

# Katestatin i pokazatelji elastičnosti arterijske stijenke u bolesnika s upalnim bolestima crijeva

---

Živković, Piero Marin

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:106347>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**PIERO MARIN ŽIVKOVIĆ, dr. med.**

**KATESTATIN I POKAZATELJI ELASTIČNOSTI ARTERIJSKE  
STIJENKE U BOLESNIKA S UPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SPLIT, 2022.**

Ova doktorska disertacija izrađena je na Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Split te pri Zavodu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split i Katedre za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

**Voditelj rada:** izv. prof. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

## **Zahvala**

*Ovom prilikom želim se zahvaliti prvo svom dragom prijatelju i mentoru izv. prof. dr. sc. Jošku Božiću radi kreiranja i poticanja mog istraživačkog puta u medicini i svesrdne pomoći na svakom dijelu tog puta.*

*Veliku zahvalnost dugujem dr. sc. Ivani Tadin na iskrenom prijateljstvu, nesebičnoj potpori, uvijek pozitivnom raspoloženju i druženjima na kongresima, kao i prof. dr. sc. Anti Tonkiću te izv. prof. dr. sc. Željku Puljizu na potpori kroz sve faze izrade ove disertacije.*

*Zahvaljujem se doc. dr. sc. Doris Rušić na velikoj pomoći u organizaciji i provođenju istraživanja iz kojeg je potekla ova disertacija.*

*Dragim prijateljima i kolegama doc. dr. sc. Marinu Viloviću, Andriji Matetiću dr. med., Dinku Martinoviću dr. med. i Marku Grahovcu dr. med. želim reći jedno veliko hvala jer su me zadužili nesebičnom i pravovremenom pomoći u svim koracima izrade ove disertacije.*

*Želim se zahvaliti i dragoj prijateljici doc. dr. sc. Danieli Šupe Domić na strpljivoj i detaljnoj laboratorijskoj obradi uzoraka prikupljenih u istraživanju.*

*Velika hvala medicinskim sestrama Mariji Milin i Mariani Validžić te svim kolegama liječnicima, medicinskim sestrama zaposlenima na Zavodu za gastroenterologiju Kliničkog bolničkog centra Split koji su uvijek bili spremni pomoći za vrijeme provođenja ovog istraživanja.*

*Na kraju, osobitu zahvalnost želim izraziti svojim roditeljima, bratu i obitelji na potpori i razumijevanju kroz sve dosadašnje faze mog obrazovanja i usavršavanja pa tako i za vrijeme rada na mojoj disertaciji.*

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Definicija, povijest, podjela.....	2
1.2. Epidemiologija i etiologija IBD-a.....	5
1.2.1. Incidencija, prevalencija i mortalitet upalnih bolesti crijeva.....	5
1.2.2. Javnozdravstveni teret IBD-a, socioekonomske značajke bolesnika.....	7
1.2.3. Okolišni čimbenici koji mogu utjecati na nastanak IBD-a.....	8
1.3. Patofiziologija upalnih bolesti crijeva.....	11
1.4. Klinička slika.....	15
1.4.1. Ekstraintestinalne manifestacije.....	19
1.5. Dijagnostička obrada.....	21
1.6. Liječenje upalnih bolesti crijeva.....	27
1.7. Katestatin.....	31
1.7.1. Katestatin i upalne bolesti crijeva.....	33
1.8. Arterijska krutost je mjerljiv parametar oštećenja ciljnog organa.....	34
1.8.1. Arterijska krutost i upalne bolesti crijeva.....	38
2. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	40
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	42
4. MATERIJALI I METODE.....	44
4.1. Dizajn i etična načela.....	45

4.2. Ispitanici.....	45
4.3. Postupci.....	47
4.3.1. Klinički pregled i antropometrijska mjerenja .....	47
4.3.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize .....	47
4.3.2.1. Određivanje serumskih koncentracija katestatina.....	48
4.3.2.2. Određivanje fekalnog kalprotektina.....	48
4.3.3. Procjena aktivnosti upalne bolesti crijeva.....	49
4.3.4. Mjerenje arterijske krutosti .....	49
4.4. Statistički postupci .....	51
5. REZULTATI.....	53
5.1. Osnovne antropometrijske, kliničke i laboratorijske karakteristike ispitanika.....	54
5.2. Temeljne karakteristike ispitivane skupine.....	56
5.3. Serumske vrijednosti katestatina.....	59
5.4. Parametri arterijske krutosti .....	61
5.5. Bivarijatna korelacijska analiza katestatina i odabranih parametara .....	63
5.6. Multipla linearna regresijska analiza .....	64
5.7. Omjer izgleda odabranih varijabli u predviđanja IBD statusa.....	64
6. RASPRAVA .....	66
7. ZAKLJUČCI.....	75
8. LITERATURA .....	77
9. SAŽETAK .....	106

10. SUMMARY .....	110
11. ŽIVOTOPIS .....	114

## POPIS OZNAKA I KRATICA

<b>IBD</b>	upalna bolest crijeva (engl. <i>inflammatory bowel disease</i> )
<b>CD</b>	Crohnova bolest (engl. <i>Crohn's disease</i> )
<b>UC</b>	ulcerozni kolitis (engl. <i>ulcerative colitis</i> )
<b>SE</b>	sedimentacija eritrocita
<b>COX2</b>	ciklooksigenaza 2 (engl. <i>cyclooxygenase 2</i> )
<b>NOD2</b>	nukleotid povezujuća oligomerizacijska regija 2 (engl. <i>nucleotide binding oligomerization domain containing 2</i> )
<b>MDP</b>	muramil dipeptid (engl. <i>muramyl dipeptide</i> )
<b>GWAS</b>	istraživanje cjelokupnog genoma (engl. <i>Genome-Wide Association Studies</i> )
<b>SNP</b>	polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single nucleotide polymorphism</i> )
<b>ATG16L1</b>	autofagijski povezana 16 poput 1 (engl. <i>autophagy related 16 Like 1</i> )
<b>IRGM GTP-aza M</b>	IRGM GTP-aza M povezana s imunitetom (engl. <i>immunity related GTPase M</i> )
<b>IL-23</b>	interleukin 23 (engl. <i>interleukin 23</i> )
<b>IL-12</b>	interleukin 12 (engl. <i>interleukin 12</i> )
<b>IL-10</b>	interleukin 10 (engl. <i>interleukin 10</i> )
<b>PSC</b>	primarni sklerozirajući kolangitis (engl. <i>primary sclerosing cholangitis</i> )
<b>VTE</b>	venska tromboembolija (engl. <i>venous thromboembolism</i> )



<b>CRP</b>	C reaktivni protein (engl. <i>C reactive protein</i> )
<b>FC</b>	fekalni kalprotektin (engl. <i>fecal calprotectin</i> )
<b>ANCA</b>	antineutrofilna citoplazmatska protutijela (engl. <i>antineutrophil cytoplasmatic antibody</i> )
<b>p-ANCA</b>	perinuklearna antineutrofilna citoplazmatska protutijela (engl. <i>perinuclear antineutrophil cytoplasmatic antibody</i> )
<b>ASCA</b>	anti-Saccharomyces cerevisiae protutijelo (engl. <i>anti Saccharomyces cerevisiae antibody</i> )
<b>EGDS</b>	Ezofagogastroduodenoskopija
<b>MR</b>	magnetna rezonancija
<b>CT</b>	kompjuterizirana tomografija
<b>5-ASA</b>	5-aminosalicilna kiselina (engl. <i>5-aminosalicylic acid</i> )
<b>TNF <math>\alpha</math></b>	čimbenik tumorske nekroze $\alpha$ (engl. tumor necrosis factor alpha)
<b>JAK1</b>	janus kinaza 1
<b>JAK3</b>	janus kinaza 3
<b>ChgA</b>	kromogranin A (engl. <i>chromogranine A</i> )
<b>nAChr</b>	nikotinski acetilkolinski receptori (engl. <i>nicotine acetylcholine receptor</i> )
<b>KV</b>	kardiovaskularni
<b>AO</b>	aorta
<b>CCA</b>	zajednička karotidna arterija (engl. <i>common carotid artery</i> )
<b>CFA</b>	zajednička femoralna arterija (engl. <i>common femoral artery</i> )

<b>BA</b>	brahijalna arterija
<b>RA</b>	radijalna arterija
<b>SW/PP</b>	udarni volumen/tlak pulsa (engl. <i>stroke volume/pulse pressure</i> )
<b>UZV</b>	ultrazvuk
<b>PWV</b>	brzina pulsnog vala (engl. <i>pulse wave velocity</i> )
<b>ECCO</b>	europska organizacija za Crohn i kolitis (engl. <i>European Crohns and Colitis Organisation</i> )
<b>ESGAR</b>	europsko udruženje za gastrointestinalnu i abdominalnu radiologiju (engl. <i>European Society For Gastrointestinal and Abdominal Radiology</i> )
<b>WHR</b>	omjer struka i bokova (engl. <i>waist to hip ratio</i> )
<b>UCEIS</b>	endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa (engl. <i>endoscopic index of severity of ulcerative colitis</i> )
<b>MES</b>	Mayo endoskopski zbir (engl. <i>Mayo endoscopic score</i> )
<b>Mayo/DAI</b>	Mayo zbir/indeks aktivnosti bolesti za UC (engl. <i>Mayo disease activity index</i> )
<b>SES-CD</b>	jednostavni endoskopski zbir za Crohnovu bolest (engl. <i>simple endoscopic score - Crohns disease</i> )
<b>CDAI</b>	indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. <i>Crohns disease activity index</i> )
<b>HBI</b>	Harvey Bradshaw indeks
<b>AT</b>	aplanacijska tonometrija

<b>pAIx</b>	periferni augmentacijski indeks (engl. <i>peripheral augmentational index</i> )
<b>cAIx</b>	centralni augmentacijski indeks (engl. <i>central augmentational index</i> )
<b>cPP</b>	centralni tlak pulsa (engl. <i>central pulse pressure</i> )
<b>cSBP</b>	centralni sistolički krvni tlak (engl. <i>central systolic blood pressure</i> )
<b>cDBP</b>	centralni dijastolički krvni tlak (engl. <i>central dyastolic blood pressure</i> )
<b>cMBP</b>	centralni srednji krvni tlak (engl. <i>central mean blood pressure</i> )
<b>pPP</b>	periferni tlak pulsa (engl. <i>peripheral pulse pressure</i> )
<b>pSBP</b>	periferni sistolički krvni tlak (engl. <i>peripheral systolic blood pressure</i> )
<b>pDBP</b>	periferni dijastolički krvni tlak (engl. <i>peripheral dyastolic blood pressure</i> )
<b>pMBP</b>	periferni srednji krvni tlak (engl. <i>peripheral mean blood pressure</i> )
<b>ANCOVA</b>	analiza kovarijance (engl. <i>analysis of covariance</i> )
<b>ITM</b>	indeks tjelesne mase
<b>CRC</b>	kolorektalni karcinom (engl. <i>colorectal carcinoma</i> )
<b>Hb</b>	hemoglobin
<b>Hct</b>	hematokrit
<b>AST</b>	aspartat aminotransferaza

<b>ALT</b>	alanin aminotransferaza
<b>GGT</b>	gama glutamil aminotransferaza
<b>LDH</b>	laktat dehidrogenaza
<b>ALP</b>	alkalna fosfataza (engl. <i>alkaline phosphatase</i> )
<b>LDL</b>	lipoprotein niske gustoće (engl. <i>low density lipoprotein</i> )
<b>HDL</b>	lipoprotein visoke gustoće (engl. <i>high density lipoprotein</i> )
<b>DMARD</b>	bolest modulirajući antireumatici (engl. <i>disease modifying antirheumatic drugs</i> )
<b>cAIx-75</b>	centralni augmentacijski indeks korigiran na srčanu frekvenciju (engl. <i>heart rate adjusted central augmentation index</i> )
<b>HR</b>	frekvencija pulsa (engl. <i>heart rate</i> )
<b>IL-1</b>	interleukin 1
<b>IL-6</b>	interleukin 6
<b>IL-8</b>	interleukin 8
<b>IL-18</b>	interleukin 18

## **1. UVOD**

## 1.1. Definicija, povijest, podjela

Upalne bolesti crijeva (engl. inflammatory bowel disease, IBD) su kronične, autoimune bolesti relapsno-remitirajućeg tijeka koje najčešće zahvaćaju tanko i debelo crijevo. U ove bolesti spadaju 3 temeljna podtipa: Crohnova bolest (engl. Crohn's disease, CD), ulcerozni kolitis (engl. ulcerative colitis, UC) (1) te nedeterminirani kolitis. Potonji, kojim se prezentira barem 10% bolesnika, karakteriziraju značajke bolesti koje su toliko slične da nije moguće početno razlučiti radi li se o CD ili UC (2). Ove bolesti karakterizira heterogenost, neizlječivost, nepredvidljiv tijek, a sve zbog nedovoljno razjašnjene etiologije te patofiziologije.

Povijesno gledano, UC je bio prvi podtip bolesti koji je opisan kao zaseban entitet te možemo reći kako je rana povijest IBD-a je zapravo povijest UC-a. Najraniji opis ulceroznog kolitisa kao entiteta predmet je rasprava. Liječnici još u doba antičke Grčke opisivali su bolesnike s kroničnim proljevom. Hipokrat (otp. 460. - 370. g. pr. Kr.) je raspravljao o brojnim mogućim uzrocima proljeva (3). Pojavnost upale u probavnom sustavu opisivana je u nekoliko medicinskih fakulteta ranog 19. stoljeća. Francois Joseph Victor Broussais (1772. - 1838.) i John Brown (1810. - 1882.) su čak zagovarali teoriju kako je svaka bolest posljedica upale u probavnom sustavu (4). Sir Samuel Wilks (1824. - 1911.) je prvi liječnik koji je u prikazu slučaja 1859. godine upotrijebio termin ulcerozni kolitis kako bi opisao bolest sličnu današnjem poimanju ulceroznog kolitisa (5). Od 1888. godine, zahvaljujući sir Williamu Haleu Whiteu Londonskom (1857. - 1949.) koji je objavio detaljno opisane slučajeve „ulceroznog kolitisa koji nisu bili drugih poznatih uzroka“, pojam ulceroznog kolitisa ulazi u opći medicinski riječnik (6).

Kada govorimo o povijesti Crohnove bolesti važno je naglasiti kako su brojni istraživači, do čuvenog rada Crohna i suradnika iz 1932. godine, objavili prikaze slučajeva koji opisuju CD, a bolest se do tada obično nazivala regionalni ileitis ili regionalni enteritis (7,8). CD najranije i u potpunosti opisuje Giovanni Battista Morgagni (1682. -1771.), u svom djelu

„The Seats and Causes of Diseases“ iz 1761. godine (9). Škotski kirurg Thomas Kennedy Dalziel 1913. godine objavljuje seriju slučajeva ove bolesti u British Medical Journalu, opisuje 9 slučajeva te bolesti koju naziva hiperplastičnim enteritisom. Zanimljivo je naglasiti kako je upravo Dalziel prvi zamijetio zahvaćenost kolona u ovoj bolesti (10). Konačno identifikacija ove bolesti kao zasebnog entiteta različitog od UC-a se dogodila 1932. godine i to publikacijom Crohna i suradnika (11), a u članku se naziva regionalnim ileitisom. Između 30-ih i 50-ih godina 20. stoljeća utvrđuje se kako CD može zahvatiti bilo koji dio probavnog sustava: jednjak, želudac, dvanaesnik ili jejunum (12-14). Charles Wells je prvi povezo CD sa „preskačućim“ lezijama (15).

UC i CD se razlikuju u dubini prodora u stijenku crijeva te mjestu zahvaćanja probavne cijevi. UC zahvaća samo mukozni sloj stijenke. Također zahvaća samo debelo crijevo. Gotovo uvijek zahvaća rektum (proktitis), a može se proširiti u kontinuitetu na preostali kolon te zahvatiti jedan dio ili kolon u cjelini. Najčešće korištene klasifikacije za UC stratificiraju pacijente po proširenosti bolesti u kolonu ili po aktivnosti bolesti. Općeprihvaćena Montrealska klasifikacija iz 2005. za proširenost bolesti nalazi se u Tablici 1, a klasificira UC prema ekstenziji bolesti na ulcerozni proktitis, lijevostrani kolitis te ekstenzivni UC dok se podjela po težini bolesti na 4 podkategorije nalazi u Tablici 2.

**Tablica 1.** Montrealska klasifikacija za proširenost UC-a

Proširenost bolesti		Anatomija
E1	ulcerozni proktitis	aktivnost bolesti u rektumu (proksimalno od rektosigmoidnog spoja)
E2	lijevostrani (distalni) kolitis	aktivna bolest distalnije od lijenalne fleksure
E3	ekstenzivni kolitis (pankolitis)	aktivnost bolesti proksimalnije od lijenalne fleksure

**Tablica 2.** Montrealska klasifikacija za težinu UC-a

Težina bolesti		Definicija
S0	klinička remisija	asimptomatski
S1	blagi UC	4 i manje stolice dnevno (sa i bez primjesa krvi), odsutnost sistemske bolesti, normalni upalni parametri (SE)
S2	umjereni UC	>4 stolice dnevno sa minimalnim znakovima sistemske upale
S3	teški UC	najmanje 6 stolica dnevno sa primjesama krvi, puls najmanje 90/min, tjelesna temperatura od najmanje 37,5C, hemoglobin manji od 105 g/L, SE najmanje 30 mm/h

**Kratice:** SE - sedimentacija eritrocita

CD za razliku od UC upalom zahvaća sve slojeve stijenke crijeva. Ova bolest može zahvatiti bilo koji dio probavnog sustava, počevši od usta pa sve do analne regije. Najčešće zahvaća terminalni ileum i kolon. Karakterizirana je „preskačućim“ lezijama, koje karakterizira odvojenost zahvaćenih segmenata crijeva sa arealom zdravog tkiva. CD je, zbog transmuralnog karaktera, sklona stvaranju mikroperforacija stijenke, fistula te fibroznih suženja. Montrealska klasifikacija iz 2005. godine za CD se nalazi u Tablici 3, a u obzir uzima dob pri pojavi bolesti, dio probavnog trakta zahvaćenog bolešću te ponašanje same bolesti (16, 17).

**Tablica 3.** Montrealska klasifikacija iz 2005. godine za CD

	Montrealska klasifikacija	
Dob pri dijagnozi bolesti	A1	<16 godina
	A2	Između 17 i 40 godina
	A3	>40 godina
Dio zahvaćenog probavnog sustava bolešću	L1	ileum
	L2	kolon
	L3	ileum i kolon
	L4	Izolirana bolest gornjeg dijela probavnog sustava*
Ponašanje bolesti	B1	Nestrikturirajuća, nepenetrirajuća
	B2	strikturirajuća
	B3	penetrirajuća
	p	Perianalna bolest**

\* L4 je modifikator koji može biti pridodan L1-L3, kada je prisutna i bolest gornjeg dijela gastrointestinalnog trakta.

\*\* p se može šridodati B1-B3 kada je prisutna i perianalna bolest



Pojam nedeterminiranog kolitisa (*engl. indeterminate colitis, IC*) uveden je u terminologiju upalnih bolesti crijeva od strane Ashley B. Price 1978. godine (18), a korišten je za opisivanje slučajeva IBD-a koji se nisu mogli klasificirati pod UC ili CD. Istraživanja procjenjuju da 9-20% slučajeva IBD-a se mogu svrstati u IC (19, 20). Ovaj entitet je kroz povijest mijenjao definicije, a danas se koristi u slučajevima kada se po urađenoj kolektomiji u patohistološkom preparatu nakon cjelokupne analize nalaze preklapajuće značajke CD i UC koje patolozima ne dopuštaju definitivnu dijagnozu (17). Ovaj oblik IBD-a obično se prezentira kao akutni, fulminantni kolitis koji najčešće završi sa urgentnom kolektomijom. U ovih pacijenata nije kontraindicirano uraditi restorativnu proktokolektomiju s formiranjem ilealnog rezervoara (*engl. pouch*). Formiranje ilealne „*pouch*“ - analne anastomoze u ovih bolesnika povezano je sa rizikom lošijeg ishoda operacijskog zahvata te posljedičnim mogućim zatajivanjem poucha (21).

## **1.2. Epidemiologija i etiologija IBD-a**

Epidemiološka istraživanja IBD-a uz praćenje promjena učestalosti ovih bolesti pokušavaju razjasniti javnozdravstveni teret ovih bolesti te čimbenike okoliša koji bi mogli utjecati na pojavnost bolesti.

### **1.2.1. Incidencija, prevalencija i mortalitet upalnih bolesti crijeva**

Molodecky i sur. su 2012. godine objavili najopsežniji sistematski pregledni članak s globalnim podacima za incidenciju i prevalenciju IBD-a (22). Ova skupina autora pregledom literature od 1950. do 2010. godine utvrdila je kontinuirani globalni porast incidencije IBD-a, a s najvišom incidencijom u Kanadi i u Europi (rezultati navedeni u Tablici 4). Bitno je naglasiti i kako se prati porast broja oboljelih u mlađoj životnoj dobi, a što s niskim mortalitetom rezultira s velikim opterećenjem na javnozdravstveni sustav diljem svijeta.

**Tablica 4.** Globalna incidencija i prevalencija UC i CD izražena na 100000 stanovnika

Zemljopisno područje	Razdoblje	Incidencija UC	Prevalencija UC	Incidencija CD	Prevalencija CD
Europa	1930.-2008.	0,6-24,3	4,9-505	0,3-12,7	0,6-322
Azija i Srednji Istok	1950.-2008.	0,1-6,3	4,9-168,3	0,04-5	0,88-67,9
Sjeverna Amerika	1920.-2004.	0-19,2	37,5-248,6	0-20,2	16,7-318,5

Zanimljivo je istaknuti kako Farski otoci imaju najvišu incidenciju upalnih bolesti crijeva na svijetu s incidencijom CD-a od 10 na 100000 stanovnika te UC-a od 44 na 100000 stanovnika (23). Prema istraživanju Burischa i sur (24) možemo pretpostaviti kako u Europi od IBD-a boluje oko 0,3% populacije ili 2,5-3 milijuna ljudi. Procjenjuje se da danas preko 2 milijuna ljudi u Sjevernoj Americi boluje od IBD-a, dok se predviđa da će broj oboljelih doseći 4 milijuna do 2030. godine.

Najviša incidencija IBD-a u Europi utvrđena je u Skandinavskim zemljama, a što je dovelo do uvođenja pojma gradijenta „sjever-jug“. Ovaj pojam je opisan sve do 90-ih godina prošlog stoljeća, kada su multicentrične europske studije pokazale kako je razlika incidencije IBD-a među zemljama sjeverne i južne Europe manja nego što se prije mislilo (25). Multicentrična studija Burischa i sur. ukazala je na postojanje gradijenta „istok-zapad“ s višom incidencijom u zemljama zapadne Europe (26), a rezultati studije su prikazani u Tablici 5. Svakako je potrebno istaknuti kako je ovakve rezultate potvrdila i hrvatska studija Sinčić i sur. (27).

**Tablica 5.** Incidencija IBD-a prema multicentričnoj europskoj studiji iz 2010. godine: gradijent „istok-zapad“

Europska regija	N	IBD (95% CI)	CD (95% CI)	UC (95% CI)	IBDU (95% CI)
<b>Zapad</b>	1259	18,5 (17,5 - 19,5)	6,3 (5,7 - 6,9)	9,8 (9,1 - 10,6)	2,4 (2,0 - 2,8)
<b>Istok</b>	256	8,1 (7,2 - 9,2)	3,3 (2,7 - 4)	4,6 (3,9 - 5,4)	0,2 (0,1 - 0,4)
<b>Ukupno</b>	1515	15,2 (14,4 - 16)	5,4 (4,9 - 5,8)	8,2 (7,6 - 8,7)	1,7 (1,4 - 1,9)

U zadnjih 10 godina incidencija IBD-a u djece je u jasnom porastu (28). Sistematski pregled Sykore i sur iz 2018. među pedijatrijskom populacijom utvrdila je incidenciju IBD-a od 23/100000 u Europi, 15,2/100000 u Sjevernoj Americi i 11,4/100000 u Aziji/Bliskom istoku i Oceaniji (29).

Otpriblike četvrtina pacijenata ima prve simptome bolesti prije 18 godine života (30), a bolest se najčešće pojavljuje između drugog i četvrtog desetljeća života. Dob pri postavljanju CD-a je između 20. i 30., dok je za UC između 30. i 40. godine života (31). Neke studije navode i tzv. „drugu vršnu incidenciju“ u starijoj životnoj dobi (32).

Što se spolne razdiobe tiče, ona ovisi o dobi u kojoj se bolest pojavljuje. Pa tako studije navode kako u dječjoj dobi dječaci od 10. do 14. godine imaju višu incidenciju od djevojčica. Nakon 15. godine dolazi do obrata te je bolest učestalija u djevojčica. UC se podjednako pojavljuje u oba spola do dobi između 40. i 44. godine života, potom više muškaraca obolijeva od UC (33).

Kada govorimo o mortalitetu u IBD važno je naglasiti kako u UC ne postoji povišeni rizik smrtnosti u usporedbi s općom populacijom, ali su najčešći uzroci smrti vezani uz osnovnu bolest: kolorektalni karcinom, infekcije i postoperativne komplikacije. CD sa sobom nosi rizik smrtnosti veći za 34-50% u odnosu na opću populaciju. Najčešći uzroci smrtnosti su upravo komplikacije CD-a: malnutricija, infekcije, karcinom i postoperativne komplikacije (34, 35).

#### 1.2.2. Javnozdravstveni teret IBD-a, socioekonomske značajke bolesnika

IBD predstavljaju značajan zdravstveni i ekonomski problem. Potrebno je istaknuti kako su IBD u SAD-u 2015. godine označene kao peta najskuplja gastrointestinalna bolest sa ukupnim godišnji troškovima zdravstvenog sustava od 7,2 milijardi američkih dolara (36). Kanada je 2018. godine za liječenje IBD izdvojila oko 2,6 milijardi američkih dolara (37). Europski zdravstveni sustav godišnje za IBD izdvaja između 4,6-5,6 milijardi eura (38).

Osim što je IBD golem javnozdravstveni teret, važno je naglasiti i to kako se bolest pojavljuje u mlađih osoba, onih koje su najproduktivniji članovi društva. Istraživanja ukazuju kako je oko 10% oboljelih od IBD nezaposleno, dok je trajni invaliditet te nesposobnost za rad dvostruko učestalija nego u općoj populaciji. IBD bolesnici su češće i na bolovanju i to u prosjeku 3-6 tjedana godišnje (39).

### 1.2.3. Okolišni čimbenici koji mogu utjecati na nastanak IBD-a

Brojni čimbenici okoliša su do sada opisivani u istraživanjima, a s mogućim utjecajem na nastanak IBD-a. Najprihvaćenija teorija za nastanak IBD-a uključuje isprepletanje genetskih i okolišnih čimbenika od kojih je bitno navesti: prehranu, pušenje cigareta, antibiotsku i ostalu terapiju, infekcije, stres i onečišćenje okoliša (40).

Prehrana i pojava IBD naširoko je istraživana tema. Važnost prehrane je u njenoj ključnoj ulozi održavanja homeostaze crijevnog mikrookoliša, utjecajem na crijevni mikrobiom, crijevnu barijeru, crijevnu imunost te naposljetku crijevnu fiziologiju utjecajem na otpuštanje probavnih hormona. Zapadnjački način života s velikim udjelom brzo spravljene hrane, s malim udjelom vlakana te velikim udjelom šećera, povezana je s visoko incidencijom upalnih bolesti crijeva. Najradikalnija promjena je u tome što se zapadnjačka prehrana umjesto na namirnicama biljnog podrijetla zasniva na namirnicama životinjskog podrijetla. Osnova prehrane posljedično ima utjecaj na samnjenu količinu korisnih bakterija u crijevima, onih koje su uključene u razgradnju vlakana, poput *Prevotella spp.* i *Treponema spp.* Također je važno istaknuti povećanu prisutnost ksenobiotika u hrani (posebno u mesu), a koji su kemijske tvari koje nisu prirodnog podrijetla već se nalaze u hrani ili zbog onečišćenja ili zbog uporabe pesticida (41).

