2,44$ cm. Код већег броја испитаника мишићна снага *musculus quadriceps femoris*-а је била на оцени 4 (61,7%), а 38,3% испитаника имало је мишићну снагу *musculus quadriceps femoris*-а на оцени 3 по мануелном мишићном тесту (ММТ-у).

4.1.2. Пол

У Табели 1. приказане су приказане апсолутне и релативне учесталости испитаника по групама у односу на пол пре суплементације витамином D

Табела 1. Полна заступљеност пацијената са ОА колена по групама

Пол испитаника	Мушкарци		Жене	
	Број	Процент	Број	Процент
Витамин D до 20 ng/ml	9	30%	21	70%
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	13	43,3%	17	56,7%
Витамин D преко 30 ng/ml	19	63,3%	11	36,7%
Контролна група	13	43,3%	17	56,7%
Укупно	54	45%	66	55%

4.1.3. Старост

У Табели 2. приказани су дескриптивни подаци који се односе на старост пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 2. Старост пацијената са ОА колена по групама

Старост испитаника	Најмања вредност	Највећа вредност	Просечна вредност	Стандардно одступање
Витамин D до 20 ng/ml	47	65	58,63	4,21
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	47	63	56,13	4,38
Витамин D преко 30 ng/ml	50	65	57,70	3,82
Контролна група	46	63	56,83	4,19
Укупно	46	65	57,33	4,21

4.1.4. Индекс телесне масе

У Табели 3. приказани су дескриптивни подаци који се односе на индекс телесне масе код пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 3. Индекс телесне масе пацијената са ОА колена по групама

Индекс телесне масе	Најмања вредност	Највећа вредност	Просечна вредност	Стандардно одступање
Витамин D до 20 ng/ml	24,6	35,2	30,28	3,12
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	23,5	36,2	29,59	2,96
Витамин D преко 30 ng/ml	22,5	35,1	29,24	3,21
Контролна група	25,2	33,9	29,19	2,55
Укупно	22,5	36,1	29,58	2,97

4.1.5. Локализација остеоартритиса (лево/десно колено)

У Табела 4. приказане су приказане апсолутне и релативне учесталости пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D у односу на захваћено колено (лево/десно).

Табела 4. Локализација ОА колена по групама

Лево или десно колено	Лево		Десно	
	Број	Процент	Број	Процент
Витамин D до 20 ng/ml	9	30%	21	70%
Витамин D од 20 ng/ml до 30	12	40%	18	60%
Витамин D преко 30 ng/ml	13	43,3%	17	56,7%
Контролна група	8	26,7%	22	73,3%
Укупно	42	35%	78	65%

Међу пацијентима је била једна трећина са болом у левом колону и душло више пацијената са болом у десном колону.

4.1.6. Трајање тегоба у месецима

У Табели 5. приказани су дескриптивни подаци који се односе на дужину трајања тегоба пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 5. Дужина трајања тегоба код пацијената са ОА колена по групама

Трајање тегоба	Најмања вредност	Највећа вредност	Просечна вредност	Стандардно одступање
Витамин D до 20 ng/ml	7	48	26,20	10,44
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	12	49	24,97	8,79
Витамин D преко 30 ng/ml	6	47	21,30	11,85
Контролна група	6	49	22,47	9,62
Укупно	6	49	23,73	10,29

4.1.7. Мануелни мишићни тест

У Табели 6. приказане су приказане апсолутне и релативне учесталости пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D у односу на оцену *musculus quadriceps femoris*-а по мануелном мишићном тесту.

Табела 6. Оцене за *musculus quadriceps femoris*-а на мануелном мишићном тесту по групама

ММТ	Оцена 3		Оцена 4	
	Број	Процент	Број	Процент
Витамин D до 20 ng/ml	15	50%	15	50%
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	7	23,3%	23	76,7%
Витамин D преко 30 ng/ml	11	36,7%	19	63,3%
Контролна група	13	43,3%	17	56,7%
Укупно	46	38,3%	74	61,7%

ММТ – мануелни мишићни тест.

У односу на резултате мануелног мишићног теста, пре суплементације витамином D било је 38,3% испитаника са оценом 3 и 61,7% испитаника са оценом 4, а након супелементације витамином D било је 20% испитаника са оценом 3 и 80% испитаника са оценом 4.

4.1.8. Обим колена

У Табели 7. приказани су дескриптивни подаци који се односе на обим колена пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 7. Обим колена код пацијената са ОА колена по групама

Обим колена	Најмања вредност	Највећа вредност	Просечна вредност	Стандардно одступање
Витамин D до 20 ng/ml	37	50	41,90	2,84
Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	38	45	40,83	2,09
Витамин D преко 30 ng/ml	38	45	41,07	2,35
Контролна група	39	47	42,03	2,33
Укупно	37	50	41,46	2,44

Пре суплементације витамином D обим колена се кретао у границама од 37 до 50cm, док је просечна вредност износила $41,46 \pm 2,44$ cm.

4.1.9. Функционално тестирање

У Табели 8. приказани су дескриптивни подаци који се односе на функционално тестирање (мерење обима покрета у колену, бол, укоченост и функцију) пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D по групама пре суплементације, коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 8. Вредности функционалног тестирања пацијената са ОА колена по групама

	Витамин D до 20 ng/ml	Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	Витамин D Преко 30 ng/ml	Контролна група
МОРF	138,67±3,46	139,00±3,05	139,67±4,90	137,00±4,66
МОPE	139,57±2,08	139,17±2,82	138,46±3,76	137,00±4,70
WOMAC бол	11,50±3,71	11,80±2,96	9,83±3,90	10,70±3,44
WOMAC укоченост	4,83±1,60	5,33±1,49	4,63±1,69	4,43±1,63
WOMAC функција	42,90±11,11	44,70±10,74	40,47±12,42	43,97±11,54
VAS	65,37±13,25	62,57±15,37	58,10±19,78	60,77±12,93

МОРF- мерење обима покрета флексије; МОPE - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала.

4.1.10. Процент бола и проценат функције колена

У Табели 9. приказани су дескриптивни подаци који се односе на проценат бола и проценат функције код пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 9. Процент бола и функције код пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D

	Експериментална група		Контролна група	
	Опсег	M±SD	Опсег	M±SD
Процент бола	-11,11 ± 83,33	39,55 ± 19,07	-111,11 ± -12,50	-43,75 ± 24,69
Процент функције	20,45 ± 92,86	42,17 ± 13,79	-83,33 ± -19,40	-45,15 ± 16,99

4.1.11. Бољитак

У Табели 10. приказане су приказане апсолутне и релативне учесталости пацијената са ОА колена у односу на њихов бољитак.

Табела 10. Бољитак код пацијената са ОА колена

Лево или десно колена	Експериментална група		Контролна група	
	Има	Нема	Има	Нема
Колена	52 (86,7%)	8 (13,3%)	0 (0%)	20 (100%)

4.1.12. Лабораторијске анализе крви

У Табели 11. приказани су дескриптивни подаци који се односе на лабораторијске анализе крви пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 11. Вредности лабораторијских анализа код пацијената са ОА колена

Лабораторијска анализа крви	Витамин D до 20 ng/ml	Витамин D од 20 ng/ml до 30	Витамин D преко 30 ng/ml	Контролна група
SE	17,80±11,71	16,60±11,07	9,63±9,36	12,23±7,22
Le	7,32±2,08	7,24±1,59	6,89±1,47	5,32±1,15
CRP	6,67±6,26	4,96±4,22	4,21±5,45	2,13±1,42
Ca ²⁺	2,37±0,10	2,40±0,16	2,40±0,11	2,41±0,09
Витамин D	14,22±3,20	24,55±2,72	34,99±3,76	26,14±7,79

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

4.1.13. Примена лекова против болова

У Табели 12. приказане су приказане апсолутне и релативне учесталости примене нестероидних антиинфламаторних лекова и Paracetamol-a против болова код пацијената са ОА колена.

Табела 12. Примена лекова против болова код пацијената са ОА колена

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D		После суплементације витамином D	
	Број	Процент	Број	Процент
NSAID	53/60	88,3%	51/60	85,0%
Paracetamol	7/60	11,7%	5/60	8,3%

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

На основу података приказаних у Табели 11, уочавамо да се у знатно већем броју случајева примењују нестероидни антиинфламаторни лекови против болова од Paracetamol-a.

4.1.14. Дужина примене лекова против болова у данима

У Табели 13. приказани су дескриптивни подаци који се односе на дужину корићења лекова против болова у данима код пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности, као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 13. Дужина примене лекова против болова код пацијената са ОА колена

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D		После суплементације витамином D	
	Опсег	M±SD	Опсег	M±SD
NSAID	7-46	27,40±9,71	2-46	17,00±9,98
Paracetamol	4-18	10,14±4,78	1-10	4,00±3,67

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

На основу података приказаних у Табели 12. уочава се да се Paracetamol знатно краће користи у односу на нестероидне антиинфламаторне лекове против болова.

4.1.15. Проинфламаторни цитокини

У Табели 14. приказани су дескриптивни подаци који се односе на проинфламаторне цитокине пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D по групама коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 14. Серумске вредности проинфламаторних цитокини код пацијента са ОА колена пре суплементације витамином D

Проинфламаторни цитокини	Витамин D до 20 ng/ml	Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	Витамин D преко 30 ng/ml	Контролна група
IL-1 β	1,62 \pm 1,67	3,03 \pm 7,61	2,24 \pm 2,13	4,68 \pm 14,63
TNF- α	67,92 \pm 57,62	80,12 \pm 72,82	79,65 \pm 75,69	66,40 \pm 41,16
IL-23	128,48 \pm 439,38	68,71 \pm 124,83	52,58 \pm 42,71	65,30 \pm 59,56
IL-17	15,19 \pm 10,17	18,14 \pm 11,81	13,91 \pm 10,27	7,73 \pm 4,62
IL-33	31,87 \pm 73,73	18,97 \pm 18,75	14,31 \pm 17,01	22,16 \pm 23,79
Gal-3	1679,9 \pm 1308,3	2051,9 \pm 1937,2	2130,7 \pm 1932,4	1974,7 \pm 1462,3

IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

4.1.16. Антиинфламаторни цитокини

У Табели 15. приказани су дескриптивни подаци који се односе на антиинфламаторне цитокине пацијената са ОА колена пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 15. Серумске вредности антиинфламаторних цитокини код пацијента са ОА колена пре суплементације витамином D

Антиинфламаторни цитокини	Витамин D до 20 ng/ml	Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	Витамин D преко 30 ng/ml	Контролна група
IL-4	81,58 \pm 152,68	70,82 \pm 75,04	70,17 \pm 44,12	84,56 \pm 74,33
IL-13	11,58 \pm 5,76	11,17 \pm 4,55	13,65 \pm 6,97	12,99 \pm 8,08

IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

4.1.17. Параметри оксидационог стреса

У Табели 16. приказани су дескриптивни подаци који се односе на параметре оксидационог стреса код пацијената са ОА колена по групама пре суплементације витамином D коришћењем најмање и највеће вредности као и просечне вредности и стандардног одступања.

Табела 16. Параметри оксидационог стреса код пацијената са ОА колена

Параметри оксидационог стреса	Витамин D до 20 ng/ml	Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml	Витамин D преко 30 ng/ml	Контролна група
O ₂	3,13±1,64	2,92±1,50	2,67±1,50	2,65±1,76
H ₂ O ₂	3,82±0,76	3,85±0,95	3,54±0,96	3,79±0,84
NO ₂	4,13±1,35	3,98±1,42	4,29±1,38	5,82±1,88
TBARS	1,25±0,44	1,34±0,55	1,16±0,45	1,41±0,58
GSH	112674±22109	112185±20350	100851±28321	110433±16507
SOD	1009,4±285,1	827,03±169,11	950,60±255,61	1705,8±633,3
CAT	2,81±6,14	0,90±2,02	2,41±6,04	5,72±9,52

O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот диоксид; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

4.2. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ГРУПУ ИСПИТАНИКА

4.2.1. Трајање тегоба у месецима

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу користимо *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 17.

Табела 17. Трајање тегоба у односу на групу пацијента са ОА колена

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Трајање тегоба	0,412	-	0,680

Применом *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да не постоји статистички значајна разлика у трајању тегоба између експерименталне и контролне групе испитаника.

4.2.2. Мануелни мишићни тест

За анализу повезаности резултата мануелног мишићног теста у односу на групу испитаника коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 18.

Табела 18. Оцена на мануелном мишићном тесту у односу на групу пацијената са ОА колена

	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Мануелни мишићни тест	0,278	1	0,598	0,224	1	0,636

ММТ - мануелни мишићни тест.

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да резултати мануелног мишићног теста и група испитаника нису зависна обележја.

4.2.3. Обим колена

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу користимо *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 19.

Табела 19. Обима колена у односу на групу пацијената са ОА колена

	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степен слободе	Значајност	Статистика	Број степен слободе	Значајност
Обим колена	1,859	-	0,063	1,936	-	0,053

Применом *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да не постоји статистички значајна разлика у обиму колена између експерименталне и контролне групе испитаника.

4.2.4. Функционално тестирање

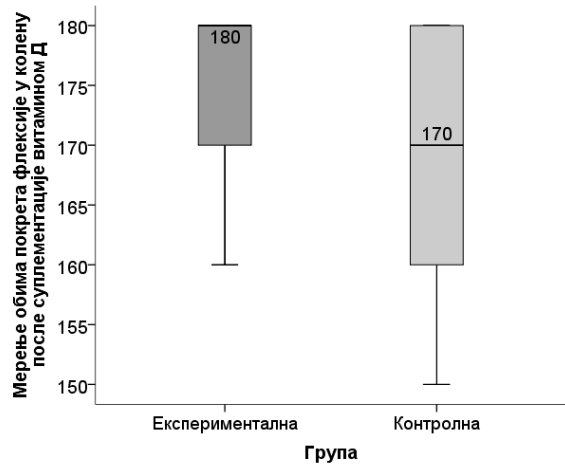
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је Студентов *t* тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 20.

Табела 20. Вредности функционалног тестирања у односу на групу пацијената са ОА колена

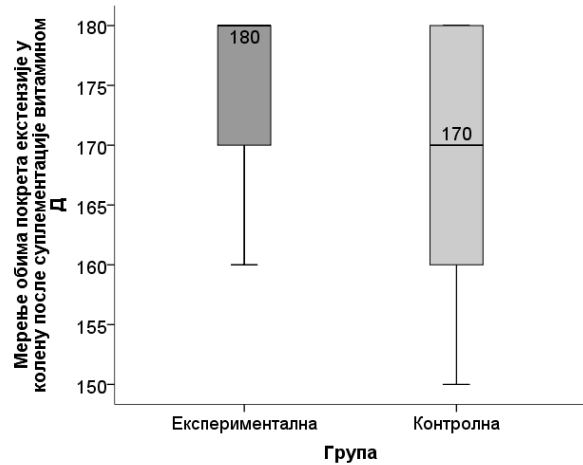
	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степен слободе	Значајност	Статистика	Број степен слободе	Значајност
MORF	2,421	-	0,015	2,562	-	0,010
MORE	2,421	-	0,015	2,562	-	0,010
WOMAC бол	0,637	-	0,524	8,367	78	0,000
WOMAC укоченост	1,070	-	0,285	5,500	-	0,000
WOMAC функција	0,089	78	0,929	10,814	78	0,000
VAS	0,478	-	0,633	11,302	78	0,000

MORF- мерење обима покрета флексије; MOPE - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала.

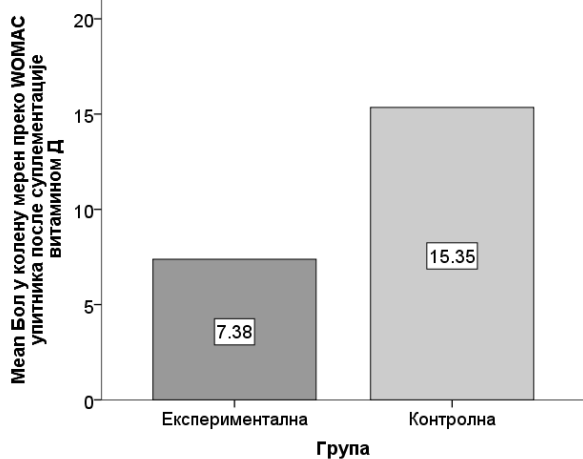
Статистички значајни резултати су приказани на Графиконима.



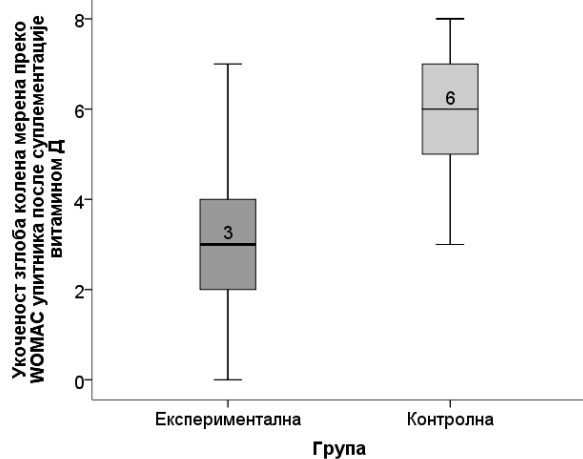
Графикон 1. Мерене флексије колена у односу на групу



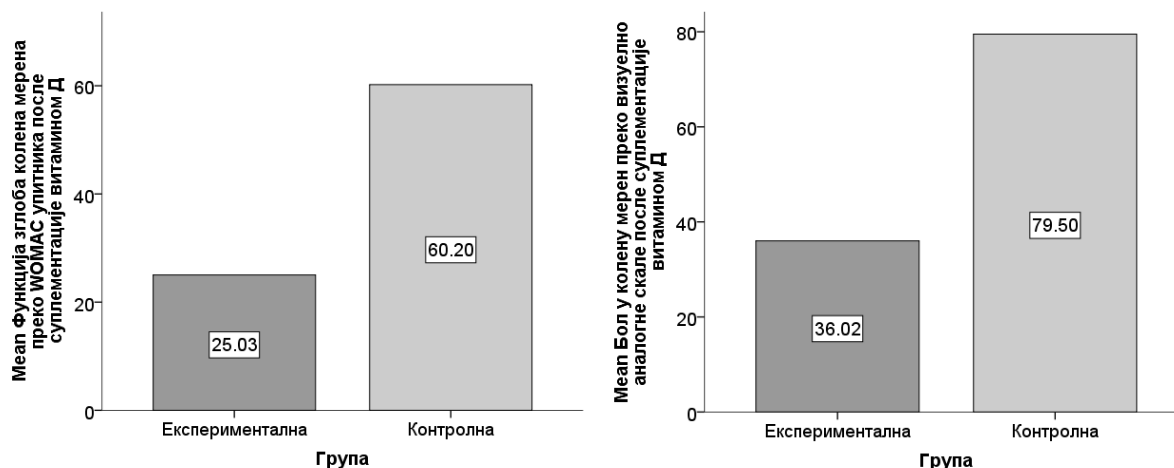
Графикон 2. Мерене екстензије колена у односу на групу



Графикон 3. Вредности WOMAC упитника за бол у односу на групу



Графикон 4. Вредности WOMAC упитника за укоченост у односу на групу



Графикон 5. Вредности WOMAC **Графикон 6.** Вредности VAS скале за бол упитника за функцију у односу на групу у односу на групу

Са Графикона се уочава да су вредности обима покрета флексије и екстензије у колону после суплементације витамином D веће код експерименталне групе испитаника, док су вредности бола у колону, укочености и функције зглоба колена веће код контролне групе пацијената са ОА колена.

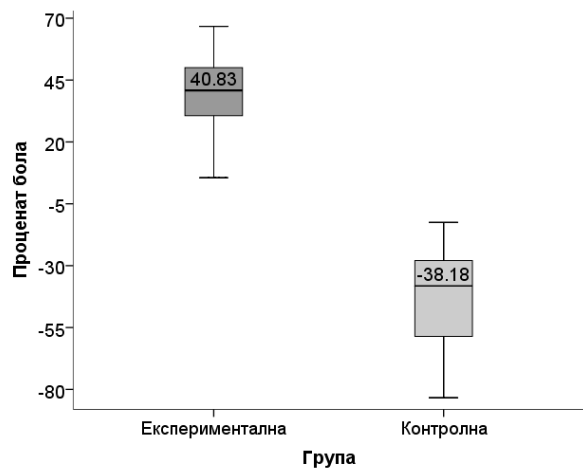
4.2.5. Процент бола и проценат функције колена

С обзиром на то да подаци нису пратили нормалну расподелу за анализу процента бола и процента функције колена у односу на групу испитаника коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 21.

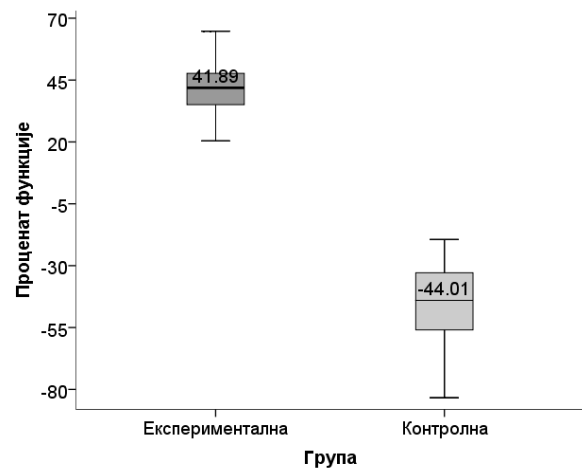
Табела 21. Процент бола и функције у односу на групу пацијената са ОА колена

	Експериментална група		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Процент бола	6,671	-	0,000
Процент функције	6,667	-	0,000

Применом *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика процента бола и процента функције између експерименталне и контролне групе испитаника.



Графикон 7. Процент бола у односу на групу испитаника



Графикон 8. Процент функције у односу на групу испитаника

Са Графикона се уочава да су веће вредности процента бола и процента функције код пацијената са ОА колена из експерименталне групе.

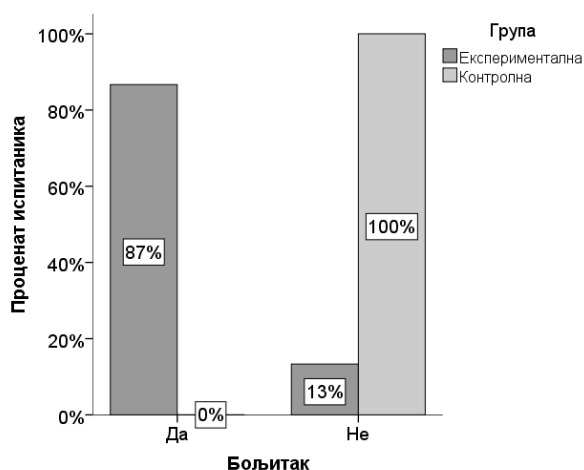
4.2.6. Бољитак

За анализу бољитка у односу на групу испитаника коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 22.

Табела 22. Бољитак у односу на групу пацијената са ОА колена

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Бољитак	49,524	1	0,000

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да су бољитак и група испитаника зависна обележја. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 9. Процент пацијената са ОА колена код којих је регистрован бољитак

Са Графикона се уочава да је значајно већи проценат испитаника (готово сви) који су имали бољитак су из експерименталне групе.

4.2.7. Лабораторијске анализе крви

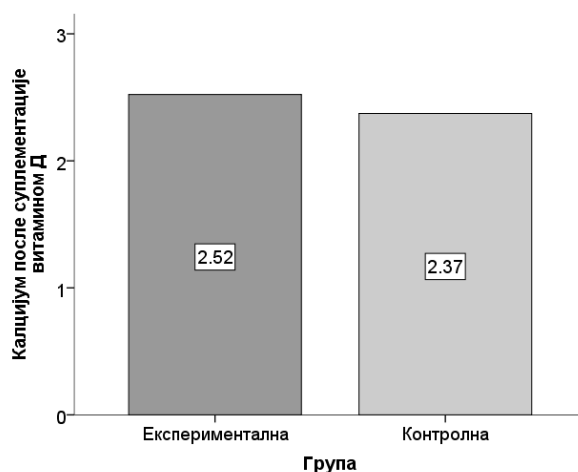
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 23.

Табела 23. Вредности лабораторијских анализа крви у односу на групу пацијената са ОА колена

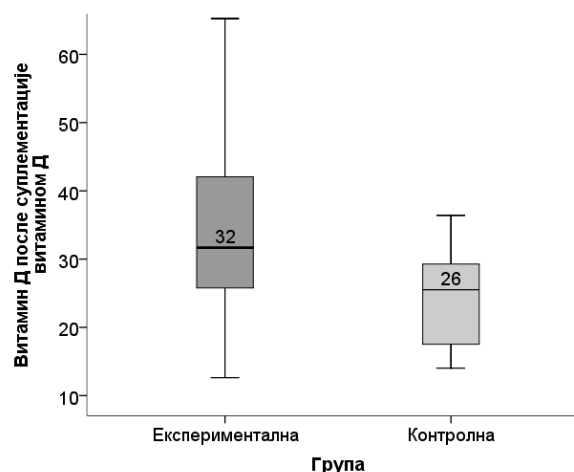
Лабораторијска анализа крви	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободe	Значајност	Статистика	Број степени слободe	Значајност
SE	1,535	-	0,125	0,012	-	0,311
Le	5,112	78	0,000	1,263	78	0,210
CRP	3,651	-	0,000	0,172	-	0,863
Ca ²⁺	0,821	78	0,414	5,828	78	0,000
Витамин D	1,638	78	0,105	2,989	-	0,003

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке и *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности Ca²⁺ и витамина D између експерименталне и контролне групе испитаника. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



Графикон 10. Серумске вредности калцијума у односу на групу после суплементације



Графикон 11. Серумске вредности витамина D у односу на групу после суплементације

Са Графикона се уочава да су веће вредности и калцијума и витамина D у експерименталној групи испитаника.

4.2.8. Примена лекова против болова

За анализу примене лекова против болова у односу на групу испитаника коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 24.

Табела 24. Примена лекова против болова у односу на групу пацијената са ОА колена

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	2,092	1	0,148	0,316	1	0,574
Paracetamol	0,152	1	0,696	3,810	1	0,051

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да примена лекова против болова и група којој испитаник припада нису зависна обележја.

