Adropin i inaktivni matriks Gla protein u bolesnika s upalnim bolestima crijeva

Brnić, Darko

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:636385

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

DARKO BRNIĆ

ADROPIN I INAKTIVNI MATRIKS GLA PROTEIN U BOLESNIKA S UPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA

DOKTORSKA DISERTACIJA

SPLIT, 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

DARKO BRNIĆ

ADROPIN I INAKTIVNI MATRIKS GLA PROTEIN U BOLESNIKA S UPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA

DOKTORSKA DISERTACIJA

SPLIT, 2021.

Ovaj rad je izrađen na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

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

Zahvala

Zahvaljujem kolegama i suradnicima dr. Ivani Tadin Hadjina i dr. Pieru Marinu Živkoviću koji su aktivno sudjelovali u ovim istraživanjima.

Posebno zahvaljujem svom dragom mentoru izv. prof. Jošku Božiću na ukupnoj pomoći i poticaju.

Ovu disertaciju posvećujem svojoj djeci Josipu i Ivanu te posebnoj inspiraciji koja me vodi kroz život, svojoj pokojnoj supruzi Dijani.

SADRŽAJ

1. UVOD ... 1
1.1. Upalne bolesti crijeva ... 2
1.1.1. Povijest ... 6
1.1.2. Epidemiologija ... 8
1.1.3. Patogeneza ... 11
1.1.4. Ekstraintestinalne manifestacije ... 16
1.1.5. Dijagnoza ... 22
1.1.6. Liječenje ... 24
1.2. Adropin ... 26
1.2.1. Adropin i metabolizam glukoze ... 27
1.2.2. Adropin i vazoprotekcija ... 27
1.2.3. Adropin i druga stanja ... 28
1.3. Matriks Gla protein ... 29
1.3.1 Inaktivni MGP i ateroskleroza ... 31
1.3.2. Inaktivni MGP i kolitis ... 31
1.3.3. Inaktivni MGP i druga stanja ... 31
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA ... 33
3. ISPITANICI I POSTUPCI ... 35
3.1. Ispitanici ... 36
3.2. Postupci ... 37
3.2.1. Antropometrijska mjerenja ... 37
3.2.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza uzoraka ... 38
3.2.3. Procjena aktivnosti bolesti ... 39
3.3. Statistička analiza podataka ... 40
4. REZULTATI ... 42
4.1. Osnovne značajke i laboratorijski parametri ... 43
4.2. Razina serumskog adropina u IBD bolesnika i kontrolnoj skupini ... 46
4.3. Korelacija adropina s drugim parametrima ... 47
4.4. Adropin kao prediktor pozitivnog IBD statusa ... 50
4.5. Razina inaktivnog MGP-a u IBD bolesnika i kontrolnoj skupini ... 51
4.6. Korelacija inaktivnog MGP i drugih parametara ... 51
4.7. Inaktivni MGP kao prediktor pozitivnog IBD statusa ... 55
5. RASPRAVA ... 56
6. ZAKLJUČCI ... 65

7. SAŽETAK 68
8. SUMMARY 71
9. LITERATURA 74
10. ŽIVOTOPIS 98

POPIS OZNAKA I KRATICA

AGEs- krajnji proizvodi glikacije (engl. *Advanced Glycation End Products*)

AHI- apneja-hipopneja indeks (engl. *Apnea-Hypopnea Index*)

ANOVA- analiza varijance (engl. *Analysis of Variance*)

CAC- Kalcij koronarnih arterija (engl. *Coronary Artery Calcium*)

CD- Crohnova bolest (engl. *Crohn's Disease*)

CDAI- indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. *Crohn's Disease Activity Index*)

CRP- C- reaktivni protein (engl. *C-Reactive Protein*)

CEP- crijevni epitelni protein (engl. *Colonic Epithelial Protein*)

CLIA- imunokemijska kemiluminiscencija (engl. C*hemiLuminescent Microparticle Immuno Assay*)

CT- kompjuterizirana tomografija (engl. *Computed Tomography*)

dp-uc- defosforilirani- nekarboksilirani (engl. *Dephosphorylated-Uncarboxylated*)

DSS- dekstran natrij sulfat (engl. *Dextran Sulfate Sodium*)

ECCO- Europsko društvo za Crohnovu bolest i kolitis (engl. *European Crohn and Colitis Organisation*)

EIM- ekstraintestinalne manifestacije (engl. *Extraintestinal Manifestation*)

ELISA- enzimska imunoadsorpcijska pretraga (engl. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)

ENHO- energetska homeostaza (engl. *Energy Homeostasis*)

eNOS- endotelna sintaza dušikovog oksida (engl. *Endothelial Nitric Oxide Synthase*)

FMD- protokom potaknuta dilatacija (engl. *Flow Medaited Dilatation*)

GPR- G protein- spregnuti receptor (engl. *G protein –coupled receptor*)

HBI- Harvey-Bradshawov indeks (engl. *Harvey-Bradshaw Index*)

HLA- humani leukocitni antigen (engl. *Human Leukocyte Antigen*)

HOMA-IR- Homeostatski model procjene inzulinske rezistencije (engl. *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*)

hTM5- humani tropomiozin izoforma 5 (engl. *Human Tropomyosin isoform 5*)

IBD- upalna bolest crijeva (engl. *Inflammatory Bowel Disease*)

IBDU- upalna bolest crijeva, neklasificirani tip (engl. *Inflammatory Bowel Disease, Type Unclassified*)