Danas se sve više govori o imunološkoj ulozi vitamina D. Literatura sugerira da je uloga vitamina D raznolika i povezana s raznim bolestima, uključujući IBD. Leslie i suradnici uočili

su nedostatak vitamina D u pacijenata s dijagnosticiranim IBD-om i istaknuli da su niske razine vitamina D povezane s povećanim rizikom od razvoja IBD-a (42). U animalnim (mišjim) modelima, nedostatak vitamina D povezan je s povećanom osjetljivošću na kolitis izazvan dekstran-natrij-sulfatom, a dodatak 1,25-(OH)-2D3 ublažava težinu upalne reakcije u crijevima (43).

Pušenje cigareta ima višestruk utjecaj na upalne bolesti crijeva. Incidencija upalnih bolesti crijeva je visoka i u zemljama s niskom (npr. SAD i Kanada) i visokom (npr. Kina i Južna Koreja) prevalencijom pušenja. Studije ukazuju na dvostruko povećan rizik od CD u pušača, u odnosu na nepušače. U CD pušenje je čimbenik rizika za pojavu bolesti u mlađoj životnoj dobi te veću potrebu korištenja imunosupresivne terapije u ženske populacije, a povezano je i s većom stopom postoperativnih komplikacija bolesti. Na temelju navedenog možemo zaključiti kako je prestanak pušenja ključan u CD-u. Suprotno tome, u UC pušenje cigareta ima protektivan učinak. Sam prestanak pušenja daje rizik za pojavu UC-a nakon čak 2-5 godina. Istraživanja su pokazala kako pušenje ipak dovodi do pojave UC-a u kasnijoj životnoj dobi, dok muškarci koji puše imaju manju potrebu za imunosupresivnom terapijom (44-47).

Uporaba antibiotika povećava rizik za razvoj IBD-a. Studije ukazuju kako poseban rizik razvoja CD se nalazi u dječjoj dobi i to uporaba antibiotika u prvoj godini života (48). Moguće patofiziološko objašnjenje možemo pronaći u recentnoj studiji na animalnim modelima s pre-IBD stanjem (definiranim kao IBS uz minimalne znakove upale crijevnih sluznica) (49) koja je ukazala kako antibiotici u sinergiji s hranom bogatom mastima utječu na funkciju mitohondrija intestinalnih stanica što utječe na disbiozu i posljedično egzacerbira pre-IBD (50).

Kada govorimo o lijekovima i IBD-u važno je napomenuti kako acetilsalicilna kiselina i ostali nesteroidni antireumatici mogu uzrokovati oštećenje barijere gastrointestinalnog sustava te relaps IBD-a u oko 20% bolesnika. Inhibitori ciklooksigenaze-2 (engl.

ciklooxigenase-2 inhibitors, COX-2) inhibitori su pak manje rizični za pojavu egzacerbacije bolesti. Uporaba oralnih kontraceptiva povećava rizik za pojavu IBD, pogotovo uz istodobno pušenje (51).

Utjecaj mikroorganizama na razvoj ili pogoršanje IBD-a uvelike se počeo istraživati razvojem novih tehnologija koje omogućuju identifikaciju mikroorganizama bez klasičnih tehnika uzgoja. Istraživanja ukazuju na povećanu koncentraciju *Enterobacteria* spp, *Fusobacteria* spp, adherentno-invazivne *E. Coli*, *Mycobacterium avium paratuberculosis* i *Clostridium difficile* u bolesnika s IBD. Također je infekcija *Campylobacter* spp. povezana s IBD. Od virusnih infekcija najviše je ispitivan virus ospica, ali bez jasnih rezultata. Od gljivica istraživane su *Candida albicans* te *Sacharomyces cerevisiae*. Kolonizacija ličinkama helminta opisana je pak kao moguća metoda liječenja IBD, za sada bez kliničke primjene (52,53).

Već dugo se zna da povećana razina stresa ima ulogu u etiopatogenezi CD-a i UC-a (41). Bitton i suradnici pokazali su da su osobe s nižom razinom stresa imale smanjeni rizik od pojave IBD-a (54). Komponente raspoloženja kao što su: povišena percepcija stresa, depresija i anksioznost, mogu odigrati snažnu ulogu u pogoršanju IBD-a (55). Retrospektivna studija Goodhanda i suradnika ukazala je na to da korištenje antidepresiva može pozitivno utjecati na tijek IBD-a (56). Međutim, Cochrane pregled literature ne pokazuje nikakvu korist od psiholoških intervencija u bolesnika s IBD-om (57).

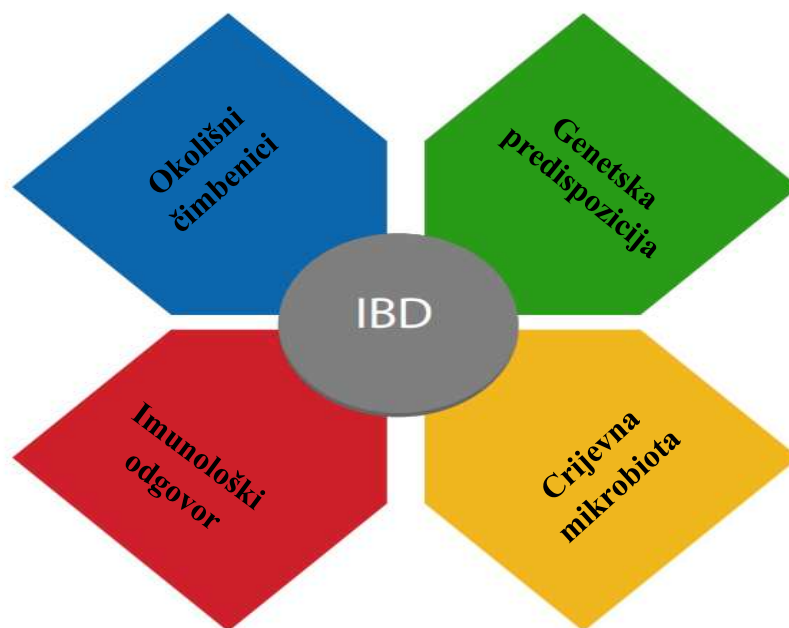
Brojne ekološke i epidemiološke studije upućuju na to da zagađenje zraka može pridonijeti povećanom riziku od CD-a i UC-a. Rastuća incidencija CD-a i UC-a u zemljama u razvoju prati razvoj industrijalizacije tih zemalja (20). Kaplan i suradnici, pomoću baze podataka The Health Improvement Network Database u Ujedinjenom Kraljevstvu, otkrili su da visoke razine NO<sub>2</sub> i SO<sub>2</sub> koreliraju s povećanim rizikom od razvoja CD-a i UC-a (58).

### 1.3. Patofiziologija upalnih bolesti crijeva

Istraživanja u ovom području pokazuju da su genetska predisponiranost pojedinca, utjecaj okolišnih čimbenika, crijevna mikrobna flora i imunološki odgovor uključeni i funkcionalno integrirani u etiopatogenezu IBD-a (59, 60). Možemo reći da mehanizam nastanka IBD-a uključuje nekontrolirani imunološki posredovan upalni odgovor u genetski predisponiranih pojedinaca na nepoznati okidač iz okoliša koji stupa u interakciju s crijevnom mikrobiotom (slika 1) (61). Okolišni čimbenici su opisani u prethodnom poglavlju.

Tokom posljednjih desetljeća došlo je do velikog napretka u razumijevanju genetskog doprinosa u etiopatogenezi IBD-a (62). Napredak u tehnologijama genetskog testiranja i molekularnih analiza omogućio je završetak mnogih dijelova istraživanja cjelokupnog genoma (engl. Genome-wide association studies - GWAS) koje identificiraju polimorfizme jednog nukleotida (engl. Single nucleotide polymorphisms - SNP). Nedavne studije pokazale su da postoji 163 genska lokusa povezana s IBD-om, od kojih je 110 povezano s obje bolesti, 30 je specifičnih za CD i 23 specifičnih za UC (63).

Era modernog genetskog istraživanja IBD-a započela je 2001. godine otkrićem NOD2 (engl. Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 2 – NOD2) gena, prvog gena povezanog s razvojem CD (64). Gen NOD2 kodira protein koji je izvorno opisan kao unutarstanični receptor koji prepoznaje muramil dipeptid (engl. muramyl dipeptide – MDP), prisutan u peptidoglikanu i gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija (65). Vezivanjem MDP-a na receptor inducira se autofagija, koja kontrolira replikaciju bakterija, i prezentacija bakterijskih antigena (66) te modulira funkciju urođene i stečene imunosti (67). NOD2 sudjeluje i u različitim putevima neovisnim o MDP-u, kao što je regulacija odgovora T-stanica (68).



**Slika 1.** Multifaktorijala etiologija IBD-a. (modificirano prema: Malik TA. Inflammatory Bowel Disease. Surg Clin N Am. 2015;95(6):1105-22.)

Genetske analize pokazale su neizostavnu ulogu autofagije u imunološkom odgovoru u sklopu IBD-a, te ističu dva gena povezana s autofagijom, nazvana ATG16L1 (engl. Autophagy Related 16 Like 1) i IRGM (engl. Immunity Related GTPase M) (69,70). Proces autofagije je jedan od ključnih u održavanju unutarstanične homeostaze: doprinosi razgradnji i recikliranju citosolnog sadržaja i organela, kao i otpornosti stanice na infekciju i uklanjanju patogenih unutarstaničnih mikroorganizama (71). ATG16L1 bitan je za sve oblike autofagije, a kodirajuća mutacija T300A povezana je s povećanim rizikom od CD-i. IRGM pripada obitelji GTPaza p47. Polimorfizmi povezani s CD-om u IRGM-u dovode do smanjene ekspresije proteina. Epitelne stanice i dendritične stanice koje sadrže varijante ATG16L1 i NOD2 pokazuju manjkavosti u antibakterijskoj autofagiji (72, 73).

Uz široku uporabu GWAS-a i SNP-a, nedavno je opisana značajna povezanost između IBD-a i gena IL23R (74). Gen IL23R kodira podjedinicu receptora za proupalni citokin interleukin (IL)-23, peptid uključen u sazrijevanje stanica Th17. Put Th17 i IL-23 dobro je



poznat u patogenezi IBD-a, s naglaskom na genske lokuse IL23R, IL12B, JAK2 i STAT3 koji su identificirani i u UC i CD (75, 76). Varijante lokusa IL12B, koji kodira p40 podjedinicu IL-12 i IL-23, povezane su s IBD-om i drugim imunološkim poremećajima. Poremećaji u funkciji IL-10 također su povezane s CD-om i UC-om (77).

S jedne strane, sve veći broj odgovornih genskih lokusa opisanih u IBD-u ukazuje da su genetski utjecaji kritična komponente patogeneze bolesti; dok s druge strane, polimorfizmi otkriveni u do sada poznatim genskim lokusima mogu se pronaći u samo 20-25% slučajeva IBD-a u dosadašnjim studijama. Takva pojava u literaturi se naziva „genetski vakuum“ i nije karakteristična samo za IBD, već i za mnoge druge multifaktorijalne poligenetske bolesti. Ovo pitanje dodatno je naglašeno mnogim GWAS studijama koje nisu uspjele dodati nove genske lokuse kako bi se popunio "genetski vakuum" u genezi IBD-a. Novi uvidi u genetiku i nasljeđivanje IBD-a impliciraju da će buduća istraživanja interakcija gen – gen, gen – signalizacijski puta i gen – okoliš vjerojatno dati opširniji uvid u patogenezu IBD-a nego pronalaženje novih rijetkih varijanti u samim genskim lokusima (78).

Ukupna crijevna mikrobiota čovjeka sastoji se od približno 1150 vrsta bakterija, pri čemu svaki pojedinac ima otprilike 160 vrsta bakterija u gastrointestinalnom sustavu (79). Mnoga su dosadašnja istraživanja opisivala crijevnu mikrofloru u zdravim segmentima crijeva i u segmentima crijeva zahvaćenih upalom u pacijenta s CD-om i UC-om. Pokazano je da postoji značajno smanjena bioraznolikost fekalne mikrobiote u pacijenata s IBD-om u odnosu na onu u zdravih kontrola (80). U zdravom crijevu prevladavaju bakterije koljena Firmicutes i Bacteroidetes. Nasuprot tomu, u pacijenata s CD-om, mikrobiotu karakterizira relativni nedostatak bakterija iz koljena Firmicutes i Bacteroidetes te prekomjerna zastupljenost enterobakterija. U pacijenata s UC-om, vidljivo je smanjenje relativnog broja bakterija *Clostridium* spp. te je zabilježen relativni porast bakterije *Escherichia coli* (81). Adhezivan i invazivan fenotip *E.coli* (engl. Adherent and invasive *E. coli* - AIEC) dokazan je u pacijenata

s CD-om, za koji je karakteristična invazija bakterija u epitelne stanice i replikacija unutar makrofaga (82). Također je pokazano da AIEC inducira stvaranje granuloma in vitro i granulomatozni kolitis u pasa (83).

Dostupni dokazi upućuju na to da disfunkcije urođene i stečene imunosti doprinose aberantnoj upalnoj reakciji crijeva u bolesnika s IBD-om. Većina studija u posljednje vrijeme bila je usredotočena na ulogu abnormalne stečene imunosti u patogenezi IBD-a. Usredotočenost na stečeni dio imunološkog odgovora u konačnici je dovela do ideje da dvije glavne vrste IBD-a predstavljaju jasno različite oblike upale crijeva: dugo se smatralo da CD potiče Th1 odgovor, a UC je povezan s nekonvencionalnim Th2 odgovorom (78). Nedavno je opisano da su Th17 stanice također uključene u upalni proces u stijenci crijeva u pacijenata s IBD-om (84). Nešto novije imunološke studije posebno su se usredotočile na imunološke odgovore posredovane urođenom imunosti, poput integriteta epitelne barijere i autofagije (78).

Prvu fizičku barijeru s kojom se susreću crijevne bakterije i antigeni iz hrane predstavlja sloj sluznice koji prekriva crijevni epitel. Važnost tog sloja sluznice u sprječavanju proboja bakterija i nastanka crijevne upale dokazana je mnogim studijama (85). Drugu liniju obrane od bakterijske invazije čini crijevni epitel koji se sastoji od enterocita i specijaliziranih epitelnih stanica, poput Panethovih stanica. Osim što čine fizičku barijeru prodoru bakterija, epitelne stanice mogu lučiti i brojne antimikrobne peptide. Disregulacija u ekspresiji nekih od tih antimikrobnih peptida primijećena je u bolesnika s CD-om (86).

Iako se o funkcijskim posljedicama mutacija u već spomenutom genu NOD2 još uvijek raspravlja, dostupni dokazi upućuju na to da mutacije dovode do gubitka funkcije koje dovode do smanjene aktivacije transkripcijskog čimbenika NF- $\kappa$ B (87). Ovaj neodgovarajući odgovor mogao bi rezultirati abnormalnom invazijom mikroorganizama (88). Druge studije sugeriraju da gubitak funkcije NOD2 može rezultirati nedostatkom inhibicije stimulacije TLR2, što dovodi do aktivacije brojnih komponenti upalnog procesa i prekomjernog Th-1 odgovora (89).

Teško je osporiti uvriježeno mišljenje da IBD proizlazi iz iznimno složene interakcije između genetskih i okolišnih elemenata, nereguliranih imunoloških odgovora i promjena mikrobioma te da niti jedan od ovih čimbenika sam po sebi neće uzrokovati bolest. Detaljnije informacije o ulozi i funkciji crijevne mikrobiote kao i o interakcijama između navedenih čimbenika, postaju sve dostupnije putem novih tehnika u istraživanju genoma, istraživanja promjena u okolišu, molekularne analize flore crijevnih bakterija i integriranijeg razumijevanja interakcije između mehanizama urođene i stečene imunosti (78).

#### **1.4. Klinička slika**

CD može zahvatiti bilo koji dio GI sustava, od usta do anusa. Klinički simptomi i znakovi CD uvelike ovise o proširenosti i intenzitetu bolesti, što dovodi do širokog spektra kliničkih slika. Klasični simptomi CD-a uključuju bol u trbuhu, kronični vodenasti proljev i gubitak težine (90).

Bol u trbuhu dominantni je simptom. Obično je oštra i lokalizirana te često povezana s defekacijom, a ublažava se neposredno nakon. S obzirom da bolest najčešće zahvaća terminalni ileum, bol se često lokalizira u desnom donjem kvadrantu. CD se također može prezentirati akutnom i jakom boli koja, u kontekstu diferencijalne dijagnoze, može nalikovati boli pri upali slijepog crijeva. Unatoč tome, u kliničkoj praksi češće se radi o abdominalnoj boli podmuklog početka s izmjenama perioda aktivne bolesti i perioda remisije. Periode aktivne bolesti karakteriziraju više ili manje česti napadaji boli različitog intenziteta i osjećaja neugode u abdomenu, dok periode remisije karakterizira potpuna odsutnost simptoma (91).

Proljev vezan uz CD je najčešće vodenast, ali može biti i krvav. Proljev s primjesama krvi u CD-u se najčešće viđa kad je bolešću zahvaćeno debelo crijevo i rektum, a često je periodičan te može proći mnogo godina prije postavljanja točne dijagnoze. Pacijenti s CD-om često su imali značajan gubitak tjelesne mase do trenutka postavljanja dijagnoze, a koji nastaje

kao posljedica kroničnog proljeva, malapsorpcije i anoreksije koji proizlaze iz straha od jela (92).

Kronični upalni proces i nakupljanje granulocita u crijevnoj sluznici glavna su karakteristika CD-a. Neutrofilni infiltriraju crijevni epitel, razaraju ga i stvaranju tzv. kriptalne apscese. Kronična upala također može rezultirati stvaranjem penetrirajućih fistula ili fibrostenotskih opstrukcija. Crijevne fistule se javljaju u oko 20% do 40% bolesnika s CD (93). Proces formiranja fistula može zahvatiti bilo koju susjednu strukturu: crijeva, mjehur, kožu ili rodnicu. Enteroenterične fistule najčešći su oblik luminalne fistulizirajuće bolesti, često su klinički asimptomatske, ali mogu znatno doprinijeti malapsorpciji i proljevu. Enterovaginalne fistule sljedeće su po učestalosti i karakterizira ih izlazak stolice ili plinova kroz rodnicu. Enterokutane fistule, kao i njih poseban oblik perianalne fistule, rezultiraju drenažom enteričkog sadržaja kroz kožu. Enterovezikularne fistule čine 3% svih fistula (94). Fibrostenotski obrazac upalnog procesa rezultira razvojem striktura. Striktura se mogu klinički prezentirati relativnom ili potpunom opstrukcijom prolasku crijevnog sadržaja, a koje rezultiraju bolovima u trbuhu, mučninom, povraćanjem i naposljetku razvojem ileusa. Prezentacija može biti akutna ili kronična. Striktura se mogu pojaviti u cijelom GI traktu, a najčešće je zahvaćeno tanko crijevo. U praksi se također susreću i opstrukcija pilorusa, debelog crijeva te analne striktura (92).

Otprilike jedna trećina pacijenata s CD-om prezentira se perianalnim promjenama koje uključuju fisure, fistule, sinuse, apscese i kožne promjene (95). Otprilike 15% pacijenata ima perianalnu fistulu u vrijeme postavljanja dijagnoze, a ukupna incidencija perianalnih fistula kreće se od 17% do 43% (7). Smatra se da razvoj perianalnih fistula u sklopu CD-a predstavlja poseban fenotip bolesti. Ovaj fenotip je tipično patofiziološki agresivniji oblik bolesti i može zahtijevati modifikacije u klasičnom algoritmu farmakoloških i kirurških intervencija u sklopu

liječenja (97). Učestalost perianalnih fistula povećava se sa zahvaćenošću distalnog dijela GI sustava i najčešće je povezan s bolešću koja zahvaća rektum (98).

Unatoč napretku u farmakološkim mjerama, CD je često progresivna bolest i zahtijeva kirurško liječenje. Meta-analiza Peyrin-Birouleta i suradnika iz 2010., uključujući 25870 pacijenata, pokazala je da je gotovo 50% pacijenata zahtijevalo neki oblik kirurškog liječenja unutar 10 godina od postavljanja dijagnoze (99). Druga meta-analiza Bouguena i suradnika iz 2011. godine pokazala je da je stopa terapijskih kirurških zahvata bila između 18% i 33% unutar 5 godina nakon postavljanja dijagnoze CD-i (100). Bolesnici s CD-om imaju povećanu stopu smrtnosti koja je otprilike 1,3 do 1,5 puta veća nego u općoj populaciji. Taj broj neovisan je o činjenici postoji li zahvaćenost tankog ili debelog crijeva, ili oboje. Povećani rizik se uglavnom odnosi na komplikacije same bolesti, kao što su kolorektalni karcinom, hipovolemija, malnutricija i anemija (101).

Upalni proces u sklopu UC ograničen je na sluznicu i podsluznicu debelog crijeva što simptome čini manje heterogenima nego u CD-u. Klinička prezentacija UC-a je širokog spektra, a težina simptoma proporcionalno je povezana s opsegom upale (102). Vrijeme od pojave prvih simptoma do postavljanja dijagnoze obično je kraće u UC-u nego kod CD-a, od nekoliko tjedana do mjeseci, za razliku od nekoliko godina kod CD-i (92). Montrealska klasifikacija za proširenost UC-a najčešće se koristi za objektivnu klasifikaciju opsega i težine bolesti te može pomoći u određivanju ispravnog terapijskog pristupa (103).

Najčešći klinički simptom UC-a je proljev zbog brzog prolaska crijevnog sadržaja kroz upaljeno debelo crijevo. Proljev je često izražen postprandijalno, a može se javljati i tokom noći. Težina proljeva povezana je s jačinom upalnog procesa. Rektalna upala dovodi do čestih pražnjenja malog volumena crijeva, a povezana je i s čestim primjesama sluzi u stolici. Proksimalna bolest, sve do zahvaćenosti cijelog debelog crijeva (pankolitisa), rezultira težim oblikom proljeva većeg volumena s tekućom stolicom (92).

Primjese krvi u stolici su vrlo čest, ali ne uvijek prisutan simptom u sklopu UC. Ovaj simptom osobito je rijedak u slučajevima blage bolesti ograničene na distalni kolon. Krvavi proljev je prisutan u većine bolesnika, a težina krvarenja povezana je s opsegom zahvaćenosti debelog crijeva. Bolesnici s distalnijim oblikom bolesti mogu primjetiti samo blago krvlju obojanu sluz ili male količine svježe krvi u stolici. Kako se bolest širi proksimalno, krv se miješa sa stolicom i može dovesti do jako krvavog proljeva. Ozbiljno krvarenje viđa se u do 10% pacijenata, a otprilike 1% do 3% populacije s UC-om doživjelo je barem jednu epizodu masivnog krvarenja koje može zahtijevati kiruršku intervenciju. Fulminantni kolitis ili toksični megakolon viđaju se u približno 15% bolesnika s UC-om. Mogu rezultirati teškim krvarenjem ili perforacijom debelog crijeva, a u tim slučajevima često postoji potreba za hitnim kirurškim zahvatom (104).

Ostale uobičajene kliničke značajke UC-a uključuju tenezme i bol u trbuhu. Bol u trbuhu varira od blage boli s kolikama do jakih grčeva. Kod duljeg trajanja bolesti pacijenti mogu razviti striktore debelog crijeva i javljaju se u oko 5% do 10% bolesnika, a mogu dovesti do već spomenutih simptoma opstrukcije crijeva i boli. Opstipacija je također mogući simptom UC-a, a najčešće se javlja kod lokalizirane distalne bolesti i rezultira odgođenim pražnjenjem i smanjenom pokretljivošću proksimalnih dijelova crijeva. Čak i uz opstipaciju, pacijenti često imaju povremene iscjetke krvi i sluzi (105).

Većina pacijenata s UC-om ima blage do umjerene simptome u vrijeme postavljanja dijagnoze. Razmak kraći od 2 godine od prvih simptoma do postavljanja dijagnoze te prisutnost vrućice ili gubitka tjelesne mase u vrijeme postavljanja dijagnoze čimbenici su za koje je utvrđeno da mogu povećati rizik od naknadnih recidiva. Opseg upale sluznice korelira s težinom tijeka bolesti; oni s pankolitisom općenito imaju težu bolest. Iako se u najvećem broju slučajeva UC liječi farmakološkim intervencijama, otprilike 20% do 30% pacijenata će u nekom periodu trebati terapijski kirurški zahvat (106). Zahvaljujući napretku u farmakološkim

mjerama liječenja, dugoročne stope preživljavanja poboljšale i sada su usporedive s općom populacijom (107).

I kod UC-a i kod CD-a tipičan tijek bolesti uključuje izmjenu perioda aktivne bolesti i stadija remisije. Bolesnici s klinički neaktivnom bolešću imaju vjerojatnost između 80% i 90% za kliničku sliku bez promjena i u sljedećoj godini, dok aktivnu bolest karakteriziraju češći recidivi s vjerojatnošću relapsa između 70% i 80% tijekom sljedeće godine (108).

#### 1.4.1. Ekstraintestinalne manifestacije

I u UC-u i u CD-u u kliničkoj slici često se vide i sistemski simptomi. Brojne ekstraintestinalne manifestacije (EIM) zabilježene su u 25% do 40% pacijenata s IBD-om (109). Umor je čest simptom, a nastaje kao posljedica trajne upale i malapsorpcije. Često se viđaju i kronične vrućice koje su obično na razini subfebriliteta. Viša temperatura ukazuje na teži upalni proces, kao što je stvaranje apscesa ili perforacija crijeva (92). Gotovo svaki organski sustav može biti zahvaćen, ali simptomi koji uključuju zglobove, kožu, jetru i oči smatraju se primarnim manifestacijama. Jasno je pokazano da prisutnost jedne ekstraintestinalne manifestacije bolesti povećava rizik od razvoja druge. Simptomi često koreliraju s aktivnošću same IBD bolesti i mnogi od njih, dobro reagiraju na liječenje podležeće crijevne upale (110).

Poremećaji muskuloskeletnog sustava su najčešće ekstraintestinalne manifestacije te se javljaju u do 53% IBD pacijenata, a manifestiraju se kao artritis kralježnice, sakroilijačnih, perifernih zglobova ili u kombinaciji navedenih zglobova. Ova artropatija spada u skupinu seronegativnih spondiloartropatija te se javlja podjednako u oba spola, učestalija je u CD s zahvaćanjem kolona te u UC s opsežnijim zahvaćanjem kolona (111).

Kožne ekstraintestinalne manifestacije javljaju se u do 34% pacijenata s IBD. Obuhvaćaju širok spektar kožnih promjena, a najčešće su nodozni eritem i gangrenozna

pyoderma. Poznato je kako nodozni eritem prati intenzitet aktivnosti bolesti, ali ne korelira sa stupnjem intestinalne upale. Najčešća lokalizacija nodoznog eritema je ekstenzorna strana donjih udova, a tipično se javlja na koži prednjeg dijela tibijalne regije. Gangrenozna pyoderma je najteža kožna EIM. Karakterizirana je brzim razvojem od eritematozne papule do dermalne nekroze te naposljetku duboke ulceracije s purulentnim sterilnim iscjetkom. Najčešće se javlja na listu te u peristomalnom području (112).

U jetrene ekstraintestinalne manifestacije spada najozbiljnija bolest ovog spektra, primarni sklerozirajući kolangitis (PSC). Bolest je jako povezana s IBD-om; 75% pacijenata s PSC ima UC, a 5% do 10% ima CD. Međutim, samo 5% bolesnika s UC i 2% bolesnika s CD razvije PSC. Razvija se između 30-59 godine, prevalencija je 2:1 u korist muškaraca. Važno je naglasiti kako klinički tijek PSC-a nije povezan s podležecom IBD-bolesti, a najčešće se nađe u pacijenata s ekstenzivnim UC-om (113).

Očne manifestacije javljaju se u 0,3-5% svih IBD pacijenata, a među najčešće spadaju episkleritis, skleritis te uveitis (114). Rizik za pojavu očnih manifestacija je veći ukoliko su u pacijenata prisutne i zglobne ekstraintestinalne manifestacije, a zabilježeno je i češće javljanje kod žena (115).