4.2.9. Дужина примене лекова против болова у данима

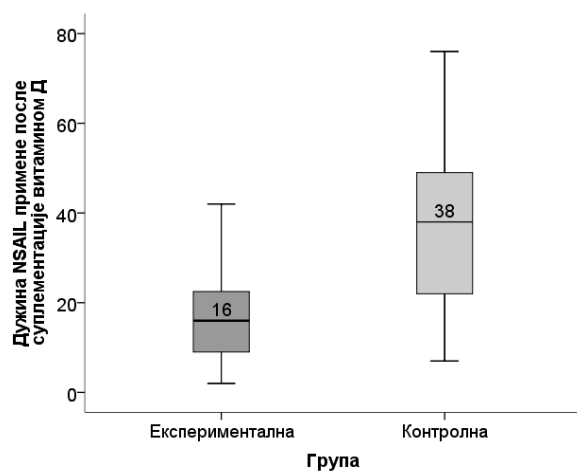
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је Студентов *t* тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 25.

Табела 25. Дужина примене лекова против болова у односу на групу пацијената са ОА колена

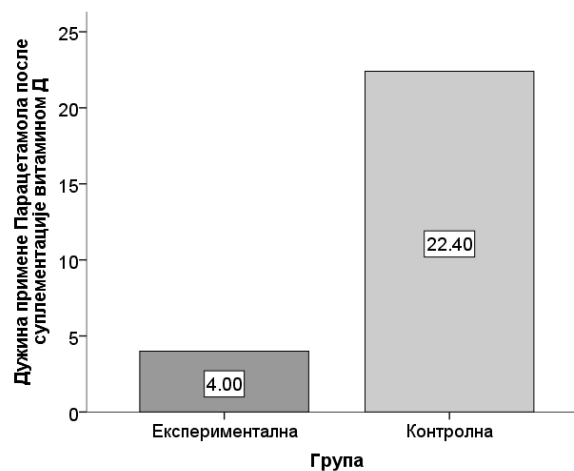
Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	0,588	66	0,559	3,966	-	0,000
Paracetamol	0,788	8	0,454	2,386	8	0,044

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Student*-овог *t*-теста за независност и *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика дужине примене лекова против болова у односу на групу испитаника.



Графикон 12. Дужина примене NSAID у односу на групу после суплементације



Графикон 13. Дужина примене Paracetamol-a у односу на групу после суплементације

Са Графикона се уочава да је дужина трајања коришћења лекова против болова значајно дужа код пацијената са ОА који припадају контролној групи.

4.2.10. Инфламаторни цитокини

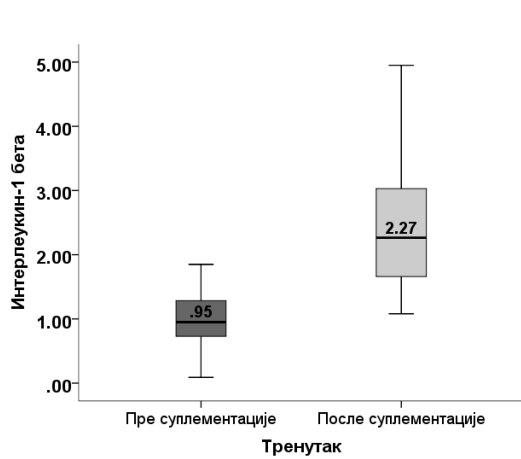
С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу вредности инфламаторних цитокина у односу на групу испитаника коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 26.

Табела 26. Вредности проинфламаторних цитокина у односу на групу пацијената са ОА колена

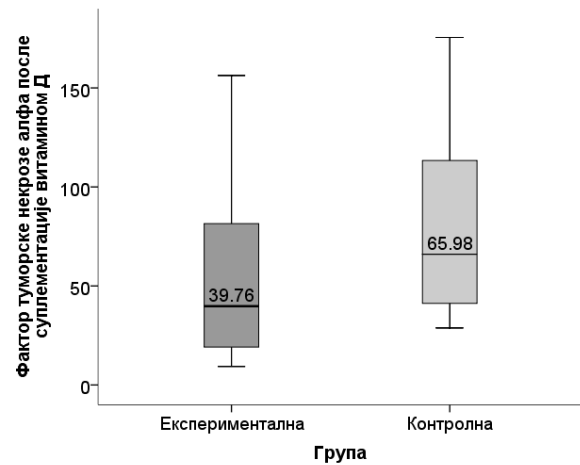
Проинфламаторни цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободне	Значајност	Статистика	Број степени слободне	Значајност
IL-1 β	2,345	-	0,019	2,806	-	0,005
TNF- α	0,756	-	0,450	2,589	-	0,010
IL-23	1,667	-	0,096	0,394	-	0,693
IL-17	5,367	-	0,000	3,917	-	0,000
IL-33	0,444	-	0,657	4,095	-	0,000
Gal-3	0,389	-	0,697	0,250	-	0,803

IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

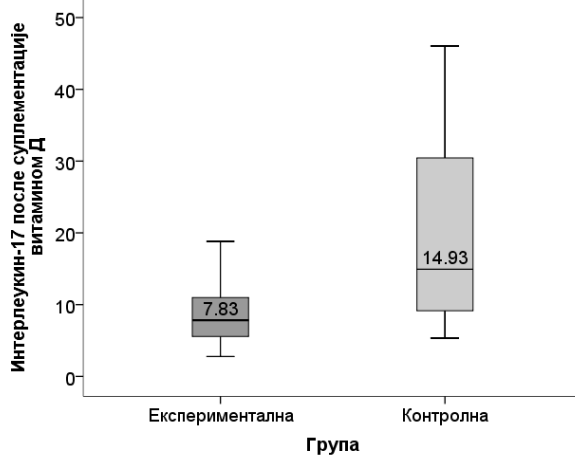
Применом *Mann–Whitney U* теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика проинфламаторних цитокина IL-1 β , TNF- α , IL-17 и IL-33 у односу на групу испитаника.



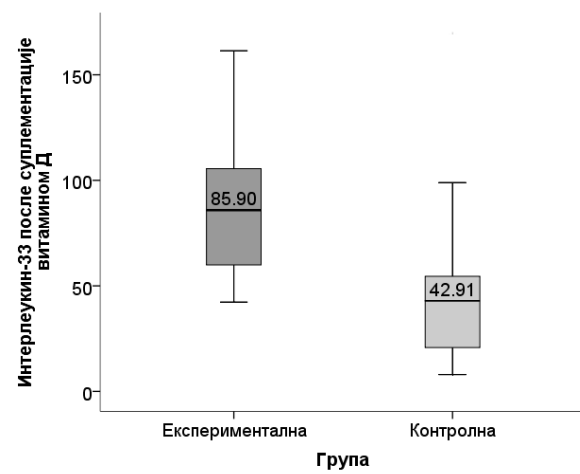
Графикон 14. Вредности IL-1β у односу на групу испитаника



Графикон 15. Вредности TNF-α у односу на групу испитаника



Графикон 16. Вредности IL-17 у односу на групу испитаника



Графикон 17. Вредности IL-33 у односу на групу испитаника

Са Графикона се уочава да су значајно више вредности проинфламаторних цитокина IL-1β, TNF-α, IL-17 и IL-33 код пацијената са ОА колена из контролне групе.

4.2.11. Антиинфламаторни цитокини

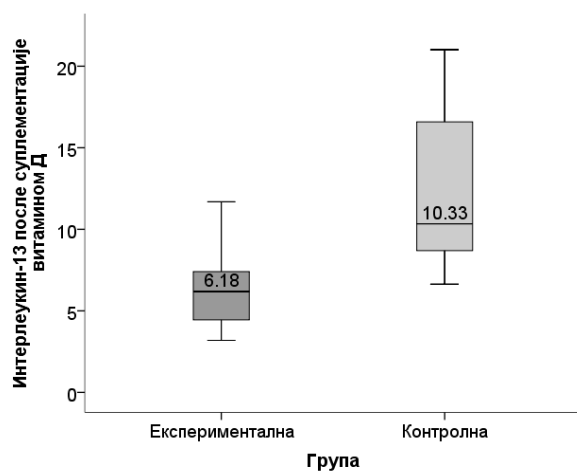
С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу вредности антиинфламаторних цитокина у односу на групу испитаника коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 27.

Табела 27. Вредности антиинфламаторних цитокина у односу на групу испитаника

Антиинфламаторн и цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистик а	Број степен и слобод е	Значајнос т	Статистик а	Број степен и слобод е	Значајнос т
IL-4	1,478	-	0,139	1,706	-	0,088
IL-13	1,150	-	0,250	5,061	-	0,000

IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

Применом *Mann–Whitney U* теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика антиинфламаторног цитокина, IL-13 у односу на групу испитаника.



Графикон 18. Вредности IL-13 у односу на групу испитаника

Са Графикона се уочава да су значајно више вредности антиинфламаторног цитокина IL-13 код контролне групе пацијената са ОА колена.

4.2.12. Параметри оксидационог стреса

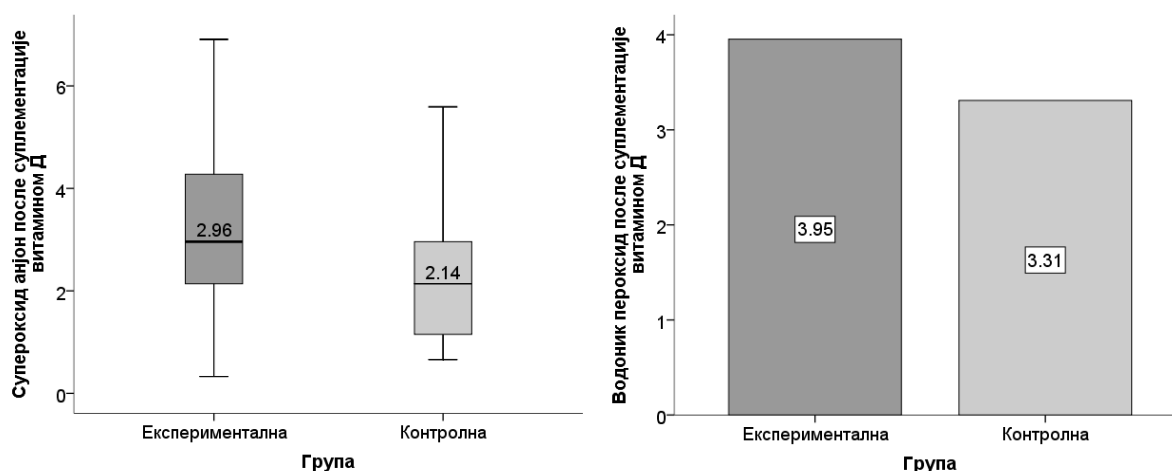
За анализу вредности параметара оксидационог стреса у односу на групу испитаника коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке уколико су подаци пратили нормалну расподелу односно *Mann–Whitney U* тест уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. Резултати ове анализе приказани су у Табели 28.

Табела 28. Вредности параметара оксидационог стреса у односу на групу испитаника

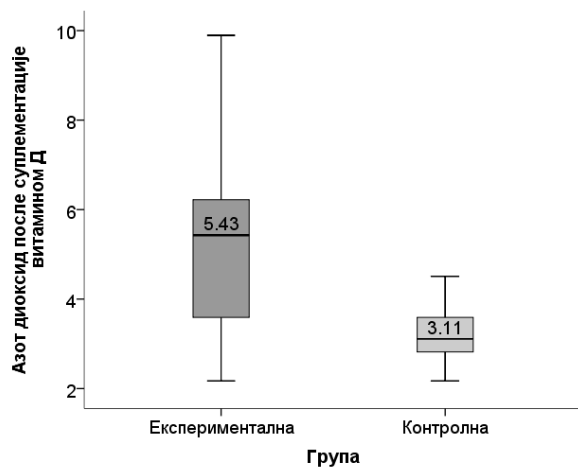
Параметри оксидационог стреса	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степен и слобод е	Значајност	Статистика	Број степен и слобод е	Значајност
O ₂ ⁻	0,658	-	0,511	2,553	-	0,011
H ₂ O ₂	0,298	78	0,767	3,157	78	0,002
NO ₂	4,312	-	0,000	4,257	-	0,000
TBARS	1,911	-	0,056	3,167	78	0,002
GSH	0,978	-	0,328	0,883	-	0,377
SOD	6,389	-	0,000	6,333	-	0,000
CAT	4,851	-	0,000	0,522	-	0,601

O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот диоксид; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

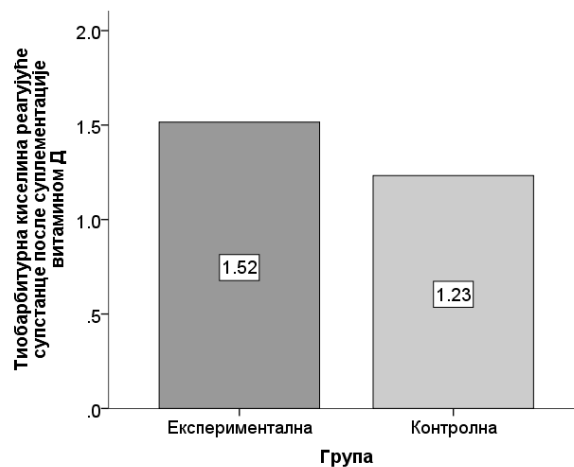
Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке и *Mann–Whitney U* теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика следећих параметара оксидационог стреса O₂⁻, H₂O₂, NO₂, TBARS и SOD у односу на групу испитаника.



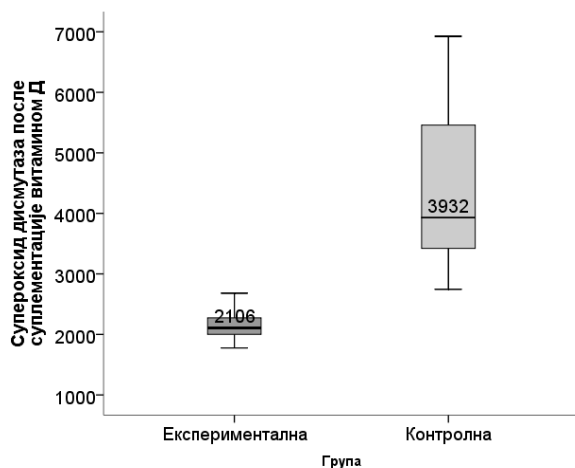
Графикон 19. Вредности O_2^- у односу на групу испитаника



Графикон 20. Вредности H_2O_2 у односу на групу испитаника



Графикон 21. Вредности NO_2 у односу на групу испитаника



Графикон 22. Вредности TBARS у односу на групу испитаника

Графикон 23. Вредности SOD у односу на групу испитаника

Са Графикона се уочава да су код испитаника из експерименталне групе значајно веће вредности следећих параметара оксидационог стреса O_2^- , H_2O_2 , NO_2 и TBARS док су вредности SOD значајно веће код испитаника из контролне групе.

4.3. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ПОЛ ИСПИТАНИКА

Ову статистику радимо само за експерименталну групу.

4.3.1. Лабораторијске анализе крви

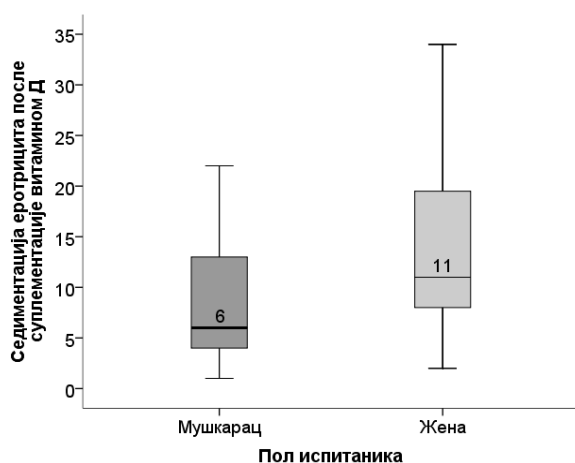
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 29.

Табела 29. Лабораторијске анализе крви у односу на пол испитаника

Лабораторијска анализа крви	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
SE	1,944	-	0,052	2,583	-	0,010
Le	0,941	58	0,351	0,091	58	0,928
CRP	0,787	-	0,431	0,127	-	0,899
Ca ²⁺	0,245	58	0,807	0,617	58	0,539
Витамин D	1,824	58	0,073	0,210	-	0,834

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности седиментације у односу на пол испитаника. Графички приказ ових резултата приказан је на Графикону.



Графикон 24. Вредности седиментације еритроцита у односу на групу испитаника

Са Графикана се уочава да су значајно веће вредности седиментације после суплементације витамином D код жена.

4.3.2. Примена лекова против болова

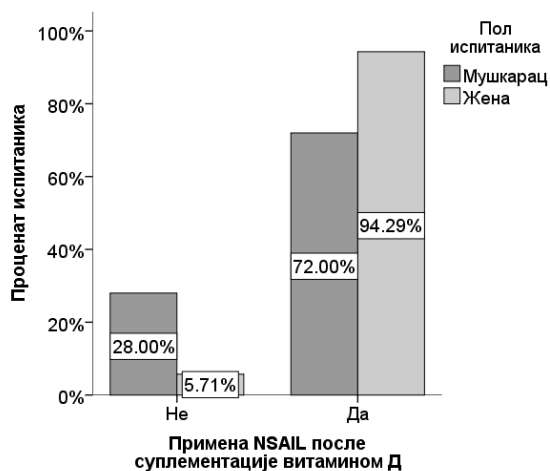
За анализу примене лекова против болова у односу на пол испитаника коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 30.

Табела 30. Примена лекова против болова у односу на пол испитаника

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	6,326	1	0,012	5,681	1	0,017
Paracetamol	6,326	1	0,012	3,298	1	0,069

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да примена NSAID против болова и пол испитаника јесу зависна обележја. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикану.



Графикон 25. Процент испитаника у односу на примену лекова против болова

Са Графикана се уочава да је значајно већи проценат жена примењивао NSAID против болова.

4.3.3. Дужина примене лекова против болова у данима

За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 31.

Табела 31. Дужина примене лекова против болова у односу на пол испитаника

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	0,248	51	0,805	0,197	-	0,843
Paracetamol	0,451	5	0,671	0,899	3	0,440

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Student*-овог *t*-теста за независност и *Mann–Whitney U* теста утврдили смо да не постоји статистички значајна разлика дужине примене лекова против болова у односу на групу испитаника.

4.3.4. Инфламаторни цитокини

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу вредности инфламаторних цитокина у односу на пол испитаника коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 32.

Табела 32. Вредности проинфламаторних цитокина у односу на пол испитаника

Проинфламаторни цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
IL-1 β	0,532	-	0,594	0,397	-	0,691
TNF- α	1,320	-	0,187	0,885	-	0,376
IL-23	2,797	-	0,005	0,165	-	0,869
IL-17	0,877	-	0,380	0,015	-	0,988
IL-33	1,792	-	0,073	0,960	-	0,337
Gal-3	0,382	-	0,702	0,337	-	0,736

IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

Применом *Mann–Whitney U* теста утврђено је да не постоји статистички значајна разлика инфламаторних цитокина у односу на пол испитаника.

4.3.5. Антиинфламаторни цитокини

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу вредности антиинфламаторних цитокина у односу на групу испитаника коришћен је *Mann–Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 33.

Табела 33. Вредности антиинфламаторних цитокина у односу на пол испитаника

Антиинфламаторни цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
IL-4	1,192	-	0,233	0,990	-	0,322
IL-13	0,180	-	0,857	0,690	-	0,490

IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

Применом *Mann–Whitney U* теста утврђено је да не постоји статистички значајна разлика антиинфламаторних цитокина у односу на пол испитаника.

4.3.6. Параметри оксидационог стреса

За анализу вредности параметара оксидационог стреса у односу на групу испитаника коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке уколико су подаци пратили нормалну расподелу односно *Mann–Whitney U* тест уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. Резултати ове анализе приказани су у Табели 34.

Табела 34. Параметри оксидационог стреса у односу на пол испитаника

Параметри оксидационог стреса	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слобод	Значајност	Статистика	Број степени слобод	Значајност
O ₂	2,212	-	0,027	0,045	-	0,964
H ₂ O ₂	0,983	58	0,330	0,855	58	0,396
NO ₂	0,143	-	0,887	1,193	-	0,233
TBARS	0,382	-	0,702	0,644	58	0,522
GSH	1,747	-	0,081	0,277	-	0,781
SOD	0,832	-	0,405	0,480	-	0,631
CAT	0,382	-	0,702	0,953	-	0,341

O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот диоксид; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке и *Mann–Whitney U* теста утврђено је да не постоји статистички значајна разлика параметара оксидационог стреса у односу на пол испитаника.

4.4. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА СТАРОСТ ИСПИТАНИКА

Ову статистику радимо само за експерименталну групу.

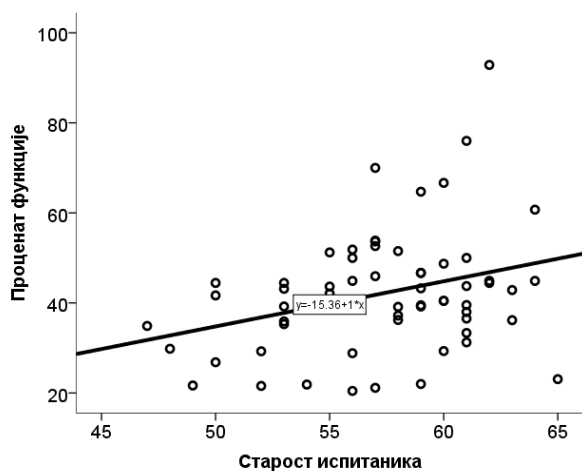
4.4.1. Процент бола и проценат функције колена

За анализу процента бола и процента функције колена у односу на старост испитаника коришћен је метод корелације и регресије при чему уколико су подаци пратили нормалну расподелу тумачена је вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације а у случају да подаци нису пратили нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 35.

Табела 35. Процент бола и функције у односу на старост испитаника

	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
Процент бола	0,132	60	0,316
Процент функције	0,265	60	0,041

Применом метода корелације и регресије односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврђено је да постоји статистички значајна повезаност између процента функције и старости испитаника.



Графикон 26. Процент функције испитаника у односу на старост испитаника

Са Графикона се уочава да се са годинама повећава проценат функције.

4.4.2. Лабораторијска анализа крви

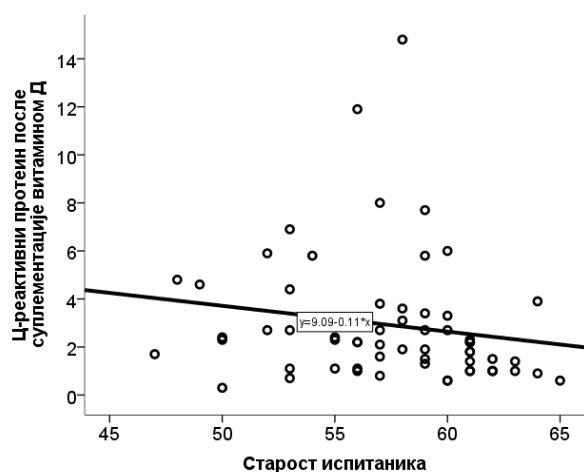
За анализу лабораторијских анализа крви у односу на старост испитаника коришћен је метод корелације и регресије при чему је за податке који прате нормалну расподелу тумачена вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације док за податке који не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 36.

Табела 36. Лабораторијске анализе крви у односу на старос испитаника

Лабораторијска анализа крви	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
SE	-0,053	60	0,685	-0,178	60	0,174
Le	-0,140	60	0,286	-0,210	60	0,107
CRP	0,010	60	0,941	-0,313	60	0,015
Ca ²⁺	-0,207	60	0,112	0,005	60	0,969
Витамин D	-0,187	60	0,153	-0,058	60	0,658

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом методе корелације и регресије односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврдили смо да статистички значајна повезаност постоји само за CRP и старост испитаника. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону 27.



Графикон 27. Вредности CRP-а у односу на старост испитаника после суплементације витамином D

Са графикона се уочава да се са годинама смањује вредност CRP-а.

4.5. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ МАСЕ

Ову статистику радимо само за експерименталну групу.

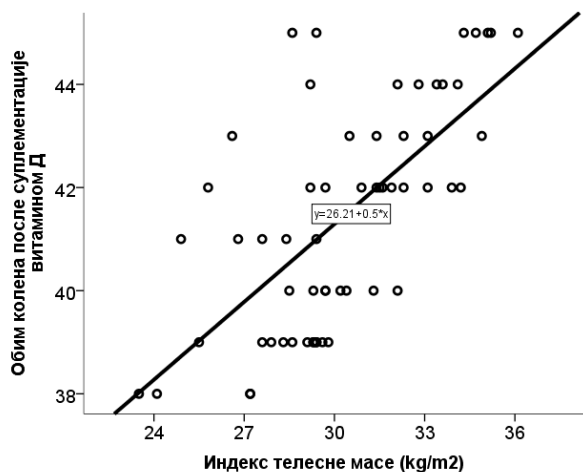
4.5.1. Обим колена

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу повезаности обима колена са индексом телесне масе тумачино вредност *Spearman*-ов коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 37.

Табела 37. Обим колена у односу на индекс телесне масе

	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
Обим колена	0,648	60	0,000	0,659	60	0,000

Тумачењем *Spearman*-овог коефицијента корелације утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност обима колена и индекса телесне масе. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 28. Обим колена испитаника у односу на индекс телесне масе после суплементације витамином D

Са Графикона се уочава да постоји јака и позитивна повезаност између обима колена и индекса телесне масе.

4.5.2. Инфламаторни цитокини

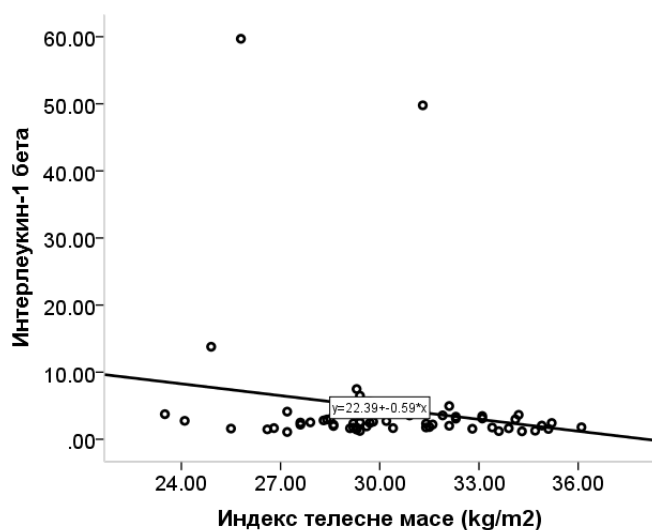
За анализу вредности проинфламаторних цитокина у односу на индекс телесне масе коришћен је метод корелације и регресије односно, с обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 38.

Табела 38. Вредности инфламаторних цитокина у односу на индекс телесне масе

Инфламаторн и цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијен т корелације	Број случајев а	Значајнос т	Коефицијен т корелације	Број случајев а	Значајнос т
IL-1 β	-0,266	60	0,040	-0,134	60	0,307
TNF- α	0,083	60	0,527	-0,012	60	0,927
IL-23	-0,341	60	0,008	-0,138	60	0,293
IL-17	0,113	60	0,392	-0,024	60	0,854
IL-33	-0,052	60	0,594	-0,117	60	0,375
Gal-3	-0,118	60	0,371	-0,115	60	0,380

IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

Применом метода корелације и регресије, односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврђено је да постоји статистички значајна повезаност проинфламаторног цитокина IL-1 β и индекса телесне масе после суплементације витамином D. Графички приказ овог резултата представљен је на Графику 29.



Графикон 29. Вредности IL-1 β у односу на индекс телесне масе после суплементације витамином D

Са Графикана се уочава да са порастом индекса телесне масе повећава се вредност антиинфламаторног цитокина IL-1 β .

4.5.3. Антиинфламаторни цитокини

За анализу вредности антиинфламаторних цитокина у односу на индекс телесне масе коришћен је метод корелације и регресије односно, с обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 39.

Табела 39. Вредности антиинфламаторних цитокина у односу на индекс телесне масе

Анти-инфламаторни цитокини	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
IL-4	0,006	60	0,963	-0,078	60	0,556
IL-13	-0,067	60	0,609	0,165	60	0,209

IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

Применом метода корелације и регресије, односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврђено је да не постоји статистички значајне повезаности антиинфламаторних цитокина у односу на индекс телесне масе.

4.5.4. Параметри оксидационог стреса

За анализу параметара оксидационог стреса у односу на индекс телесне масе коришћен је метод корелације и регресије при чему је за податке који прате нормалну расподелу тумачена вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације док за податке који не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 40.

Табела 40. Параметри оксидационог стреса у односу на индекс телесне масе

Параметри оксидационог стреса	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
O ₂	-0,058	60	0,662	-0,209	60	0,110
H ₂ O ₂	0,245	60	0,059	-0,247	60	0,058
NO ₂	0,342	60	0,008	-0,078	60	0,553
TBARS	-0,054	60	0,679	-0,070	60	0,596
GSH	0,184	60	0,158	-0,024	60	0,856
SOD	0,156	60	0,233	0,056	60	0,673
CAT	0,018	60	0,893	-0,111	60	0,398

O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот моноксид у облику нитрата; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

Применом метода корелације и регресије, односно тумачењем вредности *Pearson*-овог и *Spearman*-овог коефицијента корелације утврђено је да не постоје статистички значајне повезаности параметара оксидационог стреса у односу на индекс телесне масе.

4.6. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА KELLGREN AND LAWRENCE КЛАСИФИКАЦИЈУ

Ову статистику радимо само за експерименталну групу.

Према овој класификацији имамо само два стадијума.

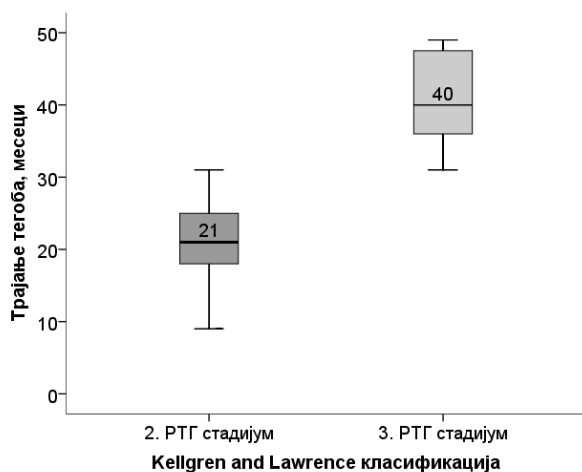
4.6.1. Трајање тегоба у месецима

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу трајања тегоба у односу на К-Л класификацију коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 41.

Табела 41. Трајање тегоба у односу на К-Л класификацију

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Трајање тегоба	4,913	-	0,000

Применом *Mann – Whitney U* теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика у трајању тегоба у односу на К-Л класификацију. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 30. Трајање тегоба у односу на радиографски степен ОА

Са Графикона се уочава да је значајно дуже трајање тегоба код испитаника са 3. радиографским стадијумом.

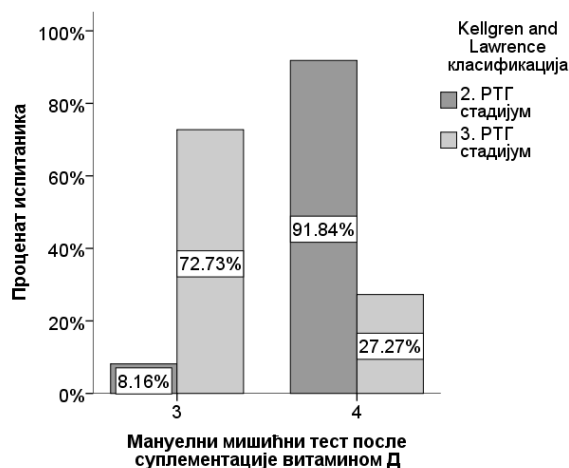
4.6.2. Мануелни мишићни тест

За анализу повезаности резултата мануелног мишићног теста у односу на К-Л класификацију коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 42.

Табела 42. Оцена на мануелном мишићном тесту у односу на К-Л класификацију

	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Мануелни мишићни тест	21,668	1	0,000	23,404	1	0,000

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да резултати мануелног мишићног теста и К-Л класификацију јесу зависна обележја. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 31. Процент испитаника у односу на радиографски степен ОА

Са графикана се уочава да код испитаника који су добили оцену 4 на мануелном мишићном тесту значајно је већи проценат испитаника са 2. радиографским стадијумом према К-Л класификацији.

4.6.3. Функционално тестирање

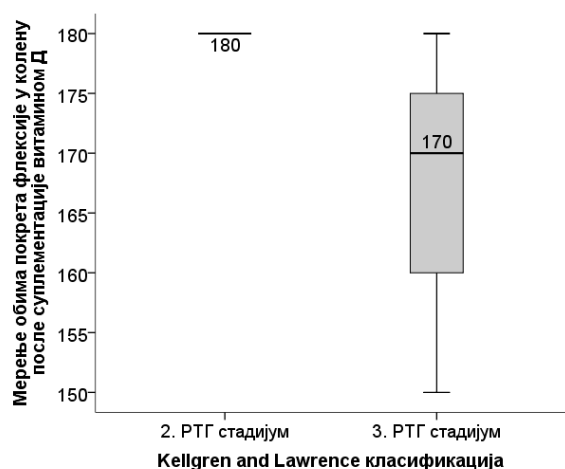
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 43.

Табела 43. Вредности функционалног тестирања у односу на К-Л класификацију

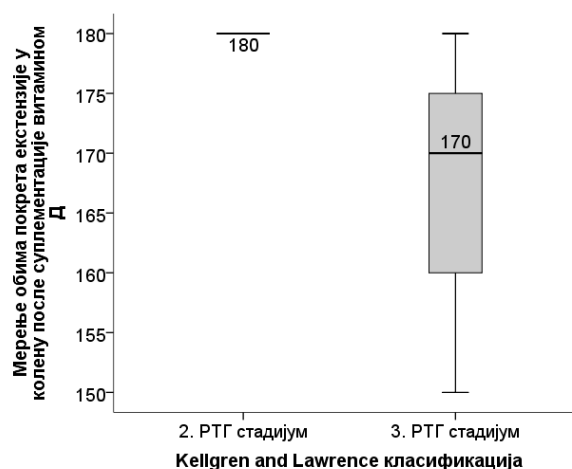
	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
MORF	2,494	-	0,013	3,405	-	0,001
MOPE	2,494	-	0,013	3,405	-	0,001
WOMAC бол	4,653	-	0,000	5,094	58	0,000
WOMAC укоченост	2,940	-	0,003	2,631	-	0,009
WOMAC функција	4,462	58	0,000	4,895	58	0,000
VAS	4,380	-	0,000	5,218	58	0,000

MORF- мерење обима покрета флексије; MOPE - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала.

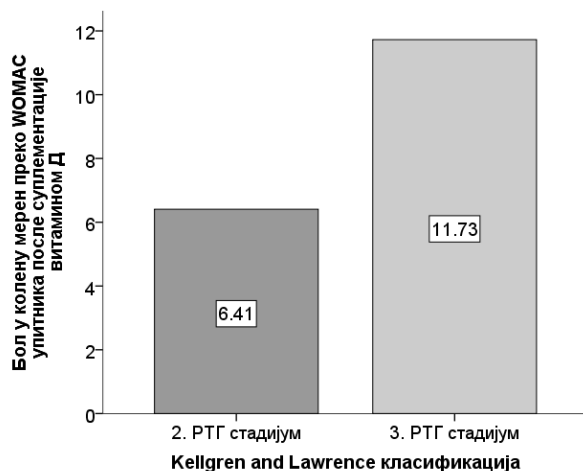
Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке и *Mann – Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности флексије, екстензије, бола, укочености и функције зглоба колена у односу на К-Л класификацију. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



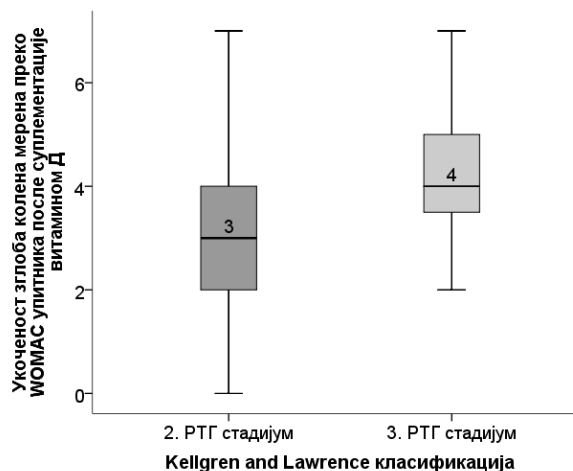
Графикон 32. Вредности флексије у колелу у односу на радиографски степен ОА после суплементације



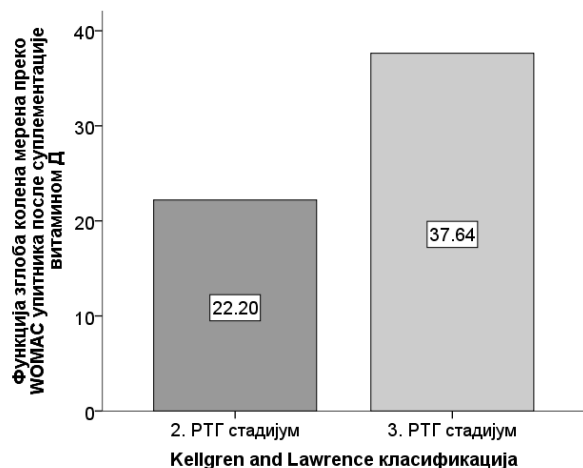
Графикон 33. Вредности екстензије у колелу у односу на радиографски степен ОА после суплементације



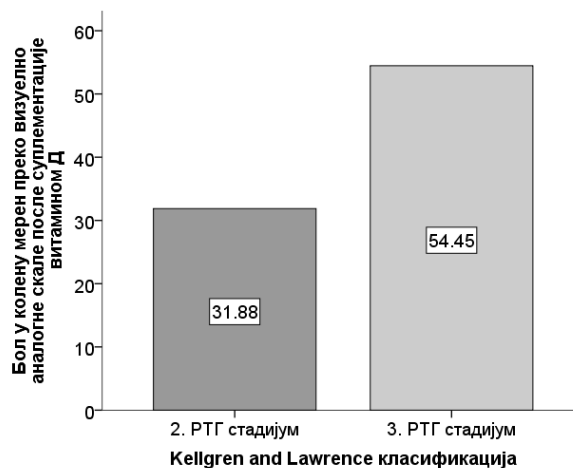
Графикон 34. Вредности WOMAC упитника за бол у колену у односу на радиографски степен ОА после суплементације



Графикон 35. Вредности WOMAC упитника за укоченост у колену у односу на радиографски степен ОА после суплементације



Графикон 36. Вредности WOMAC упитника за функцију у односу на радиографски степен ОА после суплементације



Графикон 37. Вредности VAS скале за бол у колену у односу на радиографски степен ОА после суплементације

Са Графикона се уочава да су вредности флексије и екстензије веће код испитаника са 2. радиографским стадијумом док су вредности бола, укочености и функције зглоба колена веће код испитаника са 3. радиографским стадијумом.

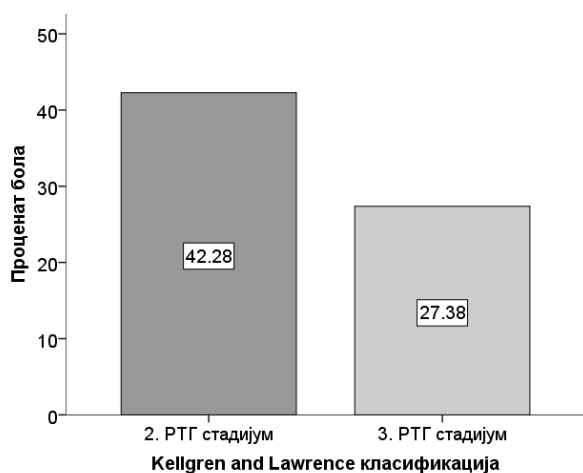
4.6.4. Процент бола и проценат функције колена

За анализу процента бола и процента функције колена у односу на К-L класификацију у случају да су подаци пратили нормалну расподелу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док у случају да подаци нису пратили нормалну расподелу коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 44.

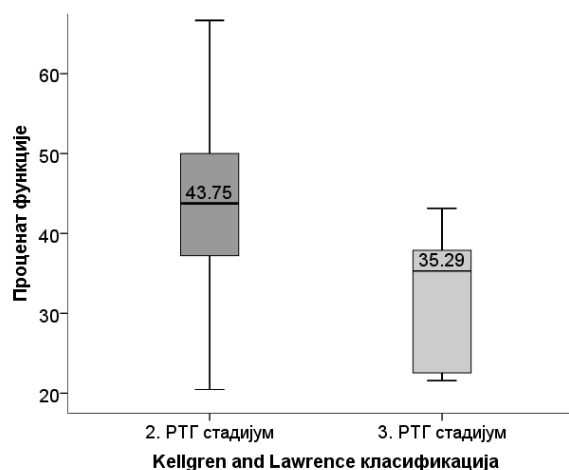
Табела 44. Процент бола у односу на К-L класификацију

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Процент бола	2,438	58	0,018
Процент функције	3,181	-	0,001

Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке и *Mann – Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика процента бола и процента функције у односу на К-L класификацију.



Графикон 38. Процент бола у колелу у односу на радиографски степен ОА



Графикон 39. Процент функције у односу на радиографски степен ОА

Са Графикона се уочава да су веће вредности процента бола и процента функције код испитаника са 2. радиографским стадијумом.

4.6.5. Лабораторијске анализе крви

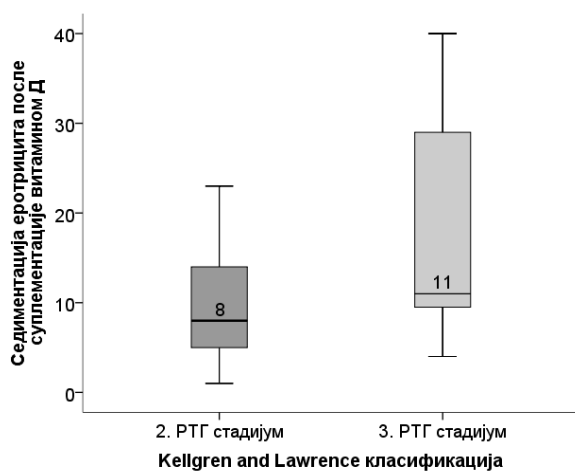
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 45.

Табела 45. Лабораторијске анализе крви у односу на К-Л класификацију

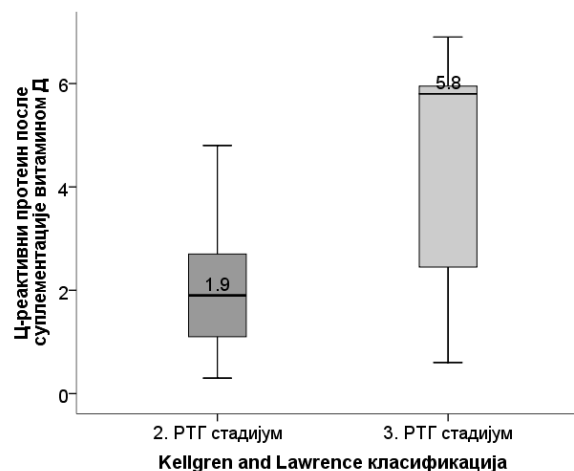
Лабораторијска анализа крви	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Se	2,410	-	0,016	2,095	-	0,036
Le	0,278	58	0,782	0,032	58	0,974
CRP	2,465	-	0,014	2,745	-	0,006
Ca ²⁺	0,603	58	0,549	1,336	58	0,187
Витамин D	0,525	58	0,602	1,328	-	0,184

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом *Mann – Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности седиментације и CRP-а у односу на К-Л класификацију. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



Графикон 40. Вредности SE у односу на радиографски степен ОА после суплементације



Графикон 41. Вредности CRP-а у односу на радиографски степен ОА после суплементације

Са Графикона се уочава да су значајно веће вредности и седиментације и CRP-а код испитаника са 3. радиографским стадијумом.

4.6.6. Дужина примене лекова против болова у данима

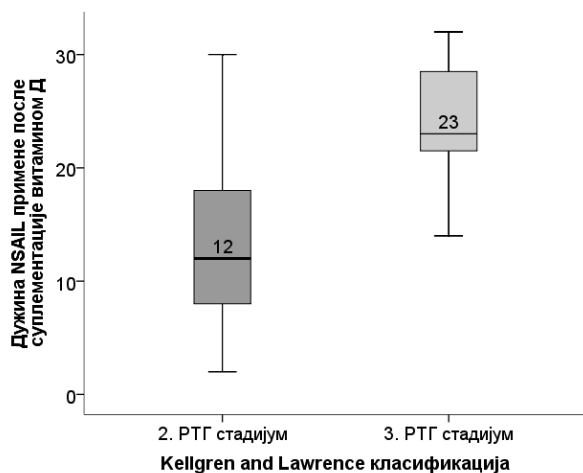
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је је *Student*-ов *t*-тест за независне узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 46.

Табела 46. Дужина примене лекова против болова у односу на К-Л класификацију

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	5,976	51	0,000	3,395	-	0,001
Paracetamol	-	-	-	-	-	-

NSAID - нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Mann – Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика дужине примене NSAID против болова у односу на К-Л класификацију. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 42. Дужина примене лекова против болова у односу на радиографски степен ОА после суплементације

Са Графикона се уочава да је значајно дужа примена NSAID против болова код испитаника са 3. радиографским стадијумом.

4.7. АНАЛИЗА У ОДНОСУ НА ВРЕДНОСТИ ВИТАМИНА D

Ову статистику радимо само за експерименталну групу.

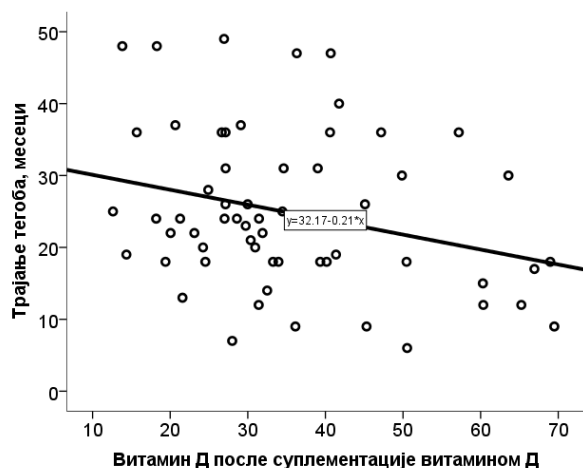
4.7.1. Трајање тегоба у месецима

С обзиром на то да подаци не прате нормалну расподелу, за анализу трајања тегоба у односу на вредност витамина D коришћен је метод корелације и регресије односно тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 47.

Табела 47. Трајање тегоба у односу на серумске вредности витамина D

	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
Трајање тегоба – Вит D пре суплементације	-0,088	60	0,504
Трајање тегоба – Вит D после суплементације	-0,281	60	0,030

Применом метода корелације и регресије односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност између трајања тегоба и вредности витамина D после суплементације. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 43. Трајање тегоба код пацијената са ОА колена у односу на вредност витамина D после суплементације

Са Графикона се уочава да са порастом вредности витамина D долази до смањења трајања тегоба.

4.7.2. Функционално тестирање

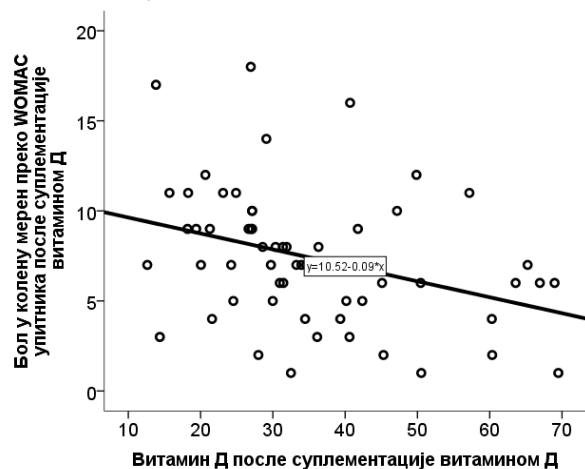
За анализу вредности флексије, екстензије, бола, укочености и функције зглоба колена у односу на вредност витамина Д коришћен је метод корелације и регресије при чему је за податке који прате нормалну расподелу тумачена вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације док за податке који не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 48.

Табела 48. Мере функционалног тестирања у односу на серумске вредности витамина D

	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
MORF	-0,186	60	0,154	0,172	60	0,189
MOPE	-0,186	60	0,154	0,172	60	0,189
WOMAC бол	-0,106	60	0,422	-0,408	60	0,001
WOMAC укоченост	0,083	60	0,529	-0,332	60	0,010
WOMAC функција	0,108	60	0,410	-0,172	60	0,189
VAS	-0,091	60	0,490	-0,230	60	0,077

MORF- мерење обима покрета флексије; MOPE - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала.

Применом метода корелације и регресије утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност између бола и укочености после суплементације у односу на вредност витамина D.



Графикон 44. Вредности WOMAC упитника за бол у односу на серумску

концентрацију витамина D после суплементациј

Са Графикана се уочава да се са порастом вредности витамина D смањује вредност бола и укочености након суплементације.

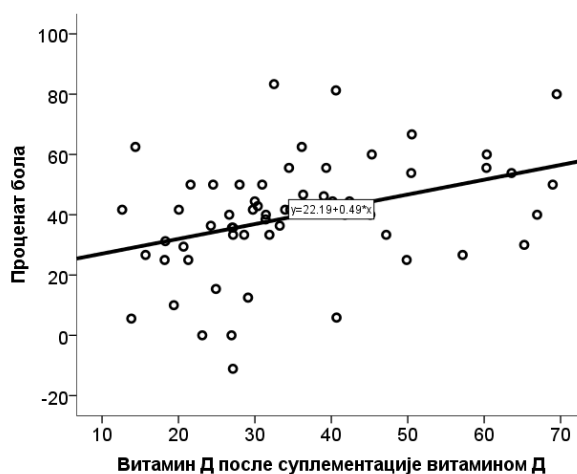
4.7.3. Процент бола и проценат функције колена

За анализу процента бола и процента функције колена у односу на вредност витамина D коришћен је метод корелације и регресије при чему уколико су подаци пратили нормалну расподелу тумачена је вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације а у случају да подаци нису пратили нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 49.

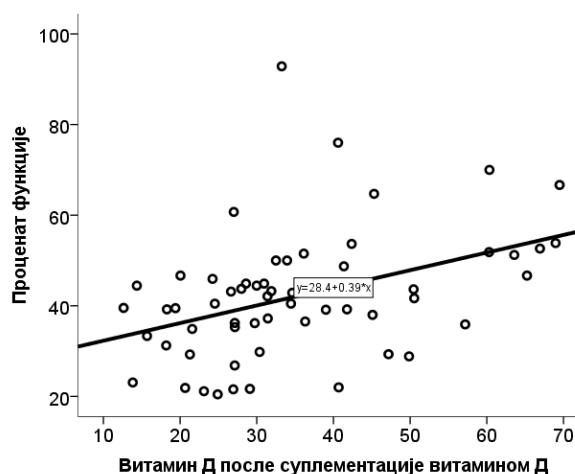
Табела 49. Процент бола и функције у односу на серумске вредности витамина D

	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
Процент бола	0,377	60	0,003
Процент функције	0,461	60	0,000

Применом метода корелације и регресије односно тумачењем вредности *Pearson*-овог и *Spearman*-овог коефицијента корелације утврђено је да постоји статистички значајна повезаност између процента бола и процента функције у односу на вредност витамина D.



Графикон 46. Процент бола у односу на серумску концентрацију витамина D после суплементације



Графикон 47. Процент функције у односу на серумску концентрацију витамина D после суплементације

Са Графикана се уочава да се са повећањем вредности витамина D повећава и проценат бола и проценат функције.