Iako oboljeli od upalnih bolesti crijeva u usporedbi s općom populacijom pokazuju manje tipičnih kardiovaskularnih rizika (npr. pretilost, dislipidemija), uočena je povećana incidencija kardiovaskularnih bolesti poput arterijske hipertenzije, fibrilacije atrijske, ishemijske bolesti srca, cerebrovaskularnog infarkta i drugih. Patogenetski mehanizam kojim nastaju kardiovaskularne bolesti nije još razjašnjen (116). U kliničkoj praksi jako važna komplikacija za koju IBD pacijenti imaju povećan rizik je venska tromboembolija (VTE). Smatra se kako nastanku VTE pogoduju brojni čimbenici: poremećaji broja trombocita, endotelna disfunkcija, hiperkoagulabilnost krvi, venska staza te genetski pridruženi poremećaji (npr. deficita proteina



C, proteina S ili antitrombina) (117). Najčešće ekstraintestinalne manifestacije u sklopu IBD-a s incidencijom prikazane su u Tablici 6.

**Tablica 6.** Najčešće ekstraintestinalne manifestacije IBD-a. Prilagođeno prema: Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. Surg Clin N Am. 2019;99:1051-62.

<i>Skupina manifestacija</i>	<i>Dijagnoza</i>
<i>Kožne manifestacije</i>	Nodozni eritem Pioderma gangrenosum
<i>Reumatološke bolesti</i>	Periferni artritis Spondilitis Simetrični sakroileitis
<i>Oko</i>	Konjunktivitis Uveitis Iritis
<i>Hepatobilijarni sustav</i>	Episkleritis Primarni sklerozni kolangitis Autoimuni hepatitis
<i>Bubreg</i>	Masna jetra Kolelitijaza Nefrolitijaza
<i>Kardiovaskularni sustav</i>	Opstruktivna uropatija Hiperkoagulabilna stanja Endokarditis
<i>Koštani sustav</i>	Miokarditis Osteoporoza Osteomalacija

### 1.5. Dijagnostička obrada

Dijagnostička obrada pacijenta kod kojeg se sumnja na IBD započinje detaljnom anamnezom i fizikalnim pregledom. Prije svega, potrebno je uzeti detaljne anamnestičke podatke o prisutnosti IBD-a u obitelji, ostalim bolestima u obiteljima s naglaskom na autoimune bolesti te, u osobnoj anamnezi, o uzimanju pojedinih lijekova, a uključujući nesteroidne protuupalne lijekove i antibiotike (92). Neki od najčešćih simptoma vezanih uz

IBD, koje također treba zabilježiti u anamnezi, su poremećaji rasta kod djece, anemija, bolovi u truhu, krvavi proljevi i artritis (118).

Fizikalnim pregledom služimo se kako bi procijenili stanje hidracije, uhranjenosti i općeg stanja bolesnika. Pregledom trbuha inspekcijom, palpacijom i auskultacijom može se verificirati enterokutana fistula, ali se također ponekad može otkriti palpabilna masa, ukoliko je došlo do razvoja intraabdominalne flegmone ili apscesa. Svakako je potrebno napraviti i digitorektalni pregled kako bi se uočile i procjenile bilo kakve perianalne promjene, poput fistula, fisura, apscesa ili kožnih promjena (92).

Laboratorijski nalazi mogu biti normalni, iako su anemija i trombocitoza česte. Hipoalbuminemija i nedostatak vitamina mogu ukazivati na pothranjenost povezanu s IBD-om (118). Identificirani su brojni krvni biomarkeri za praćenje aktivnosti upalnog procesa. Ovi biomarkeri su općenito nespecifični i prikladniji su za praćenje terapijskog odgovora nakon što je dijagnoza već postavljena, nego za postavljanje inicijalne dijagnoze (119).

C-reaktivni protein (CRP) je najosjetljiviji upalni biomarker iz krvi. Upala uzrokuje ozljedu tkiva, što nadalje potiče makrofage da izlučuju cijeli niz citokina u procesu koji završava jetrenom sintezom CRP-a. CRP je odličan biomarker za akutnu upalu jer ima kratak poluživot ( $T_{1/2}$  od 19 sati), ali je nespecifičan i može biti povećan u sklopu raznih ozljeda tkiva (120), kao i kod pacijenata koji su pušači, pretili ili konzumiraju droge. CRP ima visoku negativnu prediktivnu vrijednost i pokazalo se da razina CRP-a manja od 5 mg/dL znači manje od 1% šanse za postavljanje dijagnoze aktivnog IBD-a (121). Zanimljivo je napomenuti kako je studijama pokazano da su razine CRP-a normalne u do 30% bolesnika s endoskopski aktivnim CD-om (122) stoga isti u ovoj skupini bolesnika nije pouzdan za praćenje bolesti.

Fekalni kalprotektin (FC) je izravan marker upale crijevne sluznice. Ovaj protein potječe iz citosola neutrofila, a povišene vrijednosti su rezultat pojačane degranulacije neutrofila (123). To je razlog zašto povišene razine FC-a nalazimo i kod divertikulitisa,

infektivnog kolitisa, crijevnih neoplazmi, jetrene ciroze te uz primjenu nesteroidnih protuupalnih lijekova i inhibitora protonske pumpe. Razina FC-a je u uzorcima stolice stabilna do 7 dana. Bressler i sur. sugeriraju da razina FC-a manja od 50 do 100 mg/g vjerojatno predstavlja bolest u fazi remisije, dok razina FC-a veća od 250 mg/g ukazuje na akutnu upalu (124).

Vrijednosti CRP-a i FC-a koriste su kao markeri za procjenu terapijskog odgovora. Međutim, oni mogu izravno reagirati na primijenjenu terapiju čak i ako se upala nije povukla. Razina interleukina 6 (IL-6) opada kao izravan odgovor na terapiju ustekinumabom i posljedično smanjuje lučenje CRP-a, čak i ako lijek nema nikakvog efekta na suzbijanje aktivne bolesti u pacijenta s IBD-om. Korisna strategija korištenja ovih biomarkera u procjeni terapijskog odgovora uključuje mjerenje razine CRP-a i FC-a u kombinaciji s mjerenjem terapijskih razina lijeka. Pokazalo se da ovakav pristup praćenju terapijskog odgovora ima veću prediktivnu vrijednost za procjenu mogućeg recidiva bolesti (125).

Biomarkeri koji su se više koristili prije ere FC-a, a mogu biti od pomoći prilikom postavljanja dijagnoze IBD-a su perinuklearna antineutrofilna citoplazmatska protutijela (p-ANCA), anti-Saccharomyces cerevisiae protutijela (ASCA) te antineutrofilna citoplazmatska protutijela (ANCA). Prisutnost p-ANCA vidi se u 6% do 39% bolesnika s CD-om te 41% do 73% bolesnika s UC-om i 0% do 8% zdravih kontrola (126). Navedeni podatci pridaju ovom biomarkeru prilično nisku specifičnost za postavljanje dijagnosticiranja CD-a (19%), a uz osjetljivost od 52% i specifičnost od 91%, može se koristiti kao alat prilikom razlikovanja UC-a od CD-a (127). ASCA su prisutna u otprilike 60% bolesnika s CD-om, ali u samo 13% bolesnika s UC-om i 3% zdravih kontrolnih ispitanika. Ovaj biomarker, uz osjetljivost od 72% i specifičnost od 82%, može biti od pomoći u dijagnosticiranju CD-a (128). Pokazalo se da i do 20% zdravih članova obitelji pacijenata s CD-om ima pozitivna ANCA, a zna se također da

različite etničke skupine, posebno pacijenti u Aziji s postavljenom dijagnozom CD-a, nisu pozitivne na ANCA (126).

Endoskopija gastrointestinalnog trakta ostaje primarni dijagnostički alat kod IBD-a. Svaki pacijent kod kojeg se sumnja na IBD, trebao bi se podvrgnuti kolonoskopiji uz intubaciju terminalnog ileuma kada je to moguće. Segmente crijeva sa vidljivo izmijenjenom sluznicom (uslijed akutnog upalnog procesa) potrebno je biopsirati te uzeti najmanje dvije biopsije s pet različitih mjesta, uključujući ileum i rektum. Biopsiju također treba uzeti i iz tkiva sluznice normalnog izgleda, kako bi se, usporedbom s tkivom zahvaćenim upalnim procesom, dobio točniji uvid u patohistologiju same bolesti (129). Često iskusni endoskopičari mogu razlikovati CD i UC za vrijeme samog endoskopskog pregleda, ali s ciljem postavljanja točne diferencijalne dijagnoze i isključivanja niza drugih upalnih enteropatija, nužno je napraviti patohistološku analizu tkiva. Treba istaknuti da se pravi granulomi vide u približno svega jedne trećine biopsija pacijenata s CD-om, stoga odsutnost granuloma u patohistološkom nalazu ne isključuje dijagnozu CD-i. Najčešći nalazi tijekom kolonoskopije kod IBD-a mogu se naći u Tablici 7 (92). Ezofagogastroduodenoskopija (EGDS) se ne preporučuje u rutinskoj dijagnostičkoj obradi asimptomatskih bolesnika, iako se promjene gornjeg gastrointestinalnog trakta mogu naći u do 16% bolesnika s CD-om (130). EGDS se u praksi često uradi jer postoji značajno preklapanje između simptoma IBD-a i raznih poremećaja početnog dijela crijeva. Kada se radi u sklopu diferencijalne dijagnoze IBD-a, preporučuje se uzimanje po 2 biopsije iz želuca, jednjaka i dvanaesnika (131). Enteroskopija, bez obzira radi li se o enteroskopiji kapsulama ili uz pomoć balona, ima svoje mjesto u diferencijalnoj dijagnozi IBD-a. Radi se tek nakon što se nekom slikovnom metodom potvrdi prisutnost promjena u tankom crijevu, koje su nedostupne tradicionalnim endoskopskim tehnikama. Kada se razmatra uporaba enteroskopske videokapsule, važno je prvo procijeniti prohodnost crijeva jer postoji rizik od zadržavanja kapsule, u do 13% pacijenata koji se podvrgavaju ovom postupku (132).

Enteroskopija uz pomoć videokapsule identificira lezije koje se ne vide na magnetnoj rezonanciji (MR) u do 71% pacijenata s CD-om (133). Međutim, važno je naglasiti da ove lezije rijetko zahtijevaju neku intervenciju i često postoje druga, dostupnija mjesta s patološki promijenjenom sluznicom koja se mogu lakše redovito kontrolirati u sklopu praćenja terapijskog odgovora (92).

Iako se aktivna upala debelog crijeva i ileusa najčešće može uočiti endoskopski, odsutnost takvih nalaza ne isključuje bolest u ostatku crijeva. Za procjenu tankog crijeva potrebno je napraviti kompjuteriziranu tomografiju (CT) ili enterografiju magnetskom rezonancijom (MRE). Obje procedure zahtijevaju od pacijenta da popije veliku količinu neutralnog kontrasta, koji se koristi za proširenje crijeva kako bi se istaknuli intraluminalni poremećaji kao što su upala, strikture i ulkusi, dok MRE zahtijeva i čišćenje laksativima prije aplikacije peroralnog kontrasta. Sekvencijsko snimanje poprečnih presjeka također može identificirati ekstraluminalne bolest poput fistula i zadebljanja mezenterija. Do 50% slučajeva CD-a s normalnim nalazom kolonoskopije ima abnormalnosti na snimkama poprečnih presjeka, što ističe važnost slikovnih metoda u inicijalnom postavljanju dijagnoze CD-i (134). MR i CT su prihvatljive i korisne slikovne metode pri dijagnosticiranju upale tankog crijeva u CD-u.

**Tablica 7.** Endoskopski i histološki nalaz u UC-u i CD-u (modificirano prema: 1. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. Surg Clin N Am. 2019;99;1051-62).

	UC	CD
<b>Lokacija</b>	Kolon: od distalno prema proksimalno Izolirano periapendikularno: 5% Nezahvaćenost rektuma: 10-15% „Blackwash“ ileitis Nejasan izgled: 33-44%	Zahvaćenost terminalnog ileuma +/- zahvaćenost kolona „Preskačuće“ ili „skip“ lezije – nepravilna izmjena područja zdrave i upalom zahvaćene sluznice
<b>Sluznica</b>	Atrofija sluznice Gubitak vaskularnog crteža Eritem Granuliran izgled sluznicex Erozije Ulkusi Pseudopolipi Ulceracije	Atrofija sluznice Gubitak vaskularnog crteža Zadebljanje crijevne stijenke Suženje lumena crijeva Fistule i sinusi Eritem Erozije Pseudopolipi Aftozni ulkusi Izgled poput „kaldrme“
<b>Patohistologija</b>	Gusta infiltracija lamine proprije upalnim stanicama Kriptalni apscesi Displastične promjene Limfoidni agregati bazalno Skraćivanje kriпти Zadebljana muskularis mucosae	Upalni infiltrat zahvaća sve slojeve crijevne stijenke Kriptalni apscesi Limfoidni agregati u cijeloj debljini stijenke i subserozno Nekazeozni granulomi u svim slojevima crijevne stijenke: 33%

Nedavna meta-analiza Liu-a i suradnika pokazala je da su osjetljivost i specifičnost CT-a bile 87% i 91% te MR-e 86 % i 93% (135). MR se trenutno smatra najtočnijim slikovnom metodom za dokazivanje perianalnih manifestacija IBD-a i pokazalo se da je 97% osjetljiv i 96% specifičan u dijagnozi perianalnih fistula u sklopu CD-a (136).

Ultrazvuk postaje sve korištenija metoda u dijagnozi i praćenju upalnih bolesti crijeva. Intestinalni ultrazvuk provodi se korištenjem konveksne sonde i visokofrekventne linearne

sonde dok se poboljšanje vizualizacije postiže neposredno prije pregleda (najčešće se koristi 500-700 ml polietilen glikola) te se sve više koristi u dijagnostici i praćenju CD-i i UC-a (137). Endoskopski ultrazvuk također može biti koristan alat u dijagnosticiranju perianalne bolesti, ali je proces invazivan i uvelike ovisan o operateru, pa se općenito preporučuje da se kod svih pacijenta koji nemaju kontraindikacija za MR, perianalne promjene dijagnosticiraju tom slikovnom metodom (138).

Diferencijalno-dijagnostički, temeljem epidemiološki relevantnih podataka iz anamneze, mikrobioloških i laboratorijskih pretraga, važno je isključiti različite zarazne bolesti, celijakiju te sindrom iritabilnog crijeva koji se mogu prezentirati sličnom kliničkom slikom (139).

## **1.6. Liječenje upalnih bolesti crijeva**

U liječenju IBD-a se koriste različiti lijekovi: aminosalicilati, kortikosteroidi, imunomodulatori, biološka terapija te antibiotici. Odluka o terapiji donosi se na temelju: vrste bolesti, njenog fenotipa, aktivnosti bolesti, ekstenzije, postojanju izvancrijevnih manifestacija te uvidom u uspješnost liječenja dosadašnjim terapijskim opcijama (140).

Aminosalicilati, spojevi 5-aminosalicilne kiseline (5-ASA), su lijekovi koji se koriste u peroralnoj ili topičkoj formulaciji. Kod nas su registrirani mesalazin i sulfasalazin. Mehanizam djelovanja im nije u potpunosti razjašnjen te se smatra kako je njihov protuupalni učinak rezultat više različitih mehanizama: počevši od inhibicije lučenja proupalnih citokina, mijenjanja ekspresije adhezijskih molekula, inhibicije stvaranja protutijela do indukcije apoptoze T limfocita u lamini proprijri crijeva. Peroralni oblici razlikuju se u načinu oslobađanja 5-ASA pa se tako mogu osloboditi ovisno o pH-u koji odgovara terminalnom ileumu ili kolonu ili jepak lijek „pakiran“ u granule koje omogućuju postepeno otpuštanje duž probavne cijevi. Supozitoriji, mikroklizme i pjene su topičke formulacije 5-ASA koje djeluju lokalno od

rektuma do lijeve fleksure kolona (ovisno o vrsti) i nalaze se na sluznici u većoj koncentraciji nego peroralni oblici (141-144).

Kortikosteroidi (KS) su lijekovi snažnog protuupalnog djelovanja. U uporabi su sustavni (prednison, prednizolon, metilprednizolon) i topički (budezonid) KS, a koji se mogu primjenjivati u intravenskom, peroralnom ili topičkom obliku. Mehanizam djelovanja KS je višestruk: unutarstanično se KS vezuju za odgovarajući receptor koji potom u jezgri inhibira transkripciju mRNA za sintezu proteina lipokortina koji dalje inhibira oslobađanje proupalnih čimbenika iz ciklusa arahidonske kiseline, inhibiraju i sintezu proupalnih citokina (IL-1, TNF- $\alpha$ ), smanjuju izražaj molekula stanične adhezije vezanih za upalu i inhibiraju NF-kapaB proteinski kompleks. Moderni principi liječenja IBD-a preporučuju što kraće korištenje sistemskih KS kao terapijske opcije zbog velikog broja nuspojava te je potrebno postupno smanjivanje doze do ukidanja terapije u slučaju da je trajala duže od 3 tjedna, a zbog utjecaja na hormonalnu os i prevencije sindroma ustezanja i adrenalne insuficijencije (145-147).

U imunosupresivnu terapiju spadaju tiopurini (azatioprin), metotreksat te inhibitori kalcineurina (ciklosporin A i takrolimus). Važno je naglasiti da je prije početka terapije ovom skupinom lijekova nužno provjeriti dosadašnju procijepljenost pacijenta te uraditi dodatna cijepljenja te napraviti probir na tuberkulozu i virusne infekcije. Azatioprin s aktivnim metabolitom 6-merkaptopurinom koristi se u liječenju Crohnove bolesti posljednjih 50-ak godina. Za vidljiv protuupalni učinak potrebno je 4-5 tjedana, kada aktivni metaboliti azatiprina postignu stabilnu koncentraciju u krvi. Mehanizam djelovanja mu je inhibicijom sinteze ribonukleinske kiseline te posljedična inhibicija stanične proliferacije kao i indukcija apoptoze limfocita T. Metotreksat djeluje kao antimetabolit, antagonist folata inhibiranjem enzima dihidrofolat-reduktaze koji je važan u proizvodnji purinskih i pirimidinskih baza. Ovim učinkom djeluje citotoksično na stanice koje se brzo dijele. U upotrebi je kao druga linija liječenja imunosupresivima. Ciklosporin A je peptidni antibiotik koji djeluje na diferencijaciju



limfocita T te im priječi aktivaciju unutarstaničnim blokiranjem kalcineurina - proteina ključnog za transkripciju proupalnih citokina u limfocitima T. Koristi se u liječenju tj. indukciji remisije teškoga akutnog ulceroznog kolitisa. Takrolimus ima sličan način djelovanja ciklosporinu A, ali je od njega 10-100 puta potentniji u imunosupresiji. Malo je kliničkog iskustva u korištenju ovog lijeka u IBD-u (148-151).

Biološka terapija se primjenjuje u liječenju upalnih bolesti crijeva zadnjih 20-ak godina i omogućila je održavanje remisije u pacijenata, a bez nuspojava uzrokovanih produženim liječenjem kortikosteroidima ili imunomodulatorima. Odluka za primjenu biološke terapije u pacijenata donosi se „step-up“ pristupom, kada se u pacijenta liječenje kortikosteroidima ili imunomodulatorom pokaže nedovoljnim za postizanje remisije. Može biti primijenjen i „top-down“ pristup liječenju karakteriziran ranim uvođenjem biološkog lijeka u terapiju sa ciljem brzog postizanja stabilne remisije te promjene prirodnog tijeka IBD-a. Ovaj pristup liječenju ćemo koristiti u pacijenata mlađe životne dobi s velikom ekstenzijom i visokom aktivnosti bolesti te u slučaju fistulirajuće-stenozirajućeg fenotipa koji daje visok rizik potrebe za kirurškim zahvatom. Ovoj skupini lijekova pripadaju protutijela usmjerena protiv nekih od ključnih čimbenika razvoja upale u IBD-u: čimbenika tumorske nekroze  $\alpha$  (engl. tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), interleukina 12 (IL-12), interleukina 23 (IL-23) te antiadhezijske molekule (usmjerene protiv integrina  $\alpha_4\beta_7$ ) (152). U skupinu anti TNF- $\alpha$  lijekova spadaju infliksimab i adalimumab. Infliksimab je kimeričko, humano-mišje monoklonalno protutijelo IgG1 proizvedeno rekombinantnom tehnologijom (153-155). Kombinirana terapija infliksimaba uz dodatak azatioprina pokazala se učinkovitijom u indukciji kliničke remisije u odnosu na monoterapiju infliksimabom (156). Adalimumab je u cijelosti humanizirano IgG1 protutijelo također usmjereno na TNF- $\alpha$ . Prednost ovog lijeka je mogućnost supkutane primjene koju pacijenti nakon kraće edukacije sami savladaju (157, 158). Ustekinumab je humano IgG1k monoklonalno protutijelo usmjereno na p40 podjedinicu IL-12 i IL-23. Studije

su pokazale učinkovitost ovog lijeka i u bolesnika s primarnom ili sekundarnom neučinkovitošću anti TNF- $\alpha$  te nisku imunogeničnost čak i u duljem trajanju terapije (159, 160). Vedolizumab, humanizirano monoklonalno protutijelo usmjereno selektivno protiv  $\alpha_4\beta_7$  integrina, je glavni predstavnik antiadhezijskih molekula. Djeluje sprječavanjem ekstravazacije limfocita T u crijevnu submukozu na način da blokira molekule integrina na površini limfocita T odgovorne za dijapedezu kroz endotelne stanice crijevne sluznice (161-163). Biološka terapija može potaknuti imunosti sustav na stvaranje protutijela na lijek tj. biti imunogenična. Nedavno su razvijeni laboratorijski testovi koji nam omogućuju utvrditi razinu lijeka u krvi te protutijela na lijek. Za sada su u primjeni široko dostupne analize za infliksimab, adalimumab te vedolizumab. Optimizacija terapije se vrši intenziviranjem terapije u slučaju niže vrijednosti lijeka u krvi od preporučene u slučaju aktivne bolesti i to skraćivanjem intervala aplikacije lijeka ili dvostrukom dozom lijeka. U slučaju pojave protutijela na lijek odlučujemo se za promjenu lijeka (164).

Svakako je potrebno spomenuti i lijek iz skupine malih molekula tofacitinib koji je odnedavno registriran za liječenje ulceroznog kolitisa. Inhibira janus kinazne puteve 1 (engl. *Janus Kinase 1*, JAK1) i 3 (engl. *Janus Kinase 3*, JAK3), a koji su bitni unutarstanični signalni putevi za brojne upalne medijatore poput interferona (tip I i gama) te brojnih interleukina. Prednosti ovog lijeka su što se je oralni pripravak, dobrog sigurnosnog profila te nema imunogenični potencijal (165).

Ostala terapija korištena u liječenju IBD-a su antibiotici, probiotici, enteralni pripravci te u hospitalnim uvjetima infuzije humanih albumina, infuzije kristaloida i naposljetku otopine parenteralne prehrane (166-168). Ukoliko je potrebno u terapiju mogu biti uvršteni i antidijaroici i prokinetici. Kirurški zahvat je potreban kada sva opisana konzervativna terapija ne poluči rezultat, a nakon adekvatne pripreme bolesnika. Indikacije za operaciju su stenoze, fistule, apscesne kolekcije i toksični megakolon (169, 170).

## 1.7. Katestatin

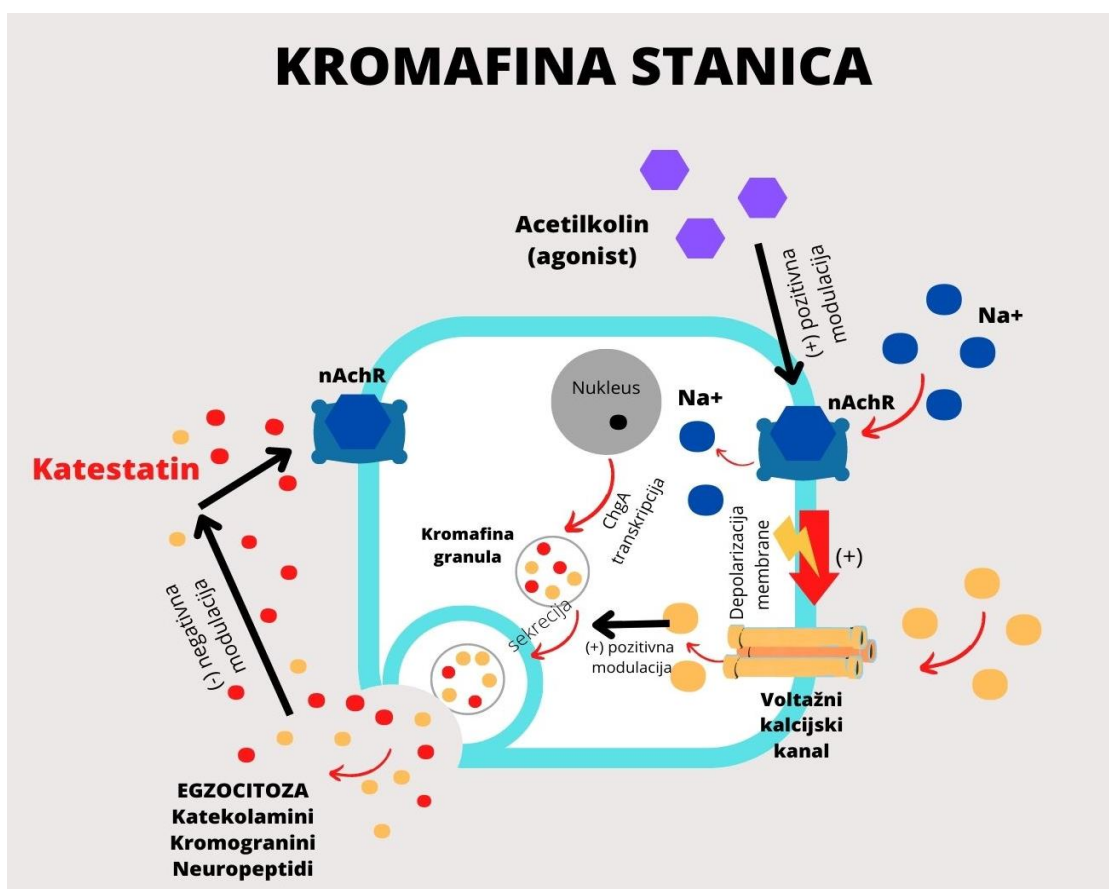
Katestatin je produkt prohormona kromogranina A (engl. *chromogranin A*, ChgA). Glavna mu je uloga negativna regulacija otpuštanja katekolamina u krvotok, a na koje utječe mehanizmom nekompetitivnog i reverzibilnog antagonizma nikotinskih acetilkolinergičnih receptora (engl. *nicotinic acetylcholine receptor*, nAChR) (171). Katestatin pokazuje različite učinke na periferiji u središnjem živčanom sustavu (SŽS) pa tako na periferiji pokazuje simpatoinhibitorni učinak, dok u SŽS pokazuje prokolinergičke učinke slične acetilkolinu.

ChgA neuroendokrini je polipeptid molekularne mase 48 kDa, a pripada obitelji kromogranina topljivih u vodi koji se još nazivaju sekretogranima. Nalazimo ga u kromafinim (feokromnim) stanicama srži nadbubrega gdje je „pakiran“ u guste kromafine granule koje se otpuštaju zajedno s katekolaminima i drugim biološki aktivnim peptidima (172, 173). Molekula ChgA je zapravo prohormon iz koje, prema potrebi, nastaju brojni drugi hormoni. U svojoj kemijskoj strukturi sadrži između 8 do 10 dibazičnih lokacija, a koje su mjesta „cijepanja“ (proteolize). Ovisno o mjestu proteolize nastaje čitav niz fizioloških aktivnih peptida u koje spadaju: vazostatin, pankreastatin, antimikrobni peptid prokromacin, parastatin, serpinin, beta-granin, protein WE-14, protein GE-25 te katestatin (174).

Klinička uporaba kromogranina A je u dijagnostici neuroendokrinih tumora poput feokromocitoma ili karcinoida, a njegove koncentracije u perifernoj krvi su povišene i u bolesnika sa kroničnim ZS i nakon akutnog infarkta miokarda (175-178) te također u brojnim drugim stanjima poput upalnih bolesti crijeva (179).