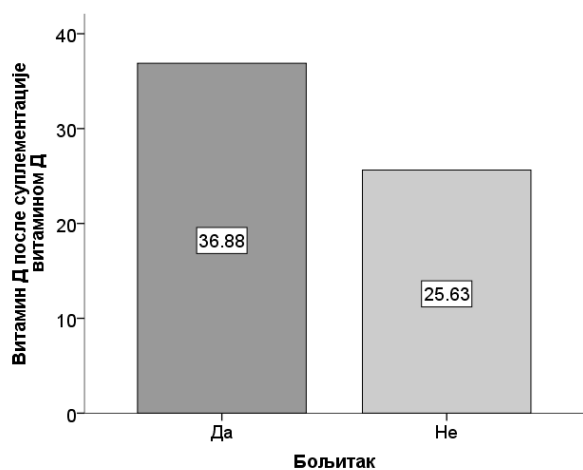
4.7.4. Бољитак

За анализу бољитка у односу на вредност витамина D коришћен је за *Student*-ов *t*-тест независне узорке. Резултати ове анализе приказани су у Табели 50.

Табела 50. Бољитак у односу на серумске вредности витамина D

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Бољитак	2,079	58	0,042

Применом *Student*-овог *t*-теста за независне узорке утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности витамина D у односу на бољитак. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 48. Вредности витамина D у серуму у односу на бољитак после суплементације

Са Графикона се уочава да су значајно веће вредности витамина D код испитаника који су имали бољитак.

4.7.5. Лабораторијске анализе крви

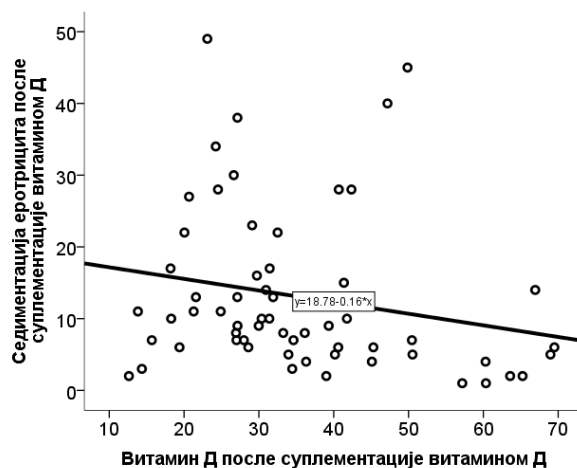
За анализу лабораторијских анализа крви у односу на вредност витамина D коришћен је метод корелације и регресије при чему је за податке који прате нормалну расподелу тумачена вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације док за податке који не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*-овог коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 51.

Табела 51. Лабораторијске анализе крви у односу на серумске вредности витамина D

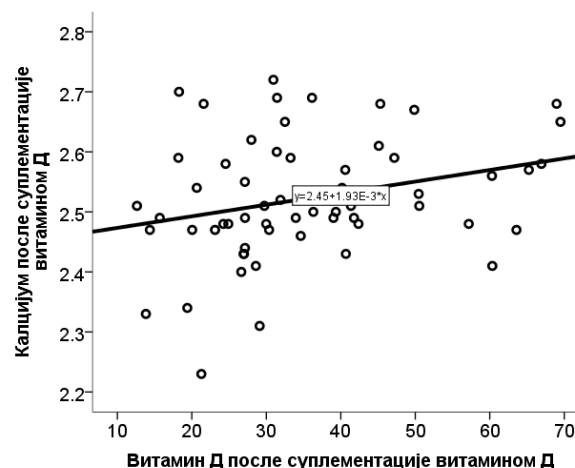
Лабораторијска анализа крви	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
SE	-0,176	60	0,179	-0,327	60	0,011
Le	-0,019	60	0,886	0,222	60	0,088
CRP	-0,044	60	0,738	-0,153	60	0,242
Ca ²⁺	0,233	60	0,073	0,289	60	0,025

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом методе корелације и регресије, односно тумачењем вредности *Pearson*-овог и *Spearman*-овог коефицијента корелације утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност вредности витамина D са SE и Ca²⁺.



Графикон 49. Вредности SE у односу на серумску концентрацију витамина D после суплементације



Графикон 50. Вредности Ca²⁺ у односу на серумску концентрацију витамина D после суплементације

Са Графикона се уочава да са порастом вредности витамина D седиментација опада док ниво Ca²⁺ расте.

4.7.6. Примена лекова против болова

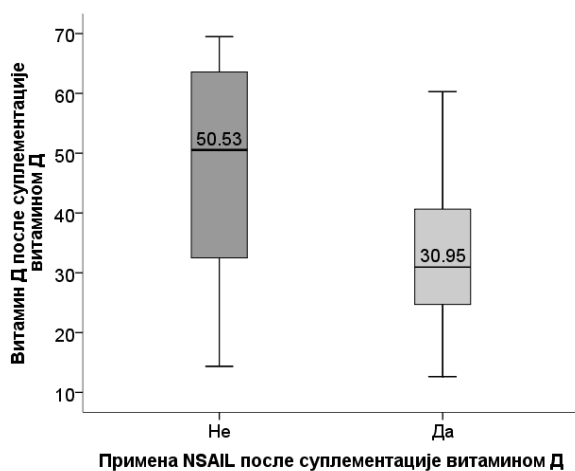
За анализу примене лекова против болова у односу на вредност витамина D коришћен је *Mann – Whitney U* тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 52.

Табела 52. Примена лекова против болова у односу на серумске вредности витамина D

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Статистика	Број степени слободе	Значајност	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	1,137	58	0,260	2,060	-	0,039
Paracetamol	1,137	58	0,260	0,843	-	0,400

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Mann – Whitney U* теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика вредности витамина D у односу на примену NSAID против болова. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 51. Вредности витамина D у односу на примену NSAID болова после суплементације

Са Графикона се уочава да они који и после суплементације витамином D користе NSAID против болова имају значајно ниже вредности витамина D.

4.7.7. Дужина примене лекова против болова у данима

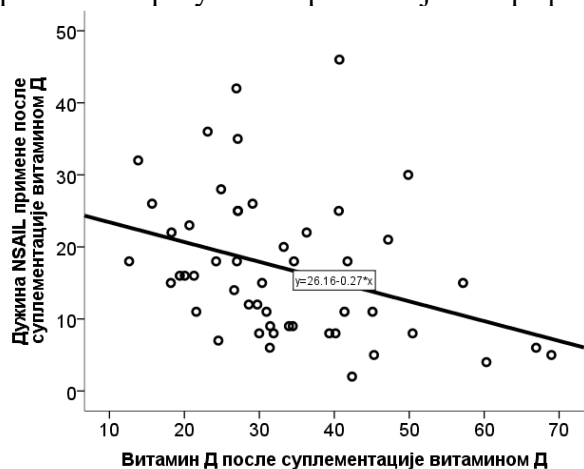
За анализу дужину примене лекова против болова у односу на вредност витамина D коришћен је метод корелације и регресије при чему је за податке који прате нормалну расподелу тумачена вредност *Pearson*-овог коефицијента корелације док за податке који не прате нормалну расподелу тумачена је вредност *Spearman*- коефицијента корелације. Резултати ове анализе приказани су у Табели 53.

Табела 53. Дужина примене лекова против болова у односу на серумске вредности витамина D

Лекови против болова	Пре суплементације витамином D			После суплементације витамином D		
	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност	Коефицијент корелације	Број случајева	Значајност
NSAID	0,016	53	0,908	-0,427	51	0,002
Paracetamol	-0,239	7	0,606	-0,667	5	0,219

NSAID – нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом методе корелације и регресије односно тумачењем вредности *Spearman*-овог коефицијента корелације утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност дужине примене NSAID против болова у односу на вредност витамина D. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 52. Дужина примене NSAID против болова у односу на серумску концентрацију витамина D после суплементације

Са Графикона се уочава да се са порастом вредности витамина D после суплементације смањује дужина примене NSAID против болова.

4.8. АНАЛИЗА ВРЕДНОСТИ ПРЕ И ПОСЛЕ СУПЛЕМЕНТАЦИЈЕ ВИТАМИНОМ D

4.8.1. Мануелни мишићни тест

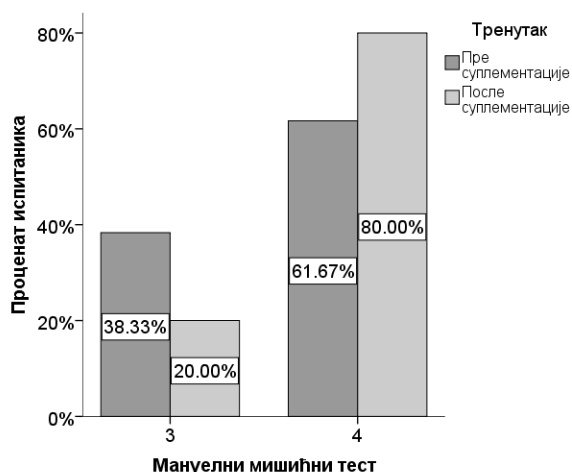
За анализу повезаности резултата мануелног мишићног теста у односу на вредност витамина D пре и после суплементације коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 54.

Табела 54. Оцена на ММТ-у пре и после суплементације витамином D

	Статистика	Број степени слободе	Значајност
Мануелни мишићни тест	4,881	1	0,027

ММТ – мануелни мишићни тест.

Применом *Hi-kvadrat* теста за независност утврдили смо да резултат мануелног мишићног теста и вредност витамина D пре и после суплементације витамином D јесу зависна обележја. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 53. Процент испитаника у односу на оцену на мануелном мишићном тесту пре и после суплементације

Са Графикона се уочава да је после суплементације витамином D значајно већи проценат испитаника са оценом 4 на мануелном мишићном тесту.

4.8.2. Функционално тестирање

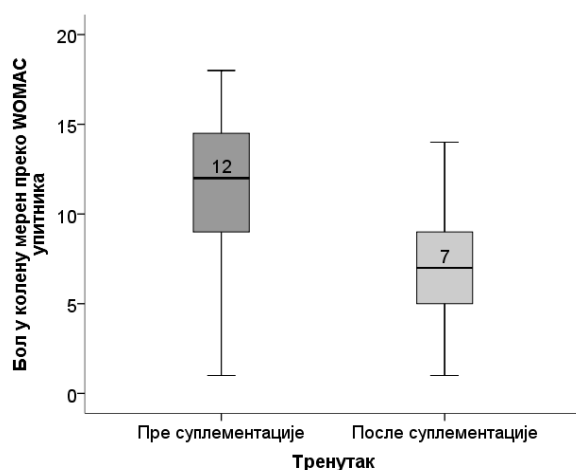
За податке који прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке док за податке који не прате нормалну расподелу за анализу коришћен је *Wilcoxon*-ов тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 55.

Табела 55. Мере функционалног тестирања пре и после суплементације витамина D

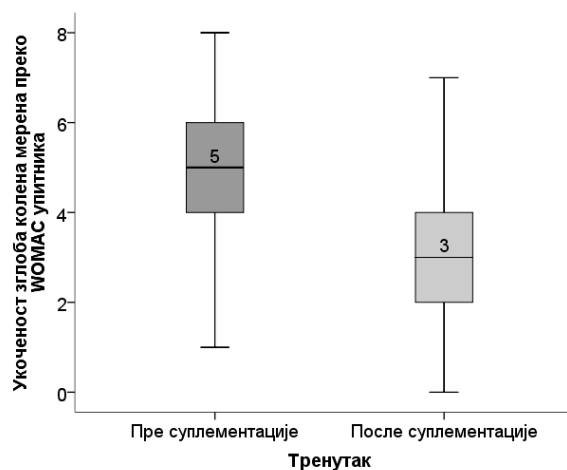
	Статистика	Број степени слободе	Значајност
MOPF	0,000	-	1,000
MOPE	0,000	-	1,000
WOMAC бол	6,213	-	0,000
WOMAC укоченост	6,746	-	0,000
WOMAC функција	22,035	59	0,000
VAS	6,738	-	0,000

MOPF- мерење обима покрета флексије; MOPE - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала.

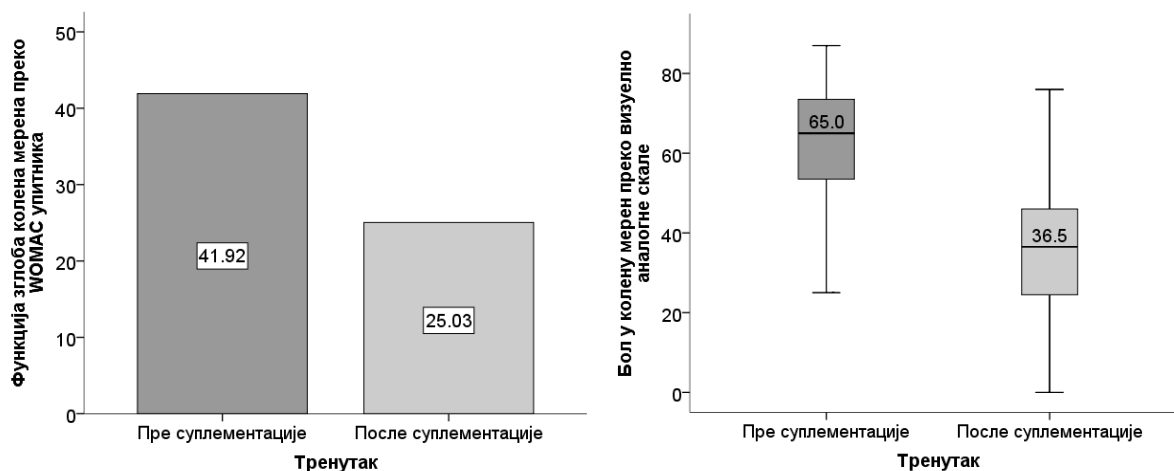
Применом *Student*-овог *t*-теста за упарене узорке и *Wilcoxon*-овог теста утврдили смо да постоји статистички значајна разлика бола, укочености и функције зглоба колена пре и после суплементације витамином D. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



Графикон 54. Вредности WOMAC упитника за бол у колелу пре и после суплементације



Графикон 55. Вредности WOMAC упитника за укоченост у колелу пре и после суплементације



Графикон 56. Вредности WOMAC упитника за функцију пре и после суплементације

Графикон 56. Вредности VAS скале за бол у колелу пре и после суплементације

Са Графикона се уочава да су вредности бола, уочености и функције зглоба колена мање након суплементације витамином D.

4.8.3. Лабораторијске анализе крви

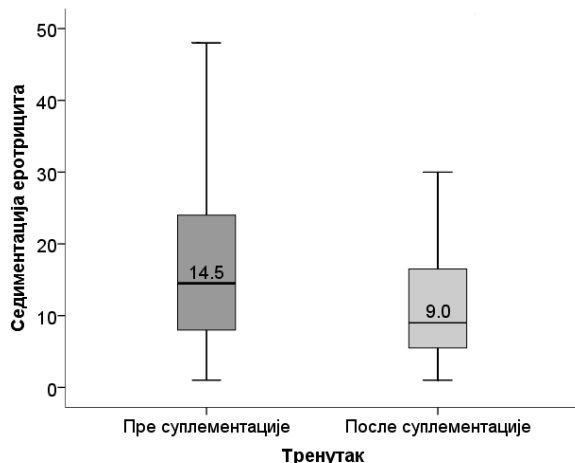
За анализу вредности лабораторијских анализа крви пре и после суплементације витамином D коришћен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке односно *Wilcoxon*-ов тест у зависности од тога да ли су подаци пратили нормалну расподелу. Резултати ове анализ приказани су у Табели 56.

Табела 56. Лабораторијске анализе крви пре и после суплементације витамина D

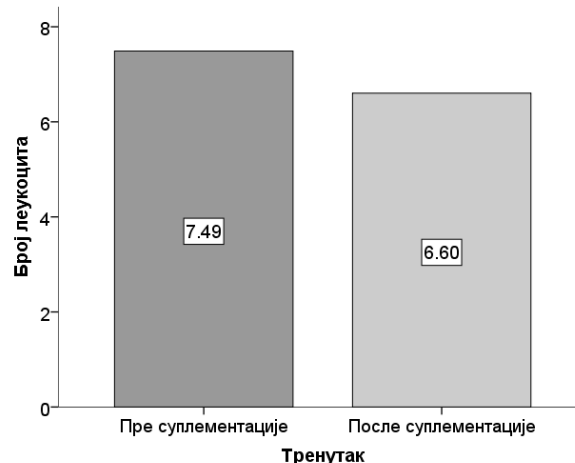
Лабораторијска анализа крви	Статистика	Број степени слободе	Значајност
SE	4,659	-	0,000
Le	4,913	59	0,000
CRP	4,778	-	0,000
Ca ²⁺	6,472	59	0,000
Витамин D	6,493	-	0,000

SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

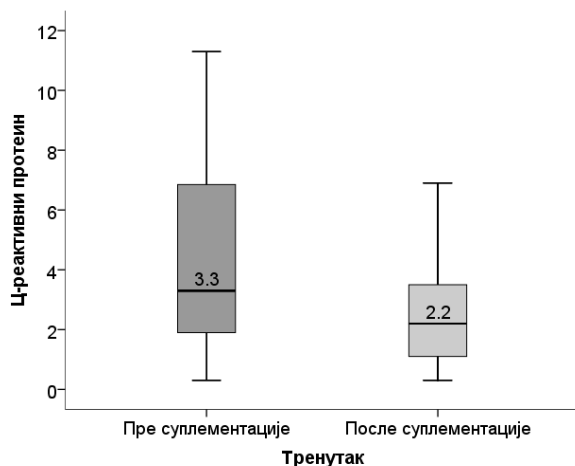
Применом *Student*-овог *t*-теста за упарене узорке и *Wilcoxon*-овог теста утврдили смо да је после суплементације витамином D дошло до статистички значајне разлике свих разматраних лабораторијских анализа крви. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



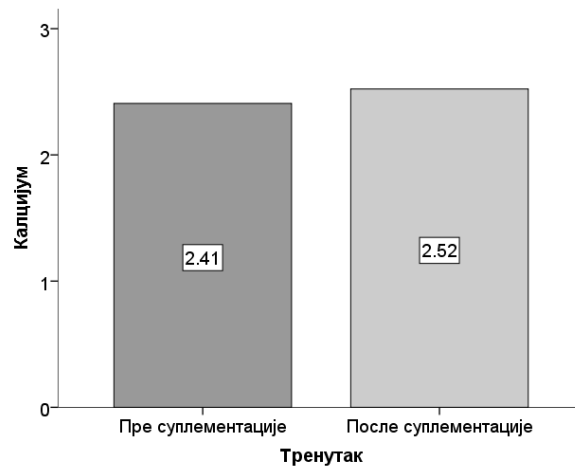
Графикон 57. Вредности седиментације еритроцита пре и после суплементације витамином D



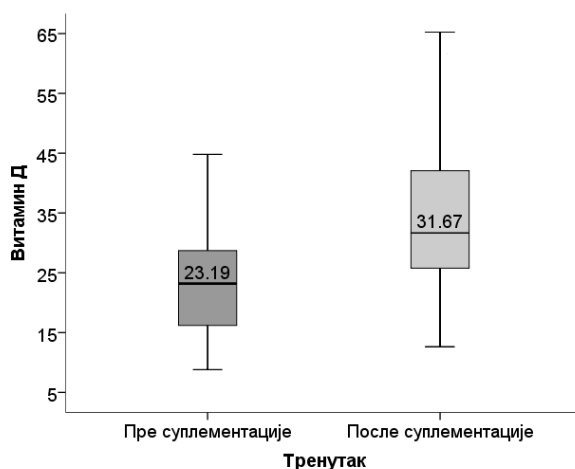
Графикон 58. Број леукоцита пре и после суплементације витамином D



Графикон 59. Вредности CRP-а пре и после суплементације витамином D



Графикон 60. Концентрација Калцијума пре и после суплементације витамином D



Графикон 61. Вредности витамина D у серуму пацијената са ОА колена пре и после суплементације

Са Графикона се уочава да је после суплментације витамином D дошло да значајног снижавања вредности SE, броја Le, CRP-а, док су се вредности Ca²⁺ и витамина D (трицијално) повећале.

4.8.4. Примена лекова против болова

За анализу примене лекова против болова пре и после суплементације витамином D коришћен је *Hi-kvadrat* тест за независност. Резултати ове анализе приказани су у Табели 57.

Табела 57. Примена лекова против болова код пацијената са ОА колена.

Лекови против болова	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	0,288	1	0,591
Paracetamol	0,370	1	0,543

NSAID - нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом хи-квадрат теста за независност утврдили смо да се примена лекова против болова не разликује значајно пре и после суплементације витамином D.

4.8.5. Дужина примене лекова против болова у данима

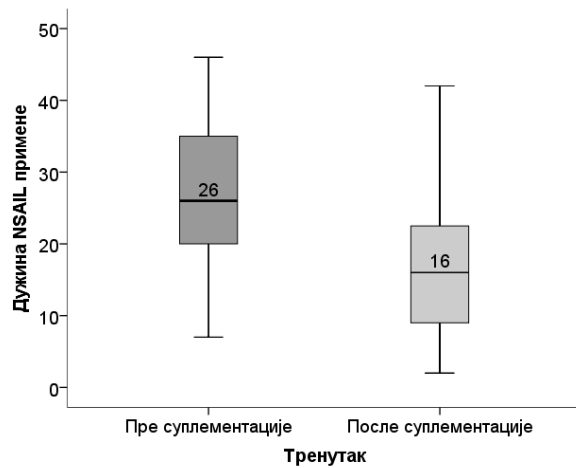
За анализу вредности дужине примене лекова против болова пре и после суплементације витамином D коришћен је *Student-ов t-тест* за упарене узорке односно *Wilcoxon-ов тест* у зависности од тога да ли су подаци пратили нормалну расподелу. Резултати ове анализ приказани су у Табели 58.

Табела 58. Дужина примене лекова против болова пре и после суплементације витамина D

Лекови против болова	Статистика	Број степени слободе	Значајност
NSAID	6,088	-	0,000
Paracetamol	4,077	2	0,055

NSAID - нестероидни антиинфламаторни лекови.

Применом *Wilcoxon-овог* теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика дужине примене NSAID против болова пре и после суплементације витамином D. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 62. Дужина примене NSAID против болова код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D

Са Графикона се уочава да је значајно краћа примена NSAID против болова код испитаника после суплементације витамином D.

4.8.6. Инфламаторни цитокини

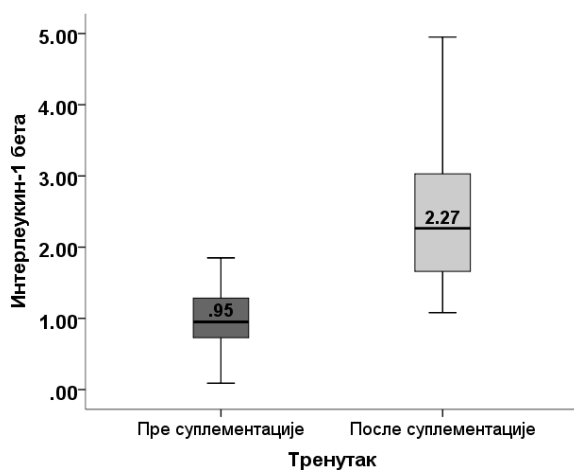
За анализу вредности инфламаторних цитокина пре и после суплементације витамином D коришћен је *Wilcoxon*-ов тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 59.

Табела 59. Вредности инфламаторних цитокина пре и после суплементације витамином D

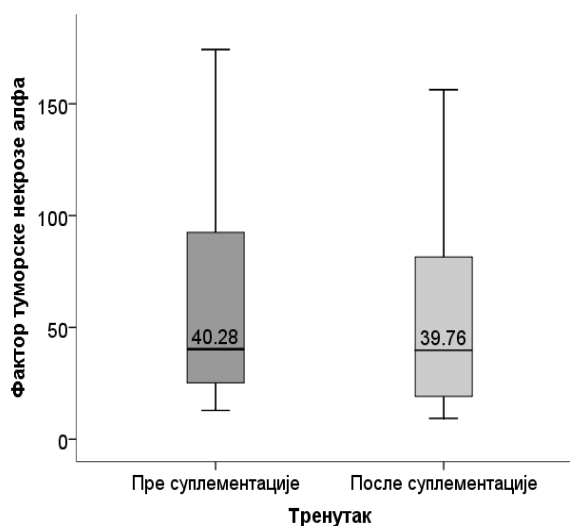
Инфламаторни цитокини	Статистика	Број степени слободе	Значајност
IL-1 β	5,050	-	0,000
TNF- α	3,504	-	0,000
IL-23	2,083	-	0,000
IL-17	6,342	-	0,000
IL-33	6,633	-	0,000
Gal-3	6,228	-	0,000

IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

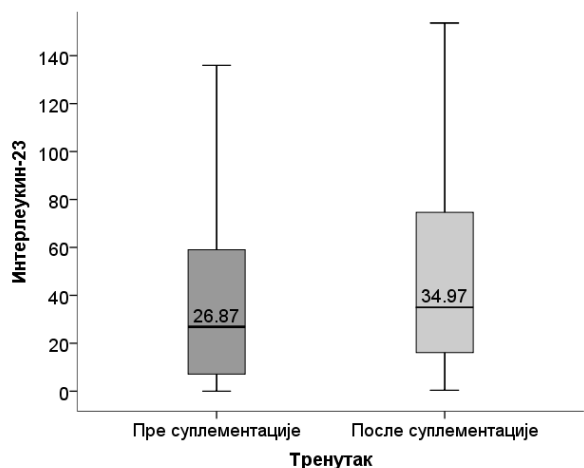
Применом *Wilcoxon*-овог теста утврдили смо да је после суплементације витамином D дошло до статистички значајне разлике свих разматраних проинфламаторних цитокина. Графички приказ ових резултата приказан је на Графиконима.