Katestatin je odsječak ChgA, a sastoji se od slijeda 21 aminokiseline (ChgA352-372). Nastaje proteolitičkim cijepanjem unutar kromafinih granula te potom izvanstaničnim cijepanjem acidofilne molekule ChgA na već spomenutim dibazičnim mjestima. Osim već spomenutog lučenja u neuroendokrinih tkivima i završecima živaca, katestatin je eksprimiran u sekretornim granulama kože, osjetnim organima, miokardu te kolonu (180, 181). Katestatin

ima autokrino djelovanje tj. djelovanjem na samu stanicu negativnom spregom utječe na sekreciju katekolamina iz kromafinih stanica srži nadbubrega i završetaka adrenergičkih neurona u sistemski krvotok. Katestatin također ima i parakrine i endokrine učinke u perifernoj cirkulaciji. Mehanizam sekrecije katestatina iz kromafine stanice i posljedična inhibicija lučenja katekolamina poput noradrenalina prikazana je na Slici 2. Fiziološki efekt inhibicije lučenja katekolamina katestatin postiže inhibicijom nAChR receptora, a čime potentno blokira signalni put posredovan protokom kationske struje ( $\text{Na}^+$  i  $\text{Ca}^{2+}$ ) (180).



**Slika 2.** Mehanizam djelovanja katestatina na sekreciju katekolamina iz kromafinih stanica (slika autora prilagođena prema: Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin A fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *J Clin Invest.* 1997;100:1623-33.).

Kratice: ChgA – kromogranin A, nAChR – neuronski tip nikotinskih kolinerigičkih receptora

Katestatin je važna molekula u regulaciji kardiovaskularne funkcije. Ima snažan simpatolitički učinak, a direktnim vazodilatacijskim efektima posredovanim aktivacijom oslobađanja histamina iz mastocita i stimulacijom proizvodnje dušičnog oksida unutar stanica endotela utječe na regulaciju arterijskog krvnog tlaka (182-185). Od brojnih utvrđenih efekata na miokard bitno je izdvojiti negativni kronotropni i inotropni učinak na miokard suprimiranjem učinka beta-adrenergičke aktivacije, kardioprotektivno djelovanje prevencijom/sužavanjem ishemijsko-reperfuzijske ozljede na animalnom modelu infarkta miokarda (186-190).

Do sada je dobro utvrđeno djelovanje katestatina kao inhibitora otpuštanja katekolamina koji na taj način regulira arterijski tlak kroz antihipertenzivni i kardiprotektivni učinak. Međutim, nedavna istraživanja sve više upućuju na njegove imunomodulatorne učinke. Tako je istraživanje provedeno u bolesnika s opstruktivnom apnejom tijekom spavanja (OSA) pokazalo da ovi bolesnici imaju izrazito povišenu razinu serumskog katestatina u usporedbi sa zdravom kontrolnom skupinom (191). Također studija provedena u bolesnika sa terminalnom fazom bubrežnog zatajivanja (192) pokazala je značajno povišene razine serumskog katestatina. Naposljetku, utvrđeno je kako je katestatin povišen i u drugim autoimunim bolestima poput reumatoidnog artritisa (193).

#### 1.7.1. Katestatin i upalne bolesti crijeva

Studija Rabbia i sur. na murinom modelu s induciranim kolitisom te IBD ispitanicima utvrdila je povišene vrijednosti ChgA i katestatina u IBD ispitanika i u kolonu ispitivanih životinja u odnosu na kontrolne skupine i pretpostavila kako katestatin ima učinak putem utjecaja na makrofage i unutarstanični signalni put koji uključuje provodnik signala i protein aktivator transkripcije STAT-3 (STAT-3). Liječenje štakora s humanim katestatinom u „in vivo“ modelu smanjilo je nastup kolitisa i suprimiralo upalne puteve uz porast mjerenog p-STAT3. Tretman humanim katestatinom „in vitro“ smanjio je otpuštanje proinflamatornih

citkoina od strane šeritonealnih makrofaga i makrofaga iz koštane srži i povisio razinu p-STAT3 (194).

Eissa i sur. u studiji na ljudskim i murinim stanicama kolona sa razvijenom upalom zaključuju kako bi katestatin u upalnom stanju mogao utjecati na dinamiku mukoze preko STAT-3 ovisnog puta. Ova istraživačka skupina kako bi upravo katestatin u crijevnim epitelnim stanicama mogao biti obećavajuća terapijska opcija u slučaju ugrožene homeostaze epitelnih stanica crijeva (195).

Rezultati recentne studija Muntjewerff i sur. na „knock-out“ miševima za katestatin i ChgA upućuju kako je ChgA zadužen za regulaciju intestinalne paracelularne permeabilnosti, dok aplikacija katestatina u „knock-out“ miševa smanjuje intestinalnu permeabilnost (196).

Zanimljivo je i spomenuti studiju Rabbia i sur koji su na murinom modelu postavili hipotezu kako katestatin utječe i na sastav mikrobioma u crijevima (197).

Ukupnim pregledom literature na temu katestatina i IBD-a utvrdili smo kako je uloga ChgA i katestatina u IBD slabo istraživana, uglavnom na animalnim modelima ili s malim ispitivanim skupinama te zahtijeva daljnja istraživanja.

### **1.8. Arterijska krutost je mjerljiv parametar oštećenja ciljnog organa**

Procjenu vaskularne kvalitete vršimo, između ostalog, i analizom arterijske krutosti koja je dokazana kao važni parametar procjene kardiovaskularnog (KV) rizika (198).

Za razliku od sistemske arterijske krutosti koja se jedino može odrediti invazivnim postupcima, regionalna i lokalna arterijska krutost može biti izmjerena i neinvazivnim postupcima na različitim mjestima arterijskog stabla. Velika prednost regionalne i lokalne procjene arterijske krutosti je što je bazirana na direktnim mjerenjima parametara koji su povezani s krutošću stijenke.

Postoje različiti uređaji i tehnike analize arterijske krutosti, a navedene su u Tablici 8.

Također je važno naglasiti kako je neophodno pri ovakvom mjerenju imati standardizirane uvjete snimanja za svakog ispitanika odnosno minimizirati zbunjujuće čimbenike pri mjerenju, a koji su navedeni u Tablici 9 (199).

**Tablica 8.** Uređaji i metode koje se rabe za analizu arterijske krutosti i valne refleksije

	<b>Uređaj</b>	<b>Metoda mjerenja</b>	<b>Mjesto mjerenja</b>
<b>Regionalna krutost</b>	Complior	Mehanička	Aortni PWV <sup>a</sup>
	Sphygmocor	Tonometar	Aortni PWV <sup>a</sup>
	WallTrack	UZV	Aortni PWV <sup>a</sup>
	Artlab	UZV	Aortni PWV <sup>a</sup>
	Ultrazvučni sustav	Doppler UZV	Aortni PWV <sup>a</sup>
<b>Lokalna krutost</b>	Walltrack	UZV	CCA <sup>b</sup> , CFA, BA
	NIUS	UZV	RA
	Artlab	UZV	CCA <sup>b</sup> , CFA, BA
	Razne UZV tehnike	UZV	CCA <sup>b</sup> , CFA, BA
	MRI	Cine-MRI	Ao
<b>Sistemska krutost (analiza oblika vala)</b>	Metoda površine krivulje	Dijastolički rasap	Sve površinske arterije
	HDI PW CR-2000	Modif. Windkessel	
	SV/PP	Udarni volumen i tlak pulsa	
<b>Valna refleksija</b>	Sphygmocor	AIx	
	Pulse Trace	Fotopletizmografija prsta	

**Kratice:** Ao - aorta, CCA - zajednička karotidna arterija, CFA-zajednička femoralna arterija, BA-brahijalna arterija, RA-radijalna arterija, SV/PP-udarni volumen/tlak pulsa, UZV-ultrazvuk

<sup>a</sup> aorta, karotidno-femoralni kao i karotidno-radijalni i femoro-tibijalni PWV.

<sup>b</sup> sve površinske arterije, uključujući i posebno spomenute

**Tablica 9.** Mogući zbunjujući čimbenici pri mjerenju arterijske krutosti te postupci za minimiziranje istih u praksi

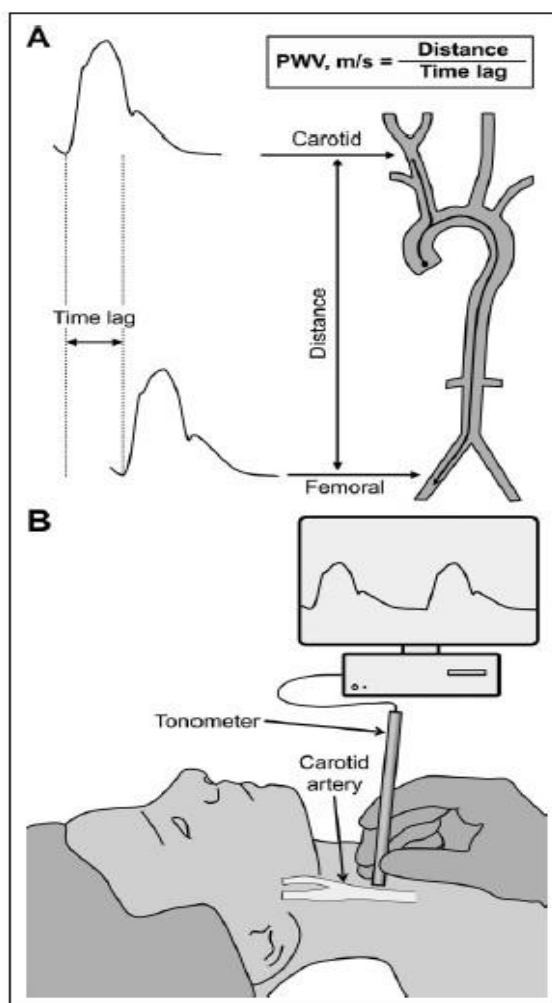
Zbunjujući čimbenik	Postupak minimiziranja zbunjujućeg čimbenika u praksi
<b>Temperatura prostorije</b>	Preporučeno održavati temperaturu zraka prostorije na 22±1°C
<b>Odmor</b>	Provesti najmanje 10 min u ležećem položaju
<b>Vrijeme u danu</b>	Isto ili slično doba dana za ponavljana mjerenja
<b>Pušenje, jelo</b>	Ispitanici se moraju suzdržati od pušenja, konzumacije hrane barem 3 sata prije mjerenja, osobito od napitaka s kofeinom
<b>Konzumacija alkohola</b>	Ispitanici se moraju suzdržati konzumacije alkohola 10h prije mjerenja
<b>Govorenje, spavanje</b>	Ispitanici ne smiju govoriti ni spavati za vrijeme mjerenja
<b>Položaj tijela</b>	Preferira se ležeći položaj
<b>Učinak bijele kute</b>	Ima utjecaj na krvni tlak i krutost ovisnu o krvnom tlaku
<b>Srčana aritmija</b>	Biti svjestan mogućeg ometanja mjerenja aritmijom

Mjerenje PWV je općenito prihvaćeno kao najjednostavnija, neinvazivna, reproducibilna metoda za određivanje arterijske krutosti. Izračunava se iz odnosa udaljenosti (D) koje val prelazi između dva mjesta snimanja u određenom vremenu (Dt), a po formuli:

$$\text{PWV} = D \text{ (metar)} / \Delta t \text{ (sekunda)}$$

Princip mjerenja karotidno-femoralnog PWV prikazan je na Slici 2 (200).





**Slika 3. A)** Karotidno-femoralni PWV se u kliničkoj praksi mjeri kao omjer udaljenosti 2 mjerna mjesta i vremena koje proteče između pulsnih valova sakupljenih na proksimalnom (karotidnom) i distalnom (femoralnom) mjernom mjestu

**B)** Postupak dobivanja pulsni vala (PWV) metodom aplanacijske tonometrije (preuzeto iz: Zanolini L, Mikhalidis DP, Bruno RM i sur. Aortic Stiffening Is an Extraintestinal Manifestation of Inflammatory Bowel Disease: Review of the Literature and Expert Panel Statement. *Angiology*. 2020;1-9.)

Važno je napomenuti kako mjerenje udaljenosti mjernih točki mora biti vrlo precizno jer čak i male nepravilnosti u mjerenju mogu značajno utjecati na apsolutnu vrijednost PWV-

a. Što je manja udaljenost između 2 mjesta snimanja, veća je apsolutna pogreška u određivanju vremena prolaska vala između 2 mjerna mjesta (201). Načine mjerenja udaljenosti između 2 mjesta mjerenja treba imati na umu pri usporedbi rezultata različitih studija jer ih ima više i ne smijemo se dovesti u situaciju usporedbe neusporedivog.

Karotidno-femoralni PWV daje direktni rezultat koji odgovara široko prihvaćenom propagacijskom modelu arterijskog sustava koji pretpostavlja kako je brzina konačnog vala konačna vrijednost. Brzina pulsog vala (engl. pulse wave velocity, PWV) između karotidne i femoralne arterije se među brojnim drugim metodama procjene arterijske krutosti pokazala zlatnim standardom, a zbog lakoće određivanja, pouzdanosti te brojnih dokaza u različitim populacija koji govore u prilog povezanosti sa KV incidentima neovisno o tradicionalnim rizičnim faktorima. Mjerenje arterijske krutosti, točnije PWV, su uvrštavanjem u smjernice europskog kardiološkog društva (engl. European Society of Cardiology, ESC) sve više uključene u velike kliničke studije i u rutinsku kliničku procjenu pacijenata (198, 199).

Također treba razmotriti i limitacije ove pretrage. Oblik vala femoralnog pulsa može biti teško odrediti točno u pacijenata s metaboličkim sindromom, pretilošću, dijabetesom melitusom te perifernom arterijskom bolešću. Ukoliko je prisutna aortna, ilijačna ili proksimalna femoralna stenoza, pulsni val može biti prigušen ili odgođen. Abdominalna pretilost, pogotovo u muškaraca te velike dojke u žena mogu utjecati na točnost mjerenja udaljenosti među mjernim točkama (202).

### 1.8.1. Arterijska krutost i upalne bolesti crijeva

Posljednjih 15-ak godina aktivno se istražuje povezanost aktivnosti i duljine trajanja IBD s povišenim KV rizikom, analizirajući različite parametre koji sugeriraju subkliničku ili ranu KV bolest (203).

S obzirom na prethodno navedene prednosti mjerenja parametara arterijske krutosti kao parametara oštećenja ciljnog organa, istraživači različitih centara u svijetu mjerili su arterijsku krutost u IBD populacije te pronašli povišene parametre arterijske krutosti u IBD ispitanika, u odnosu na odgovarajuće kontrolnim ispitanicima (204-206).

Sustavni pregled s metaanalizom Zanolis i sur. utvrdio je povišene vrijednosti karotidno-femoralnog PWV u pacijenata s UC i CD koja je ovisna o intenzitetu IBD-a i trajanju bolesti, a niža u bolesnika na anti-TNF terapiji (207). Rezultate ove metaanalize potvrdila je i metaanaliza Lu i sur (208).

Recentna istraživanja etabliraju povišenu arterijsku krutost kao ekstraintestinalnu manifestaciju IBD-a što je od klinički značajne važnosti jer bi određivanjem parametara arterijske krutosti mogli poboljšati procjenu KV rizika IBD bolesnika, a posebno u onih koji nemaju utvrđenu KVB. Također bi i učinkovita kontrola upale u bolesnika s IBD mogla umanjiti njihov KV rizik upravo smanjenjem arterijske krutosti (209).

## **2. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

1. Razina katestatina bit će značajno viša u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
2. Pokazatelji elastičnosti arterijske stijenke bit će značajno smanjeni u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
3. Razine katestatina će imati pozitivnu korelaciju s brzinom pulsnog vala.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Glavni ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi razliku u razini katestatina između bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
2. Utvrditi razliku u pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke između bolesnika s upalnim bolestima crijeva i kontrolne skupine ispitanika.

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati postoji li razlika u razini katestatina između bolesnika oboljelih od Crohnove bolesti u odnosu na oboljele od ulceroznog kolitisa.
2. Ispitati postoji li razlika u razini katestatina u bolesnika s upalnim bolestima crijeva s obzirom na trajanje bolesti.
3. Ispitati postoji li razlika u razini katestatina između skupina bolesnika koji su na biološkoj terapiji i onih liječenih drugom terapijom.
4. Ispitati postoji li razlika u pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke između bolesnika oboljelih od Crohnove bolesti u odnosu na oboljele od ulceroznog kolitisa.
5. Ispitati postoji li razlika u pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke između skupina bolesnika koji su na biološkoj terapiji i onih liječenih drugom terapijom.
6. Ispitati postoji li povezanost razina katestatina s određenim antropometrijskim, kliničkim i laboratorijskim parametrima.
7. Ispitati postoji li povezanost razina katestatina s aktivnosti upalnih bolesti crijeva te s pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke.

## **4. MATERIJALI I METODE**



#### **4.1. Dizajn i etična načela**

Istraživanje je osmišljeno na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, a provedeno je na Zavodu za neuroznanost i Zavodu za kliničku farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu te Zavodu za gastroenterologiju Klinike za unutarnje bolesti i na Zavodu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split. Etičko odobrenje za istraživanje izdano je od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/17-01/86, Ur. Br.: 2181-147-01/06/M.S.-17-2; Split, rješenje od 27.11.2017.) i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Istraživanje je provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom i kasnijim revizijama iste poštujući postulate dobre kliničke prakse. Svi ispitanici u studiji su dobrovoljno potpisali obrazac informiranog pristanka te su uz to i usmeno bili upoznati s ciljevima istraživanja prije početka sudjelovanja u istraživanju.

#### **4.2. Ispitanici**

U istraživanje je uključeno 80 ispitanika s upalnim bolestima crijeva liječenih u Dnevnoj bolnici Zavoda za gastroenterologiju Kliničkog bolničkog centra Split od kojih 45 ispitanika s Crohnovom bolesti te 35 ispitanika s ulceroznim kolitisom. U kontrolnu skupinu uključeno je 75 zdravih ispitanika. Svi ispitanici koji su sudjelovali u istraživanju su bili stariji od 18 godina i prošli su kroz cjelokupni protokol studije, osim mjerenja fekalnog kalprotektina koji je određivan samo ispitanicima u ispitivanoj skupini. Inicijalno je izvršen probir na 100 ispitanika s upalnim bolestima crijeva od kojih je 86 ispitanika zadovoljilo kriterije za uključanje u studiju. Iz ispitivane skupine je isključeno 2 ispitanika zbog naglog pogoršanja bolesti, 2 ispitanika zbog nemogućnosti redovitog dolaska na kontrole liječnika te 2 zbog odbijanja u daljnjem sudjelovanju.

Za postavljanje dijagnoze upalne bolesti crijeva korištene su smjernice Europske organizacije za Crohn i kolitis (ECCO, engl. European Crohn's and Colitis Organization) te

Europskog udruženja za gastrointestinalnu i abdominalnu radiologiju (ESGAR, engl. European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology). Uključni i isključni kriteriji navedeni su u Tablici 10.

**Tablica 10.** Kriteriji uključenja i isključenja ispitanika u studiju

UKLJUČNI KRITERIJI	ISKLJUČNI KRITERIJI
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trajanje bolesti najmanje 3 g</li> <li>• Stabilna aktivnost bolesti zadnja 3 mj</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arterijska hipertenzija</li> <li>• Šećerna bolest i/ili uzimanje antidijabetika</li> <li>• Srčano popuštanje u anamnezi;</li> <li>• Kardiovaskularna ili cerebrovaskularna bolest u anamnezi</li> <li>• Dijagnosticirana periferna arterijska bolest</li> <li>• Poznata kronična bubrežna bolest</li> <li>• Plućna bolest</li> <li>• Bolest jetre</li> <li>• Drugi kronični upalni poremećaji uz upalnu bolest crijeva</li> <li>• Maligna bolest</li> <li>• Uzimanje lokalnih/sistemskih kortikosteroida u zadnja 3 mjeseca</li> </ul>

U kontrolnu skupinu uključeno je 75 zdravih ispitanika u kojih je prethodno urađen probir na prisutnost simptoma gastrointestinalnog sustavom općenito, a posebno smo obratili pozornost na isključenje sindroma iritabilnog kolona (sukladno IV. Rimskim kriterijima za dijagnozu sindroma iritabilnog kolona), isključenje intolerancije na laktozu te isključenje intolerancije na gluten.

### 4.3. Postupci

#### 4.3.1. Klinički pregled i antropometrijska mjerenja

Od svakog uključenog ispitanika uzeti su relevantni anamnestički podaci iz medicinskih zapisa i u razgovoru sa specijalistom gastroenterologom, a ispitanici su upitani o navikama pušenja te konzumiranja kave i alkohola.

Svim ispitanicima uključenim u istraživanje izvršen je detaljni klinički pregled i antropometrijska mjerenja. Tjelesna masa (kg) i visina (cm) izmjereni su na kalibriranoj vagi i visinomjeru (Seca, Birmingham, Ujedinjeno Kraljevstvo). Indeks tjelesne mase (ITM) izračunat je kao tjelesna masa (kg) podijeljena s kvadratom tjelesne visine ( $m^2$ ). Opseg struka (cm) je izmjeren mjernom vrpcom u stojećem stavu u izdisaju i to na srednjoj udaljenosti između donjeg ruba posljednjeg rebra te gornjeg ruba grebena ilijačne kosti. Opseg bokova (cm) je mjeren mjernom vrpcom u stojećem stavu na razini najvećeg opsega glutealne regije. Omjer struka i bokova (engl. *waist-to-hip ratio*, WHR) je dobiven dijeljenjem opsega struka sa opsegom bokova. Za mjerenje arterijskog krvnog tlaka korišten je standardni živin tlakomjer sa primjerenom veličinom orukvice. Ispitanici su prije mjerenja arterijskog krvnog tlaka mirovali u sjedećem položaju 10 minuta sa nadlakticom postavljenom u razini srca. Arterijski krvni tlak mjeren je u sjedećem položaju, na desnoj ruci, u tri navrata te je analiziran prosjek posljednja dva mjerenja.

#### 4.3.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize

Svim uključenim ispitanicima uzeti su uzorci krvi korištenjem polietilenskog katetera iz podlaktične vene u jutarnjim satima, a nakon najmanje 10 satnog posta. Svi uzorci su analizirani u istom laboratoriju medicinske biokemije po istom standardnom postupku od strane iskusnog magistra medicinske biokemije. Dio uzoraka je analiziran istog dana, dok je

dio centrifugiran (20 minuta na 2000 okretaja/minuti te na temperaturi od 4 °C), alikvotiran i pohranjen u hladnjak na -80 °C te je korišten za naknadnu analizu serumskih koncentracija katestatina. Tijekom provođenja laboratorijskih analiza istraživači nisu bili upoznati kojoj od skupina pojedini ispitanik pripada.

Razina visoko osjetljivog CRP-a (hs-CRP) određivana je lateks turbidimetrijskom metodom (Abbott Laboratories, Chicago, SAD). Druge biokemijske analize GUK na tašte, ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL kolesterol, LDL kolesterol, željezo, feritin, ukupni proteini, albumini, ureja, kreatinin, urati, AST, ALT, GGT, LDH, ALP ukupni i konjugirani bilirubin su određivane standardnim biokemijskim metodama na Abbott Architect c16200 platformi (Abbott, Chicago, SAD). Hematološki parametri (leukociti, neutrofil, limfociti, eritrociti, trombociti) su obrađeni na ADVIA 2120i platformi (Siemens AG, Erlangen, Njemačka).

#### *4.3.2.1. Određivanje serumskih koncentracija katestatina*

Serumska koncentracija katestatina (kat. Br. EK-053-27CE, EIA kit, Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, SAD) je određena dvostrukim enzim-immunoadsorpcijskim testom (engl. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) po uputstvima proizvođača. Prema specifikacijama testa osjetljivost je iznosila 0,05 ng/mL s linearnim rasponom 0,05-0,92 ng/mL, mjerni raspon 0-100 ng/mL, križna reaktivnost za ljudski katestatin 100%, a koeficijent varijabilnosti unutar testa <10% te između testova <15%.

#### *4.3.2.2. Određivanje fekalnog kalprotektina*

Fekalni kalprotektin određivan je lateks turbidimetrijskom metodom (Beckam Coulter AU 680). Prema specifikacijama testa osjetljivost je iznosila 15 ug/g s linearnim rasponom 20-1500 ug/g, mjerni raspon 20-8000 ug/g, a koeficijent varijabilnosti unutar testa <20%.

#### 4.3.3. Procjena aktivnosti upalne bolesti crijeva

Procjena aktivnosti bolesti u ispitanika s IBD-em je urađena od strane dva iskusna specijalista gastroenterologije koji su procjenjivali neovisno. Korišteni su standardni klinički i endoskopski zbirovi. U slučaju razlike u procjeni aktivnosti bolesti postignut je dogovor.

Procjena aktivnosti bolesti u ispitanika s UC urađena je koristeći endoskopski indeks težine UC (engl. *UC endoscopic index of severity*, UCEIS), Mayo endoskopski zbir (engl. *Mayo endoscopic score*, MES) i Mayo zbir/indeks aktivnosti bolesti za UC (engl. *Mayo score/disease activity index for UC*, Mayo/DAI) (210-212).

U ispitanika s Crohnovom bolesti procjena aktivnosti bolesti urađena je koristeći jednostavni endoskopski zbir (engl. *simple endoscopic score*, SES-CD), indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. *Crohn's disease activity indeks*, CDAI) te Harvey Bradshaw indeks (engl. *Harvey Bradshaw index*, HBI) (212-214).

Stratifikacija ispitanika s UC i CD na podgrupe izvršena je koristeći isključivo endoskopske zbirove, budući da je u posljednjim smjernicama ECCO-a utvrđeno kako klinička procjena nije dobro validirana zbog varijabilnosti (215). Zbirovi bazirani na kliničkoj projeni samo su opisno navedeni. Ukupno 3 ispitanika, 2 s UC i 1 s CD, su isključena iz analiza podgrupa zbog nedostatnog broja slučajeva u podgrupi.

#### 4.3.4. Mjerenje arterijske krutosti

Za procjenu arterijske krutosti korištena je aplanacijska tonometrija (AT), često korištena neinvazivna metoda kojom se određuje brzina pulsnog vala (engl. *pulse wave velocity*, PWV), koja ima snažnu korelaciju s invazivnim metodama. Mjerenja su izvršena od strane 2 iskusna ispitivača u jutarnjim satima pomoću uređaja SphygmoCor (Version 8.1; AtCor Medical, Inc., Sydney, Australia) dok je ispitanik bio u ležećem položaju. U prostoriji gdje je vršeno mjerenje je održavana temperatura zraka između 22 i 24°C, a ispitanici su dobili

uputu kako moraju biti natašte. Mjerenje se vrši prislanjanjem tonometrijskog pretvarača na desnu karotidnu i femoralnu arteriju. Udaljenost između mjesta najjače pulzacije desne karotidne/femoralne arterije i suprasternalnog čvora je određena jednostavnim fleksibilnim mjernim uređajem. Mjerenja su ponavljana više puta s ciljem dobivanja najmanje dva zadovoljavajuća mjerenja prema postavkama softvera za kontrolu kvalitete ugrađenog u uređaj. Zbir kvalitete mjerenja iznosio je od 0 do 100. Mjerenja sa zbirom kvalitete manjim od 90 su ponavljana kako bi se dobio prihvatljiv rezultat mjerenja. Varijabilnost mjerenja PWV ispitivača je iznosila 0,08 – 0,05 m/s i, a između ispitivača 0,17-0,1 m/s. Mjerena je PWV karotidne u odnosu na femoralnu arteriju te je izvršena analiza pulsog vala (engl. *pulse wave analysis*, PWA).

U SphygmoCorovom softveru korišten je intersekcijski tangentni algoritam te je udaljenost između karotidne i femoralne arterije korigirana za 0.8 kako bi se dobile relevantne aortne PWV vrijednosti (216). Očitavanja aplanacijskom tonometrijom su urađena na način da je prvo mjereno karotidni pa femoralni puls, a od strane istog ispitivača. Kalibracija uređaja je rađena pomoću prosjeka dva uzastopna mjerenja arterijskog tlaka.

Za procjenu PWA postavlja se tonometrijski pretvarač na ispitanikovu radijalnu arteriju. PWA uključuje periferni augmentacijski indeks (pAIx, engl. peripheral augmentation index), centralni augmentacijski indeks (cAIx, engl. central augmentation index), centralni tlak pulsa (cPP, engl. central pulse pressure), centralni sistolički krvni tlak (cSBP: central systolic blood pressure), centralni dijastolički krvni tlak (cDBP, engl. central diastolic blood pressure), centralni srednji krvni tlak (cMBP, engl. central mean blood pressure), periferni tlak pulsa (pPP, engl. peripheral pulse pressure), periferni sistolički krvni tlak (pSBP, engl. peripheral systolic blood pressure), periferni dijastolički krvni tlak (pDBP, engl. peripheral diastolic blood pressure), srednji periferni krvni tlak (pMBP, engl. peripheral mean blood pressure).