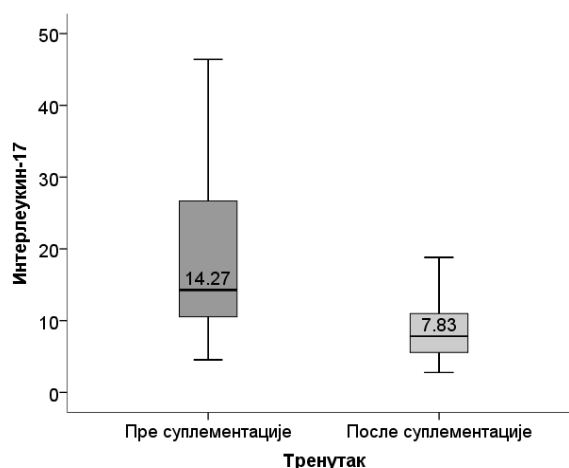
Графикон 63. Вредности IL-1 β код пацијената са ОА пре и после суплементације витамином D



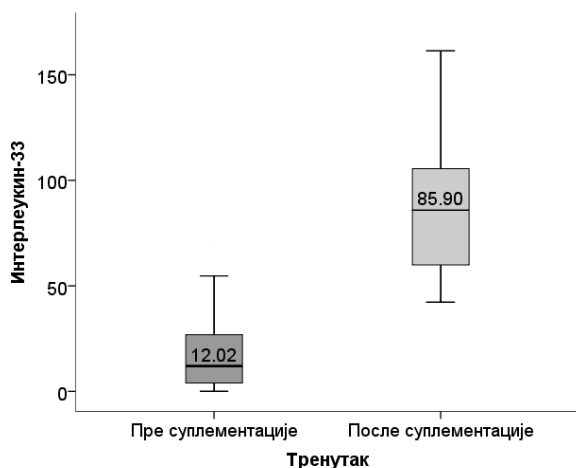
Графикон 64. Вредности TNF- α код пацијената са ОА пре и после суплементације витамином D



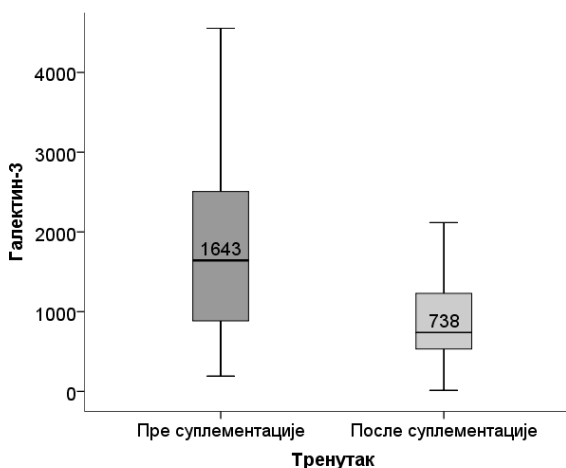
Графикон 65. Вредности IL-23 код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 66. Вредности IL-17 код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 67. Вредности IL-33 код са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 68. Вредности Gal-3 код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D

Са Графикона се уочава да је након суплементације витамином D дошло до повећања вредности IL-1 β , IL-23 и IL-33, а до снижавања вредности осталих проинфламаторних цитокина.

4.8.7. Антиинфламаторни цитокини

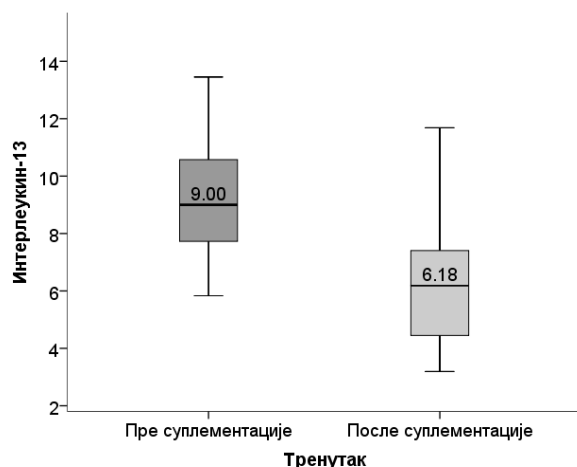
За анализу вредности антиинфламаторних цитокина пре и после суплементације витамином D коришћен је *Wilcoxon*-ов тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 60.

Табела 60. Вредности антиинфламаторних цитокина пре и после суплементације витамином D

Антиинфламаторни цитокини	Статистика	Број степени слободе	Значајност
IL-4	1,292	-	0,196
IL-13	5,267	-	0,000

IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

Применом *Wilcoxon*-овог теста утврдили смо да је после суплементације витамином D дошло до статистички значајне разлике антиинфламаторног цитокина IL-13. Графички приказ овог резултата приказан је на Графикону.



Графикон 69. Вредности IL-13 код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D

Са Графикона се уочава да је након суплементације витамином D дошло до снижавања вредности IL-13.

4.8.8. Параметри оксидационог стреса

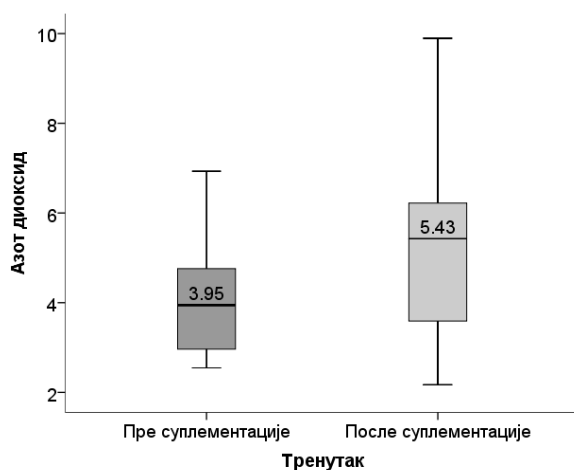
За анализу вредности параметара оксидационог стреса пре и после суплементације витамином D коришћен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке уколико су подаци пратили нормлану расподелу односно Вилкоксон тест уколико подаци нису пратили нормалну расподелу. Резултати ове анализе приказани су у Табели 61.

Табела 61. Параметри оксидационог стреса пре и после суплементације витамином D

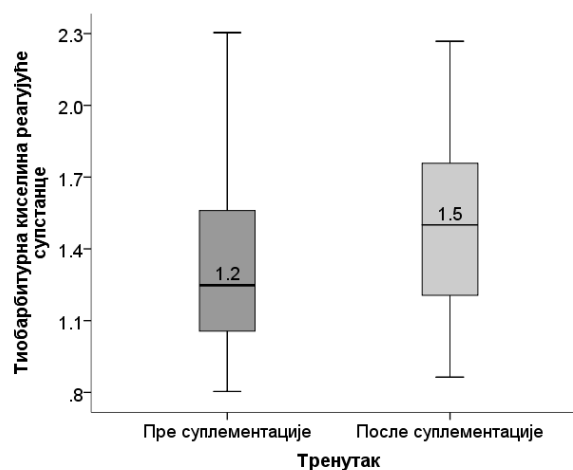
Параметри оксидационог стреса	Статистика	Број степени слободе	Значајност
O ₂	1,561	-	0,119
H ₂ O ₂	0,491	59	0,625
NO ₂	3,169	-	0,002
TBARS	2,369	-	0,018
GSH	2,466	-	0,014
SOD	6,729	-	0,000
CAT	6,692	-	0,000

O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот моноксид у облику нитрата; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

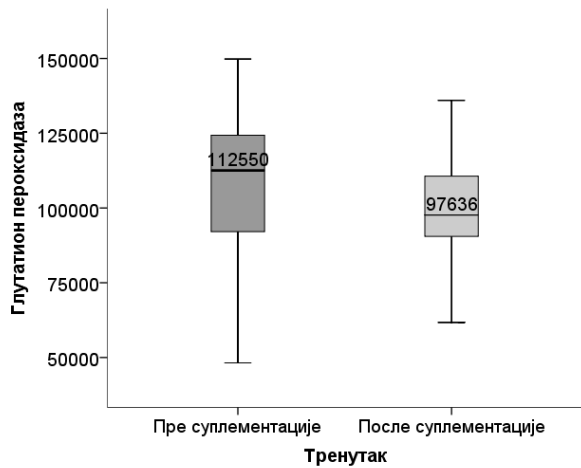
Применом *Wilcoxon*-овог теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика за следеће параметре оксидационог стреса NO₂, TBARS, GSH, SOD и CAT пре и после суплементације витамином D.



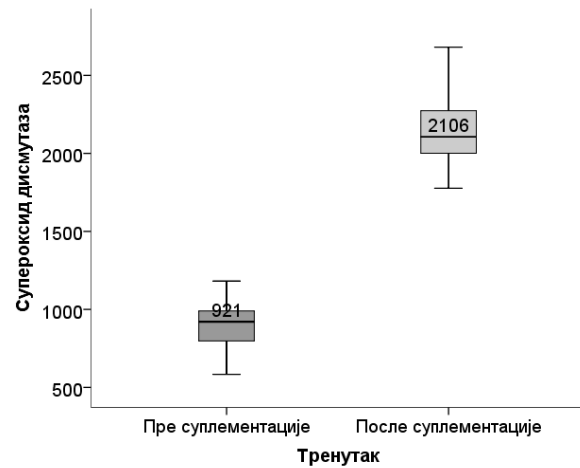
Графикон 70. Вредности NO₂ код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



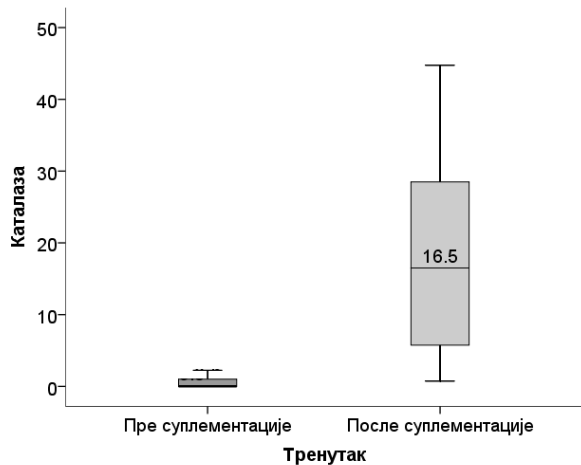
Графикон 71. Вредности TBARS код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 72. Вредности GSH код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 73. Вредности SOD код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D



Графикон 74. Вредности CAT код пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D

Са Графикона се уочава да после суплементације витамином D долази до повећања вредности NO₂, TBARS, SOD и CAT док се вредност GSH смањује.

4.8.9. Функционално тестирање

Прво је тестирана нормалност расподеле помоћу *Shapiro-Wilk*-овог теста с обзиром да је било мање од 50 испитаника по групи. Уколико су подаци пратили нормалну расподелу примењен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке а у супротном непараметарски *Wilcoxon*-ов тест. Однос просечних вредности или медијана за податке које се односе на вредност пре и после суплементације витамином D дат је у Табели 62.

Табела 62. Вредности функционалног тестирања у односу на групу пацијената са ОА колена пре и после суплементације витамином D

	Витамин D до 20 ng/ml N=23		Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml N=24		Витамин D преко 30 ng/ml N=13		Контролна група N=20	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Обим колена	41,90	42,00	40,83	40,79	41,07	41,62	42,03	42,70
МОРФ	140	180	140	180	140	180	140	170
МОРЕ	140	180	140	180	140	180	140	170
WOMAC бол	11,50	7,70	11,80	7,63	9,83	6,38	10,70	15,35
WOMAC укоченост	5	3	5,33	3,25	5	3	4,43	6,00
WOMAC функција	40,5	24	46,5	27	43	27	43,97	60,20
VAS	65,37	36,48	62,57	36,63	58,10	34,08	62	83

1- пре суплементације витамином D; 2 - после суплементације витамином D; МОРФ- мерење обима покрета флексије; МОРЕ - мерење обима покрета екстензије; WOMAC - Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index; VAS - визуелно аналогна скала;

Утврђено је да постоји статистички значајна разлика пре и после суплементације витамином D у односу на групу испитаника за све вредности функционалног тестирања, осим за обим колена у групи пацијената са ОА колена и нормалним вредностима витамина D и контролној групи.

4.8.10. Лабораторијске анализе крви

Однос просечних вредности или медијана за испитиване лабораторијске анализе крви које се односе на вредности пре и после суплементације витамином D дат је у Табели 63.

Табела 63. Лабораторијске анализе крви пре и после суплементације у односу на групу пацијената са ОА колена.

Лабораторијска анализа крви	Витамин D до 20 ng/ml N=23		Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml N=24		Витамин D преко 30 ng/ml N=13		Контролна група N=20	
	1	2	1	2	1	2	1	2
SE	16	10	14,5	10	8	6	12,23	13,85
Le	7,02	6,10	7,24	6,92	6,89	6,63	5,32	6,15
CRP	4,25	2,20	3,25	2,20	2,70	2,20	1,70	2,00
Ca ²⁺	2,37	2,52	2,40	2,51	2,40	2,58	2,43	2,40
Витамин D	14,22	26,04	24,75	32,20	34,70	50,53	26,14	24,80

1- пре суплементације витамином D; 2 - после суплементације витамином D; SE - седиментација еритроцита; Le - број леукоцита; CRP - Ц-реактивни протеин; Ca²⁺ - Калцијум.

Применом *Student*-овог *t*-теста за упарене узорке или *Wilcoxon*-овог теста за податке који нјсу пратили нормалну расподелу добили смо статистички значајну разлику за број леукоцита, CRP, калцијум као и за концентрацију витамина D серуму у свим групама. У контролној групи и експерименталној групи са инсуфицијенцијом витамина D седиментација еритроцита није достигла статистичку значајност.

4.8.11. Проинфламаторни цитокини

Однос просечних вредности или медијана за испитиване цитокине које се односе на вредности пре и после суплементације витамином D дат је у Табели 64.

Табела 64. Вредности проинфламаторних цитокина пре и после суплементације у односу на групу пацијената са ОА колена.

Проинфламаторни цитокини	Витамин D до 20 ng/ml N=23		Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml N=24		Витамин D преко 30 ng/ml N=13		Контролна група N=20	
	1	2	1	2	1	2	1	2
IL-1 β	1,31	2,97	1,05	2,12	1,72	2,36	1,88	3,53
TNF- α	47,40	39,25	56,17	40,59	73,49	27,69	54,34	65,98
IL-23	32,36	27,25	41,12	39,46	39,16	53,82	46,07	22,04
IL-17	10,72	7,61	12,84	7,97	9,77	7,97	6,55	14,93
IL-33	14,34	75,38	11,41	89,30	7,49	96,11	16,20	42,91
GAL-3	1310	646	1703	758	1374	1053	1715	679

1- пре суплементације витамином D; 2 - после суплементације витамином D; IL-1 β – Интерлеукин 1 бета; TNF- α - Фактор туморске некрозе-алфа; IL-23 - Интерлеукин-23; IL-17 - Интерлеукин-17; IL-33 - Интерлеукин-33; Gal-3 - Галектин-3.

Из Табеле 64. закључујемо да применом *Student*-овог *t*-теста за упарене узорке или *Wilcoxon*-овог теста за податке који нјесу пратили нормалну расподелу, постоји статистички значајна разлика пре и после суплементације витамином D за вредности проинфламаторних цитокина IL-17, IL-33 и Gal-3 у свим групама.

4.8.12. Антиинфламаторни цитокини

За анализу вредности антиинфламаторних цитокина пре и после суплементације витамином D коришћен је у зависности од тога да ли су подаци пратили нормалну расподелу, коришћен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке или *Wilcoxon*-ов тест. Резултати ове анализе приказани су у Табели 65.

Табела 65. Вредности антиинфламаторних цитокина пре и после суплементације у односу на групу пацијената са ОА колена.

Антиинфламаторни цитокини	Витамин D до 20 ng/ml N=23		Витамин D од 20 ng/ml до 30 ng/ml N=24		Витамин D преко 30 ng/ml N=13		Контролна група N=20	
	1	2	1	2	1	2	1	2
IL-4	43,53	46,40	57,65	44,42	75,01	48,78	53,90	65,80
IL-13	9,83	6,06	9,82	6,51	12,17	5,25	9,58	10,33

1- пре суплементације витамином D; 2 - после суплементације витамином D; IL-4 - Интерлеукин-4; IL-13 -Интерлеукин-13.

Применом *Student*-овог *t*-теста за упарене узорке уколико су подаци пратили нормалну расподелу или *Wilcoxon*-овог теста за податке који нису пратили нормалну расподелу, из Табеле 65. се уочава да је после суплементације витамином D дошло до статистички значајне разлике антиинфламаторног цитокина IL-13 у свим групама.

4.8.13. Параметри оксидационог стреса

Однос просечних вредности или медијана за параметре оксидационог стреса у односу на групу испитаника пре и после суплементације витамином D приказан је у Табели 66. У зависности да ли су подаци пратили нормалну расподелу, коришћен је *Student*-ов *t*-тест за упарене узорке или *Wilcoxon*-ов тест.

Табела 66. Вредности параметара оксидационог стреса пре и после суплементације у односу на групу пацијената са ОА колена.

Параметри оксидационог стреса	Витамин Д до 20 ng/ml N=23		Витамин Д од 20 ng/ml до 30 ng/ml N=24		Витамин Д преко 30 ng/ml N=13		Контролна група N=20	
	1	2	1	2	1	2	1	2
O ₂	2,97	2,30	2,92	3,69	2,31	3,29	2,27	2,14
H ₂ O ₂	3,82	3,84	3,63	3,89	3,54	4,33	3,91	3,37
NO ₂	3,97	4,34	3,80	5,55	4,23	5,60	5,82	3,23
TBARS	1,25	1,49	1,16	1,46	1,16	1,68	1,26	1,22
GSH	117088	98503	112185	101394	100852	87351	112041	97810
SOD	949,24	2102,2	827,52	2081,8	896,55	2200,0	1894,4	3931,5
CAT	0,26	19,00	0,01	14,75	0,01	23,00	2,62	13,62

1- пре суплементације витамином D; 2 - после суплементације витамином D; O₂⁻ - супероксидни анјон; H₂O₂ - водоник пероксид; NO₂ азот моноксид у облику нитрата; TBARS - индекс липидне пероксидације; GSH - редуковани глутатион; SOD - супероксид дизмутаза; CAT - каталаза.

Према подацима приказаним у Табели 66. после суплементације витамином D дошло је до статистички значајне разлике у вредностима NO₂, TBARS, GSH, SOD и CAT.

5. ДИСКУСИЈА

Главни циљ овог истраживања био је испитати утицај 4000 i.j./dan витамина D након тромесечне суплементације на имунопатогенезу, оксидациони стрес и клиничке манифестације примарног ОА колена. Добро је позната значајна улога витамина D у минерализацији кости, њеном ремоделовању и одржању, али улога витамина D у патогенези ОА још увек није прецизно дефинисана. ОА је често удружен са недостатком витамина D и то углавном код старијих људи. Недостатак витамина D и ОА колена су распрострањени широм света.

Суплементација витамином D утиче на параметре инфламације код болесника са ОА колена. Патогенеза ОА је резултат поремећене равнотеже између анаболичких и катаболичких процеса хрскавице, у корист катаболизма што доводи до дегенерације хрскавице и развоја ОА. Недостатак витамина D је повезан са хроничним запаљењем (188). Доказано је да и урођени и стечени имунитет учествују у имунопатогенези ОА (7).

Наши резултати су открили да суплементација витамином D3 смањује системске вредности TNF- α , IL-13, IL-17 и Gal-3. Болесници са ОА колена су подељени на 3 експерименталне групе на основу вредности витамина D пре суплементације тј на групу са ОА колена и нормалним вредностима витамина D, групу са инсуфицијенцијом витамина D и групу са дефицијенцијом витамина D. Четврту групу чини контрола. TNF- α се значајно смањује у експерименталним групама са нормалним вредностима витамина D (70.35 pg/ml vs 59.16 pg/ml) и са инсуфицијенцијом витамина D (73.30 pg/ml vs 53.64 pg/ml), док се у групи са дефицијенцијом витамина D такође смањује али без статистичке значајности (59.15 pg/ml vs 53.64 pg/ml). Док се значајно повећава у групи контрола (63.67 pg/ml vs 94.99 pg/ml). IL-13 смањује се подједнако у свим експерименталним групама, и то у групи са нормалним вредностима витамина D (9.38 pg/ml vs 6.34 pg/ml), у групи са инсуфицијенцијом витамина D (9.70 pg/ml vs 6.62 pg/ml) као и у групи са дефицијенцијом витамина D (8.49 pg/ml vs 6.28 pg/ml), док се значајно повећава у контролној групи (9.03 pg/ml vs 12.46 pg/ml). IL-17 значајно се смањује у свим експерименталним групама, у групама са нормалним вредностима витамина D (17.38 pg/ml vs 8.69 pg/ml), у групи са инсуфицијенцијом витамина D (20.43 pg/ml vs 8.65 pg/ml) и у групи са дефицијенцијом витамина D (20.14 pg/ml vs 10.05 pg/ml). Док се значајно повећава у групи контрола (6.92 pg/ml vs 20.67 pg/ml). Gal-3 смањује се значајно у свим експерименталним групама, и то у групи са нормалним вредностима витамина D (1760.41 pg/ml vs 868.06 pg/ml), у групи са инсуфицијенцијом витамина D (1860.13 pg/ml vs 780.23 pg/ml) као и у групи са дефицијенцијом витамина D (2752.85 pg/ml vs 1288.9 pg/ml), али се такође значајно смањило и у контролној групи (2095.4 pg/ml vs 877.6 pg/ml). Смањење је приближно у све 3 експерименталне групе као и у контролној групи. IL-1 β повећава се значајно у у групи са нормалним вредностима витамина D (3.35 pg/ml vs 5.35 pg/ml) и у групи са инсуфицијенцијом витамина D (1.53 pg/ml vs 2.87 pg/ml), такође, расте и у групи контрола и то повећање у групи контрола је десетоструко (2.35 vs 20.60). IL-1 β се повећава у групи са дефицијенцијом витамина D (8.24 pg/ml vs 6.2 pg/ml), али то смањење није достигло статистичку значајност. IL-33 повећава се значајно у у групи са нормалним вредностима витамина D (37.15 pg/ml vs 149.19 pg/ml), у групи са инсуфицијенцијом витамина D (17.93 pg/ml vs 98.93 pg/ml) и у групи са дефицијенцијом витамина D (11.59 pg/ml vs 125.72 pg/ml). Повећање IL-33 је готово четвороструко у групи са нормалним вредностима витамина D и у групи са инсуфицијенцијом витамина D, док је у са дефицијенцијом витамина D десетоструко. Такође, повећава се готово дупло у контролној групи (23.98 pg/ml vs 53.52 pg/ml).

У складу са нашим налазима, недавне студије сугеришу повезаност суплементације витамином D3 са сличним променама имунског система код пацијената са ОА (150). Ин витро, ови ефекти резултирају смањеном производњом проинфламаторних маркера као што су: TNF- α , интерферон гама (IFN- γ), IL-2, IL-12, IL-17 и IL-21, али и са повећаном производњом антиинфламаторних цитокина као што је IL-10 (189). Витамин D утиче на одговоре T ћелија индиректно, инхибирањем ћелија које представљају антиген (регулација њихове функције у презентацији антигена), и директно, инхибицијом производње IL-2, IL-17 и IL-21 и стимулацијом продукције IL-4 и IL-10 (37, 148). Занимљиво је да смо открили повећање проинфламаторних цитокина урођеног имунитета IL-1 β и IL-23 након суплементације витамина D3. У контролној групи такође је регистровано повећање IL-1 β , што указује на независну промену овог цитокина од витамина D3. Ипак, њихови парњаци у стеченом имунитету (TNF- α и IL-17) су смањени након истог третмана, што указује на потенцијално другачији утицај суплементације витамина D3 на урођени и стечени имунитет код пацијената са ОА колена.

Ozler и сарадници (190) су у студији са ОА колена 3 и 4 степена према K-L класификацији, показали да ниво TNF- α у серуму корелира са степеном радиографског ОА, при чему су серумски нивои овог цитокина већи у 4. степену него у 3. Сличне резултате су добили Stannus и сарадници (191), који су спровели лонгитудиналну студију пацијената са ОА колена у којој су открили да су вредности TNF- α у серуму повезан са сужењем зглобног простора и губитком хрскавице. Осим тога, солубилни TNF рецептори (*енг. Tumor necrosis factor receptor* - TNF-R) у серуму старијих гојазних пацијената са ОА колена показују позитивну корелацију са радиографским степеном тежине ОА, као и са болом и укоченошћу зглоба (192). У студији коју су спровели Dadaei и сарадници (193) орална суплементација витамином D3 код пацијената са хроничним инфламаторним болестима гастроинтестиналног тракта је смањила вредности TNF- α у серуму, без статистичке значајности, што је супротно нашим резултатима. У другим студијама пацијената са ОА, ниво серумског IL-17 био је значајно већи у поређењу са здравим контролама и позитивно је корелирао са WOMAC скалом за бол (194, 195, 196). IL-17 је укључен у рану фазу инфламације у ОА колена и регулише производњу металопротеиназа и смањује ниво протеогликана (197, 198). Постоји више клиничких студија са контрадикторним резултатима које су испитивале концентрацију IL-17 у серуму и синовијалној течности пацијената са ОА. Према подацима из доступне литературе две студије нису успеле да покажу разлику у концентрацији IL-17 и присуство Th17 ћелија у серуму пацијената са ОА и здравих контрола (199, 200). Са друге стране у студији коју су спровели Qi и сарадници (201) забележена је статистички значајно већа концентрација IL-17 у серуму ОА болесника.

Наше истраживање је показало смањене серумске концентрације IL-13 код болесника са ОА колена након суплементације витамином D у све три експерименталне групе, док су вредности овог цитокина у контролној групи без суплементације витамином D биле повећане. У једној од најважнијих студија о утицају IL-13 на ОА, узорци синовије су узети од 16 пацијената са ОА током процедуре имплантације тоталне ендопротезе колена (202). Пацијентима је дијагностикован ОА према ACR критеријумима, у III или IV стадијуму болести према радиографском снимку (203). Узети синовијални узорци су третирано проинфламаторним липополисахаридом (контролни узорци), а затим IL-13 (експериментални узорци). Резултати ове студије су у складу са нашим истраживањем, и показали су да је у поређењу са контролним узорцима IL-13 испољио инхибиторне ефекте на синтезу проинфламаторних IL-1 β , TNF- α и MMP-3 уз истовремени пораст нивоа IL-1Ra. Осим тога, синовијални фибробласти су показали супресију везивања IL-1 β за његов рецептор, што је узроковано повећаном

производњом и деловањем IL-1Ra. Показано је да IL-13 има способност да инхибира проинфламаторни ефекат TNF- α у односу на фибробласте пацијената са ОА (204). Примећено је значајно смањење синтезе PGE2 блокањем синтезе COX-2. Занимљиво је да у поређењу са IL-4 и IL-10, IL-13 не утиче на ниво производње PLA2. Ово може указивати на селективни ефекат IL-13 који укључује само инхибицију синтезе COX-2. У том контексту, фибробласти могу да испоље својства слична остеобластима (205). Анализа ових резултата указује на потенцијалну корисност IL-13 у лечењу ОА, као једињења које инхибира инфламаторне процесе, штити хондроците, смањује лучење инфламаторних цитокина и MMP, уз стимулисање синтезе IL-1Ra.

Резултати нашег истраживања указују на то да суплементација витамином D3 инхибира развој проинфламаторних имунских одговора типа 1 и типа 17 код пацијената са ОА колена. Установљен је ефекат витамина D3, као индуктора диференцијације Т ћелија у толерогеније стање са индукцијом Th2 ћелија и регулаторних Т ћелија (Tregs) као и ранје доказана нисходна регулација проинфламаторних Th1 и Th17 ћелија (148). IL-2 и IL-4 су били у фокусу студије у којој су примећени повишени нивои IL-2 и IL-4 у плазми пацијената са ОА колена у односу на здраве контроле. IL-4 је значајно позитивно повезан са радиографским степеном тежине ОА (206). У нашој студији, репрезентативни тип 2 цитокин, IL-4 је благо повећан након суплементације витамином D3, међутим ова промена није достигла статистичку значајност. Док, други цитокин IL-33, претходно утврђен као цитокин типа 2 (207), значајно је повећан у серуму пацијената са ОА колена који су лечени витамином D3, подржавајући феномен да суплементација витамином D3 фацилитира имунски одговор типа 2, док инхибира имунске одговоре типа 1 и типа 17 код болесника са ОА колена. Повећање IL-1 β и IL-33 може се објаснити њиховом заједничком припадности породици IL-1 цитокина и чињеницом да IL-1 β и IL-33 користе исти рецептор IL-1R3 (IL-1RAcP) и након тога активирају исти сигнални пут (208, 209). Чини се да суплементација витамином D3 није инхибирала производњу IL-1 β , или је његова инхибиција била надјачана фацилитирајућим ефектом IL-33 на IL-1 β (210, 211).

Концентрација IL-33 је значајно повећана у серуму пацијената са ОА колена који су били на суплементацији витамином D3. Тачна улога овог плејотропног цитокина у биологији ОА није у потпуности разјашњена. Показано је да IL-33 поларизује наивне Т ћелије према фенотипу типа 2, да би стимулисао производњу IL-4, IL-5 и IL-13 (212, 213). Претходне студије су откриле да IL-33 олакшава диференцијацију према типу 2 и супримира имунске одговоре типа 1 и 17 у експерименталним моделима тумора (214, 215). Чини се да витамин D3 и IL-33 делују на исти начин, када су у питању имуномодулаторни ефекти (216). Како се системска концентрација оба повећава, то имплицира њихову синергистичку улогу код болесника са ОА колена. Налаз позитивне корелације између концентрације IL-33 и витамина D3 након суплементације витамина D подржава претходну тврдњу. Осим тога, значајно повећане вредности односа IL-33/IL-1 β , IL-33/TNF- α , IL-33/IL-4, IL-33/IL-13, IL-33/IL-23 и IL-33/IL-17 код болесника са ОА колена након суплементације витамином D3, показују превагу IL-33 над проинфламаторним цитокинима након суплементације витамина D3. Овај налаз додатно указује на везу између суплементације витамина D3 и IL-33. Витамин D и сигнални путеви IL-33/ST2 су блиско укључени у ремоделовање кости код псоријазног артритиса (217). Поларизацију имунског одговора на тип 2 промовишу IL-33 и витамин D, који су стимулатори и Tregs и Th2 ћелија. Вероватно је да витамин D и IL-33 деле неке сигналне путеве, пошто показују заједничке улоге у имунском одговору (218). Витамин D делује преко VDR-а, који се експримирају на различитим типовима ћелија, укључујући имунокомпетентне ћелије које могу да производе IL-33 (219). Студија He Z и сарадника показала је повећану експресију IL-33 и његовог рецептора ST2 код пацијената са ОА, и

да употреба моноклонских антитела против IL-33 и ST2 ублажава и ОА и бол у експерименталном моделу ОА (216). Ова очигледна контрадикција у улози IL-33 у ОА може се објаснити његовом плејотропном функцијом. IL-33, у зависности од врсте ткива и цитокинског миљеа, може имати различите ефекте код ОА. Дакле, суплементација витамином D3 је смањила имунски одговор типа 1 и 17, а повећала системске вредности IL-33. Доминација IL-33 над проинфламаторним медијаторима у ОА колена може представљати механизам за ограничавање инфламаторног процеса и даљег оштећења ткива, што указује на IL-33 као важан регулатор интеракције имунског одговора код болесника са ОА колена након суплементације витамином D. Закључујемо да су потребне будуће студије да би се истражио тачан механизам који лежи у основи ефекта IL-33 у патогенетском механизму ОА колена.

Анализом концентрације Gal-3 у серуму пацијента са ОА колена утврдили смо да је концентрација Gal-3 значајно мања после суплементације витамином D3, али је значајно смањење регистровано и у контролној групи. У литератури готово да нема података о утицају суплементације витамина D на вредности Gal-3 код болесника са ОА колена и улога Gal-3 у патогенези ОА још увек није детаљно објашњена. Повећана секреција Gal-3 корелира са синовијалном инфламацијом и дегенерацијом хрскавице и кости у ОА (220). Студије на анималним моделима показале су да интраартикуларна ињекција Gal-3 доводи до отока колена код миша и лезија сличних ОА (221). Резултати клиничких студија доказали су везу између Gal-3 и дегенеративно измењене хрскавице. Ова повезаност се објашњава чињеницом да у хондроцитима са прогресивном дегенерацијом хрскавице долази до акумулације Gal-3 (222). Доказано је да недостатак Gal-3 смањује експресију проинфламаторних цитокина TNF- α и IL-1 β у инфламаторним ћелијама као и инфилтрацију ћелија урођеног имунитета у акутном панкреатитису (223). У нашем истраживању забележено је значајно смањене вредности односа Gal-3/TNF- α , Gal-3/IL-1 β , Gal-3/IL-13, Gal-3/IL-23 код болесника са ОА колена након суплементације витамином D3, које показује превагу проинфламаторних цитокина над Gal-3 што указује на потенцијално значајнији утицај суплементације витамина D на улогу проинфламаторних цитокина у оштећењу хрскавице.

После суплементације витамином D у нашој студији дошло је до значајног снижавања вредности SE, броја Le и CRP-а, док су се вредности Ca²⁺ и витамина D (трицијално) повећале. CRP је реактант акутне фазе запаљења који синтетишу и ослобађају углавном хепатоцити након стимулације цитокинима (224). Клиничке студије показују да је CRP у серуму код пацијената са ОА колена негативно повезан са клиничким симптомима као што су снага мишића (225) и бол у колону током мировања (226). Доказано је да нивои CRP у серуму корелирају са степеном KL класификације, као што су показали и резултати наше студије (227). У складу са нашом студијом, и резултати мета анализе која је обухватила 6 студија показали су значајне повољне ефекте суплементације витамина D на ниво циркулишућег Ц-реактивног протеина високе осетљивости (енг. High-sensitivity C-reactive protein - hs-CRP), посебно међу испитаницима са серумском концентрацијом hs-CRP ≥ 5 mg/L (228).

5.1. УТИЦАЈ ВИТАМИНА D НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА СА ОА КОЛЕНА

Физиолошка концентрација 25(OH)D појачава експресију нуклеарног фактора, еритроид-2 повезаног (Nf-E2) фактора-2 (Nrf2) (229). Када је статус витамина D адекватан, многе активности повезане са ћелијским оксидационим стресом су нисходно регулисане. Смањена серумска концентрација 25(OH)D онемогућава ћелији да се одбрани од оксидационог стреса, повећа оксидациони стрес и стопу апоптозе. Интрацелуларни ниво Nrf2 је у обрнутој корелацији са акумулацијом митохондријалних ROS (230) и последичном ескалацијом оксидационог стреса. Дакле, Nrf2 игра кључну улогу у заштити ћелије од оксидационог стреса, а ову улогу модулише витамин D (231). Витамин D такође појачава експресију глутатион пероксидазе која претвара РОС молекуле H_2O_2 у воду. Осим тога, витамин D такође утиче на формирање GSH кроз активацију ензима глукозо-6-фосфат дехидрогеназе (232), који нисходно регулише ниво азотног оксида (NO), моћног прекурсора за стварање ROS који претвара O_2^- у H_2O_2 и усходно регулише SOD. Ове активности повезане са витамином D заједно смањују интрацелуларно оптерећење ROS-ом (233).

У досадашњој литератури није описан утицај суплементације витамина D на параметре оксидационог стреса код болесника са ОА колена. Резултати ове тезе то први пут описују. Након суплементације витамина D у односу на групу испитаника (експериментална vs контролна) утврђено је да постоји статистички значајна разлика између следећих параметара оксидационог стреса O_2 , H_2O_2 , NO_2 , TBARS и SOD. Код пацијената са ОА колена после суплементације витамином D показане су значајно веће вредности следећих параметара оксидационог стреса NO_2 , TBARS, SOD и CAT док се вредност GSH смањила. Анализиран је утицај суплементације витамина D на параметре оксидационог стреса код болесника са дијабетес мелитусом тип 2. Резултати мета-анализе показали су да је код пацијената са дијабетесом суплементација витамина D имало значајне ефекте на нивое hs-CRP и значајно повећало вредности NO, TAC и GSH (234). Тромесечна суплементација 2000 i.j./dan витамина D код гојазних особа са смањеним серумским концентрацијама витамина D је била повезана са статистички значајним повећањем NO и VEGF-A (235). Dzik и сарадници (236) су доказали да је петонедељна суплементација витамином D код болесника са болом у доњем делу леђа и хиповитаминозом D повезана са смањењем SOD и GSH у поређењу са плацебом, а што је у сагласности са нашим резултатима. Такође, серумска концентрација витамина D корелира са маркерима оксидационог стреса код деце са бронхијалном астмом (237) и повезана је са гојазношћу код школске деце, што сугерише да недостатак витамина D потенцијално повећава ризик од болести узрокованих повећаном телесном масом и оксидационим стресом (238). Док, супротно резултатима наше студије, мета-анализа који су спровели Акбаги и сарадници показала да је суплементација холекалциферолом изазвала значајно смањење hs-CRP, али није утицала на вредности NO (239). Резултати различитих студија како на анималним моделима тако и на људима показали су да је витамин D ефикасан антиоксиданс (240, 241, 242) што потврђују и резултати наше студије.

5.2. СУПЛЕМЕНТАЦИЈА ВИТАМИНОМ D УТИЧЕ НА КЛИНИЧКЕ МАНИФЕСТАЦИЈЕ ПРИМАРНОГ ОА КОЛЕНА

Веза између серумског витамина D и ОА колена је предмет многих дебата које су још увек актуелне, посебно у погледу терапијских могућности које нуди суплементација витамином D у лечењу најраспрострањеније реуматске болести у свету.

У литератури, спекулације о овој теми су изведене из опсервационе студије коју су спровели McAlindon и сарадници (177) која је доказала повезаност серумских концентрација витамина D са развојем ОА колена. Ове резултате потврдила је слична студија, али на већем узорку (237 жена старијих од 65 година), коју су спровели Lane и сарадници (243) и који су установили директну везу између концентрације витамина D у серуму и ОА кука. Bergink и сарадници (169) су у лонгитудиналној студији којом је обухваћено 1248 пацијената са ОА колена, анализирањем нивоа 25ОНD₃ у серуму, њиховог прехранбеног уноса и прогресије ОА, показали корелацију између holekalciferola и ОА колена, Резултати ове студије указују на значајну повезаност између уноса витамина D храном и ОА колена, посебно код пацијената са остеопорозом. Такође, мала, али занимљива ин-витро студија коју су 2017. године спровели Huhtakangas и сарадници (244) открила је нови угао посматрања на ову корелацију, и излагањем стромалних ћелија изолованих из 8 колена са ендопротезом (4 пацијента са реуматоидним артритисом и 4 пацијента са ОА колена), 1,25(ОН)₂D и calcipotriolu, потврдили су смањење медијатора запаљења у обе групе, што указује на антиинфламаторну улогу витамина D.

Наше истраживање је показало да је суплементација 4000 i.j./dan витамина D3 током три месеца довела до редукције клиничких манифестација код пацијената са примарним ОА колена, што је доказано смањењем бола у колену и укочености, као и побољшањем функције код ових пацијената. Побољшање функције је било праћено већим вредностима обима покрета флексије и екстензије у колену после суплементације витамином D у експерименталној групи испитаника. Осим тога доказали смо да су оцена на ММТ-у и вредност витамина D у серуму пре и после суплементације витамином D зависна обележја. Уочава да је после суплементације витамином D значајно већи проценат испитаника са ОА колена имао оцену 4 на ММТ-у. У краткој опсервационој проспективној студији (67 пацијената), Heidari и сарадници (185) су показали да суплементација холекалциферолом у недељној дози од 50.000 i.j. током 2 месеца повећава мишићну снагу квадрицепса и смањује бол код пацијената са ОА колена, као што су показали и наши резултати. Слично нашим резултатима, Sanghi и сарадници (180) у рандомизираним плацебом контролисаном клиничком испитивању пацијената са ОА колена и смањеним вредностима витамина D су открили значајно смањење болова и побољшање функције колена након суплементације високих доза holekalciferola (60000i.j. дневно током 10 дана, а потом 60000i.j. месечно током 12 месеци). Осим тога, процењено је да је аналгетски ефекат витамина D на бол у колену код ОА већи од дејства нестероидних антиинфламаторних лекова и близу ефекта интраартикуларне ињекције кортикостероида. Степен побољшања WOMAC бола и функције је био већи у групи која је примала витамин D (245).

Међутим, супротно нашим резултатима, две рандомизираним, плацебо контролисане клиничке студије које су поредиле ефекат суплементације малих дневних доза витамина D са плацебом нису доказале терапеутско дејство витамина D код пацијената са ОА колена. У студији коју су спровели McAlidon и сарадници (177), суплементација холекалциферолом у дози 2000 i.j./dan током 2 године није показали

статистички значајну разлику између две групе у смањењу бола или запремине хрскавице. Ова контрадикторност у добијеним резултатима може да се објасни тиме да је 51% пацијената у групи која је примала витамин D имало је ОА у узнапредовалом стадијуму (K-L 3 и 4), код којих се мање очекује да ће структурне абнормалности бити реверзибилне. Ипак, анализа подскупова, показала је да је ефекат витамина D на WOMAC бол био је значајно већи код пацијената коју су на почетку истраживања имали смањене вредности витамина D у серуму. Слично овим резултатима, у другом трогодишњем испитивању које је обухватило 474 симптоматских пацијената са ОА колена, Arden и сарадници (173) су показали да суплементација holecalfiferola 800i.j./dan није имала значајан утицај на сужавање зглобног простора процењено преко радиографског снимка, као ни на бол у колену, функцију или укоченост, чак и код пацијената са смањеним вредностима витамина D. Поред тога, рандомизрана, плацебо контролисана студија коју су спровели Petti и сарадници (246) (50 пацијената са ОА колена, холекалциферол у дози 800 i.j./дан у односу на плацебо), мерењем синовијног волумена и едема кости, није пронађена значајна разлика између група (247).

Lin и сарадници, (248) први који су користили MRI у овој области за мерење тибидјалног волумена и применом WOMAC упитник за бол, у својој рандомизованој, проспективној студији, која је спроведена на 413 пацијената са симптоматским ОА колена нису доказали ефикасност 50000 i.j. holecalfiferola сваког месеца током 2 године, што се не подудра са резултатима наше студије. Hussein и сарадници (170) спровели су систематски преглед литературе у коме нису доказали ефикасност варијабилних доза holecalfiferola у модификацији VAS, WOMAC и функционалног скорa за бол код пацијената са ОА колена. Gao и сарадници (168) у мета-анализи од четири рандомизирани клиничке студије која је обухватила укупно 1136 пацијената аутори нису успели да пронађу значајно смањење укочености и оштећења хрскавице. Ипак, ова мета-анализа је показала статистички значајне разлике у смањењу бола и функције мерено WOMAC упитником после суплементације високих доза витамина D (преко 2000 i.j.), а што је у сагласности са нашим резултатима. Друга мета-анализа истих студија коју су спровели Diao и сарадници показала је сличне резултате (249). Мета-анализа коју су спровели Zhao и сарадници (250), 2021. године и којом је обухваћено 1599 болесника са ОА колена доказала је да је суплементација витамином D праћена статистички значајном променом укупног WOMAC скорa код пацијената са ОА колена, укључујући и WOMAC скор за бол, укоченост и функцију. што су потврдили и резултати нашег истраживања.

Недоследност у одговору на суплементацију витамином D могла би бити резултат чињенице да је ОА колена високо хетерогена болест са различитом етиологијом. Велике варијације у резултатима клиничких студија могу се приписати многим факторима као што су: пол, године, гојазност, слабост мишића квадрицепса, степен тежине болести, озбиљност запаљеног процеса, различите серумске концентрације витамина D, различити укључујући и искључујући критеријуми, различито трајања студија, разлике у примењеним дозама витамина D као и полиморфизам гена за VDR, затим. Осим тога, студије су се спроводиле на различитим географским ширинама и у различитим годишњим добима, а добро је познато да вредности активне форме витамина D варирају услед разлика у изложености Сунчевим зрацима. Разлике у прехранбеном уносу међу различитим популацијама и неуједначене серумске концентрације витамина D доприносе да још увек не постоји консензус у погледу суплементације витамина D и ОА колена. Механизам по којем недостатак витамина D може допринети развоју или погоршању симптома ОА колена није разјашњен у потпуности, али се може објаснити утицајем витамина D на инфламаторни одговор, оксидациони стрес, сензибилизацију на бол и мишићну снагу. Процена ефикасности суплементације витамина D у редуковању симптомима и структурне

прогресије у ОА колена захтева будуће рандомизоване, плацебо контролисане клиничке студије које би омогућиле најобухватније испитивање. Процена ефикасности суплементације витамина D у редуковању симптома и структурне прогресије у ОА колена захтева будуће рандомизоване, плацебо контролисане клиничке студије које би омогућиле најобухватније испитивање. Такође, одабир пацијената са ОА у почетном стадијуму је пожељнији јер су абнормалности у ранијим фазама ОА потенцијално реверзибилне и вероватно боље реагују на лечење.

5.3. УТИЦАЈ ВИТАМИНА D НА УПОТРЕБУ НЕСТЕРОИДНИХ АНТИИНФЛАМАТОРНИХ ЛЕКОВА И АНЛГЕТИКА У ЛЕЧЕЊУ ОА КОЛЕНА

Примена Paracetamol-а се може размотрити код пацијената са ОА колена, али се препоручује за купирање блажих болова. Такође, употреба NSAID, укључујући инхибиторе циклооксигеназе-2 (COX-2), може се размотрити код пацијената са ОА колена. Одабрани лек треба примењивати у најнижој ефикасној дози против болова и за побољшање функције током ограниченог временског периода, узимајући у обзир пацијентове коморбидитете и праћење свих штетних гастроинтестиналних, хепатичних, кардиоваскуларних и реналних ефеката (247).

У нашој студији 88,3% (n=53) пацијената са ОА колена је узимало NSAID, а свега 11,7% Paracetamol. Резултати нашег истраживања показали су знатно краћу дужину употребе Paracetamola у односу на NSAID против болова. Утврдили смо да постоји статистички значајна разлика у дужини примене лекова против болова у односу на групу испитаника, дужина коришћења лекова против болова значајно већа код испитаника који су припадали контролној групи. Примена лекова против болова не разликује значајно пре и после суплементације витамином D, али постоји статистички значајна разлика у дужини примене NSAID против болова пре и после суплементације витамином D. Уочава да је значајно краћа дужина примене NSAID код испитаника после суплементације витамином D што доводимо у везу са постизањем аналгетског ефекта holekalciferola.

Acetaminophene (Paracetamol) у дози од 4 g/dan као лек првог избора има највиши степен препоруке (Ia). Код болесника са благим и умереним болом колена треба започети лечење са ацетаминофеном, због његове ефикасности и безбедности и уколико нема нежељених ефеката лечење треба да буде настављено. У одсуству адекватног одговора, или у присуству јаког бола и/или , треба размотрити алтернативну фармаколошку терапију на основу релативне ефикасности и безбедности, као и присутних коморбидитета и хроничне терапије (251). Терапија NSAID препоручена је као додатна или алтернативна уколико је изостао ефекат лечења Paracetamol-ом. Међутим, аутори OARSI водича (252) указују на велику хетерогеност студија које су процењивале ефекте NSAID као и значајну пристрасност према оним студијама које истичу предност лечења помоћу NSAID, стога је могуће да су ефекти актуелних NSAID прецењени.

Иако постоје докази који подржавају употребу NSAID у лечењу ОА колена (степен препоруке Ia) код болесника са високим ризиком за крварење из гастроинтестиналног тракта потребно је ординирати NSAID/COX-2 инхибитор или пак давати неселективни NSAID уз обавезну гастропротекцију (253). Клиничке рандомизоване студије показале су мање ефекте acetaminophen-а код болесника са боловима средњег и јаког интензитета код ОА, у поређењу са NSAID уз сличан профил

безбедности. Мора се узети у обзир чињеница да су прегледане студије биле краткорочне, што утиче на интерпретацију резултата (254).

6. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе резултата приказаних у овој докторској дисертацији изведени су следећи закључци:

1. Тромесечна суплементација витамином D представља ефикасан терапијски модалитет у лечењу примарног ОА колена.
2. Резултати нашег истраживања показали су да суплементација витамином D има повољан учинак на клиничке манифестације, у смислу редуковања бола у колону и укочености, као и побољшања функционалности код пацијената са примарним ОА колена, мерено резултатима WOMAC упитника и VAS-ом.
3. Суплементација витамином D има ресторативни ефекат на функцију зглоба код пацијената са ОА колена што је доказано повећањем обима покрета у колону (флексија/екстензија) и мишићне снаге квадрицепса, мерено ММТ-ом.
4. Утврдили смо да је после суплементације витамином D дошло до статистички значајне разлике свих анализираних проинфламаторних цитокина као и IL-13, што говори у прилог антиинфламаторног дејства суплементације витамина D код пацијената са ОА колена.
5. Резултати нашег истраживања доказали су да суплементација витамином D доводи до смањења имунског одговора типа 1 и типа 17 и повећава системске вредности IL-33.
6. Наши резултати сугеришу да доминација IL-33 над проинфламаторним медијаторима код пацијената са ОА колена може представљати механизам за супресију инфламаторног процеса и накнадног оштећења ткива, и указује на IL-33 као важан регулатор интеракције имунског одговора код пацијената са ОА колена након суплементације витамином D.
7. После суплементације витамином D у нашој студији дошло је до значајног смањења вредности SE, броја Le и CRP-а што подржава улогу витамина D у инхибицији инфламаторног одговора код пацијената са примарним ОА колена.
8. Наше истраживање је потврдило антиоксидативни потенцијал витамина D модулацијом параметара оксидационог стреса и повећањем активности SOD и CAT, што потврђује тезу да је оксидациони стрес укључен у патогенезу ОА колена.
9. Утврдили смо да постоји статистички значајна повезаност дужине примене NSAID за купирање болова у односу на вредност витамина D. Са порастом серумске концентрације витамина D после суплементације, смањује се дужина примене NSAID код пацијената са ОА колена.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Musumeci G, Aiello FC, Szychlinska MA, Di Rosa M, Castrogiovanni P, Mobasher A. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression. *Int J Mol Sci.* 2015 Mar 16;16(3):6093-112.
2. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet.* 2016 Oct 7; 388:1545–1602.
3. Hügler T, Geurts J, Nüesch C, et al. Aging and osteoarthritis: an inevitable encounter? *J Aging Res.* 2012;2012:950192.
4. Pelletier J-P, Martel-Pelletier J, Abramson SB. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implications for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum.* 2001;44:1237–1247.
5. Wang X, Hunter D, Xu J, et al. Metabolic triggered inflammation in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015;23:22–30.
6. de Lange-Brokaar BJ, Ioan-Facsinay A, van Osch GJ, et al. Synovial inflammation, immune cells and their cytokines in osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012;20:1484–1499.
7. Haseeb A, Haqqi TM. Immunopathogenesis of osteoarthritis. *Clin Immunol.* 2013;146:185–196.
8. Musumeci G, Szychlinska MA, Mobasher A. Age-related degeneration of articular cartilage in the pathogenesis of osteoarthritis: molecular markers of senescent chondrocytes. *Histol Histopathol.* 2015 Jan;30(1):1-12.
9. Robinson WH, Lepus CM, Wang Q, Raghu H, Mao R, Lindstrom TM, Sokolove J. Low-grade inflammation as a key mediator of the pathogenesis of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2016 Oct;12(10):580-92.
10. Carlson A.K., Rawle R.A., Wallace C.W., Brooks E.G., Adams E., Greenwood M.C., Olmer M., Lotz M.K., Bothner B., June R.K. Characterization of synovial fluid metabolomic phenotypes of cartilage morphological changes associated with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2019;27:1174–1184.
11. Nguyen U.-S.D.T., Zhang Y., Zhu Y., Niu J., Zhang B., Felson D.T. Increasing Prevalence of Knee Pain and Symptomatic Knee Osteoarthritis: Survey and Cohort Data. *Ann. Intern. Med.* 2011;155:725–732.
12. Shi J, Fan K, Yan L, Fan Z, Li F, Wang G, Liu H, Liu P, Yu H, Li JJ, Wang B. Cost Effectiveness of Pharmacological Management for Osteoarthritis: A Systematic Review. *Appl Health Econ Health Policy.* 2022 May;20(3):351-370.
13. Vina ER, Kwok CK. Epidemiology of osteoarthritis: literature update. *Curr Opin Rheumatol.* 2018 Mar;30(2):160-167.
14. Dell’Isola A, Allan R, Smith SL, et al. Identification of clinical phenotypes in knee osteoarthritis: a systematic review of the literature. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17:425.
15. Liu-Bryan R. Synovium and the innate inflammatory network in osteoarthritis progression. *Curr Rheumatol Rep.* 2013 May;15(5):323.
16. Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum.* 2012 Jun;64(6):1697-707.