Vrijednosti cAIx SphygmoCor-ov softver je standardizirao na frekvenciju pulsa u mirovanju od 75 otkucaja u minuti (cAIx-75) (217).

#### 4.4. Statistički postupci

Veličina uzorka izračunata je prije početka studije, koristeći podatke pilot studije na 15 ispitanika s upalnom bolesti crijeva te 15 zdravih ispitanika. Korištena je grafička analiza korištenjem nomograma s naknadnom potvrdom odgovarajućom formulom za izračun uzorka. Analiza je napravljena koristeći podatke varijable katestatina. Prema izračunima, veličina uzorka od 67 ispitanika po skupini daje kliničku značajnost za detekciju standardizirane razlike od 0.5, sa snagom istraživanja od 80% te razinom statističke značajnosti od 0.05 (interval pouzdanosti 95%).

Za statističku analizu podataka i dizajn grafova korišteni su statistički softveri SPSS (IBM Corp, Armonk, NY, USA; verzija 25) te SigmaPlot (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA; verzija 14). Procjena normalne distribucije podataka urađena je grafički (histogramima, Q-Q plotovima, box plotovima), a potom Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Za podatke je uzeto da su normalne distribucije ako su svi grafički i analitički testovi bili konkordantni, a u suprotnom slučaju podatci su analizirani kao neparametrijske varijable. Kontinuirani podatci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon), dok su kategorijski podatci prikazani kao cijeli brojevi i postotci. Za analizu neovisnih kontinuiranih podataka te kategorijskih podataka između ispitivane i kontrolne skupine koristio se Studentov t-test, Mann-Whitney U test i  $\chi^2$  test. Fisherov egzaktni test je korišten za usporedbu kategorijskih podataka u slučaju male vrijednosti u bilo kojoj ćeliji ( $<5$ ). Analiza kovarijance (ANCOVA) je korištena za usporedbu razlika u razini katestatina i arterijske tvrdoće među skupinama i prilagođena za kovarijable koje uključuju dob i indeks tjelesne mase (ITM). Prethodno navedene varijable su uključene u ANCOVA analizu zbog njihove važnosti za razinu katestatina i arterijsku tvrdoću. Za procjenu homogenosti podataka prije ANCOVA

analize korišten je Levenov test jednakosti. Sve pretpostavke za ANCOVA analizu su potvrđene. Za analizu povezanosti između različitih parametrijskih i neparametrijskih varijabli korištene su Pearsonove i Spearmanove metode korelacije. Za određivanje relativne važnosti neovisnih varijabli (dob, BMI, opseg struka, cAIx-75 i PWV) u predviđanju razine katestatina korištena je multipla linearna regresija sa odabirom unosa algoritma. Prediktori pozitivnog statusa upalne bolesti crijeva određivani su binomijalnom logističkom regresijskom analizom. Za prikaz podataka logističke regresijske analize korišten je omjer izgleda sa 95%-tnim intervalom pouzdanosti (OR(95% CI)). Statistička značajnost je definirana kao  $P < 0,05$ .



## **5. REZULTATI**

## 5.1. Osnovne antropometrijske, kliničke i laboratorijske karakteristike ispitanika

Nije bilo statistički značajne razlike u antropometrijskim karakteristikama ispitivanih skupina, osim u tjelesnoj masi ( $75.03 \pm 14.10$  vs.  $80.47 \pm 13.28$  kg;  $p = 0.015$ ) i tjelesnoj visini ( $176.41 \pm 9.27$  vs.  $180.03 \pm 9.18$  cm,  $p = 0.017$ ) (Tablica 11). Ispitivana skupina je imala veću prevalenciju IBD-a u osobnoj anamnezi (20.0%, N=16 vs. 4.0%, N=3;  $p=0.003$ ), dok nije bilo razlika u drugim anamnestičkim podacima i navikama (Tablica 11).

**Tablica 11.** Temeljne karakteristike ispitivane i kontrolne skupine.

Parametar	IBD skupina (N=80)	Kontrolna skupina (N=75)	<i>p</i>
Dob (godine)	39.79 ± 14.42	38.47 ± 12.22	0.543*
Muški spol	50 (62.5%)	46 (61.3%)	0.987**
Tjelesna masa (kg)	75.03 ± 14.10	80.47 ± 13.28	0.015*
Tjelesna visina (cm)	176.41 ± 9.27	180.03 ± 9.18	0.017*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.04 ± 3.83	24.69 ± 2.75	0.231*
BMI kategorije	Pothranjenost (<18.5 kg/m <sup>2</sup> )	0 (0.0%)	0.187***
	Normalna TM (18.5-24.9 kg/m <sup>2</sup> )	39 (48.8%)	
	Prekomjerna TM (25.0-29.9 kg/m <sup>2</sup> )	36 (45.0%)	
	Pretilost I. stupanj (30.0-34.9 kg/m <sup>2</sup> )	2 (2.5%)	
Omjer struk-bokovi	0.9 (0.8–0.9)	0.9 (0.8-0.9)	0.172****
Pozitivna anamneza na CRC	13 (16.3%)	10 (13.3%)	0.776**
Pozitivna obitejska anamneza na IBD	16 (20.0%)	3 (4.0%)	0.003***
Pozitivna obiteljska anamneza na KVB	29 (36.2%)	36 (48.0%)	0.187**
Konzumacija alkohola	23 (28.7%)	31 (41.3%)	0.090**
Konzumacija kave	41 (51.2%)	44 (58.7%)	0.354**
Pušenje	19 (23.7%)	12 (16.4%)	0.356***

Parametrijske varijable su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija za parametrijske varijable, neparametrijske varijable su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon), kategorijske varijable su prikazane kao cijeli broj (postotak).

**Kratica:** IBD - upalna bolest crijeva, CRC - kolorektalni karcinom.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

\*\* Chi-kvadrat test.

\*\*\* Fisherov egzaktan test.

\*\*\*\* Mann-Whitney U test.

Pri analizi laboratorijskih parametara, u kontrolnoj skupini je pronađena statistički značajno viša razina eritrocita ( $p < 0.001$ ), hemoglobina ( $p < 0.001$ ), hematokrita ( $p < 0.001$ ), kreatinina ( $p = 0.030$ ), ureje ( $p < 0.001$ ), željeza ( $p = 0.029$ ), albumina ( $p < 0.001$ ), ukupnog kolesterola ( $p = 0.028$ ) i LDL-a ( $p = 0.006$ ) (Tablica 12). Nadalje, IBD skupina je imala značajno više razine hs-CRP-a ( $p < 0.001$ ) i ALP-a ( $p = 0.017$ ) (Tablica 12).

**Tablica 12.** Detaljni laboratorijski parametri ispitivane i kontrolne skupine.

Parametar	IBD skupina (N=80)	Kontrolna skupina (N=75)	$p^*$
Broj eritrocita ( $\times 10^{12}/L$ )	4.77 $\pm$ 0.56	5.07 $\pm$ 0.43	<0.001
Hb (g/L)	138.0 $\pm$ 18.9	147.9 $\pm$ 14.6	<0.001
Hct (L/L)	0.42 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.04	<0.001
Broj leukocita ( $\times 10^9/L$ )	8.9 $\pm$ 11.6	6.4 $\pm$ 1.4	0.064
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	260.9 $\pm$ 74.5	240.5 $\pm$ 58.5	0.060
hs-CRP (mg/L)	10.2 $\pm$ 9.4	1.2 $\pm$ 1.2	<0.001
Glukoza natašte (mmol/L)	5.2 $\pm$ 1.8	5.1 $\pm$ 0.6	0.457
Ureja (mmol/L)	4.5 $\pm$ 1.4	5.5 $\pm$ 1.5	<0.001
Kreatinin ( $\mu\text{mol}/L$ )	71.4 $\pm$ 14.4	76.6 $\pm$ 14.7	0.030
Urati ( $\mu\text{mol}/L$ )	276.3 $\pm$ 72.3	296.5 $\pm$ 75.0	0.091
Ukupni bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ )	12.5 $\pm$ 7.3	14.8 $\pm$ 7.9	0.069
Konjugirani bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ )	4.7 $\pm$ 3.3	4.8 $\pm$ 2.0	0.752
AST (U/L)	25.4 $\pm$ 40.9	20.9 $\pm$ 8.9	0.353
ALT (U/L)	27.0 $\pm$ 37.4	26.4 $\pm$ 16.0	0.891
GGT (U/L)	25.7 $\pm$ 25.7	21.1 $\pm$ 11.5	0.160
LDH (U/L)	170.9 $\pm$ 52.0	161.8 $\pm$ 25.1	0.205
ALP (U/L)	72.6 $\pm$ 37.0	61.3 $\pm$ 16.7	0.017
Željezo ( $\mu\text{mol}/L$ )	15.4 $\pm$ 8.1	18.1 $\pm$ 6.6	0.029
Feritin ( $\mu\text{g}/L$ )	69.1 $\pm$ 101.3	85.4 $\pm$ 72.9	0.257
Proteini (g/L)	71.8 $\pm$ 7.4	72.7 $\pm$ 3.7	0.393
Albumini (g/L)	39.2 $\pm$ 5.0	43.9 $\pm$ 2.5	<0.001
Ukupni kolesterol (mmol/L)	4.80 $\pm$ 1.43	5.27 $\pm$ 1.16	0.028
Trigliceridi (mmol/L)	1.38 $\pm$ 1.16	1.21 $\pm$ 0.63	0.266
LDL (mmol/L)	2.81 $\pm$ 1.13	3.29 $\pm$ 1.04	0.006
HDL (mmol/L)	1.33 $\pm$ 0.43	1.42 $\pm$ 0.31	0.159
Fekalni kalprotektin (mg/kg)	513.9 $\pm$ 864.8	-	-

Podaci su prikazani kao srednja vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija.

**Kratica:** Hb - hemoglobin, Hct - hematokrit, hs-CRP - visoko osjetljivi C-reaktivni protein, AST - aspartat aminotransferaza, ALT - alanin aminotransferaza, GGT - gama-glutamil transferaza, LDH - laktat dehidrogenaza, ALP - alkalna fosfataza, LDL - lipoprotein niske gustoće, HDL - lipoprotein visoke gustoće.

\*Student t-test za nezavisne uzorke.

## 5.2. Temeljne karakteristike ispitivane skupine

Nije nađena statistički značajna razlika antropometrijskih parametara između pacijenata s UC i CD, dok je pronađeno da je značajno više pacijenata s CD imalo kirurške postupke (35.6%, N=16 vs. 2.9%, N=1;  $p < 0.001$ ) i ekstraintestinalne manifestacije (62.8%, N=27 vs. 18.2%, N=6;  $p < 0.001$ ) (Tablica 13). Nadalje, nije nađena statistički značajna razlika u dostupnim modalitetima liječenja između ispitanika s IBD, osim u primjeni aminosalicilata, koji su učestalije korišteni u UC (85.7%, N=30 vs. 60.0%, N=27;  $p = 0.012$ ) (Tablica 13).

**Tablica 13.** Temeljne antropometrijske značajke te značajke bolesti grupa s UC i CD.

Parametar	Ulcerozni kolitis (N=35)	Crohnova bolest (N=45)	<i>p</i>
Dob (godine)	42.6 ± 15.5	37.5 ± 13.3	0.119*
Muški spol	21 (60.0%)	29 (64.4%)	0.684**
Tjelesna masa (kg)	77.3 ± 13.0	73.2 ± 14.9	0.206*
Tjelesna visina (cm)	176.2 ± 8.4	176.5 ± 10.0	0.915*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.9 ± 3.9	23.3 ± 3.6	0.079*
BMI kategorije	Pothranjenost (<18.5 kg/m <sup>2</sup> )	1 (2.2%)	0.093***
	Normalna TM (18.5-24.9 kg/m <sup>2</sup> )	14 (40%)	
	Prekomjerna TM (25.0-29.9 kg/m <sup>2</sup> )	18 (51.4%)	
	Pretilost I. stupanj (30.0-34.9 kg/m <sup>2</sup> )	1 (2.9%)	
Omjer opsega struk-bokovi	0.9 (0.8-1.0)	0.9 (0.8-0.9)	0.284****
SES-CD	-	10 (5-15)	-
CDAI	-	57 (32-102)	-
HBI	-	2 (1-4)	-
UCEIS	6 (5-7)	-	-
MES	2 (2-3)	-	-
Mayo/DAI	4 (2-7)	-	-
Trajanje bolesti (godine)	9 (5-11)	6 (3-13)	0.268****
Pozitivna obit. an. na CRC	6 (17.1%)	7 (15.6%)	0.849**
Pozitivna obit. an. na IBD	7 (20.0%)	9 (20.0%)	1.000**
Pozitivna obit. an. na CV bolest	11 (31.4%)	18 (40.0%)	0.429**
Konzumacija alkohola	9 (25.7%)	14 (31.1%)	0.597**
Pušenje	7 (20%)	12 (26.7%)	0.487**
Kirurški postupci vezani uz IBD	1 (2.9%)	16 (35.6%)	<0.001***

Ekstraintestinalne manifestacije	6 (18.2%)	27 (62.8%)	<0.001**
Aminosalicilati	30 (85.7%)	27 (60.0%)	0.012**
DMARD	12 (34.3%)	11 (24.4%)	0.335**
Biološka terapija	21 (60.0%)	30 (66.7%)	0.538**

Parametrijske varijable su prikazane kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija, neparametrijske varijable su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon), kategorijske varijable su prikazane kao cijeli broj (postotak).

**Kratice:** BMI - indeks tjelesne mase; SES-CD - jednostavni endoskopski zbir za Crohnovu bolest; CDAI - indeks aktivnosti Crohnove bolesti; HBI - Harvey-Bradshaw indeks; UCEIS - indeks težine ulceroznog kolitisa, MES - Mayo endoskopski zbir; MAYO/DAI – Mayo zbir/zbir aktivnosti bolesti za ulcerozni kolitis; CRC - kolorektalni karcinom; IBD - upalna bolest crijeva; CV - kardiovaskularni; DMARD - bolest modulirajući antireumatici.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

\*\* Chi-kvadrat test

\*\*\* Fisherov egzaktni test

\*\*\*\* Mann-Whitney U test

Prema međunarodnim endoskopskim zbirovima ispitanici s UC su imali umjereni do teški endoskopski vizualiziran oblik bolesti (UCEIS; MES zbir), dok su ispitanici s CD uglavnom imali umjereno teški endoskopski vizualiziran oblik bolesti (SES-CD).

Nije bilo statistički značajne razlike u određenim varijablama prema različitim podgrupama aktivnosti UC i CD stratificiranih prema endoskopskom zbiru (Tablica 14 i 15).

**Tablica 14.** Usporedba određenih parametara između ispitanika s različitom aktivnošću UC.

Parametar	Endoskopska aktivnost bolesti (UCEIS; MES)		p*
	Umjereni (N=18)	Teški (N=15)	
katestatin (ng/mL)	13 (6-18)	14 (5-20)	0.850
PWV (m/s)	7 (6-11)	7 (6-10)	0.694
cAIx-75 (75%)	12 (8-26)	16 (10-25)	0.906

Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon).

**Kratice:** UC - ulcerozni kolitis; UCEIS - endoskopski zbir aktivnosti ulceroznog kolitisa, MES - Mayo endoskopski zbir, katestatin - katestatin, PWV - brzina pulsno vala, cAIx-75 - centralni ugmentacijski indeks korigiran na srčanu frekvenciju

\* Mann Whitney U test

**Tablica 15.** Usporedba određenih parametara između ispitanika s različitom aktivnošću Crohnove bolesti.

Parametar	Endoskopska aktivnost bolesti (SES-CD)			<i>p</i> *
	Remisija (N=7)	Umjerena (N=10)	Teška (N=27)	
katestatin (ng/mL)	10 (5-17)	11 (8-18)	11 (6-17)	0.861
PWV (m/s)	8 (6-12)	6 (4-11)	7 (5-13)	0.901
cAIx-75 (75%)	15 (7-19)	15 (9-19)	17 (8-21)	0.253

Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon).

**Kratica:** SES-CD - jednostavni endoskopski zbir za Crohnovu bolest; PWV - brzina pulsog vala; cAIx-75 - centralni augmentacijski indeks korigiran na srčanu frekvenciju.

\* Mann Whitney U test

U većini laboratorijskih parametara između IBD podgrupa nije pronađena statistički značajna razlika, osim u razini hs-CRP-a čije su vrijednosti bile više u pacijenata s CD ( $16.43 \pm 12.93$  vs.  $2.33 \pm 2.19$  mg/L;  $p < 0.001$ ). Pacijenti s UC su imali više vrijednosti lipidograma (Tablica 16).

**Tablica 16.** Detaljni laboratorijski parametri za UC i CD podgrupe.

Parametar	Ulcerozni kolitis (N=35)	Crohnova bolest (N=45)	<i>p</i> *
Broj eritrocita ( $\times 10^{12}/L$ )	$4.8 \pm 0.6$	$4.7 \pm 0.4$	0.555
Hb (g/L)	$140.0 \pm 20.1$	$136.5 \pm 17.9$	0.408
Hct (L/L)	$0.42 \pm 0.06$	$0.42 \pm 0.05$	0.449
Broj leukocita ( $\times 10^9/L$ )	$10.4 \pm 17.3$	$7.8 \pm 3.1$	0.328
Broj trombocita ( $\times 10^9/L$ )	$241.0 \pm 59.6$	$276.4 \pm 81.6$	0.034
hs-CRP (mg/L)	$2.3 \pm 2.1$	$16.4 \pm 12.9$	<0.001
Glukoza natašte (mmol/L)	$5.6 \pm 2.6$	$4.9 \pm 0.7$	0.114
Ureja (mmol/L)	$4.5 \pm 1.3$	$4.5 \pm 1.4$	0.947
Kreatinin ( $\mu\text{mol}/L$ )	$70.9 \pm 10.7$	$71.9 \pm 17.0$	0.780
Urati ( $\mu\text{mol}/L$ )	$280.9 \pm 58.2$	$272.7 \pm 82.8$	0.621
Ukupni bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ )	$13.0 \pm 5.5$	$12.2 \pm 8.6$	0.621
Konjugirani bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ )	$4.8 \pm 2.7$	$4.6 \pm 3.8$	0.856
AST (U/L)	$23.4 \pm 25.4$	$27.0 \pm 50.3$	0.704
ALT (U/L)	$26.3 \pm 32.2$	$27.6 \pm 41.8$	0.879
GGT (U/L)	$27.6 \pm 25.0$	$24.3 \pm 26.7$	0.585
LDH (U/L)	$167.2 \pm 39.6$	$172.8 \pm 60.7$	0.637

ALP (U/L)	71.5 ± 34.1	73.4 ± 39.9	0.819
Željezo (μmol/L)	16.9 ± 8.0	14.2 ± 8.1	0.141
Feritin (μg/L)	50.7 ± 48.2	83.3 ± 128.1	0.158
Proteini (g/L)	73.5 ± 5.5	70.6 ± 8.4	0.085
Albumini (g/L)	40.9 ± 3.9	37.9 ± 5.4	0.008
Ukupni kolesterol (mmol/L)	5.4 ± 1.4	4.3 ± 1.2	<0.001
Trigliceridi (mmol/L)	1.15 ± 0.70	1.56 ± 1.42	0.122
LDL (mmol/L)	3.37 ± 1.19	2.37 ± 0.88	<0.001
HDL (mmol/L)	1.45 ± 0.43	1.24 ± 0.42	0.031
Fekalni kalprotektin (mg/kg)	366.2 ± 515.0	628.7 ± 1060.2	0.183

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

**Kratica:** **Hb** - hemoglobin, **Hct** - hematokrit, **hs-CRP** - visoko osjetljivi C-reaktivni protein, **AST** - aspartat aminotransferaza, **ALT** - alanin aminotransferaza, **GGT** - gama-glutamil transferaza, **LDH** - laktat dehidrogenaza, **ALP** - alkalna fosfataza, **LDL** - lipoprotein niske gustoće, **HDL** - lipoprotein visoke gustoće.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

### 5.3. Serumske vrijednosti katestatina

Vrijednosti katestatina bile su statistički značajno više u ispitanika s IBD-om u usporedbi s kontrolnim ispitanicima ( $11.29 \pm 9.14$  vs.  $7.13 \pm 6.08$  ng/mL;  $p = 0.001$ ). Razlika je perzistirala statistički značajnom i nakon korekcije za dob i BMI ANCOVA analizom ( $p=0.001$ ) (Tablica 17).

**Tablica 17.** Usporedba serumske razine katestatina između ispitivanih skupina.

Parametar	Ispitivana skupina		Tip statističkog testa	
	IBD (N=80)	Kontrole (N=75)	$p^*$	$p^{**}$
katestatin (ng/mL)	$11.29 \pm 9.14$	$7.13 \pm 6.08$	0.001	0.001
	UC (N=35)	CD (N=45)	$p^*$	$p^{**}$
	$13.50 \pm 9.58$	$9.03 \pm 6.92$	0.021	0.036

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

**Kratica:** **katestatin** - katestatin; **IBD** - ispitanici s upalnom bolesti crijeva, **UC** - ispitanici s ulceroznim kolitisom; **CD** - ispitanici s Crohnovom bolešću.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

\*\* ANCOVA model prilagođen za dob i BMI.

Ispitanici s UC su imali statistički značajno višu razinu katestatina u usporedbi s CD ispitanicima ( $13.50 \pm 9.58$  vs.  $9.03 \pm 6.92$  ng/mL;  $p = 0.021$ ), koja je perzistirala statistički značajnom nakon ANCOVA analize (Tablica 17). Nadalje, nije nađena statistički značajna razlika u razini katestatina među IBD ispitanicima u odnosu na medijan trajanja bolesti (Tablica 18). Također nije nađena statistički značajna razlika razina katestatina u ispitanika liječenih

biološkom terapijom u odnosu na ispitanike koji nisu liječeni biološkom terapijom ( $11.21 \pm 8.22$  ng/mL vs.  $11.42 \pm 10.72$  ng/mL;  $p = 0.923$ ) (Tablica 19).

**Tablica 18.** Usporedba razina katestatina između IBD podgrupa prema medijanu trajanja bolesti te graničnim vrijednostima PWV za oštećenje ciljnog organa.

Parametar	Trajanje bolesti		$p^*$
katestatin (ng/mL)	$\leq 9$ godina	$> 9$ godina	0.180
	10 (5-18)	7 (4-7)	
	PWV		
	$\leq 10$ m/s	$> 10$ m/s (n=16)	0.001
	7 (4-11)	20 (7-23)	

Podaci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon).

**Kratica:** katestatin - katestatin; PWV - brzina pulsno vala.

\*Mann Whitney U test.

**Tablica 19.** Usporedba razine katestatina među IBD podskupinama prema terapiji.

Parametar	Ispitanici na biološkoj terapiji (N=51)	Ispitanici koji nisu na biološkoj terapiji (N=29)	$p^*$
katestatin (ng/mL)	$11.21 \pm 8.22$	$11.21 \pm 8.22$	0.923
pSBP (mmHg)	$120.73 \pm 7.07$	$120.45 \pm 7.42$	0.869
pDBP (mmHg)	$73.76 \pm 6.76$	$75.62 \pm 6.56$	0.236
pMBP (mmHg)	$89.42 \pm 6.07$	$90.56 \pm 5.82$	0.413
pPP (mmHg)	$46.96 \pm 6.80$	$44.83 \pm 7.70$	0.203
cSBP (mmHg)	$106.16 \pm 6.63$	$106.07 \pm 7.63$	0.957
cDBP (mmHg)	$75.16 \pm 6.68$	$75.52 \pm 6.40$	0.814
cMBP (mmHg)	$85.49 \pm 5.72$	$85.70 \pm 6.55$	0.881
cPP (mmHg)	$31.00 \pm 7.26$	$30.55 \pm 4.11$	0.761
HR (bpm)	$72.24 \pm 11.81$	$71.69 \pm 13.07$	0.849
pAIx (%)	$-35.90 \pm 17.66$	$-39.76 \pm 18.29$	0.356
cAIx (%)	$17.76 \pm 10.29$	$13.90 \pm 10.19$	0.110
cAIx-75 (%)	$16.38 \pm 9.24$	$13.24 \pm 11.03$	0.177
PWV (m/s)	$8.25 \pm 3.27$	$7.72 \pm 3.18$	0.488

Podaci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

**Kratica:** katestatin - katestatin; pSBP - periferni sistolički tlak; pDBP - periferni dijastolički tlak; pMBP - periferni srednji krvni tlak; pPP - periferni tlak pulsa; cSBP - centralni sistolički krvni tlak; cDBP - centralni dijastolički krvni tlak; cMBP - centralni srednji krvni tlak; cPP - centralni tlak pulsa; HR - frekvencija pulsa; bpm - otkucaji u minuti, pAIx - periferni augmentacijski indeks, cAIx - centralni augmentacijski indeks, cAIx-75 - centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, PWV - brzina pulsno vala.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.



#### 5.4. Parametri arterijske krutosti

IBD ispitanicima su izmjerene statistički značajno više vrijednosti cAIx ( $16.36 \pm 9.95$  vs.  $10.31 \pm 8.19$  %;  $p < 0.001$ ), cAIx-75 ( $14.88 \pm 10.59$  vs.  $6.87 \pm 9.50$  %;  $p < 0.001$ ), PWV ( $8.06 \pm 3.23$  vs.  $6.43 \pm 1.47$  m/s;  $p < 0.001$ ) i frekvencije pulsa ( $72.04 \pm 12.21$  vs.  $68.13 \pm 9.14$  otkucaja/min;  $p = 0.027$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika (Tablica 20). Nije bilo razlike u drugim parametrima arterijske krutosti (Tablica 20). Važno je naglasiti kako je statistički značajna razlika navedenih parametara arterijske krutosti među ispitivanim skupinama perzistirala i nakon prilagodbe za dob i BMI ( $p < 0.05$ ).

IBD skupina je imala statistički značajno više ispitanika s oštećenjem ciljnog organa, definiranu kao PWV > 10 m/s (17.5%, N=14 vs. 2.7%, N=1;  $p = 0.002$ ) (Tablica 20). Uzorak je perzistirao i pri analizi dobno usklađenih PWV referentnih vrijednosti (13.8%, N=11 u IBD skupini vs. 0.0%, N=0 u kontrolnoj skupini) (Tablica 21). Nadalje, skupina ispitanika s pozitivnim kriterijima PWV za ciljno oštećenje organa (PWV > 10 m/s) je imala statistički značajno višu razinu katestatina (20.7-23 vs. 7.4-11 ng/mL;  $p = 0.001$ ) (Tablica 18).

Nije pronađena statistički značajna razlika parametara arterijske krutosti između ispitanika s UC i CD (Tablica 22), kao ni između ispitanika liječenih biološkom terapijom u odnosu na ispitanike koji nisu liječeni biološkom terapijom ( $p > 0.05$ ) (Tablica 20).

**Tablica 20.** Usporedba određenih parametara arterijske krutosti između ispitivane i kontrolne skupine.

Parametar	IBD skupina (N=80)	Kontrolna skupina (N=75)	$p^*$	$p^{**}$
pSBP (mmHg)	$120.63 \pm 7.15$	$118.57 \pm 7.32$	0.080	0.058
pDBP (mmHg)	$74.44 \pm 6.71$	$73.39 \pm 9.16$	0.419	0.483
pMBP (mmHg)	$89.78 \pm 5.98$	$88.44 \pm 6.96$	0.201	0.194
pPP (mmHg)	$46.19 \pm 7.17$	$45.19 \pm 10.67$	0.497	0.333
cSBP (mmHg)	$106.13 \pm 6.97$	$104.37 \pm 6.43$	0.106	0.087
cDBP (mmHg)	$75.29 \pm 6.54$	$74.16 \pm 6.49$	0.283	0.264
cMBP (mmHg)	$85.55 \pm 5.99$	$84.24 \pm 6.17$	0.182	0.154
cPP (mmHg)	$30.84 \pm 6.27$	$30.21 \pm 3.98$	0.458	0.420
HR (bpm)	$72.04 \pm 12.21$	$68.13 \pm 9.14$	0.027	0.037
pAIx (%)	$-37.30 \pm 16.13$	$-40.41 \pm 15.48$	0.223	0.529

cAIx (%)	16.36 ± 9.95	10.31 ± 8.19	<0.001	0.005
cAIx-75 (%)	14.88 ± 10.59	6.87 ± 9.50	<0.001	0.003
PWV (m/s)	8.06 ± 3.23	6.42 ± 1.47	<0.001	<0.001
Oštećenje ciljnog organa <sup>a</sup>	14 (17.5%)	2 (2.7%)	0.002***	-

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, kategorijske varijable su prikazane kao broj (postotak). **pSBP** – periferni sistolički tlak; **pDBP** – periferni dijastolički tlak; **pMBP** – periferni srednji krvni tlak; **pPP** – periferni tlak pulsa; **cSBP** – centralni sistolički krvni tlak; **cDBP** – centralni dijastolički krvni tlak; **cMBP** – centralni srednji krvni tlak; **cPP** – centralni tlak pulsa; HR – frekvencija pulsa; bpm – otkucaji u minuti, pAIx – periferni augmentacijski indeks, cAIx – centralni augmentacijski indeks, cAIx-75 – centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, PWV - brzina pulsog vala.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

\*\* ANCOVA model prilagođen za dob i spol.

\*\*\* Chi-kvadrat test.

<sup>a</sup> sukladno ESC/EHA smjernicama, PWV > 10 m/s predstavlja oštećenje ciljnog organa (40).

**Tablica 21.** Prevalencija abnormalnih dobno prilagođenih PWV vrijednosti među ispitanim skupinama.

Dobna skupina u godinama (PWV)**	IBD ispitanici (N=80)	Kontrolni ispitanici (N=75)	p*
<30 (>8.2 m/s)	3 (18.8%)	0 (0.0%)	0.064
30-39 (>9.4 m/s)	1 (6.3%)	0 (0.0%)	0.295
40-49 (>10 m/s)	3 (15.0%)	0 (0.0%)	0.143
50-59 (>11.7 m/s)	1 (10.0%)	0 (0.0%)	0.262
60-69 (>13.6 m/s)	3 (50.0%)	0 (0.0%)	0.064

Podatci su prikazani kao brojevi i postotci.

IBD – upalna bolest crijeva, PWV – brzina pulsog vala.

\* Fisherov test.

\*\* Dobno prilagođena gornja referentna vrijednost za PWV u ispitanika s normalnim vrijednostima krvno tlaka (39).

**Tablica 22.** Usporedba odabranih parametara arterijske krutosti između UC i CD podskupina

Parametar	Ulcerozni kolitis (N=35)	Crohnova bolest (N=45)	p*	p**
pSBP (mmHg)	120.46 ± 7.58	120.76 ± 6.89	0.854	0.892
pDBP (mmHg)	75.66 ± 6.60	73.49 ± 6.71	0.153	0.278
pMBP (mmHg)	90.49 ± 6.25	89.22 ± 5.76	0.352	0.498
pPP (mmHg)	44.80 ± 6.32	47.27 ± 7.66	0.128	0.236
cSBP (mmHg)	106.14 ± 7.92	106.11 ± 6.22	0.984	0.840
cDBP (mmHg)	75.74 ± 6.52	74.93 ± 6.61	0.586	0.777
cMBP (mmHg)	85.86 ± 6.34	85.31 ± 5.77	0.689	0.908
cPP (mmHg)	30.40 ± 6.43	31.18 ± 6.20	0.585	0.605
HR (otk/min)	74.51 ± 12.24	70.11 ± 11.96	0.110	0.093
pAIx (%)	-38.00 ± 19.88	-36.76 ± 18.76	0.776	0.058
cAIx (%)	15.97 ± 10.81	16.67 ± 11.90	0.787	0.183
cAIx-75 (%)	16.73 ± 12.90	13.44 ± 12.47	0.628	0.439
PWV (m/s)	8.83 ± 4.25	7.46 ± 1.98	0.085	0.306
Oštećenje ciljnog organa <sup>a</sup>	9 (25.7%)	5 (11.1%)	0.088***	-

Kontinuirani podaci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija, a kategorijski podaci su prikazani kao broj (postotak).

**Kratice:** **pSBP** - periferni sistolički tlak; **pDBP** - periferni dijastolički tlak; **pMBP** - periferni srednji krvni tlak; **ppp** - periferni tlak pulsa; **cSBP** - centralni sistolički krvni tlak; **cDBP** - centralni dijastolički krvni tlak; **cMBP** - centralni srednji krvni tlak; **cPP** - centralni tlak pulsa; **HR** - frekvencija pulsa; **pAIx** - periferni augmentacijski indeks, **cAIx** - centralni augmentacijski indeks, **cAIx-75** - centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, **PWV** - brzina pulsog vala.

\* Student t-test za nezavisne uzorke.

\*\* ANCOVA model prilagođen za dob i spol.

\*\*\* Chi-kvadrat test.

<sup>a</sup> sukladno ESC/EHA smjernicama, PWV > 10 m/s predstavlja oštećenje ciljnog organa (40).

## 5.5. Bivarijatna korelacijska analiza katestatina i odabranih parametara

Katestatin je pokazao statistički značajnu korelaciju s dobi ( $r = 0.18$ ,  $p = 0.023$ ), cAIx-75 ( $r = 0.19$ ,  $p = 0.003$ ), PWV ( $r = 0.37$ ,  $p < 0.001$ ) i trajanjem bolesti ( $r = -0.24$ ,  $p = 0.032$ ), dok ista nije utvrđena između katestatina i drugih varijabli (Tablica 23). Nije utvrđena statistički značajna povezanost trajanja bolesti i PWV, dok je broj leukocita pozitivno korelirao s PWV ( $r = 0.24$ ,  $p = 0.031$  odnosno  $r = 0.12$ ,  $p = 0.352$ ) (Tablica 23).

**Tablica 23.** Korelacija katestatina s antropometrijskim i biokemijskim parametrima, pokazateljima arterijske krutosti te pokazateljima aktivnosti upalne bolesti crijeva

Parametar	r	p
Dob (godine)	0.18*	0.023
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.15*	0.059
Tjelesna masa (kg)	-0.01*	0.919
Tjelesna visina (cm)	-0.16*	0.050
Omjer opsega struk-bokovi	0.16*	0.058
hs-CRP (mg/L)	-0.07*	0.393
Ukupni kolesterol (mmol/L)	0.10*	0.193
Trigliceridi (mmol/L)	0.01*	0.894
LDL (mmol/L)	0.06*	0.420
HDL (mmol/L)	0.12*	0.142
Broj leukocita (x10 <sup>9</sup> /L)	0.03*	0.715
HR (otk/min)	0.11*	0.172
cSBP (mmHg)	0.11*	0.161
cDBP (mmHg)	0.08*	0.346
cMBP (mmHg)	0.09*	0.251
cPP (mmHg)	0.13*	0.105
pAIx (%)	0.10*	0.209
cAIx-75 (%)	0.19*	0.003
PWV (m/s)	0.37*	<0.001
SES-CD (zbir)***	0.20**	0.188
UCEIS (zbir)***	0.19**	0.285

MES (zbir)***	0.04**	0.812
Mayo/DAI (zbir)***	0.05**	0.776
Trajanje bolesti (godine)***	-0.24**	0.032
Fekalni kalprotektin***	0.07*	0.531

**BMI** - body mass index; **hs-CRP** – visoko osjetljivi C reaktivni protein; **LDL** - low density lipoproteins; **HDL** - high density lipoprotein; **HR** – frekvencija pulsa; **cSBP** - centralni sistolički krvni tlak; **cDBP** - centralni dijastolički krvni tlak; **cMBP** - centralni srednji krvni tlak; **cPP** - centralni tlak pulsa; **pAIx** - periferni augmentacijski indeks, **cAIx-75** - centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, **PWV** - brzina pulsno vala; **SES-CD** - jednostavni endoskopski zbir za Crohnovu bolest; **UCEIS** - indeks težine ulceroznog kolitisa, **MES** - Mayo endoskopski zbir; **MAYO/DAI** – Mayo zbir/zbir aktivnosti bolesti za ulcerozni kolitis.

\* Pearson's correlation test.

\*\* Spearman's correlation test.

\*\*\* Correlation in the IBD group.

## 5.6. Multipla linearna regresijska analiza

Multipla linearna regresijska analiza utvrdila je kako je PWV jedini neovisni prediktor razine katestatina ( $\beta = 1.20$ ;  $p < 0.001$ ). Druge varijable uvrštene u analizu nisu postigle razinu statističke značajnosti (Tablica 24).

**Tablica 24.** Multipla linearna regresija odabranih varijabli kao neovisnih prediktora razine katestatina.

Parametar	$\beta^*$	t-vrijednost	p
Dob	-0.07	-1.11	0.270
BMI	0.10	0.50	0.620
Omjer struk-bokovi	0.36	1.32	0.189
cAIx-75	0.07	1.68	0.095
PWV	1.20	4.15	<0.001

**Kratica:** **BMI** - indeks tjelesne mase, **cAIx-75** - centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, **PWV** - brzina pulsno vala.

\* nestandardizirani koeficijent  $\beta$

## 5.7. Omjer izgleda odabranih varijabli u predviđanja IBD statusa

Binomijalna logistička regresija utvrdila je kako su katestatin (1.089 (1.022-1.161),  $p = 0.009$ ), PWV (1.515 (1.166-1.968),  $p = 0.002$ ), cAIx-75 (1.060 (1.024-1.097),  $p = 0.001$ ), hs-CRP (1.458 (1.116-1.906),  $p = 0.006$ ) i BMI (0.793 (0.683-0.920),  $p = 0.002$ ) statistički značajni prediktori pozitivnog IBD statusa (Tablica 25).

**Tablica 25.** Binomijalna logistička regresija za predikciju IBD statusa.

<b>Prediktor</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b><i>p</i></b>
katestatin	1.089 (1.022-1.161)	0.009
BMI	0.793 (0.683-0.920)	0.002
PWV	1.515 (1.166-1.968)	0.002
cAIx-75	1.060 (1.024-1.097)	0.001
hs-CRP	1.458 (1.116-1.906)	0.006

**Kratica:** IBD - upalne bolesti crijeva; OR - omjer izgleda; CI - interval pouzdanosti; **katestatin** - katestatin, **BMI** - indeks tjelesne mase, **PWV** - brzina pulsno vala, **cAIx-75** - centralni augmentacijski indeks korigiran na frekvenciju pulsa, **hs-CRP** - visoko osjetljivi C-reaktivni protein

## **6. RASPRAVA**

Ovo istraživanje je pokazalo kako IBD ispitanici imaju značajno višu razinu katestatina te parametre arterijske krutosti u usporedbi sa zdravim ispitanicima. Također su katestatin i brzina pulsno vala dokazani kao neovisni prediktori prisutnosti IBD. Pokazano je i neovisno postojanje pozitivne korelacije između katestatina i brzine pulsno vala, a koje bi moglo upućivati na povezanost između IBD, katestatina i povišenih parametara arterijske krutosti. Uloga katestatina u patofiziologiji IBD-a te kompleksna veza između IBD i povišenog kardiovaskularnog rizika ipak nije dovoljno utvrđena (218-220).

Prema našim saznanjima, samo jedno istraživanje je do sada mjerilo serumsku razinu katestatina u malom uzorku IBD pacijenata. U tom istraživanju serumske koncentracije katestatina nisu bile primarni ishod, a drugi relevantni klinički podaci kao što su i biokemijski parametri su izostavljeni (221). Zato smatramo kako je upravo naše istraživanje prvo kliničko istraživanje serumskih razina katestatina u IBD populaciji i odgovarajuće kontrolne skupine sa detaljnim usporedbom s karakteristikama bolesti. Nadalje, ovo je prvo istraživanje koje je proučilo povezanost katestatina i parametara arterijske krutosti u IBD populaciji.

Prethodno je dokazano kako upalni procesi utječu na lučenje enterokromafinih stanica u probavnom sustavu IBD pacijenata (222). Istraživanja pokazuju kako je kromogranin A (ChgA), prekursor katestatina i nekoliko drugih važnih peptida, povišen u kolonu i plazmi pacijenata s IBD-em (221, 223, 224). Nedavno istraživanje provedeno na pacijentima s IBD-om je pokazalo da navedeni pacijenti imaju značajno više razine ChgA u usporedbi i sa pacijentima s IBS-om i sa zdravim kontrolnim ispitanicima (225). Također, ista studija je pokazala da su pacijenti s IBD-om koji su liječeni s biološkom terapijom imali značajno niže razine ChgA u usporedbi s pacijentima s IBD-om koji su liječeni s „konvencionalnom“ terapijom. Važno je napomenuti da je gotovo jednak broj pacijenata u obje skupine u vrijeme mjerenja ChgA bio u remisiji. Nadalje, studija provedena na pacijentima s IBD-om te na miševima s isključenim genom za ChgA je pokazala da ChgA ima značajno djelovanje na

kolitis kroz modulaciju funkcije makrofaga (226). Naime, pokazali su da ChgA promovira M1 makrofage uz supresiju M2 makrofaga. S druge strane, miševi s isključenim genom za ChgA su nakon induciranja kolitisa s dekstran-natrij-sulfatom imali pojačanu ekspresiju M2 makrofaga, a sniženu razinu M1 makrofaga. Također, uz navedenu modulaciju makrofaga miševi su imali i značajno reducirane medijatore upale i težinu bolesti uz značajno povišenu razinu anti-inflamatornih citokina. Ujedno, jedna nedavna studija provedena na biopsijama kolona na pacijentima s UC-om pokazala da ChgA djeluje na proteine čvrste sveze (engl. *tight junction proteins*) te modulira epitel smanjujući barijeru i povećavajući permeabilnost (227). Sva prethodno navedena saznanja upućuju na potencijalno važnu ulogu ChgA u kompleksnoj patogenezi i patofiziologiji IBD-a.

Uz sami ChgA, pokazalo se da su i njegovi derivati također povezani s patofiziologijom bolesti probavnog sustava. Međutim, čini se da bi ti derivati mogli imati oprečne uloge u djelovanju na IBD. Tako je studija provedena na miševima s isključenim ChgA pokazala da egzogena suplementacija s katestatinom reducira intestinalnu paracelularnu propusnost dok egzogena suplementacija s pankreastatinom istu povećava (228). Nadalje, kromofungin suprimira pro-inflamatorne makrofage djelovanjem na NF- $\kappa$ B (229). Pored navedenog, važno je napomenuti i kako je u istraživanjima na životinjama pokazano da su razine katestatina značajno povišene u eksperimentalnom modelu kolitisa. Čak je izgledno da se ekspresija kormogranina A i katestatina simultano pojačava s ijtrogenim razvojem kolitisa (221).

Rezultati ovog istraživanja upućuju da IBD ispitanici imaju povišenu serumsku razinu katestatina u usporedbi sa zdravim ispitanicima. Također je utvrđeno kako je katestatin neovisni prediktor IBD statusa. Istraživanje Rabija i sur. na malom uzorku IBD ispitanika utvrdilo je značajno više razine serumskog katestatina u odnosu na kontrolnu skupinu, slično našim rezultatima (221), ali nisu utvrdili razliku u katestatin i ChgA razinama između različitih IBD podgrupa, dok smo mi utvrdili značajno više vrijednosti serumskog katestatin u pacijenata



s UC (221). Na temelju postojeće literature teško je pronaći razloge za ovu diskrepancu u rezultatima, ali je moguće kako su ove razlike u razinama serumskog katestatin između ispitanika s UC i CD nastale zbog nepodudaranja u aktivnosti bolesti. U našem istraživanju ispitanici s UC su imali veću aktivnost bolesti. U suprotnosti s našim rezultatima su rezultati istraživanja Eissa i sur. koji su pokazali značajno smanjenu ekspresiju katestatin u biopsijama kolona ispitanika s UC u usporedbi s kontrolnim ispitanicima (194). Nadalje, nije pokazana razlika u katestatin, pWV i cAIx-75 između podskupina s različitom aktivnosti bolesti UC i CD. Ovi rezultati se trebaju tumačiti s oprezom, obzirom na relativno mali broj ispitanika u svakoj podskupini, stoga su potrebna daljnja istraživanja koja bi potvrdila ulogu katestatin u patofiziologiji UC-a i CD-a.

Prethodna istraživanja na životinjskim modelima su pokazala kako katestatin može imati povoljan terapijski učinak u IBD-u (194, 197, 221, 230). Naime, eksperimentalne životinjske studije su ukazale na mogućnost da bi katestatin mogao imati modulirajuću ulogu u upalnom odgovoru. Rezultati su pokazali da katestatin ublažava intenzitet upale u IBD-u te možda čak i potencijalno sprječava relaps bolesti (197). Nadalje, studije su pokazale kako katestatin odgađa nastup induciranog kolitisa na štakorskom modelu ovisno o primijenjenoj dozi (194, 221). Također je pokazano kako intrarektalna primjena katestatin-a poboljšava konzistenciju stolice i smanjuje količinu krvi u stolici u štakora. Liječenje katestatin-om u ovim studijama smanjilo je intenzitet bolesti što je verificirano makroskopskim i histološkim zbirovima (194, 221). Utvrđeni su lokalni učinci poput smanjene upale sluznice kolona, smanjenog edema i infiltracije tkiva upalnim stanicama. U našoj studiji također nije pronađena statistički značajna korelacija između katestatin i tjelesne mase/ITM-a.

Nekoliko je predloženih mehanizama za pozitivne učinke katestatin na crijevo u IBD-u. Katestatin inducira pad broja M1 makrofaga, smanjuje lokalnu koncentraciju proupalnih citokina IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) te aktivnost mijeloperoksidaze i CRP-a u životinjskom modelu

(197, 221). Studije su također utvrdile kako je ekspresija katestatin-a u kolonu negativno korelira s proinflamatornim citokinima IL-8 i IL-18, dok je terapija katestatin-om smanjila koncentraciju IL-18 u pacijenata s UC (194). Pretraživanjem literature zanimljivo je napomenuti kako su *in vivo* i *in vitro* studije pokazale kako aplikacija katestatin djeluje samo na smanjenje koncentracije proupalnih citokina i broja makrofaga, a bez ikakvog učinka na protuupalne citokine i M2 makrofage (197). Ove spoznaje bi mogle biti razlogom zašto aplikacija katestatin nije imala nikakav učinak na histološku sliku i razine citokina u crijevima zdravih životinja (221). Mogući medijator protuupalnog učinka katestatin bi mogao biti STAT3, inače dobro istraživani čimbenik u patofiziologiji IBD-a (231). U prilog ovoj spoznaji govore visoke razine fosforiliranog STAT3 u debelom crijevu štakora liječenih visokim dozama katestatin, dok je apsolutna razina STAT3 ostala ista (232, 233). Važno je naglasiti da pri dodavanju blokatora STAT3 pod utjecajem katestatin nije bilo smanjeno citokinsko lučenje iz makrofaga (194, 221). Nadalje, pokazano je kako terapija katestatin održava razinu intestinalnih proteina čvrste sveze, a koji su ključni pokazatelji homeostaze staničnih membrana u crijevima (194, 234). Studije su također pokazale kako katestatin ima sposobnost utjecaja na kemotaksiju monocita (235). Na temelju svega navedenog moglo bi se zaključiti kako katestatin ima imunomodulatorni učinak u crijevima, a rasvjetljavanje ove pretpostavke zahtijeva daljnje istraživanje (236, 237).

Nekoliko studija je pokazalo kako oboljeli od IBD imaju veći kardiovaskularni rizik u usporedbi s općom populacijom, usprkos nižoj prevalenciji tradicionalnih kardiovaskularnih rizičnih faktora (238-240). Povišena arterijska krutost IBD ispitanika u našoj studiji je ukazala na veći kardiovaskularni rizik IBD populacije uz niže vrijednosti lipidograma. Arterijska krutost je dobro utvrđeni prediktor kardiovaskularnog mortaliteta i morbiditeta (241). Nalaz povišene arterijske krutosti IBD ispitanika u odnosu na zdravu populaciju je sukladan nalazima prethodnih studija (207, 242). Prva studija arterijske krutosti u IBD ispitanika, a koja datira iz

2012., ukazala je na povišenu arterijsku krutost u ovoj populaciji (243). Meta-analiza Zanolica i sur. je potvrdila značajno povišeni karotidno-femoralni PWV u IBD pacijenta (207). Naša studija je u IBD ispitanika utvrdila značajno veću prevalenciju ciljnog oštećenja organa izmjerenim vrijednostima  $PWV > 10\text{m/s}$ .

Kompleksna patofiziološka povezanost IBD i kardiovaskularnog rizika još nije dovoljno rasvijetljena. Dosadašnje spoznaje o katestatin impliciraju da u patofiziologiji kardiovaskularnog sustava ima važni vazodilatativni učinak (171). Također, nekoliko istraživanja je ukazalo i a na njegove anti-aterosklerotske, anti-hipertenzivne i kardioprotektivne učinke (180, 244, 245). Navedeno bi moglo upućivati na medijatornu ulogu katestatin u povezanosti između IBD i kardiovaskularnih događaja. Predloženo je da povišene razine katestatina odražavaju hiperaktivnost simpatičkog živčanog sustave i prekomjerno izlučivanje katekolamina (246). Rezultati naše studije upućuju na značajnu negativnu korelaciju trajanja bolesti i katestatin. Usporedba podgrupa temeljena na medijanu trajanja bolesti nije pokazala značajnu razliku u razini katestatin. S obzirom da je naša studija imala relativno mali broj pacijenata, za daljnje rasvijetljavanje povezanosti duljine trajanja bolesti i razine katestatin potrebne su veće longitudinalne kohortne studije. Naši rezultati upućuju kako je najvažniji marker arterijske krutosti PWV neovisno pozitivno povezan sa serumskim vrijednostima katestatin. PWV je također dokazan kao jedini neovisni prediktor razine katestatin, a podskupina ispitanika sa znacima oštećenja ciljnog organa imaju značajno višu razinu katestatin. Slične rezultate koji potvrđuju nalaz našeg istraživanja nalazimo u istraživanju japanske populacije, a koja je također našla pozitivnu korelaciju katestatin i PWV (220). Dobro je utvrđeno da je PWV značajno povišen u pacijenata s IBD-om u usporedbi sa zdravom populacijom te da je jedan od najboljih markera arterijske krutosti (247). S obzirom da je endotelna disfunkcija koja je jedan od ključnih mehanizama povišene arterijske krutosti,

precipitirana sistemskom upalom, te da se za katestatin pretpostavlja imunomodulatorna uloga, onda je moguće i da katestatin predstavlja poveznicu IBD-a i kardiovaskularnih bolesti (248).

Ukoliko promatramo aktivnost simpatičkog živčanog sustava (engl. sympathetic nervous system, SNS ), ista može biti važan čimbenik doprinosa patološkom arterijskom remodeliranju te bi mogla dovesti do povišenih parametara arterijske krutosti, što je utvrđeno prethodnim kliničkim istraživanjima (249-251). S aspekta povezanosti IBD-a i simpatičke aktivnosti važno je naglasiti kako je simpatička hiperaktivnost prisutna u ulceroznom kolitisu (252, 253). S druge strane, katestatin je važan antiadrenergični peptid koji se luči periferno i kompenzatorno da uravnoteži val lučenja katekolamina te njegova povišena razina katestatina može ukazivati na povišenu SNS aktivaciju, a katestatin se može promatrati kao surogatni marker ove aktivnosti. Navedene tvrdnje bi mogle djelomično objasniti visoku cirkulirajuću razinu katestatina zajedno s povišenim parametrima arterijske krutosti u ovoj populaciji. Važno je napomenuti kako se katestatin, zajedno s ostalim peptidima koji nastaju iz ChgA, zajednički pohranjuje i otpušta s katekolaminima iz pohrambenih vezikula kromafinih stanica nadbubrega i adrenergičnih neurona te je vrijednost cirkulirajućeg noradrenalina usporediva s vrijednošću katestatin i to ovisno o koncentracijama (254). Budući da fiziološki učinci noradrenalina i SNS medijatora potiču tahifilaksiju i sistemsku vazokonstrikciju, moguće je da ovi učinci doprinose štetnom remodeliranju žila koje se očituje povišenim parametrima arterijske krutosti. Naposljetku, iako katestatin načelno ima protektivne učinke na srce i krvne žile, što je pokazano brojnim studijama (255-258), moguće je da su u bolesti kao što je IBD koju karakterizira perzistentna upala te povišena aktivnost SNS-a učinci katestatin, usprkos povišenim koncentracijama u cirkulaciji, ipak nedovoljni za kompenzaciju nepovoljnog remodeliranja arterija koje potiču proinflamatorni i adrenergični stanični putevi. Zbog manjka studija a time i dokaza vezanih za katestatin i arterijsku krutost ove hipotetske interakcije trebaju se potvrditi u budućim pretkliničkim i mehanicističkim studijama.

Nadalje, potrebno je napomenuti da su različite genetske varijante katestatina pokazale drugačiji utjecaj na vrijednosti krvnog tlaka, a možda time i potencijalno na regulaciju katekolamina. Tako je Indijska studija pokazala da nositelji 364Ser alela pokazuju više razine sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka (259). Također, druga studija je navedena otkrića potvrdila te je pokazala da nositelji 364Ser alela imaju povišen rizika za razvoj arterijske hipertenzije zbog reducirane sposobnosti sinteze endotelnog dušikovog oksida (185).

Još jedan važni rezultat ovog istraživanja koji treba naglasiti je da nije utvrđena statistički značajna razlika u parametrima arterijske krutosti između IBD podgrupa, što odgovara rezultatima meta-analize Zanolija i sur. te malom pilot-istraživanju pedijatrijske IBD populacije (207, 260). Također, u našoj studiji nije nađena razlika u razini katestatina i parametrima arterijske krutosti između skupina podijeljenih prema anti-TNF- $\alpha$  terapiji. U literaturi postoje dokazi nižeg PWV u pacijenata s IBD-em koji su na anti-TNF- $\alpha$  terapiji (207). Zatim, naša studija nije pronašla razliku u PWV između IBD pacijenata sa aktivnom bolešću i onih u remisiji, što se podudara s rezultatima meta-analize Zanolija i sur (207).

Zanoli i sur. su objavili zanimljive rezultate u meta-analizi individualnih podataka ispitanika, a koji upućuju na povezanost PWV sa trajanjem bolesti i brojem leukocita u perifernoj krvi (261). Naše istraživanje nije otkrilo povezanost između trajanja bolesti i PWV-a, ali je pokazalo značajnu pozitivnu korelaciju broja leukocita u perifernoj krvi s PWV-om. Ovi nalazi potvrđuju važan odnos sistemske upale i arterijske krutosti u IBD pacijenata.

Naša studija ima nekoliko limitacija. Presječni dizajn studije utječe na utvrđivanje pravog uzročnog odnosa. Također, bilo je nemoguće u potpunosti isključiti sve zbunjujuće faktore koji su mogli interferirati s rezultatima. Istraživanje je provedeno u jednom centru te ima relativno mali broj ispitanika. IBD skupina u našoj studiji uglavnom je bila heterogena po aktivnosti bolesti što dodatno smanjuje veličinu uzorka zbog stratifikacije i utječe na mogućnost generaliziranja nalaza na IBD populaciju. Relapsno-remitirajući karakter IBD

utječe na sekrecijski uzorak biomarkera koji nije konstantan i stoga jedno mjerenje ne može biti idealna strategija za određivanje uzročnog odnosa. Također se učinci IBD ovisni o vremenu ne mogu pratiti u presječnom modelu studije. U ovoj studiji nisu mjereni upalni parametri, osim hs-CRP-a, a koji bi mogli imati važnu ulogu u rasvjetljenju nekih od rezultata. Naposljetku, zbog financijskih limitacija nisu mjereni ChgA te direktni markeri aktivnosti simpatičkog živčanog sustava kao što su cirkulirajući katekolamini ili katekolamini u urinu te se o njima zbog toga samo indirektno raspravljalo.

## **7. ZAKLJUČCI**

1. Ispitanici s upalnim bolestima crijeva imaju statistički značajno višu razinu katestatina u usporedbi sa zdravim ispitanicima.
2. Ispitanici s upalnim bolestima crijeva imaju veću arterijsku krutost u usporedbi sa zdravim ispitanicima.
3. Katestatin je dokazan kao neovisni prediktor prisutnosti upalne bolesti crijeva.
4. Brzina pulsnog vala je dokazana kao neovisni prediktor prisutnosti upalne bolesti crijeva.
5. Povišen katestatin i brzina pulsnog vala u ispitanika s upalnim bolestima crijeva bi mogli upućivati na povišen kardiovaskularni rizik u ovoj populaciji, neovisno o klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularne bolesti.