17. Martel-Pelletier J., Barr A.J., Cicuttini F.M., Conaghan P.G., Cooper C., Goldring M.B., Goldring S.R., Jones G., Teichtahl A.J., Pelletier J.P. Osteoarthritis. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2016;2:1–18.
18. Orłowsky EW, Kraus VB. The role of innate immunity in osteoarthritis: when our first line of defense goes on the offensive. *J Rheumatol.* 2015 Mar;42(3):363-71.
19. Musumeci G. The Effect of Mechanical Loading on Articular Cartilage. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* 2016;1:154–161.
20. Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: intergration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcriptio factors. *Arthritis Res.* 2002;4:157-64.
21. Parrish A.R. *Matrix Metalloproteinases and Tissue Remodeling in Health and Disease: Target Tissues and Therapy.* 1st ed. Elsevier; San Diego, CA, USA: 2017. p. 310.
22. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res.* 2001;3:107–13.
23. Kawaguchi H. Mechanism underlying osteoarthritis induced by mechanical stress on joint cartilage. *Clin Calcium.* 2008;18:1278-86.
24. Arner EC. Aggrecanase-mediated cartilage degradation. *Curr Opin Pharmacol.* 2002;2:322-9. Stanton H., Rogerson F.M., East C.J., Golub S.B., Lawlor K.E., Meeker C.T., Little C.B., Last K., Farmer P.J., Campbell I.K., et al. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. *Nature.* 2005;434:648–652.
25. Majumdar MK, Wang E, Morris EA. BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol.* 2001;189:275-84.
26. Akhtar N, Haqqi TM. Current nutraceuticals in the management of osteoarthritis: a review. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2012 Jun;4(3):181-207.
27. Goldring S.R., Goldring M.B. Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: Structure, function and cartilage bone crosstalk. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2016;12:632–644.
28. Zhen G., Cao X. Targeting TGFβ signaling in subchondral bone and articular cartilage homeostasis. *Trends Pharmacol. Sci.* 2014;35:227–236.
29. Sanchez C., Pesesse L., Gabay O., Delcour J.P., Msika P., Baudouin C., Henrotin Y.E. Regulation of subchondral bone osteoblast metabolism by cyclic compression. *Arthritis Rheum.* 2012;64:1193–1203.
30. Robinson W.H., Lepus C.M., Wang Q., Raghu H., Mao R., Lindstrom T.M., Sokolove J. Low-grade inflammation as a key mediator of the pathogenesis of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2016;12:580–592.
31. Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone.* 2012 Aug;51(2):249-57.
32. Scanzello CR, et al. Synovial inflammation in patients undergoing arthroscopic meniscectomy: molecular characterization and relationship to symptoms. *Arthritis Rheum.* 2011;63:391–400.
33. Krasnokutsky S, et al. Quantitative magnetic resonance imaging evidence of synovial proliferation is associated with radiographic severity of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63:2983–2991.
34. Mabey T., Honsawek S. Cytokines as biochemical markers for knee osteoarthritis. *World J. Orthop.* 2015;6:95–105.
35. Malemud CJ. Biologic basis of osteoarthritis: state of the evidence. *Curr Opin Rheumatol.* 2015 May;27(3):289-94.
36. Belluzzi E., Stocco E., Pozzuoli A., Granzotto M., Porzionato A., Vettor R., De Caro R., Ruggieri P., Ramonda R., Rossato M., et al. Contribution of Infrapatellar Fat Pad and Synovial Membrane to Knee Osteoarthritis Pain. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:1–18.

37. Kapoor M., Martel-Pelletier J., Lajeunesse D., Pelletier J.P., Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2011;7:33–42.
38. Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:561459.
39. Nguyen, L.; Sharma, A.; Chakraborty, C.; Saibaba, B.; Ahn, M.-E.; Lee, S.-S. Review of Prospects of Biological Fluid Biomarkers in Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 601.
40. Mabey T., Honsawek S., Tanavalee A., Yuktanandana P., Wilairatana V., Poovorawan Y. Plasma and synovial fluid inflammatory cytokine profiles in primary knee osteoarthritis. *Biomarkers.* 2016;21:639–644.
41. Boehme K.A., Rolauuffs B. Onset and Progression of Human Osteoarthritis—Can Growth Factors, Inflammatory Cytokines, or Differential miRNA Expression Concomitantly Induce Proliferation, ECM Degradation, and Inflammation in Articular Cartilage? *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:2282.
42. Yang Q., Zhou Y., Cai P., Fu W., Wang J., Wei Q., Li X. Up-regulated HIF-2 α contributes to the Osteoarthritis development through mediating the primary cilia loss. *Int. Immunopharmacol.* 2019;75:105762.
43. Alaaeddine N., Olee T., Hashimoto S., Creighton-Achermann L., Lotz M. Production of the chemokine RANTES by articular chondrocytes and role in cartilage degradation. *Arthritis Rheum.* 2001;44:1633–1643.
44. Yang P., Tan J., Yuan Z., Meng G., Bi L., Liu J. Expression profile of cytokines and chemokines in osteoarthritis patients: Proinflammatory roles for CXCL8 and CXCL11 to chondrocytes. *Int. Immunopharmacol.* 2016;40:16–23.
45. Akeson G., Malemud C. A Role for Soluble IL-6 Receptor in Osteoarthritis. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* 2017;2:27.
46. Shimura Y., Kurosawa H., Sugawara Y., Tsuchiya M., Sawa M., Kaneko H., Futami I., Liu L., Sadatsuki R., Hada S., et al. The factors associated with pain severity in patients with knee osteoarthritis vary according to the radiographic disease severity: A cross-sectional study. *Osteoarthr. Cartil.* 2013;21:1179–1184.
47. Latourte A., Cherifi C., Maillet J., Ea H.K., Bouaziz W., Funck-Brentano T., Cohen-Solal M., Hay E., Richette P. Systemic inhibition of IL-6/Stat3 signalling protects against experimental osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2017;76:748–755.
48. Wang X., Li F., Fan C., Wang C., Ruan H. Effects and relationship of ERK1 and ERK2 in interleukin-1 β -induced alterations in MMP3, MMP13, type II collagen and aggrecan expression in human chondrocytes. *Int. J. Mol. Med.* 2011;27:583–589.
49. Jenei-Lanzl Z., Meurer A., Zaucke F. Interleukin-1 β signaling in osteoarthritis—chondrocytes in focus. *Cell. Signal.* 2019;53:212–223.
50. Hwang H., Kim H. Chondrocyte Apoptosis in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:26035–26054.
51. Wang X., Li F., Fan C., Wang C., Ruan H. Analysis of isoform specific ERK signaling on the effects of interleukin-1 β on COX-2 expression and PGE2 production in human chondrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010;402:23–29.
52. Chow Y.Y., Chin K.-Y. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Mediat. Inflamm.* 2020;2020:1–19.
53. Choi M.C., Jo J., Park J., Kang H.K., Park Y. NF- κ B Signaling Pathways in Osteoarthritic Cartilage Destruction. *Cells.* 2019;8:734. Lepetsos P., Papavassiliou K.A., Papavassiliou A.G. Redox and NF- κ B signaling in osteoarthritis. *Free Radic. Biol. Med.* 2019;132:90–100.

54. Wood L., Perry M.J., Neison P., Bisbinas I., Armstrong L., Millar A.B., Elson C.J. Tumor necrosis factor alpha can contribute to focal loss of cartilage in osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil.* 2000;8:213–221.
55. Westacott C.I., Barakat A.F., Wood L., Perry M.J., Neison P., Bisbinas I., Armstrong L., Millar A.B., Elson C.J. Tumor necrosis factor alpha can contribute to focal loss of cartilage in osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil.* 2000;8:213–221.
56. Séguin C.A., Bernier S.M. TNF α Suppresses Link Protein and Type II Collagen Expression in Chondrocytes: Role of MEK1/2 and NF- κ B Signaling Pathways. *J. Cell. Physiol.* 2003;
57. Xue J., Wang J., Liu Q., Luo A. Tumor necrosis factor- α induces ADAMTS-4 expression in human osteoarthritis chondrocytes. *Mol. Med. Rep.* 2013;8:1755–1760.
58. Sanchez C., Gabay O., Salvat C., Henrotin Y.E., Berenbaum F. Mechanical loading highly increases IL-6 production and decreases OPG expression by osteoblasts. *Osteoarthr. Cartil.* 2009;17:473–481.
59. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim. Biophys. Acta- Mol. Cell Res.* 2011;1813:878–888.
60. Constantinescu C.S., Grygar C., Kappos L., Leppert D. Interleukin 15 stimulates production of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by human peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine.* 2001;13:244–247.
61. Sun J.-M., Sun L.-Z., Liu J., Su B., Shi L. Serum Interleukin-15 Levels Are Associated with Severity of Pain in Patients with Knee Osteoarthritis. *Dis. Markers.* 2013;35:203–206.
62. Wu X., Tian J., Wang S. Insight Into Non-Pathogenic Th17 Cells in Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 2018;9:1112.
63. Na H.S., Park J.-S., Cho K.-H., Kwon J.Y., Choi J., Jhun J., Kim S.J., Park S.-H., Cho M.-L. Interleukin-1-Interleukin-17 Signaling Axis Induces Cartilage Destruction and Promotes Experimental Osteoarthritis. *Front. Immunol.* 2020;11:730.
64. Mimpfen J.Y., Carr A.J., Dakin S.G., Snelling S.J. Inhibition of interleukin-17-induced effects in osteoarthritis—An in vitro study. *Osteoarthr. Cartil.* 2018;26:S118.
65. Wang Y., Xu D., Long L., Deng X., Tao R., Huang G. Correlation between plasma, synovial fluid and articular cartilage Interleukin-18 with radiographic severity in 33 patients with osteoarthritis of the knee. *Clin. Exp. Med.* 2014;14:297–304.
66. Dai S.-M. Implication of interleukin 18 in production of matrix metalloproteinases in articular chondrocytes in arthritis: Direct effect on chondrocytes may not be pivotal. *Ann. Rheum. Dis.* 2005;64:735–742.
67. Futani H., Okayama A., Matsui K., Kashiwamura S., Sasaki T., Hada T., Nakanishi K., Tateishi H., Maruo S., Okamura H. Relation Between Interleukin-18 and PGE2 in Synovial Fluid of Osteoarthritis: A Potential Therapeutic Target of Cartilage Degradation. *J. Immunother.* 2002;25:S61–S64.
68. Fu Z., Liu P., Yang D., Wang F., Yuan L., Lin Z., Jiang J. Interleukin-18-induced inflammatory responses in synoviocytes and chondrocytes from osteoarthritic patients. *Int. J. Mol. Med.* 2012;30:805–810.
69. Spolski R., Leonard W.J. Interleukin-21: A double-edged sword with therapeutic potential. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014;13:379–395.
70. Shan Y., Qi C., Liu Y., Gao H., Zhao D., Jiang Y. Increased frequency of peripheral blood follicular helper T cells and elevated serum IL-21 levels in patients with knee osteoarthritis. *Mol. Med. Rep.* 2017;15:1095–1102.
71. Dudakov J.A., Hanash A.M., van den Brink M.R.M. Interleukin-22: Immunobiology and Pathology. *Annu. Rev. Immunol.* 2015;33:747–785.

72. Yi C., Yi Y., Wei J., Jin Q., Li J., Sacitharan P.K. Targeting IL-22 and IL-22R protects against experimental osteoarthritis. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18:1329–1331.
73. Carrión M., Juarranz Y., Martínez C., González-Álvaro I., Pablos J.L., Gutiérrez-Cañas I., Gomariz R.P. IL-22/IL-22R1 axis and S100A8/A9 alarmins in human osteoarthritic and rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Rheumatology.* 2013;52:2177–2186.
74. Schmitz J., Owyang A., Oldham E., Song Y., Murphy E., et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005; 23: 479-490.
75. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev* 2012; 28: 8-27.
76. Cayrol C, Girard JP (2014) IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. *Curr Opin Immunol* 31: 31-37. Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2016; 16: 676–689.
77. Rai V, Radwan MM, Agrawal DK. IL-33, IL-37, and Vitamin D Interaction Mediate Immunomodulation of Inflammation in Degenerating Cartilage. *Antibodies (Basel).* 2021 Oct 26;10(4):41.
78. Andrews AR, Fernandes AD, Brownmiller SE, Hanna Y, Fisher MC, Huang CA. Blocking extracellular Galectin-3 in patients with osteoarthritis. *Contemporary Clinical Trials Communications.* 2020;17: 100500.
79. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, Yuan H. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med.* 2018 Feb;41(2):599-614.
80. Hu Y, Yéléhé-Okouma M, Ea HK, Jouzeau JY, Reboul P. Galectin-3: A key player in arthritis. *Joint Bone Spine.* 2017;84(1): 15-20.
81. Janelle-Montcalm A, Boileau C, Poirier F, et al. Extracellular localization of galectin-3 has a deleterious role in joint tissues. *Arthritis Res Ther* 2007;9:R20.
82. Doi H., Nishida K., Yorimitsu M., Komiyama T., Kadota Y., Tetsunaga T., Yoshida A., Kubota S., Takigawa M., Ozaki T. Interleukin-4 downregulates the cyclic tensile stress-induced matrix metalloproteinases-13 and cathepsin B expression by rat normal chondrocytes. *Acta Med. Okayama.* 2008;62:119–126.
83. Schlaak J.F., Pfers I., Meyer Zum Büschenfelde K.H., Märker-Hermann E. Different cytokine profiles in the synovial fluid of patients with osteoarthritis, rheumatoid arthritis and seronegative spondylarthropathies. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1996;14:155–162.
84. Schuerwegh A.J., Dombrecht E.J., Stevens W.J., Van Offel J.F., Bridts C.H., De Clerck L.S. Influence of pro-inflammatory (IL-1 α , IL-6, TNF- α , IFN- γ) and anti-inflammatory (IL-4) cytokines on chondrocyte function. *Osteoarthr. Cartil.* 2003;11:681–687.
85. Schulze-Tanzil G., Zreiqat H., Sabat R., Kohl B., Halder A., Muller R., John T. Interleukin-10 and Articular Cartilage: Experimental Therapeutical Approaches in Cartilage Disorders. *Curr. Gene Ther.* 2009;9:306–315.
86. Hart PH, Ahern MJ, Smith MD, Finlay-Jones JJ. Regulatory effects of IL-13 on synovial fluid macrophages and blood monocytes from patients with inflammatory arthritis. *Clinical and Experimental Immunology.* 1995;99(3):331–337.
87. de Waal Malefyt R, Figdor CG, Huijbens R, et al. Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes: comparison with IL-4 and modulation by IFN- γ or IL-10. *Journal of Immunology.* 1993;151(11):6370–6381.
88. Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology.* 2002;39(1-2):237–246.
89. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD, Huang P, Redox regulation of cell survival, Antioxidants & redox signaling 10(8) (2008) 1343–74.

90. Lismont C, Nordgren M, Van Veldhoven PP, Fransen M. Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. *Front Cell Dev Biol.* 2015 May 27;3:35.
91. Ahmed S, Rahman A, Hasnain A, Lalonde M, Goldberg VM, Haqqi TM, Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits the IL-1 beta-induced activity and expression of R01-AT007373 respectively and funds from NEOMED to TMH. cyclooxygenase-2 and nitric oxide synthase-2 in human chondrocytes, *Free radical biology & medicine* 33(8) (2002) 1097–105.
92. Chen B, Deng Y, Tan Y, Qin J, Chen LB, Association between severity of knee osteoarthritis and serum and synovial fluid interleukin 17 concentrations, *J Int Med Res* 42(1) (2014) 138–44.
93. Ahmad N, Ansari MY, Haqqi TM. Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects. *J Cell Physiol.* 2020 Oct;235(10):6366-6376.
94. Lepetsos P, Papavassiliou AG, ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis, *Biochimica et biophysica acta* 1862(4) (2016) 576–591.
95. Regan EA, Bowler RP, Crapo JD, Joint fluid antioxidants are decreased in osteoarthritic joints compared to joints with macroscopically intact cartilage and subacute injury, *Osteoarthritis and cartilage* 16(4) (2008) 515–21.
96. Bolduc JA, Collins JA, Loeser RF. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis. *Free Radic Biol Med.* 2019 Feb 20;132:73-82.
97. Ansari MY, Khan NM, Ahmad I, Haqqi TM. Parkin clearance of dysfunctional mitochondria regulates ROS levels and increases survival of human chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2018 Aug;26(8):1087-1097.
98. Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M, Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis, *Rheumatology international* 27(4) (2007) 339–44.
99. Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomed Pharmacother.* 2020;129:110452.
100. Regan EA, Bowler RP, Crapo JD. Joint fluid antioxidants are decreased in osteoarthritic joints compared to joints with macroscopically intact cartilage and subacute injury. *Osteoarthr Cartil.* 2008;16:515–521.
101. Morquette B, Shi Q, Lavigne P, Ranger P, Fernandes JC, Benderdour M. Production of lipid peroxidation products in osteoarthritic tissues: new evidence linking 4-hydroxynonenal to cartilage degradation. *Arthritis Rheum.* 2006;54:271–281.
102. Grover AK, Samson SE. Benefits of antioxidant supplements for knee osteoarthritis: rationale and reality. *Nutr J.* 2016 Jan 5;15:1.
103. Zhang W, Doherty M, Peat G, et al. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:483-489.
104. Arden N, Blanco F, Cooper C, Guermazi A, Hayashi D, Hunter D, et al. Atlas of osteoarthritis. 2nd edition. Springer; 2018. 52–65 p.
105. Altman RD. Osteoarthritis in the elderly population. In: Nakasato Y, Yung RL, eds. *Geriatric Rheumatology: A Comprehensive Approach.* New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC; 2011:187-196.
106. Bal BS, Lavernia CJ. Surgical treatment of lateral compartment arthritis. Available at: emedicine.medscape.com/article/1251688-overview. Accessed December 5, 2022.
107. Bijlsma JWJ, Berenbaum F, Lafeber FPJG. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet.* 2011;377:2115-2126.
108. Engh GA. The difficult knee: severe varus and valgus. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;416:58-63.

109. Dieppe P. Osteoarthritis. A. Clinical features In: Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH, eds. *Primer on the Rheumatic Diseases*. 13th ed. New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC; 2008:224-228.
110. Michael JW-P, Schlüter-Brust KU, Eysel P. The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107:152-162.
111. Hunter CW, Deer TR, Jones MR, Chang Chien GC, D'Souza RS, Davis T, Eldon ER, Esposito MF, Goree JH, Hewan-Lowe L, Maloney JA, Mazzola AJ, Michels JS, Layno-Moses A, Patel S, Tari J, Weisbein JS, Goulding KA, Chhabra A, Hassebrock J, Wie C, Beall D, Sayed D, Strand N. Consensus Guidelines on Interventional Therapies for Knee Pain (STEP Guidelines) from the American Society of Pain and Neuroscience. *J Pain Res*. 2022 Sep 8;15:2683-2745.
112. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis*. 1957;16(4):494-502.
113. WHO Scientific Group on the burden of the musculoskeletal condition at the start of new milenium. The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium. *World Health Organ Tech Rep Ser*; 2003: 919 i-x, 1-218.
114. Kohn MD, Sassoon AA, Fernando ND. Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res*. 2016;474(8):1886-1893.
115. Kolfenbach JR. Approach for patients with monoarticular arthritis symptoms. *Rheumatol Secrets E-b*. 2019;89.
116. Fernandes L, Hagen KB, Bijlsma JW, et al. EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(7):1125-1135.
117. Bruyère O, Cooper C, Pelletier JP, Maheu E, Rannou F, Branco J, Luisa Brandi M, Kanis JA, Altman RD, Hochberg MC, Martel-Pelletier J, Reginster JY. A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis-From evidence-based medicine to the real-life setting. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Feb;45(4 Suppl):S3-11.
118. Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019;27(11):1578-1589.
119. Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis & Rheumatology*. 2020;72(2):220-233.
120. Jevsevar DS. Treatment of osteoarthritis of the knee: evidence-based guideline. *JAAOS - Journal Am Acad Orthop Surg*. 2013;21(9):571-6.
121. Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, Altman RD, Arden NK, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthr Cartil*. 2010;18(4):476-99.
122. Hunter CW, Deer TR, Jones MR, Chang Chien GC, D'Souza RS, Davis T, Eldon ER, Esposito MF, Goree JH, Hewan-Lowe L, Maloney JA, Mazzola AJ, Michels JS, Layno-Moses A, Patel S, Tari J, Weisbein JS, Goulding KA, Chhabra A, Hassebrock J, Wie C, Beall D, Sayed D, Strand N. Consensus Guidelines on Interventional Therapies for Knee Pain (STEP Guidelines) from the American Society of Pain and Neuroscience. *J Pain Res*. 2022 Sep 8;15:2683-2745.
123. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: classic and novel actions. *Ann Nutr Metab* 2018;72(2):87-95.2).

124. Nair R, Maseeh A. Vitamin D: The "sunshine" vitamin. *J Pharmacol Pharmacother* 2012;3(2):118-26.
125. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
126. Charoenngam N, Shirvani A, Holick MF. Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know. *J Clin Orthop Trauma*. 2019 Nov-Dec;10(6):1082-1093.
127. Valero-Zanuya M, Hawkins-Carranza F: Metabolism, endogenous and exogenous sources of vitamin D. *Rev Esp Enferm Metab Oseas* 2007;16:63–70.
128. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013;88(7):720-55.
129. Silva MC, Furlanetto TW: Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutr Rev* 2018;76:60–76.
130. Holick M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*. 2006;116(8):2062–2072.
131. Blau, J.E.; Collins, M.T. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2015;16:165-174.
132. Savastano S, Barrea L, Savanelli MC, Nappi F, Di Somma C, Orio F, Colao A: Low vitamin D status and obesity: role of nutritionist. *Rev Endocr Metab Disord* 2017;18:215–225.
133. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res* 2014;55(1):13-31.
134. Feldman D, Krishnan A, Swami S: Vitamin D: biology, actions, and clinical implications; in Marcus R, Feldman D, Dempster D, Luckey M, Cauley J (eds): *Osteoporosis*, ed 4. Waltham, Academic Press, 2013, pp 283–328.
135. Schmidt B.M., Gerdes D., Feuring M., Falkenstein E., Christ M., Wehling M. Rapid, nongenomic steroid actions: A new age? *Front. Neuroendocrinol*. 2000;21:57–94.
136. Donati S, Palmi G, Aurilia C, Falsetti I, Miglietta F, Iantomasi T, Brandi ML. Rapid Nontranscriptional Effects of Calcifediol and Calcitriol. *Nutrients*. 2022 Mar 18;14(6):1291.
137. Wang H, Chen W, Li D, Yin X, Zhang X, Olsen N, Zheng SG. Vitamin D and Chronic Diseases. *Aging Dis*. 2017 May 2;8(3):346-353.
138. Clinckspoor I, Verlinden L, Mathieu C., Bouillon R, Verstuyf A, Decallonne B. Vitamin D in thyroid tumorigenesis and development. *Prog. Histochem. Cytochem*. 2013;48:65–98.
139. Takahashi N, Udagawa N, Suda T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *Bonekey Rep*. 2014 Feb 5;3:495.
140. Nakamichi Y, Udagawa N, Suda T, Takahashi N. Mechanisms involved in bone resorption regulated by vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018 Mar;177:70-76.
141. Pike, J.W.; Meyer, M.B.; Lee, S.-M.; Onal, M.; Benkusky, N.A. The vitamin D receptor: contemporary genomic approaches reveal new basic and translational insights. *J Clin Invest* 2017; 127: 1146-1154.
142. Carlberg C: Molecular approaches for optimizing vitamin D supplementation. *Vitam Horm* 2016;100:265–272.
143. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G: Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev* 2016; 96: 365–408.
144. Adams, J.S.; Ren, S.; Liu, P.T.; Chun, R.F.; Lagishetty, V.; Gombart, A.F.; Borregaard, N.; Modlin, R.L.; Hewison, M. Vitamin d-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *J Immunol* 2009, 182, 4289-4295.
145. Verway M, Bouttier M, Wang TT, Carrier M, Calderon M, An BS, Devemy E, McIntosh F, Divangahi M, Behr MA, White JH. Vitamin D induces interleukin-1 β expression:

- paracrine macrophage epithelial signaling controls M. tuberculosis infection. *PLoS Pathog.* 2013;9(6):e1003407.
146. Szeles, L.; Keresztes, G.; Torocsik, D.; Balajthy, Z.; Krenacs, L.; Poliska, S.; Steinmeyer, A.; Zuegel, U.; Pruenster, M.; Rot, A., et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is an autonomous regulator of the transcriptional changes leading to a tolerogenic dendritic cell phenotype. *J Immunol* 2009, 182, 2074-2083.
147. Jeffery, L.E.; Burke, F.; Mura, M.; Zheng, Y.; Qureshi, O.S.; Hewison, M.; Walker, L.S.; Lammas, D.A.; Raza, K.; Sansom, D.M. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol* 2009, 183, 5458-5467.
148. Martens PJ, Gysemans C, Verstuyf A, Mathieu AC. Vitamin D's Effect on Immune Function. *Nutrients.* 2020 Apr 28;12(5):1248.
149. Kongsbak M, Levring TB, Geisler C, von Essen MR. The vitamin d receptor and T cell function. *Front Immunol.* 2013 Jun 18;4:148.
150. Glover TL, Horgas AL, Fillingim RB, Goodin BR. Vitamin D status and pain sensitization in knee osteoarthritis: a critical review of the literature. *Pain Manag.* 2015;5(6):447-53.
151. Eckard AR, O'Riordan MA, Rosebush JC, Lee ST, Habib JG, Ruff JH, Labbato D, Daniels JE, Uribe-Leitz M, Tangpricha V, Chahroudi A, McComsey GA. Vitamin D supplementation decreases immune activation and exhaustion in HIV-1-infected youth. *Antivir Ther.* 2018;23(4):315-324.
152. Rolf L, Muris AH, Hupperts R, Damoiseaux J. Illuminating vitamin D effects on B cells—the multiple sclerosis perspective. *Immunology.* 2016 Mar;147(3):275-84.
153. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol.* 2007; 179:1634–1647.
154. Heine G, Niesner U, Chang HD, Steinmeyer A, Zügel U, Zuberbier T, Radbruch A, Worm M. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) promotes IL-10 production in human B cells. *Eur J Immunol.* 2008 Aug;38(8):2210-8.
155. Yamamoto EA, Nguyen JK, Liu J, Keller E, Campbell N, Zhang CJ, Smith HR, Li X, Jorgensen TN. Low Levels of Vitamin D Promote Memory B Cells in Lupus. *Nutrients.* 2020 Jan 22;12(2):291.
156. Infante M, Ricordi C, Sanchez J, Clare-Salzler MJ, Padilla N, Fuenmayor V, Chavez C, Alvarez A, Baidal D, Alejandro R, Caprio M, Fabbri A. Influence of Vitamin D on Islet Autoimmunity and Beta-Cell Function in Type 1 Diabetes. *Nutrients.* 2019 Sep 11;11(9):2185.
157. Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC. Relationship between vitamin D, parathyroid hormone, and bone health. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(3):E436-46.
158. Pilz S, März W, Cashman KD, Kiely ME, Whiting SJ, Holick MF, et al. Rationale and plan for vitamin D food fortification: A review and guidance paper. *Front Endocrinol* 2018;9:373.
159. Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, Hensrud DD, Holick MF. Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor? *J Am Coll Cardiol* 2008;52(24):1949-56.
160. Heidari B, Heidari P, Samari E, Ramzani Jalali M. Prevalence of vitamin D deficiency in common musculoskeletal conditions. *J Babol Univ Sci.* 2014;16:7–15.
161. Shipton EA, Shipton EE. Vitamin D and Pain: Vitamin D and Its Role in the Aetiology and Maintenance of Chronic Pain States and Associated Comorbidities. *Pain Res Treat.* 2015;2015:904967.
162. Bischoff H. A., Stähelin H. B., Dick W., et al. Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2003;18(2):343–351.