## **8. LITERATURA**

1. de Souza HSP. Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease: today and tomorrow. *Curr Opin Gastroenterol*. 2017;33:222-9.
2. McDowell C, Farooq U, Haseeb M. *Inflammatory Bowel Disease*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan.
3. Lim ML, Wallace MR. Infectious diarrhea in history. *Infect Dis Clin North Am*. 2004;18:261-74.
4. François Joseph Victor Broussais (1772-1838). System of physiological medicine. *JAMA*. 1969;209:1523.
5. Wilks S. Morbid appearances in the intestines of Miss Bankes. *Lond Med Gaz*. 1859;2:264-5.
6. White H. A discussion on “ulcerative colitis.” Introductory address. *Proc R Soc Med*. 1909;2:79-82.
7. Smith MS, Wakefield AJ. Crohn's disease: ancient and modern. *Postgrad Med J*. 1994;70:149-53.
8. Aufses Jr AH. The history of Crohn's disease. *Surg Clin North Am*. 2001;81:1–11.
9. Adams EW. Founders of modern medicine: Giovanni Battista Morgagni (1682–1771). *Med Libr Hist J*. 1903;1:270-7.
10. Dalziel TK. Chronic interstitial enteritis. *Br Med J*. 1913;2:1068-70.
11. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *J Am Med Assoc*. 1932;99:1323-29.
12. Franklin RH, Taylor S. Nonspecific granulomatous (regional) esophagitis. *J Thorac Surg*. 1950;19:292-7.
13. Ross JR. Cicatrizing enteritis, colitis and gastritis; a case report. *Gastroenterology*. 1949;13:344-50.

14. Gottlieb C, Alpert S. Regional jejunitis. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1937;38:881-3.
15. Wells C. Ulcerative colitis and Crohn's disease. *Ann R Coll Surg Engl.* 1952;11:105-20.
16. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR i sur. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005; 19 Suppl A:5A.
17. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut.* 2006; 55:749.
18. Price AB. Overlap in the spectrum of non-specific inflammatory bowel disease - 'colitis indeterminate'. *J Clin Pathol.* 1978;31:567-77.
19. Lee KS, Medline A, Shockey S. Indeterminate colitis in the spectrum of inflammatory bowel disease. *Arch Pathol Lab Med.* 1979;103:173–176.
20. Farmer M, Petras RE, Hunt LE, Janosky JE, Galanduk S. The importance of diagnostic accuracy in colonic inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:3184-8.
21. Mitchell PJ, Rabau MY, Haboubi NY. Indeterminate colitis. *Tech Coloproctol.* 2007;11:91-6.
22. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G i sur. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology.* 2012;142:46-54.
23. Hammer T, Nielsen KR, Munkholm P, Burisch J, Lyng E. The Faroese IBD study: incidence of inflammatory bowel disease across 54 years of population-based data. *J Crohns Colitis.* 2016;10:934-42.

24. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos P. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis*. 2013;7:322-37.
25. Shivananda J, Lennard-Jones, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L i sur. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? *Gut*. 1996;39:690-7.
26. Burisch J, Pedersenn, Čuković Čavka S, Brinar M, Kaimakliotis I, Duricova D i sur. East-West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe. The ECCO-EpiCom inception cohort. *Gut*. 2014;63:588597.
27. Sinčić BM, Vucelić B, Peršić M, Brncić N, Erzen DJ, Radaković B i sur. Incidence of inflammatory bowel disease in Primorsko-goranska county, Croatia 20002004: a prospective population based study. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41:437-44.
28. Henderson P, Rogers P, Gillett P, Wilson D. The epidemiology and natural history of paediatric inflammatory bowel disease in a UK region: a prospective 14-year study. *ArchDisChild*. 2012;97:A53.2-A54.
29. Sýkora J, Pomahačová R, Kreslová M, Cvalínová D, Štych P, Schwarz J. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2018;24:2741-63.
30. Abraham BP, Mehta S, El-Serag HB. Natural history of pediatric-onset inflammatory bowel disease: a systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46:581-9.
31. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12:720-7.
32. Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126:1504-17.

33. Shah SC, Khalili H, GowerRousseau C i sur. The sex ratio of inflammatory bowel disease varies according to age at onset: results from a worldwide survey. *J Crohns Colitis*. 2017;11:S456.
34. Kassam Z, Belga S, Roifman L, Hirota S, Jijon H, Kaplan GG i sur. Inflammatory bowel disease cause-specific mortality: a primer for clinicians. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20:2483-92.
35. Vucelić B i sur. *Upalne bolesti crijeva*. 1. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2021. 659 str.
36. Peery AF, Crockett SD, Murphy CC, Lund JL, Dellon ES, Williams JL i sur. Burden and cost of gastrointestinal, liver, and pancreatic diseases in the United States: update 2018. *Gastroenterology*. 2018;156:254-72.
37. Kuenzig E, Benchimol EI, Lee L, Targownik LE, Singh H, Kaplan GG i sur. The impact of inflammatory bowel disease in Canada 2018: direct costs and health services utilization. *J Can Assoc Gastroenterol*. 2019;2:17-33.
38. Shafer LA, John R Walker JR, Restall G, Chhibba T, Ivekovic M, Singh H i sur. Association between IBD disability and reduced work productivity (presenteeism): a population-based study in Manitoba, Canada. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25:352-9.
39. van Gennep S, de Boer NKH, Gielen ME, Rietdijk ST, Geese KB, Ponsioen CY i sur. Impaired quality of working life in inflammatory bowel disease patients. *Dig Dis Sci*. 2021;66:2916-24.
40. Rizzello F, Spisni E, Giovanardi E, Imbesi V, Salice M, Alvisi P i sur. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD. *Nutrients*. 2019;11:1033.
41. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20:91-9.

42. Leslie WD, Miller N, Rogala L, Bernstein CN. Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD Cohort Study. *Am J Gastroenterol.* 2008;103:1451-9.
43. Cantorna MT, Munsick C, Bemiss C, Mahon BD. 1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease. *J Nutr.* 2000;130:2648-52.
44. Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms in clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004;18:481-96.
45. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol.* 2007;13:6134-9.
46. Birrenbach T, Böcker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10:848-59.
47. Wang P, Hu J, Ghadermarzi S, Raza A, O'Connell D, Xiao A i sur. Smoking and Inflammatory Bowel Disease: a comparison of China, India, and the USA. *Dig Dis Sci.* 2018;63:2703-13.
48. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2010;105:2687-92.
49. Colombel JF, Shin A, Gibson PR. AGA clinical practice update on functional gastrointestinal symptoms in patients with inflammatory bowel disease: expert review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17:380-90.
50. Lee JY, Cevallos SA, Byndloss MX, Tiffany CR, Olsan EE, Butler BP i sur. High-fat diet and antibiotics cooperatively impair mitochondrial bioenergetics to trigger dysbiosis that exacerbates pre-inflammatory bowel disease. *Cell Host Microbe.* 2020;28:273-84.

51. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014;20:91-9.
52. Ye Y, Pang Z, Chen W, Ju S, Zhou C. The epidemiology and risk factors of inflammatory bowel disease. *Int J Exp Med.* 2015;8:22529-42.
53. Maaser C, Langholz E, Gordon H, Burisch J, Ellul P, Ramirez VH i sur. European Crohn's and Colitis Organisation topical review on environmental factors in IBD. *J Crohns Colitis.* 2017;11:905-20.
54. Bitton A, Dobkin PL, Edwardes MD, Sewitch MJ, Meddings JB, Rawal S i sur. Predicting relapse in Crohn's disease: a biopsychosocial model. *Gut.* 2008;57:1386-92.
55. Cámara RJ, Schoepfer AM, Pittet V, Begré S, von Känel R. Mood and nonmood components of perceived stress and exacerbation of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:2358-65.
56. Goodhand JR, Greig FI, Koodun Y, McDermott A, Wahed M, Langmead L, Rampton DS. Do antidepressants influence the disease course in inflammatory bowel disease? A retrospective case-matched observational study. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1232-9.
57. Timmer A, Preiss JC, Motschall E, Rücker G, Jantschek G, Moser G. Psychological interventions for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;2:CD006913.
58. Kaplan GG, Hubbard J, Korzenik J, Sands BE, Panaccione R, Ghosh S i sur. The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol.* 2010;105:2412-9.
59. Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2006;12:4807-12.
60. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347:417-29.
61. Malik TA. Inflammatory Bowel Disease. *Surg Clin N Am.* 2015;95:1105-22.

62. Gaya DR, Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J. New genes in inflammatory bowel disease: lessons for complex diseases? *Lancet*. 2006;367:1271-84.
63. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY i sur. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012;491:119-24.
64. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R i sur. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:603-6.
65. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J i sur. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem*. 2003;278:5509-12.
66. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P i sur. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med*. 2010;16:90-7.
67. Shaw MH, Kamada N, Warner N, Kim YG, Nuñez G. The ever-expanding function of NOD2: autophagy, viral recognition, and T cell activation. *Trends Immunol*. 2011;32:73-9.
68. Sabbah A, Chang TH, Harnack R, Frohlich V, Tominaga K, Dube PH i sur. Activation of innate immune antiviral responses by NOD2. *Nat Immunol*. 2009;10:1073-80.
69. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K i sur. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet*. 2007;39:207-11.
70. McCarroll SA, Huett A, Kuballa P, Chilewski SD, Landry A, Goyette P i sur. Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet*. 2008;40:1107-12.



71. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474:307-17.
72. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhães JG i sur. NOD1 and NOD2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol*. 2010;11:55-62.
73. Kuballa P, Huett A, Rioux JD, Daly MJ, Xavier RJ. Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS One*. 2008;3:e3391.
74. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ i sur. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*. 2006;314:1461-3.
75. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD i sur. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*. 2011;43:246-52.
76. Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut*. 2009;58:1152-67.
77. Tremelling M, Cummings F, Fisher SA, Mansfield J, Gwilliam R, Keniry A i sur. IL23R variation determines susceptibility but not disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2007;132:1657-64.
78. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20:91-9.
79. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C i sur. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464:59-65.

80. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P i sur. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*. 2011;60:631-7.
81. Martinez C, Antolin M, Santos J, Torrejon A, Casellas F, Borruel N i sur. Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:643-8.
82. Meconi S, Vercellone A, Levillain F, Payré B, Al Saati T, Capilla F i sur. Adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from Crohn's disease patients induce granulomas in vitro. *Cell Microbiol*. 2007;9:1252-61.
83. Simpson KW, Dogan B, Rishniw M, Goldstein RE, Klaessig S, McDonough PL i sur. Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in boxer dogs. *Infect Immun*. 2006;74:4778-92.
84. Geremia A, Jewell DP. The IL-23/IL-17 pathway in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;6:223-37.
85. Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB i sur. MUC2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*. 2006;131:117-29.
86. Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Mueller O, Herrlinger KR, Fellermann K i sur. Inducible and constitutive beta-defensins are differentially expressed in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2003;9:215-23.
87. Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schäffeler E, Schlee M i sur. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut*. 2004;53:1658-64.
88. Abraham C, Cho JH. Functional consequences of NOD2 (CARD15) mutations. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12:641-50.

89. Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol.* 2004;5:800-8.
90. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet.* 2017;389:1741-55.
91. Veauthier B, Hornecker JR. Crohn's Disease: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2018;98:661-9.
92. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *Surg Clin N Am.* 2019;99:1051-62.
93. Louis E, Collard A, Oger AF, Degroote E, Aboul Nasr El Yafi FA, Belaiche J. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. *Gut.* 2001;49:777-82.
94. Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Panaccione R, Harmsen WS, Zinsmeister AR *et al.* The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology.* 2002;122:875.
95. Tozer PJ, Whelan K, Phillips RKS, Hart AL. Etiology of Perianal Crohn's disease: role of genetic, microbiological, and immunological factors. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1591-8.
96. Kelley KA, Kaur T, Tsikitis V. Perianal Crohn's disease: challenges and solutions. *Clin Exp Gastroenterol.* 2017;10:39-46.
97. Beaugerie L, Seksik P, Nain-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterol.* 2006;130:650-6.
98. Safar B, Sands D. Perianal Crohn's disease. *Clin Colon Rectal Surg.* 2007;20:282.
99. Peyrin-Biroulet L, Loftus EV Jr, Colombel JF, Sandborn WJ. The natural history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. *Am J Gastroenterol.* 2010;105:289-97.

100. Bouguen G, Peyrin-Biroulet L. Surgery for adult Crohn's disease: what is the actual risk? *Gut*. 2011;60:1178-81.
101. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An update on inflammatory bowel disease. *Prim Care Clin Office Pract*. 2017;44:673-92.
102. Zhao M, Gönczi L, Lakatos PL, Burisch J. The burden of inflammatory bowel disease in Europe in 2020. *J Crohns Colitis*. 2021;15:1573-87.
103. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006;55:749-53.
104. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2012;380:1606-19.
105. Adams SM, Bornemann PH. Ulcerative colitis. *Am Fam Physician*. 2013;87:699-705.
106. Gajendran M, Loganathan P, Jimenez G, Catinella AP, Ng N, Umapathy C i sur. A comprehensive review and update on ulcerative colitis. *Dis Mon*. 2019;65:100851.
107. Jess T, Gamborg M, Munkholm P, Sørensen TI. Overall and cause-specific mortality in ulcerative colitis: meta-analysis of population-based inception cohort studies. *Am J Gastroenterol*. 2007;102:609-17.
108. Kato J, Yoshida T, Hiraoka S. Prediction of treatment outcome and relapse in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15:667-77.
109. Bernstein CN. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep*. 2001;3:477-83.
110. Aghazadeh R, Zali MR, Bahari A, Amin K, Ghahghaie F, Firouzi F. Inflammatory bowel disease in Iran: a review of 457 cases. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005;20:1691-5.
111. Arvikar SL, Fisher MC. Inflammatory bowel disease associated arthropathy. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2011;4:123-31.

112. Greuter T, Vavricka SR. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease-epidemiology, genetics, and pathogenesis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;3:307-17.
113. Mertz A, Nguyen NA, Katsanos KH, Kwok RM. Primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease comorbidity: an update of the evidence. *Ann Gastroenterol.* 2019;32:124-33.
114. Levine JS, Burakoff R. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol.* 2011;7:235-41.
115. Salmon JF, Wright JP, Murray AD. Ocular inflammation in Crohn's disease. *Ophthalmology.* 1991;98:480-4.
116. Bunu DM, Timofte CE, Ciocoiu M, Floria M, Tarniceriu CC, Barboi OB i sur. Cardiovascular manifestations of inflammatory bowel disease: pathogenesis, diagnosis, and preventive strategies. *Gastroenterol Res Pract.* 2019;2019:3012509.
117. Cibor D, Domagala-Rodacka R, Rodacki T, Jurczynszyn A, Mach T, Owczarek D. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: Pathogenesis, assessment and implications. *World J Gastroenterol.* 2016;22:1067-77.
118. Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life.* 2019;12:113-22.
119. Soubières AA, Poullis A. Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22:2016-22.
120. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003;111:1805-12.
121. Menees SB, Powell C, Kurlander J, Goel A, Chey WD. A meta-analysis of the utility of C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, fecal calprotectin, and fecal Inflammatory Bowel Disease Presentation 1061 lactoferrin to exclude inflammatory bowel disease in adults with IBS. *Am J Gastroenterol.* 2015;110:444-54.

122. Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel JF, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Diamond R i sur. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut*. 2014;63:88-95.
123. Ministro P, Martins D. Fecal biomarkers in inflammatory bowel disease: how, when and why? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;11:317-28.
124. Bressler B, Panaccione R, Fedorak RN, Seidman EG. Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015;29:369-72.
125. Roblin X, Duru G, Williet N, Del Tedesco E, Cuilleron M, Jarlot C i sur. Development and internal validation of a model using fecal calprotectin in combination with infliximab trough levels to predict clinical relapse in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23:126-32.
126. Zhou G, Song Y, Yang W, Guo Y, Fang L, Chen Y i sur. ASCA, ANCA, ALCA and many more: are they useful in the diagnosis of inflammatory bowel disease? *Dig Dis*. 2016;34:90-7.
127. Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18:1340-55.
128. Annese V, Andreoli A, Andriulli A, Dinca R, Gionchetti P, Latiano A i sur. Familial expression of antiSaccharomyces cerevisiae Mannan antibodies in Crohn's disease and ulcerative colitis: a GISC study. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:2407-12.
129. Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R i sur. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*. 2011;60:571-607.
130. Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, de Ridder L i sur. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58:795-806.

131. Spiceland CM, Lodhia N. Endoscopy in inflammatory bowel disease: role in diagnosis, management, and treatment. *World J Gastroenterol*. 2018;24:4014-20.
132. Kornbluth A, Colombel JF, Leighton JA, Loftus E; ICCE. ICCE consensus for inflammatory bowel disease. *Endoscopy*. 2005;37:1051-4.
133. Doherty GA, Moss AC, Cheifetz AS. Capsule endoscopy for small-bowel evaluation in Crohn's disease. *Gastrointest Endosc*. 2011;74:167-75.
134. Samuel S, Bruining DH, Loftus EV, Becker B, Fletcher JG, Mandrekar JN i sur. Endoscopic skipping of the distal terminal ileum in Crohn's disease can lead to negative results from ileocolonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:1253-9.
135. Liu W, Liu J, Xiao W, Luo G. A diagnostic accuracy meta-analysis of CT and MRI for the evaluation of small bowel Crohn disease. *Acad Radiol*. 2017;24:1216-25.
136. Sahni V, Ahmad R. Which method is best for imaging of perianal fistula? *Abdom Imaging*. 2008;33:26-30.
137. Kucharzik T, Kannengiesser K, Petersen F. The use of ultrasound in inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol* 2017;30:135-44.
138. Ellrichmann M, Wietzke-Braun P, Dhar S, Nikolaus S, Arlt A, Bethge J i sur. Endoscopic ultrasound of the colon for the differentiation of Crohn's disease and ulcerative colitis in comparison with healthy controls. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:823-33.
139. Tontini GE, Vecchi M, Pastorelli L, Neurath MF, Neumann H. Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: state of the art and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2015;21:21-46.
140. Jeong DY, Kim S, Son MJ, Son CY, Kim JY, Kronbichler A i sur. Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: a comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2019;5:439-54.

141. Campregher C, Gasche C. Aminosalicylates. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25:535-46.
142. Wang Y, Parker CE, Bhanji T, Feagan BC, MacDonald J. Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 4:CD000543.
143. Akobeng AK, Zhang D, Gordon M, MacDonald JK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of medically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;9:CD003715.
144. Lim WC, Wang Y, MacDonald JK, Hanauer S. Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 7:CD008870.
145. Benchimo E, Seow CH, Steinhart AH, Griffiths AM. Traditional corticosteroids for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;2:CD006792.
146. Harbord M, Eliakim R, Bettenworth D, Karmiris K, Katsanos K, Kopylov U *et al*. Third European evidence based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 2. Current management. *J Crohns Colitis.* 2017;11:769-84.
147. De Cassan C, Fiorino G, Danese S. Second-generation corticosteroids for the treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis: more effective and less side effects? *Dig Dis.* 2012;30:368-75.
148. Chande N, Townsend CM, Parker CE, MacDonald JK. Azathioprine or 6-mercaptopurine for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;10:CD000545.
149. Chande N, Patton PH, Tsoulis DJ, Thomas BS, MacDonald JK. Azathioprine or 6-mercaptopurine for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;10:CD000067.
150. Timmer A, Patton PH, Chande N, McDonald JW, MacDonaid JK. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;5:CD000478.



151. Mantzaris GJ. Thiopurines and methotrexat use in IBD patients in a biologic era. *Curr Treat Opin Gastroenterol*. 2017;15:84-104.
152. Berg DR, Colombel JF, Ungaro R. The Role of Early Biologic Therapy in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25:1896-1905.
153. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T i sur. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's disease cA2 Study Group. *N Engl J Med*. 1997;337:1029-35.
154. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF i sur. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomized trial. *Lancet*. 2002;359:1541-9.
155. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J i sur. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2005;353:2462-76.
156. Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, Márquez JR, Scott BB, Flint L i sur. Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2014;146:392-400.
157. Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R i sur. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology*. 2007;132:52-65.
158. Reinisch W, Sandborn WJ, Hommes DW, D'Haens G, Hanauer S, Schreiber S i sur. Adalimumab for induction of clinical remission in moderately to severely active ulcerative colitis: results of a randomised controlled trial. *Gut*. 2011;60:780-7.
159. Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, Jacobstein D, Lang Y, Friedman JR i sur. Ustekinumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2016;375:1846-60.

160. Sandborn WJ, Rutgeerts P, Jacobstein D, Hanauer SB, Sandborn WJ, Feagan BG i sur. IM-UNITI: three-year efficacy, safety, and immunogenicity of ustekinumab treatment of Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2020;14:23-32.
161. Wyant T, Fedyk E, Abhyankar B. An overview of the mechanism of action of the monoclonal antibody vedolizumab. *J Crohn's Colitis*. 2016;14:37-44.
162. Feagan BG, Rutgeerts P, Sands BE, Hanauer S, Colombel JF, Sandborn WJ i sur. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2013;369:699-710.
163. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE i sur. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2013;369:711-21.
164. Vande Casteele N, Khanna R, Levesque BG, Stitt L, Zou GY, Singh S i sur. The relationship between infliximab concentrations, antibodies to infliximab and disease activity in Crohn's disease. *Gut*. 2015;64:1539-45.
165. Sandborn WJ, Su C, Sands BE, D'Haens GR, Vermeire S, Schreiber S i sur. Tofacitinib as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2017;376:1723-36.
166. Bernstein CN. Antibiotics, probiotics and prebiotics in IBD. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2014;79:83-100.
167. Ledder O, Turner D. Antibiotics in IBD: Still a Role in the Biological Era? *Inflamm Bowel Dis*. 2018;24:1676-88.
168. Tarasiuk A, Eibl G. Nutritional Support and Probiotics as a Potential Treatment of IBD. *Curr Drug Targets*. 2020;21:1417-27.
169. Patel KV, Darakhshan AA, Griffin N, Williams AB, Sanderson JD, Irving PM. Patient optimization for surgery relating to Crohn's disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:707-19.

170. Gallo G, Kotze PG, Spinelli A. Surgery in ulcerative colitis: When? How? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2018;32:71-8.
171. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin a fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *J Clin Invest.* 1997;100:1623-33.
172. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med.* 2003;348:1134-49.
173. Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue MH, Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:2863-86.
174. Troger J, Theurl M, Kirchmair R, Pasqua T, Tota B, Angelone T i sur. Granin-derived peptides. *Prog Neurobiol.* 2017;154:37-61.
175. Stridsberg M, Husebye ES. Chromogranin A and chromogranin B are sensitive circulating markers for pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol.* 1997;136:67-73.
176. O'Connor DT, Deftos LJ. Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms. *N Engl J Med.* 1986;314:1145-51.
177. Nikou GC, Lygidakis NJ, Toubanakis C, Pavlatos S, Tseleni-Balafouta S, Giannatou E i sur. Current diagnosis and treatment of gastrointestinal carcinoids in a series of 101 patients: the significance of serum chromogranin-A, somatostatin receptor scintigraphy and somatostatin analogues. *Hepatogastroenterology.* 2005;52:731-41.
178. Conlon JM. Granin-derived peptides as diagnostic and prognostic markers for endocrine tumors. *Regul Pept.* 2010;165:5-11.
179. Sciola V, Massironi S, Conte D, Caprioli F, Ferrero S, Ciafardini C i sur. Plasma chromogranin a in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:867-71.

180. Mahata SK, Mahata M, Fung MM, O'Connor DT. Catestatin: a multifunctional peptide from chromogranin A. *Regul Pept.* 2010;162:33-43.
181. Eissa N, Hussein H, Mesgna R, Bonin S, Hendy GN, Metz-Boutigue MH i sur. Catestatin Regulates Epithelial Cell Dynamics to Improve Intestinal Inflammation. *Vaccines (Basel).* 2018;6:67.
182. Fung MM, Salem RM, Mehtani P, Thomas B, Lu CF, Perez B i sur. Direct vasoactive effects of the chromogranin A (CHGA) peptide catestatin in humans in vivo. *Clin Exp Hypertens.* 2010;32:278-87.
183. Mahata SK, Kiranmayi M, Mahapatra NR. Catestatin: A Master Regulator of Cardiovascular Functions. *Curr Med Chem.* 2018;25:1352-74.
184. Kruger PG, Mahata SK, Helle KB. Catestatin (CgA344-364) stimulates rat mast cell release of histamine in a manner comparable to mastoparan and other cationic charged neuropeptides. *Regul Pept.* 2003;114:29-35.
185. Kiranmayi M, Chirasani VR, Allu PK, Subramanian L, Martelli EE, Sahu BS i sur. Catestatin Gly364Ser Variant Alters Systemic Blood Pressure and the Risk for Hypertension in Human Populations via Endothelial Nitric Oxide Pathway. *Hypertension.* 2016;68:334-47.
186. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Ramella R, Mahata SK, Tota B i sur. A novel catestatin-induced antiadrenergic mechanism triggered by the endothelial PI3K-eNOS pathway in the myocardium. *Cardiovasc Res.* 2011;91:617-24.
187. Imbrogno S, Garofalo F, Cerra MC, Mahata SK, Tota B. The catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (chromogranin A344-363) modulates myocardial function in fish. *J Exp Biol.* 2010;213:3636-43.
188. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Gallina C, Femmino S, Levi R i sur. Catestatin exerts direct protective effects on rat cardiomyocytes undergoing ischemia/reperfusion by stimulating PI3K-Akt-GSK3beta pathway and preserving mitochondrial membrane potential. *PLoS One.* 2015;10:e0119790.

189. Liao F, Zheng Y, Cai J, Fan J, Wang J, Yang J i sur. Catestatin attenuates endoplasmic reticulum induced cell apoptosis by activation type 2 muscarinic acetylcholine receptor in cardiac ischemia/reperfusion. *Sci Rep.* 2015;5:16590.
190. Penna C, Alloatti G, Gallo MP, Cerra MC, Levi R, Tullio F i sur. Catestatin improves post-ischemic left ventricular function and decreases ischemia/reperfusion injury in heart. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30:1171-9.
191. Borovac JA, Dogas Z, Supe-Domic D, Galic T, Bozic J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2019;23:473-81.
192. Luketin M, Mizdrak M, Boric-Skaro D, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Ticinovic Kurir T, Bozic J. Plasma Catestatin Levels and Advanced Glycation End Products in Patients on Hemodialysis. *Biomolecules.* 2021;11:456.
193. Simac P, Perkovic D, Bozic I, Matijas M, Gugo K, Martinovic D i sur. Serum catestatin levels in patients with rheumatoid arthritis. *Sci Rep.* 2022;12:3812.
194. Rabbi MF, Labis B, Metz-Boutigue MH, Bernstein CN, Ghia JE. Catestatin decreases macrophage function in two mouse models of experimental colitis. *Biochem Pharmacol.* 2014;89:386-98.
195. Eissa N, Hussein H, Mesgna R. Catestatin Regulates Epithelial Cell Dynamics to Improve Intestinal Inflammation. *Vaccines (Basel).* 2018;6:67.
196. Muntjewerff EM, Tang K, Lutter L, Christoffersson G, Nicolassen MJT, Gao H i sur. Chromogranin A regulates gut permeability via the antagonistic actions of its proteolytic peptides. *Acta Physiol (Oxf).* 2021;232:e13655.
197. Rabbi MF, Munyaka PM, Eissa N, Metz-Boutigue MH, Khafipour E, Ghia JE. Human Catestatin Alters Gut Microbiota Composition in Mice. *Front Microbiol.* 2017;7:2151.
198. Reference values for Arterial Stiffness' Collaboration. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J.* 2010;31:2338-50.

199. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006;27:2588-605.
200. Zanolì L, Mikhailidis DP, Bruno RM, Abreu MT, Danese S, Eliakim R i sur. Aortic stiffening is an extraintestinal manifestation of inflammatory bowel disease: review of the literature and expert panel statement. *Angiology.* 2020;1-9.
201. Chiu YC, Arand PW, Shroff SG, Feldman T, Carroll JD. Determination of pulse wave velocities with computerized algorithms. *Am Heart J.* 1991;121:1460-70.
202. Van Bortel LM, Duprez D, Starmans-Kool MJ, Safar ME, Giannattasio C, Cockcroft J i sur. Applications of arterial stiffness, Task Force III: recommendations for user procedures. *Am J Hypertens.* 2002;15:445-52.
203. Dagli N, Poyrazoglu OK, Ferda Dagli A, Sahbaz F, Karaca I, Kobat MA i sur. Is Inflammatory Bowel Disease a Risk Factor for Early Atherosclerosis? *Angiology.* 2010; 61:198.
204. Capello M, Licata A, Calvaruso V, Bravatà I, Aiello A, Torres D i sur. Increased expression of markers of early atherosclerosis in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Medicine.* 2017;37:83-9.
205. Aslan AN, Sari C, Sari SO, Tayfur Yürekli Ö, Baştuğ S, Sivri S i sur. Association between aortic stiffness and left ventricular function in inflammatory bowel disease. *Cardiol J.* 2018;23:202-10.
206. Korkmaz H, Sahin F, Ipekci SH, Temel T, Kebapçılar L. Increased pulse wave velocity and relationship with inflammation, insulin, and insulin resistance in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26:725-32.
207. Zanolì L, Rusteli S, Granata A i sur. Arterial stiffness in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2016;34:822-29.
208. Lu Q, Shi R, Mao T i sur. Arterial stiffness in inflammatory bowel disease: An updated systematic review and meta-analysis. *Turk J Gastroenterol.* 2021; 32(5):422-30.

209. Zanolì L, Mikhalidis DP, Bruno RM, Abreu MT, Danese S, Eliakim R i sur. Aortic stiffening is an extraintestinal manifestation of inflammatory bowel disease: review of the literature and expert panel statement. *Angiology*. 2020;1-9.
210. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, Kucharzik T, Fiorino G, Annese V i sur. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J. Crohn Colitis*. 2019;13:144-64.
211. Travis S, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF i sur. Reliability and initial validation of the ulcerative colitis endoscopic index of severity. *Gastroenterology*. 2013;145:987-95.
212. Xie T, Zhang T, Ding C, Dai X, Li Y, Guo Z i sur. Ulcerative colitis endoscopic index of severity (UCEIS) versus Mayo endoscopic score (MES) in guiding the need for colectomy in patients with acute severe colitis. *Gastroenterol. Rep.* 2017;6:38-44.
213. Lewis J, Chuai S, Nessel L, Lichtenstein GR, Aberra FN, Ellenberg JH. Use of the noninvasive components of the mayo score to assess clinical response in ulcerative colitis. *Inflamm. Bowel Dis*. 2008;14:1660-6.
214. Daperno M, D'Haens G, van Assche G, Baert F, Bulois P, Maunoury V i sur. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrointest. Endosc.* 2004;60:505-12.
215. Muntjewerff EM, Dunkel G, Nicolassen MJT, Mahata SK, van den Bogaart G. Catestatin as a target for treatment of inflammatory diseases. *Front. Immunol.* 2018;9:2199.
216. Best, W. Predicting the Crohn's disease activity index from the Harvey-bradshaw index. *Inflamm. Bowel Dis*. 2006;12:304-10.
217. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur. Heart J.* 2018;39:3021-104.

218. Zanolì L, Rastelli S, Granata A, Inserra G, Empana JP, Boutouyrie P i sur. Arterial stiffness in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Hypertens.* 2016;34:822-9.
219. Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwara N, Saito H, Ikeda S i sur. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. *Immunology.* 2011;132:527-39.
220. Mattace-Raso F, Hofman A, Verwoert GC, Wittemana JC, Wilkinson I, Cockcroft J i sur. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: establishing normal and reference values. *Eur. Heart J.* 2010;31:2338-50.
221. Rabbi MF, Eissa N, Munyaka PM, Kermarrec L, Elgazzar O, Khafipour E i sur. Reactivation of intestinal inflammation is suppressed by catestatin in a murine model of colitis via m1 macrophages and not the gut microbiota. *Front. Immunol.* 2017;8:985.
222. Borovac J, Dogas Z, Supe-Domic D, Galic T, Bozic J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2018;23:473-81.
223. Choi Y, Miura M, Nakata Y, Sugawara T, Nissato S, Otsuki T i sur. A common genetic variant of the chromogranin A-derived peptide catestatin is associated with atherogenesis and hypertension in a Japanese population. *Endocr. J.* 2015;62:797-804.
224. Sciola V, Massironi S, Conte D, Caprioli F, Ferrero S, Ciafardini C i sur. Plasma chromogranin a in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2009;15:867-71.
225. Zissimopoulos A, Vradelis S, Konialis M, Chadolias D, Bampali A, Constantinidis T i sur. G. Chromogranin A as a biomarker of disease activity and biologic therapy in inflammatory bowel disease: a prospective observational study. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49:942-9.



226. Eissa N, Hussein H, Kermarrec L, Ali AY, Marshall A, Metz-Boutigui MH i sur. Chromogranin-A regulates macrophage function and the apoptotic pathway in murine DSS colitis. *J Mol Med*. 2018;96:183-98.
227. Eissa N, Hussein H, Tshikudi DM, Hendy GN, Bernstein CN, Ghia JE. Interdependence between Chromogranin-A, alternatively activated macrophages, tight junction proteins and the epithelial functions. A human and in-vivo/in-vitro descriptive study. *Int J Mol Sci*. 2020;21:7976.
228. Muntjewerff EM, Tang K, Lutter L, Christoffersson G, Nicolaisen MJT, Gao H i sur. Chromogranin A regulates gut permeability via the antagonistic actions of its proteolytic peptides. *Acta Physiol (Oxf)*. 2021;232:e13655.
229. Eissa N, Hussein H, Kermarrec L, Elgazzar O, Metz-Boutigui MH, Bernstein CN i sur. Chromofungin (CHR: CHGA<sub>47-66</sub>) is downregulated in persons with active ulcerative colitis and suppresses pro-inflammatory macrophage function through the inhibition of NF- $\kappa$ B signaling. *Biochem Pharmacol*. 2017;145:102-13.
230. El-Salhy M, Danielsson A, Stenling R, Grimelius L. Colonic endocrine cells in inflammatory bowel disease. *J. Intern. Med*. 1997;242:413-19.
231. Wagner M, Stridsberg M, Peterson C, Sangfelt P, Lampinen M, Carlson M. Increased fecal levels of chromogranin A, chromogranin B, and secretoneurin in collagenous colitis. *Inflammation*. 2013;36:855-61.
232. Angelone T, Quintieri AM, Brar BK, Limchaiyawat PT, Tota B, Mahata SK i sur. The antihypertensive chromogranin a peptide catestatin acts as a novel endocrine/paracrine modulator of cardiac inotropism and lusitropism. *Endocrinology*. 2008;149:4780-93.
233. Mahapatra NR. Catestatin is a novel endogenous peptide that regulates cardiac function and blood pressure. *Cardiovasc. Res*. 2008;80:330-8.

234. Sugimoto K. Role of STAT3 in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* 2008;14:5110.
235. Chelakkot C, Ghim J, Ryu S. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp. Mol. Med.* 2018;50:103.
236. Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder M, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T i sur. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science.* 2016;352:565-9.
237. Egger M, Beer A, Theurl M, Schgoer W, Hotter B, Tatarczyk T i sur. Monocyte migration: A novel effect and signaling pathways of catestatin. *Eur. J. Pharmacol.* 2008;598:104-11.
238. Harbord M, Annese V, Vavricka SR, Allez M, Barreiro-de Acosta M, Boberg KM i sur. The first European evidence-based consensus on extra-intestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *J. Crohns Colitis.* 2016;10:239-54.
239. Yarur AJ, Deshpande AR, Pechman DM, Tamariz L, Abreu MT, Sussman DA. Inflammatory bowel disease is associated with an increased incidence of cardiovascular events. *Am. J. Gastroenterol.* 2011;106:741-7.
240. Figueiredo V, Yugar-Toledo J, Martins L, Martins LB, de Faria AP, de Haro Moraes C, i sur. Vascular stiness and endothelial dysfunction: Correlations at di erent levels of blood pressure. *Blood Press.* 2011;21:31-8.
241. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T i sur. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J. Hypertens.* 2012;30:445-8.
242. Andersen N, Jess T. Risk of cardiovascular disease in inflammatory bowel disease. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2014;5:359.
243. Zanolì L, Cannavò M, Rastelli S, Di Pino L, Monte I, Di Gangi M i sur. Arterial stiffness is increased in patients with inflammatory bowel disease. *J. Hypertens.* 2012;30:1775-81.

244. Ying W, Mahata S, Bandyopadhyay GK, Zhou Z, Wollam J, Vu J i sur. Catestatin inhibits obesity-induced macrophage infiltration and inflammation in the liver and suppresses hepatic glucose production, leading to improved insulin sensitivity. *Diabetes*. 2018;67:841-8.
245. Briolat J, Wu SD, Mahata SK, Gonthier B, Bagnard D, Chasserot-Golaz S i sur. New antimicrobial activity for the catecholamine release-inhibitory peptide from chromogranin A. *Cell Mol. Life Sci*. 2005;62:377-85.
246. Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M i sur. Catestatin as a biomarker of cardiovascular diseases: a clinical perspective. *Biomedicines*. 2021;9:1757.
247. Wu H, Xu M, Hao H, Hill MA, Xu C, Liu Z. Endothelial dysfunction and arterial stiffness in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Med*. 2022;11:3179.
248. Hatoum OA, Binion DG. The vasculature and inflammatory bowel disease: contribution to pathogenesis and clinical pathology. *Inflamm. Bowel Dis*. 2005;11: 304-13.
249. Nardone M, Incognito AV, Millar PJ. Evidence for pressure-independent sympathetic modulation of central pulse wave velocity. *J. Am. Heart Assoc*. 2018;7:e007971.
250. Dienno FA, Jones PP, Seals DR, Tanaka H. Age-associated arterial wall thickening is related to elevations in sympathetic activity in healthy humans. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2000;278:H1205–10.
251. Holwerda SW, Luehrs RE, DuBose L, Collins MT, Wooldridge NA, Stroud AK i sur. Elevated muscle sympathetic nerve activity contributes to central artery stiffness in young and middle-age/older adults. *Hypertension*. 2019;73:1025-35.
252. Maule S, Pierangeli G, Cevoli S, Grimaldi D, Gionchetti P, Barbara G i sur. Sympathetic hyperactivity in patients with ulcerative colitis. *Clin. Auton. Res*. 2007;17: 217-20.

253. Furlan R, Ardizzone S, Palazzolo L, Rimoldi A, Perego F, Barbic F i sur. Sympathetic overactivity in active ulcerative colitis: Effects of clonidine. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006;290:R224-32.
254. Pei Z, Ma D, Ji L, Zhang J, Su J, Xue W i sur. Usefulness of catestatin to predict malignant arrhythmia in patients with acute myocardial infarction. *Peptides.* 2014;55:131-5.
255. Chu SY, Peng F, Wang J, Liu L, Meng L, Zhao J i sur. Catestatin in defense of oxidative-stress-induced apoptosis: a novel mechanism by activating the beta2 adrenergic receptor and PKB/Akt pathway in ischemic-reperfused myocardium. *Peptides.* 2020;123:170200.
256. Chen H, Liu D, Ge L, Wang T, Ma Z, Han Y i sur. Catestatin prevents endothelial inflammation and promotes thrombus resolution in acute pulmonary embolism in mice. *Biosci. Rep.* 2019; 39, BSR20192236.
257. Alam MJ, Gupta R, Mahapatra NR, Goswami SK. Catestatin reverses the hypertrophic effects of norepinephrine in H9c2 cardiac myoblasts by modulating the adrenergic signaling. *Mol. Cell Biochem.* 2020;464:205-19.
258. Chen Y, Wang X, Yang C, Su X, Yang W, Dai Y i sur. Decreased circulating catestatin levels are associated with coronary artery disease: the emerging anti-inflammatory role. *Atherosclerosis.* 2019;281:78-88.
259. Sahu BS, Obbineni JM, Sahu G, Allu PK, Subramanian L, Sonawane PJ i sur. Functional genetic variants of the catecholamine-release-inhibitory peptide catestatin in an Indian population: allele-specific effects on metabolic traits. *J Biol Chem.* 2012;287:43840-52.
260. Lurz E, Aeschbacher E, Carman N, Schibli S, Sokollik C, Simonetti G. Pulse wave velocity measurement as a marker of arterial stiffness in pediatric inflammatory bowel disease: a pilot study. *Eur. J. Pediatr.* 2017;176:983-7.

261. Zanolì L, Boutouyrie P, Fatuzzo P, Granata A, Lentini P, Oztürk K i sur. Inflammation and aortic stiffness: An individual participant data meta-analysis in patients with inflammatory bowel disease. *J. Am. Heart Assoc.* 2017;6:e007003.

## **9. SAŽETAK**

**Uvod:** Katestatin je važan peptid u patofiziologiji kroničnih upalnih stanja. Pacijenti s upalnim bolestima crijeva (IBD) imaju povišen kardiovaskularni rizik (CV) u odnosu na opću populaciju, usprkos nižoj prevalenciji tipičnih rizika za KV bolesti. U upalnim bolestima crijeva nedostaje kliničkih studija vezanih uz katestatin kao i analize parametara arterijske krutosti u odnosu na razinu katestatina.

**Cilj:** Glavni ciljevi ove studije su bili utvrditi potencijalnu razliku u razini katestatina i pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke između bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika. Sporedni ciljevi istraživanja su bili ispitati postoji li razlika u razinama katestatina te parametara elastičnosti arterijske stijenke između skupina ispitanika s ulceroznim kolitisom (UC) i Crohnovom bolesti (CD) te između ispitanika na biološkoj terapiji i onih liječenih drugom terapijom. Također kao jedan od sporednih ciljeva je bio ispitati postoji li povezanost razina katestatina s određenim antropometrijskim, kliničkim, laboratorijskim parametrima aktivnosti upalnih bolesti crijeva te s pokazateljima elastičnosti arterijske stijenke.

**Metode:** Nakon primjene predefiniranih uključnih i isključnih kriterija, uključeno je ukupno 80 ispitanika (od kojih 45 ispitanika s Crohnovom bolesti te 35 ispitanika s ulceroznim kolitisom) te 75 zdravih kontrolnih ispitanika. Svim bolesnicima je uzeta anamneza, izvršen fizikalni pregled uz antropometrijska mjerenja, uzorkovana krv za laboratorijske analize. Serumska koncentracija katestatina (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, SAD) je određena dvostrukim enzim-immunosorbentnim testom (engl. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) po uputstvima proizvođača. Za procjenu arterijske krutosti korištena je aplanacijska tonometrija (AT), neinvazivna metoda kojom se određuje brzina pulsog vala (engl. *pulse wave velocity*, PWV), koja ima snažnu korelaciju s invazivnim metodama. Procjena aktivnosti bolesti u ispitanika s IBD-em je urađena od strane dva iskusna specijalista

gastroenterologije koji su procjenjivali neovisno. Korišteni su standardni klinički i endoskopski zbirovi.

**Rezultati:** Razine katestatina bile su statistički značajno više u ispitanika s IBD-om u usporedbi s kontrolnim ispitanicima ( $11.29 \pm 9.14$  vs.  $7.13 \pm 6.08$  ng/mL;  $p = 0.001$ ). Ispitanici s UC su imali statistički značajno višu razinu katestatina u usporedbi s CD ispitanicima ( $13.50 \pm 9.58$  vs.  $9.03 \pm 6.92$  ng/mL;  $p = 0.021$ ), koja je perzistirala statistički značajnom nakon ANCOVA analize. IBD ispitanicima su izmjerene statistički značajno više vrijednosti cAix ( $16.36 \pm 9.95$  vs.  $10.31 \pm 8.19$  %;  $p < 0.001$ ), cAix-75 ( $14.88 \pm 10.59$  vs.  $6.87 \pm 9.50$  %;  $p < 0.001$ ), PWV ( $8.06 \pm 3.23$  vs.  $6.43 \pm 1.47$  m/s;  $p < 0.001$ ) i frekvencije pulsa ( $72.04 \pm 12.21$  vs.  $68.13 \pm 9.14$  otkucaja/min;  $p = 0.027$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika, razlika navedenih parametara arterijske krutosti među ispitivanim skupinama perzistirala i nakon prilagodbe za dob i BMI ( $p < 0.05$ ). IBD skupina je imala statistički značajno više ispitanika s oštećenjem ciljnog organa, definiranu kao  $PWV > 10$  m/s (17.5%, N=14 vs. 2.7%, N=1;  $p = 0.002$ ), a skupina ispitanika s pozitivnim kriterijima PWV za ciljno oštećenje organa ( $PWV > 10$  m/s) je imala statistički značajno višu razinu katestatina ( $20.7-23$  vs.  $7.4-11$  ng/mL;  $p = 0.001$ ). Multipla linearna regresijska analiza utvrdila je kako je PWV neovisni prediktor razine katestatina ( $\beta = 1.20$ ;  $p < 0.001$ ). Binomijalna logistička regresija utvrdila je kako su katestatin (1.089 (1.022-1.161),  $p = 0.009$ ), PWV (1.515 (1.166-1.968),  $p = 0.002$ ) i cAix-75 (1.060 (1.024-1.097),  $p = 0.001$ ) statistički značajni prediktori pozitivnog IBD statusa.

**Zaključak:** Ispitanici s upalnim bolestima crijeva imaju statistički značajno višu razinu katestatina te veću arterijsku krutost u usporedbi sa zdravim ispitanicima. Katestatin i brzina pulsno vala su dokazani kao neovisni prediktori prisutnosti upalne bolesti crijeva. Povišen katestatin i brzina pulsno vala u ispitanika s upalnim bolestima crijeva bi mogli upućivati na povišen kardiovaskularni rizik u ovoj populaciji, neovisno o klasičnim čimbenicima rizika za kardiovaskularne bolesti. Konačno, u budućnosti su potrebne nove pretkliničke i translacijske



studije koje bi istražile kompleksnu patofiziologiju kardiovaskularnih bolesti u upalnim bolestima crijeva.

## **10. SUMMARY**

**Background:** Catestatin is an important peptide in the pathophysiology of chronic inflammatory conditions. Patients with inflammatory bowel diseases (IBD) have an increased cardiovascular (CV) risk compared to the general population, despite the lower prevalence of typical CV disease risks. In IBD, there is a lack of clinical studies related to catestatin, as well as analyzes of arterial stiffness parameters in relation to catestatin levels.

**Aims of the study:** The main objectives of this study were to determine the potential difference in the level of catestatin and indicators of arterial wall elasticity between patients with inflammatory bowel diseases compared to the control group of subjects. The secondary objectives of the study were to examine whether there is a difference in catestatin levels and arterial wall elasticity parameters between groups of subjects with ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), and between subjects on biological therapy and those treated with other therapy. Also, as secondary goals, were to examine whether there is a connection between catestatin levels and certain anthropometric, clinical, and laboratory parameters of inflammatory bowel disease activity and with indicators of the elasticity of the arterial wall.

**Participants and Methods:** A total of 80 IBD subjects were included (of which 45 subjects with Crohn's disease and 35 subjects with ulcerative colitis) and 75 healthy control subjects, after applying predefined inclusion and exclusion criteria. Anamnesis was taken from all patients, a physical examination was performed with anthropometric measurements and blood was sampled for laboratory analysis. The serum concentration of catestatin (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, USA) was determined by a double enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's instructions. Applanation tonometry (AT), a non-invasive method for determining pulse wave velocity (PWV), which has a strong correlation with invasive methods, was used to assess arterial stiffness. Assessment of disease activity in subjects with IBD was performed by two experienced gastroenterology

specialists who assessed disease activity parameters independently. Standard clinical and endoscopic collections were used.

**Results:** Catestatin levels were in significantly positive correlation in subjects with IBD compared to control subjects ( $11.29 \pm 9.14$  vs.  $7.13 \pm 6.08$  ng/mL;  $p = 0.001$ ). Subjects with UC had a statistically significant higher level of catestatin compared to CD subjects ( $13.50 \pm 9.58$  vs.  $9.03 \pm 6.92$  ng/mL;  $p = 0.021$ ), this correlation remained significant after ANCOVA analysis. Subjects with IBD had statistically significant higher values of cAIx ( $16.36 \pm 9.95$  vs.  $10.31 \pm 8.19$  %;  $p < 0.001$ ), cAIx-75 ( $14.88 \pm 10.59$  vs.  $6.87 \pm 9.50$  %;  $p < 0.001$ ), PWV ( $8.06 \pm 3.23$  vs.  $6.43 \pm 1.47$  m/s;  $p < 0.001$ ) and pulse frequency ( $72.04 \pm 12.21$  vs.  $68.13 \pm 9.14$  beats/min;  $p = 0.027$ ) compared to the control group of subjects, the difference in the mentioned parameters of arterial stiffness among the studied groups persisted even after adjustments for age and BMI ( $p < 0.05$ ). The IBD group had statistically significant more subjects with target organ damage, defined as  $PWV > 10$  m/s (17.5%,  $N=14$  vs. 2.7%,  $N=1$ ;  $p = 0.002$ ), and the group of subjects with positive PWV criteria for target organ damage ( $PWV > 10$  m/s) had a statistically significant higher catestatin level ( $20.7-23$  vs.  $7.4-11$  ng/mL;  $p = 0.001$ ). Multiple linear regression analysis determined that PWV is an independent predictor of catestatin level ( $\beta = 1.20$ ;  $p < 0.001$ ). Binomial logistic regression found that catestatin (1.089 (1.022-1.161),  $p = 0.009$ ), PWV (1.515 (1.166-1.968),  $p = 0.002$ ) and cAIx-75 (1.060 (1.024-1.097),  $p = 0.001$ ) statistically significant predictors of positive IBD status.

**Conclusions:** Subjects with IBD have a statistically significant higher level of catestatin and greater arterial stiffness compared to healthy subjects. Catestatin and pulse wave velocity have been shown to be independent predictors of the presence of inflammatory bowel disease. Elevated catestatin and pulse wave velocity in subjects with inflammatory bowel disease could indicate an increased cardiovascular risk in this population, independent of classical risk factors for cardiovascular disease. Finally, new preclinical and translational studies are needed in the

future to investigate the complex pathophysiology of cardiovascular diseases in inflammatory bowel diseases.

## **11. ŽIVOTOPIS**

**OPĆI PODATCI:**

Ime i prezime: Piero Marin Živković

Datum i mjesto rođenja: 08.02.1990., Split

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Papandopulova 24, 21000 Split

Telefon: + 385 91 169 7471

E-mail: piero.zivkovic@gmail.com

**OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:**

2014. doktor medicine, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

2021. specijalist gastroenterologije

**RADNO ISKUSTVO:**

2014-2015. pripravnik doktor medicine, DZ dubrovačko-neretvanske županije

2015. liječnik opće medicine, DZ šibensko-kninske županije

2015.-2021. specijalizant gastroenterologije, KBC Split

2021.- danas, specijalist gastroenterolog, KBC Split

**NASTAVNA AKTIVNOST:**

2014.-danas, vanjski suradnik, Katedra za patofiziologiju (studij medicine, studij dentalne medicine, studij medicine na engleskom jeziku), Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**STRANI JEZICI:**

Engleski jezik (napredno), njemački jezik (napredno), talijanski jezik (osnovno)

## **PUBLIKACIJE:**

1. Zivkovic PM, Matetic A, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Borovac JA, Mudnic I, Tonkic A, Bozic J. Serum Catestatin Levels and Arterial Stiffness Parameters Are Increased in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Med*. 2020. 26;9(3):628
2. Bezić J, Šamića Projić I, Projić P, Meljanac Salopek K, Živković PM, Božić J, Tomić S. Pathobiology of HER 2 positive small invasive (T1a,b) breast cancer: "A wolf in sheep's clothing". *Pathol Res Pract*. 2017;213(12):1510-1514.
3. Bezić J, Karaman I, Zekić Tomaš S, Živković PM, Božić J. Osteonevus of Nanta Revisited: Clinicopathological Features of 33 Cases. *Am J Dermatopathol*. 2016 Nov;38(11):859-861.
4. Jukic I, Rusic D, Vukovic J, Zivkovic PM, Bukic J, Leskur D, Seselja Perisin A, Luksic M, Modun D. Correlation of registered drug packs with Maastricht V/Florence Consensus Report and national treatment guidelines for management of *Helicobacter pylori* infection. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2019 Sep 13. doi: 10.1111/bcpt.13322. [Epub ahead of print]
5. Rusic D, Bozic J, Vilovic M, Bukic J, Zivkovic PM, Leskur D, Perisin AS, Tomić S, Modun D. Attitudes and Knowledge Regarding Antimicrobial Use and Resistance Among Pharmacy and Medical Students at the University of Split, Croatia. *Microb Drug Resist*. 2018 Jun 8. doi: 10.1089/mdr.2018.0010. [Epub ahead of print]
6. Tadin Hadjina I, Zivkovic PM, Matetic A, Rusic D, Vilovic M, Bajo D, Puljiz Z, Tonkic A, Bozic J. Impaired neurocognitive and psychomotor performance in patients with inflammatory bowel disease. *Sci Rep*. 2019 24;9(1):13740.
7. Jukic I, Rusic D, Vukovic J, Zivkovic PM, Bukic J, Leskur D, Seselja Perisin A, Luksic M, Modun D. Correlation of registered drug packs with Maastricht V/Florence Consensus Report and national treatment guidelines for management of *Helicobacter pylori* infection. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2020. 126:212-225.



8. Brnić D, Martinovic D, Zivkovic PM, Tokic D, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Tonkic A, Bozic J. Serum adropin levels are reduced in patients with inflammatory bowel diseases. *Sci Rep*. 2020. 10:9264.
9. Brnic D, Martinovic D, Zivkovic PM, Tokic D, Vilovic M, Rusic D, Tadin Hadjina I, Libers C, Glumac S, Supe-Domic D, Tonkic A, Bozic J. Inactive matrix Gla protein is elevated in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2020. 26:4866-4877.
10. Markovic D, Lukenda J, Kokic J, Simac P, Zivkovic PM, Prkacin I, Culic V. A ten-year comparative study of cardiovascular disease publications, health and socioeconomic indicators between European countries. *Signa Vitae*. 2021. 17: 95-102.
11. Alicic D, Martinovic D, Rusic D, Zivkovic PM, Tadin Hadjina I, Vilovic M, Kumric M, Tokic D, Supe-Domic D, Lupi-Ferandin S, Bozic J. Urotensin II levels in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2021. 27:6142-6153.
12. Kumric M, Ticinovic Kurir T, Martinovic D, Zivkovic PM, Bozic J. Impact of the COVID-19 pandemic on inflammatory bowel disease patients: A review of the current evidence. *World J Gastroenterol*. 2021. 27:3748-3761.
13. Kumric M, Zivkovic PM, Ticinovic Kurir T, Vrdoljak J, Vilovic M, Martinovic D, Bratanic A, Lizatovic IK, Bozic J. Role of B-Cell Activating Factor (BAFF) in Inflammatory Bowel Disease. *Diagnostics (Basel)*. 2021. 12:45.

#### **KONGRESNA PRIOPĆENJA:**

1. Zivkovic PM, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Martinovic D, Puljiz Z, Tonkic A, Bozic J. Serum adropin levels in patients with Crohn's disease. ECCO 2019. Book of abstracts.

2. Bezić J, Šamija Projić I, Projić P, Ljubković J, Živković P, Tomić S. HER 2 Positive Small Invasive (T1a, B) Breast Cancer: „A Wolf In Sheep's Clothing“. 7. hrvatski onkološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem, knjiga sažetaka. 10.-13.4.2014. Rovinj, Hrvatska.
3. Radic J, Radman M, Milicevic T, Dogas T, Zivkovic PM, Kovacic V. Malnutrition is a Prevalent Condition in the Acute Hospital Setting - An Experience from Seven Internal Medicine Departments in Dalmatia, Croatia. DOI: 10.1016/S0261-5614(16)30519-2.
4. Rušić D, Božić J, Bukić J, Leskur D, Vilović M, Živković PM, Modun D. Stavovi i znanja studenata farmacije i medicine o antimikrobnoj terapiji i rezistenciji. 2. hrvatski kongres kliničke farmacije, knjiga sažetaka. 20.-22.4.2017. Zagreb, Hrvatska.

**Autorstvo u knjizi:**

1. Tina Tičinović Kurir i sur. Patofiziologija endokrinopatija, odabrana poglavlja. Split, Hrvatska: Redak; 2013.