163. Bischoff H. A., Borchers M., Gudat F., et al. In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in human skeletal muscle tissue. *The Histochemical Journal*. 2001;33(1):19–24.
164. Pfeifer M., Begerow B., Minne H. W. Vitamin D and muscle function. *Osteoporosis International*. 2002;13(3):187–194.
165. Zhang FF, Driban JB, Lo GH, Price LL, Booth S, Eaton CB, Lu B, Nevitt M, Jackson B, Garganta C, Hochberg MC, Kwok K, McAlindon TE. Vitamin D deficiency is associated with progression of knee osteoarthritis. *J Nutr*. 2014 Dec;144(12):2002-8.
166. Mabey T, Honsawek S. Role of Vitamin D in Osteoarthritis: Molecular, Cellular, and Clinical Perspectives. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:383918.
167. Abu el Maaty MA, Hanafi RS, El Badawy S, Gad MZ. Association of suboptimal 25-hydroxyvitamin D levels with knee osteoarthritis incidence in post-menopausal Egyptian women. *Rheumatol Int*. 2013 Nov;33(11):2903-7.
168. Gao XR, Chen YS, Deng W. The effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Surg*. 2017;46:14-20.
169. Bergink AP, Uitterlinden AG, Van Leeuwen JP, Burman CJ, Hofman A, Verhaar JA, Pols HA. Vitamin D status, bone mineral density, and the development of radiographic osteoarthritis of the knee: the Rotterdam Study. *J Clin Rheumatol* 2009; 15(5): 230-237.
170. S, Singh A, Akhtar M, Najmi AK. Vitamin D supplementation for the management of knee osteoarthritis: a systematic review of randomized controlled trials. *Rheumatol Int*. 2017;37(9):1489-1498.
171. Cao Y, Winzenberg T, Nguo K, Lin J, Jones G, Ding C. Association between serum levels of 25-hydroxyvitamin D and osteoarthritis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Jul;52(7):1323-34.
172. Felson DT, Niu J, Clancy M, Aliabadi P, Sack B, Guermazi A, Hunter DJ, Amin S, Rogers G, Booth SL. Low levels of vitamin D and worsening of knee osteoarthritis: results of two longitudinal studies. *Arthritis Rheum*. 2007 Jan;56(1):129-36.
173. Arden NK, Cro S, Sheard S, Doré CJ, Bara A, Tebbs SA, Hunter DJ, James S, Cooper C, O'Neill TW, Macgregor A, Birrell F, Keen R. The effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis, the VIDEO study: a randomised controlled trial. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016 Nov;24(11):1858-1866.
174. Wang X, Cicuttini F, Jin X, Wluka AE, Han W, Zhu Z, Blizzard L, Antony B, Winzenberg T, Jones G, Ding C. Knee effusion-synovitis volume measurement and effects of vitamin D supplementation in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017 Aug;25(8):1304-1312.
175. Zheng S, Jin X, Cicuttini F, Wang X, Zhu Z, Wluka A, Han W, Winzenberg T, Antony B, Aitken D, Blizzard L, Jones G, Ding C. Maintaining Vitamin D Sufficiency Is Associated with Improved Structural and Symptomatic Outcomes in Knee Osteoarthritis. *Am J Med*. 2017 Oct;130(10):1211-1218.
176. Walsh DA, McWilliams DF, Turley MJ, Dixon MR, Fransès RE, Mapp PI, Wilson D. Angiogenesis and nerve growth factor at the osteochondral junction in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Oct;49(10):1852-61.
177. McAlindon T, LaValley M, Schneider E, Nuite M, Lee JY, Price LL, Lo G, Dawson-Hughes B. Effect of vitamin D supplementation on progression of knee pain and cartilage volume loss in patients with symptomatic osteoarthritis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2013 Jan 9;309(2):155-62.
178. Muraki S, Dennison E, Jameson K, Boucher B, Akune T, Yoshimura N, Judge A, Arden N, Javaid K, & Cooper C. (2011). Association of vitamin D status with knee pain and radiographic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*, 19(11), 1301–1306.

179. Laslett LL, Quinn S, Burgess JR, Parameswaran V, Winzenberg TM, Jones G, Ding C. Moderate vitamin D deficiency is associated with changes in knee and hip pain in older adults: a 5-year longitudinal study. *Ann Rheum Dis*. 2014 Apr;73(4):697-703.
180. Sanghi D, Mishra A, Sharma AC, Singh A, Natu SM, Agarwal S, Srivastava RN. Does vitamin D improve osteoarthritis of the knee: a randomized controlled pilot trial. *Clin Orthop Relat Res*. 2013 Nov;471(11):3556-62.
181. Alkan G, Akgol G. Do vitamin D levels affect the clinical prognoses of patients with knee osteoarthritis?. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2017;30(4):897-901.
182. Heidari B, Hajian-Tilaki K, Babaei M. Determinants of pain in patients with symptomatic knee osteoarthritis. *Caspian J Intern Med*. 2016;7(3):153-161.
183. Segal NA, Glass NA. Is quadriceps muscle weakness a risk factor for the incident or progressive knee osteoarthritis? *Phys Sportsmed* 2011;39(4):44-50.
184. Javadian Y, Adabi M, Heidari B, et al. Quadriceps Muscle Strength Correlates With Serum Vitamin D and Knee Pain in Knee Osteoarthritis. *Clin J Pain*. 2017;33(1):67-70.
185. Heidari B, Javadian Y, Babaei M, Yousef-Ghahari B. Restorative Effect of Vitamin D Deficiency on Knee Pain and Quadriceps Muscle Strength in Knee Osteoarthritis. *Acta Med Iran*. 2015;53(8):466-470.
186. Barker T, Henriksen VT, Rogers VE, Aguirre D, Trawick RH, Lynn Rasmussen G, Momberger NG. Vitamin D deficiency associates with γ -tocopherol and quadriceps weakness but not inflammatory cytokines in subjects with knee osteoarthritis. *Redox Biol*. 2014 Feb 19;2:466-74.
187. Tabassi Z, Bagheri S, Samimi M, Gilasi HR, Bahmani F, Chamani M, Asemi Z. Clinical and Metabolic Response to Vitamin D Supplementation in Endometrial Hyperplasia: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Horm Cancer*. 2017 Jun;8(3):185-195.
188. Agrawal DK. IL-33, IL-37, and Vitamin D Interaction Mediate Immunomodulation of Inflammation in Degenerating Cartilage. *Antibodies (Basel)*. 2021 Oct 26;10(4):41.
189. Aranow C. Vitamin D and the immune system. *J Investig Med*. 2011; 59(6): 881–886.
190. Ozler K., Aktas E., Atay C., Yilmaz B., Arikan M., Gungor S. Serum and knee synovial fluid matrix metalloproteinase-13 and tumor necrosis factor-alpha levels in patients with late-stage osteoarthritis. *Acta Orthop. Traumatol. Turc*. 2016;50:356–361.
191. Stannus O., Jones G., Cicuttini F., Parameswaran V., Quinn S., Burgess J., Ding C. Circulating levels of IL-6 and TNF-alpha are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults. *Osteoarthr. Cartil*. 2010;18:1441–1447.
192. Penninx B.W., Abbas H., Ambrosius W., Nicklas B.J., Davis C., Messier S.P., Pahor M. Inflammatory markers and physical function among older adults with knee osteoarthritis. *J. Rheumatol*. 2004;31:2027–2031.
193. Dadaei T, Safapoor MH, Asadzadeh Aghdaei H, Balaii H, Pourhoseingholi MA, Naderi N, Zojaji H, Azimzadeh P, Mohammadi P, Zali MR. Effect of vitamin D3 supplementation on TNF- α serum level and disease activity index in Iranian IBD patients. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2015 Winter;8(1):49-55.
194. Altobelli E, Angeletti PM, Piccolo D, De Angelis R. Synovial fluid and serum concentrations of inflammatory markers in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis: a systematic review. *Curr Rheumatol Rev* 2017; 13: 170-9.
195. Jin X, Beguerie JR, Zhang W, et al. Circulating C reactive protein in osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2015; 74: 703-10.
196. Kapoor M, Martel-Pelletier M, Lajeunesse D, Jean-Pierre Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7: 33-42.

197. Kim KW, Kim HR, Kim BM, Cho ML, Lee SH. Th17 cytokines regulate osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 2015, 185: 3011-24.
198. Altobelli E, Angeletti PM, Piccolo D, De Angelis R. Synovial fluid and serum concentrations of inflammatory markers in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis: a systematic review. *Curr Rheumatol Rev* 2017; 13: 170-9.
199. Zhang L, Li YG, Li YH, Qi L, Liu XG, Yuan CZ, Hu NW, Ma DX, Li ZF, Yang Q, Li W, Li JM. Increased frequencies of Th22 cells as well as Th17 cells in the peripheral blood of patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2012;7(4):e31000.
200. Zhang L, Li JM, Liu XG, Ma DX, Hu NW, Li YG, Li W, Hu Y, Yu S, Qu X, Yang MX, Feng AL, Wang GH. Elevated Th22 cells correlated with Th17 cells in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol*. 2011 Aug;31(4):606-14.
201. Qi C, Shan Y, Wang J, Ding F, Zhao D, Yang T, Jiang Y. Circulating T helper 9 cells and increased serum interleukin-9 levels in patients with knee osteoarthritis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2016 May;43(5):528-34.
202. Jovanovic D, Pelletier JP, Alaaeddine N, Mineau F, Geng C, Ranger P, Martel-Pelletier J. Effect of IL-13 on cytokines, cytokine receptors and inhibitors on human osteoarthritis synovium and synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cartilage*. 1998 Jan;6(1):40-9.
203. Altman R, Asch E, Bloch D. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis and Rheumatism*. 1986;29(8):1039-1052.
204. Yeh L-A, Augustine AJ, Lee P, Riviere LR, Sheldon A. Interleukin-4, an inhibitor of cartilage breakdown in bovine articular cartilage explants. *Journal of Rheumatology*. 1995;22(9):1740-1746.
205. Onoe Y, Miyaura C, Kaminakayashiki T, et al. IL-13 and IL-4 inhibit bone resorption by suppressing cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin synthesis in osteoblasts. *Journal of Immunology*. 1996;156(2):758-764.
206. Mabey T, Honsawek S, Tanavalee A, Yuktanandana P, Wilairatana V, Poovorawan Y. Plasma and synovial fluid inflammatory cytokine profiles in primary knee osteoarthritis. *Biomarkers*. 2016 Nov;21(7):639-44.
207. Gautier V, Cayrol C, Farache D, Roga S, Monsarrat B, Burlet-Schiltz O, Gonzalez de Peredo A, Girard JP. Extracellular IL-33 cytokine, but not endogenous nuclear IL-33, regulates protein expression in endothelial cells. *Sci Rep*. 2016 Oct 3;6:34255.
208. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev* 2012; 28: 8-27.
209. Milosavljevic MZ, Jovanovic IP, Pejnovic NN et al. Deletion of IL-33R attenuates VEGF expression and enhances necrosis in mammary carcinoma. *Oncotarget*. 2016; 7(14): 18106-15.
210. Griesenauer B, Paczesny S. ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 475.
211. Besnard AG, Togbe D, Guillou N, Erard F, Quesniaux V, Ryffel B. IL-33-activated dendritic cells are critical for allergic airway inflammation. *Eur J Immunol*. 2011; 41(6): 1675-86.
212. Rai V, Radwan MM, Agrawal DK. IL-33, IL-37, and Vitamin D Interaction Mediate Immunomodulation of Inflammation in Degenerating Cartilage. *Antibodies (Basel)*. 2021 Oct 26;10(4):41.
213. Jovanovic I, Pejnovic N, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic ML. IL-33/ST2 Axis in Innate and Acquired Immunity to Tumors. *OncoImmunology*. 2012; 1(2): 229-231.

214. Jovanovic I, Pejnovic N, Radosavljevic G et al. Interleukin-33/ST2 Axis Promotes Breast Cancer Growth and Metastases by Facilitating Intratumoural Accumulation of Immunosuppressive and Innate Lymphoid Cells. *Int J Cancer*. 2014; 134(7): 1669-16682.
215. Jovanovic I, Radosavljevic G, Mitrovic M et al. ST2 Deletion Enhances Innate and Acquired Immunity to Murine Mammary Carcinoma. *Eur J Immunol*. 2011; 41(7): 1902-1912.
216. He Z, Song Y, Yi Y et al. Blockade of IL-33 signalling attenuates osteoarthritis. *Clin Transl Immunology*. 2020; 9(10): e1185.
217. De Martinis M, Ginaldi L, Sirufo MM et al. IL-33/Vitamin D Crosstalk in Psoriasis-Associated Osteoporosis. *Front Immunol*. 2021; 11: 604055.
218. Sirufo MM, Ginaldi L, DE Martinis M. The IL-33/ST2 axis and vitamin D as a possible emerging therapeutic target in osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2021; 60(8): e300.
219. Annalora AJ, Jozic M, Marcus CB, Iversen PL. Alternative splicing of the vitamin D receptor modulates target gene expression and promotes ligand-independent functions. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019; 364: 55-67.
220. Hu Y, Yéléhé-Okouma M, Ea HK, Jouzeau JY, Reboul P. Galectin-3: A key player in arthritis. *Joint Bone Spine*. 2017;84(1): 15-20.
221. Janelle-Montcalm A, Boileau C, Poirier F, et al. Extracellular localization of galectin-3 has a deleterious role in joint tissues. *Arthritis Res Ther* 2007;9:R20.
222. Pichler KM, Weinmann D, Schmidt S, Kubista B, Lass R, Martelanz L, Alphonsus J, Windhager R, Gabius HJ, Toegel S. The Dysregulated Galectin Network Activates NF- κ B to Induce Disease Markers and Matrix Degeneration in 3D Pellet Cultures of Osteoarthritic Chondrocytes. *Calcif Tissue Int*. 2021 Mar;108(3):377-390.
223. Stojanovic B, Jovanovic I, Stojanovic BS, Stojanovic MD, Gajovic N, Radosavljevic G, Pantic J, Arsenijevic N, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 attenuates acute pancreatitis in mice by affecting activation of innate inflammatory cells. *Eur J Immunol*. 2019 Jun;49(6):940-946.
224. Heinrich P.C., Castell J.V., Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J*. 1990;265:621-636.
225. Sanchez-Ramirez DC, van der Leeden M, van der Esch M, Gerritsen M, Roorda LD, Verschueren S, van Dieën J, Dekker J, Lems WF. Association of serum C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate with muscle strength in patients with knee osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Apr;52(4):727-32.
226. Stannus OP, Jones G, Blizzard L, Cicuttini FM, Ding C. Associations between serum levels of inflammatory markers and change in knee pain over 5 years in older adults: a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2013 Apr;72(4):535-40.
227. Arendt-Nielsen L, Eskehave TN, Egsgaard LL, Petersen KK, Graven-Nielsen T, Hoeck HC, Simonsen O, Siebuhr AS, Karsdal M, Bay-Jensen AC. Association between experimental pain biomarkers and serologic markers in patients with different degrees of painful knee osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2014 Dec;66(12):3317-26.
228. Chen N, Wan Z, Han SF, Li BY, Zhang ZL, Qin LQ. Effect of vitamin D supplementation on the level of circulating high-sensitivity C-reactive protein: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2014 Jun 10;6(6):2206-16.
229. Nakai K., Fujii H., Kono K., Goto S., Kitazawa R., Kitazawa S., Hirata M., Shinohara M., Fukagawa M., Nishi S. Vitamin D activates the Nrf2-Keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats. *Am. J. Hypertens*. 2014;27:586-595.
230. Holmes S., Abbassi B., Su C., Singh M., Cunningham R.L. Oxidative stress defines the neuroprotective or neurotoxic properties of androgens in immortalized female rat dopaminergic neuronal cells. *Endocrinology*. 2013;154:4281-4292.

231. Berridge M.J. Vitamin D deficiency: Infertility and neurodevelopmental diseases (attention deficit hyperactivity disorder, autism, and schizophrenia) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2018;314:C135–C151.
232. Liu Y., Hyde A.S., Simpson M.A., Barycki J.J. Emerging regulatory paradigms in glutathione metabolism. *Adv. Cancer Res.* 2014;122:69–101.
233. Beilfuss J., Berg V., Sneve M., Jorde R., Kamycheva E. Effects of a 1-year supplementation with cholecalciferol on interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in overweight and obese subjects. *Cytokine.* 2012;60:870–874.
234. Mansournia MA, Ostadmohammadi V, Doosti-Irani A, Ghayour-Mobarhan M, Ferns G, Akbari H, Ghaderi A, Talari HR, Asemi Z. The Effects of Vitamin D Supplementation on Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress in Diabetic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Horm Metab Res.* 2018 Jun;50(6):429-440.
235. Ozorowski M, Wiciński M, Wróbel Ł, Fajkiel-Madajczyk A. Cholecalciferol supplementation lowers leptin and TMAO but increases NO and VEGF-A levels in obese vitamin D deficient patients: Is it one of the potential cardioprotective mechanisms of vitamin D? *Nutr Metab (Lond).* 2022 Apr 29;19(1):31.
236. Dzik K, Skrobot W, Flis DJ, Karnia M, Libionka W, Kloc W, Kaczor JJ. Vitamin D supplementation attenuates oxidative stress in paraspinal skeletal muscles in patients with low back pain. *Eur J Appl Physiol.* 2018 Jan;118(1):143-151.
237. Igde M, Baran P, Oksuz BG, Topcuoglu S, Karatekin G. “Association between the oxidative status, vitamin D levels and respiratory function in asthmatic children” *Niger J Clin Pract.* 2018;21(1):63–68.
238. Zhang HQ, Teng JH, Li Y, Li XX, He YH, He X, et al. Vitamin D status and its association with adiposity and oxidative stress in schoolchildren. *Nutrition.* 2014;30(9):1040–1044.
239. Akbari M, Ostadmohammadi V, Lankarani KB, Tabrizi R, Kolahdooz F, Heydari ST, Kavari SH, Mirhosseini N, Mafi A, Dastorani M, Asemi Z. The effects of vitamin D supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress among women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Horm Metab Res.* 2018;50(4):271–279.
240. Nakai K, Fujii H, Kono K, Goto S, Kitazawa R, Kitazawa S, et al. Vitamin D activates the Nrf2-Keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats. *Am J Hypertens.* 2014;27(4):586–595.
241. Hamden K, Carreau S, Jamoussi K, Miladi S, Lajmi S, Aloulou D, et al. 1Alpha,25 dihydroxyvitamin D3: therapeutic and preventive effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic and renal injury in alloxan-induced diabetes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2009;55(3):215–222.
242. Tanaka M, Tokunaga K, Komaba H, Itoh K, Matsushita K, Watanabe H, et al. Vitamin D receptor activator reduces oxidative stress in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial.* 2011;15(2):161–168.
243. Lane NE, Gore LR, Cummings SR, et al. Serum vitamin D levels and incident changes of radiographic hip osteoarthritis: a longitudinal study. Study of osteoporotic fractures research group. *Arthritis Rheum.* 1999;42(5):854–860.
244. Huhtakangas JA, Veijola J, Turunen S, et al. Cytokine data obtained from synovial stromal cells of patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Data Brief.* 2017;12:593–602. doi: 10.1016/j.dib.2017.04.041
245. Felson DT. CORR Insights: does vitamin D improve osteoarthritis of the knee: a randomized controlled pilot trial. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:3563–4.

246. Perry TA, Parkes MJ, Hodgson R, Felson DT, O'Neill TW, Arden NK. Effect of vitamin D supplementation on synovial tissue volume and subchondral bone marrow lesion volume in symptomatic knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019;20(1):76.
247. Pradelli L, Sinigaglia T, Migliore A, Checchia GA, Franceschi F, Frediani B, Iannone F, Romanini E. Non-Surgical Treatment of Knee Osteoarthritis: Multidisciplinary Italian Consensus on Best Practice. *Ther Clin Risk Manag*. 2021 May 28;17:507-530.
248. Jin X, Jones G, Cicuttini F, et al. Effect of vitamin D supplementation on tibial cartilage volume and knee pain among patients with symptomatic knee osteoarthritis: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016;315(10):1005–1013.
249. Diao N, Yang B, Yu F. Effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Biochem* 2017;50:1312–6.
250. Zhao ZX, He Y, Peng LH, et al. Does vitamin D improve symptomatic and structural outcomes in knee osteoarthritis? A systematic review and meta-analysis. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2021 Sep;33(9):2393-2403.
251. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N et al. OARSI recommendations for the management of the hip and knee osteoarthritis, part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16:137–62.
252. Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, Altman RD, Arden NK et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis Part III: changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis and Cartilage* 2010;18: 476–499.
253. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JWJ et al. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2003;62:1145–115.
254. Towheed TE, Maxwell L, Judd MG, Catton M, Hochberg MC, Wells GA. Acetaminophen for osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006,(1): CD004257.

Биографија:

Доктор медицине Ана Дивјак рођена је 11.07.1984. године у Крагујевцу. Основну и Средњу медицинску школу завршила је у Крагујевцу као носилац дипломе „Вук Караџић“. Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписала је 2003/2004. године, а дипломирала је 2012. године, са просечном оценом 9,41 (девет и 41/100). Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 2012/2013 године, изборно подручје Клиничка и експериментална хирургија и положила све испите предвиђене програмом студија, укључујући и усмени докторски испит 09.11.2016. године, са оценом 9 (девет). Од 2014. године запослена је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, где и данас обавља послове сарадника у звању асистента за ужу научну област Физикална медицина и рехабилитација. Специјалистичке студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, из гране медицине Физикална медицина и рехабилитација, уписала је 20.01.2015. године и положила је специјалистички испит 29.07.2020. године са оценом одличан (пет).

Од 2021. године запослена је у Универзитетском клиничком центру Крагујевац, у Служби за физикану медицину и рехабилитацију као специјалиста физикалне медицине и рехабилитације.

Аутор је и коаутор више оригиналних научних радова у часописима од међународног и националног значаја са рецензијом

Библиографија:

1. **Divjak A.**, Jovanovic I., Matic A. et al. The influence of vitamin D supplementation on the expression of mediators of inflammation in knee osteoarthritis. *Immunol Res* (2022). <https://doi.org/10.1007/s12026-022-09354-0>
2. **Ana Divjak**, Dejan Aleksic and Katarina Parezanovic Ilic. Impact of rehabilitation on health related quality of life in patients with hip osteoarthritis. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 2017; 18(2): 139-44.
3. Bojan Stojanovic, Marko Spasic, Ivan Radosavljevic, Dragan Canovic, Dragce Radovanovic, Ivan Praznik, Nikola Prodanovic, Andjela Milojevic, Ivana Jelic, Zivan Babic, Viktorija Artinovic, Iva Grubor, Ljiljana Nikolic, Ksenija Vucicevic, Jelena Miljkovic, **Ana Divjak**, Srdjan Stefanovic and Slobodan Jankovic. Risk factors for development of acute necrotizing pankreatitis. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research* 2015; 16(2): 121-7.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Процена утицаја суплементације витамина D на инфламацију, оксидациони стрес и функционалност зглоба код болесника са примарним остеоартритисом колена

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 17.01.2023.године,

A. Зевјак

потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Процена утицаја суплементације витамина D на инфламацију, оксидациони стрес и функционалност зглоба код болесника са примарним остеоартритисом колена

истоветне.

У Крагујевцу, 17.01.2023.године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Ана Дивјак,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Процена утицаја суплементације витамина D на инфламацију, оксидациони стрес и функционалност зглоба код болесника са примарним остеоартритисом колена

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајнодоступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

¹Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 17.01.2023.године,



потпис аутора

²Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>