IFN- interferon (engl. *Interferon*)

IL- interleukin (engl. *Interleukin*)

ITM- indeks tjelesne mase (engl. *Body Mass Index*)

JAK- Janus kinaza (engl. *Janus Kinase*)

MES- Mayo endoskopski indeks (engl. *Mayo Endoscopic Score*)

MGP- matriks Gla protein (engl. *Matrix Gla Protein*)

MHC - glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. *Major Histocompatibility Complex)*

mRNA- glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *Messenger Ribonucleic Acid*)

MSC- mezenhimalne matične stanice (engl. *Mesenchymal Stem Cells*)

NASH- nealkoholni steatohepatitis (engl. *NonAlcocholic SteatoHepatitis*)

NF-κB- nuklearni čimbenik (engl. *Nuclear Factor-κB*)

NK- prirodne stanice ubojice (engl. *Natural Killer*)

NO- dušikov oksid (engl. *Nitric Oxide*)

NOD2- nukleotid vezujuća oligomerizacijska domena-sadržeći protein 2 (engl. *Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing protein 2*)

Nrf2- nuklearnim faktorom eritroid 2 povezan faktor 2 (engl. *Nuclear factor erythroid 2-related factor* 2)

OD- optička gustoća (engl. *Optical Density*)

OSA- opstrukcijska apneja tijekom spavanja (engl. *Obstrucitve Sleep Apnea*)

PBC- primarna bilijarna ciroza (engl. *Primary Biliary Cirrhosis*)

ROS- slobodni radikali kisika (engl. *Reactive Oxygen Species*)

SES-CD- jednostavni endoskopski indeks za Crohnovu bolest (engl. *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*)

STAT- pretvarač signala i aktivator transkripcije (engl. S*ignal Transducer and activator of transcription*)

TBS- indeks trabekularne kosti (engl. *Trabecular Bone Score*)

Th- pomagački T limfociti (engl. *T helper cells*)

TLR- Toll-u sličan receptor (engl.*Toll-Like Receptor*)

TNF- čimbenik nekroze tumora (engl. *Tumor Necrosis Factor*)

UC- ulcerozni kolitis (engl. *Ulcerative Colitis*)

UCEIS- endoskopski indeks aktivnosti ulceroznog kolitisa (engl. *Ulcerative Colitis Endosccopic Index of Severitiy*)

VCAM- vaskularna stanična adhezijska molekula (engl. *Vascular Cell Adhesion Molecule*)

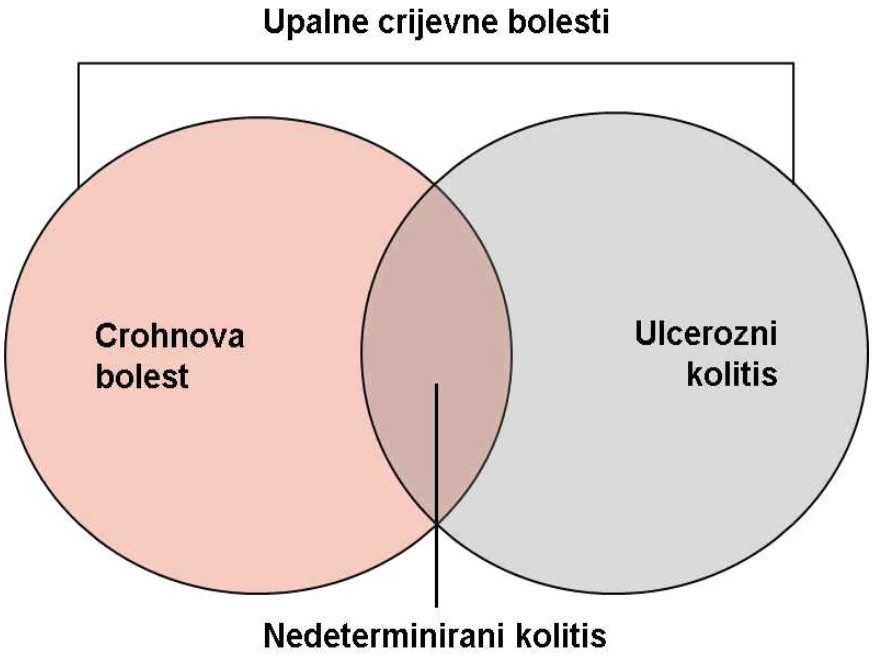
VEGF- vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*)

1. UVOD

1.1. Upalne bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel disease, IBD*) su kronične, idiopatske, intermitentne bolesti nepoznate etiologije i nepredvidljivog tijeka (1). Iako je točan uzrok bolesti nepoznat te je još uvijek predmet brojnih kliničkih istraživanja, smatra se da nastaje složenom interakcijom genetskih i okolišnih čimbenika uz neadekvatan imunološki odgovor (2).

Prema Montrealskoj klasifikaciji iz 2005. godine dijele se na ulcerozni kolitis (engl. *ulcerative colitis, UC*), Crohnovu bolest (engl. *Crohn's disease, CD*) i nedeterminirani kolitis (3) (**Slika 1**). Nedeterminirani kolitis podrazumijeva 10-15% oboljelih kod kojih se ne može razlikovati radi li se o ulceroznom kolitisu ili Crohnovoj bolesti (4).



Slika 1. Upalne bolesti crijeva (3).

Ulcerozni kolitis je oblik upalne bolesti crijeva s kontinuiranom upalom od rektuma koja zahvaća debelo crijevo, djelomično ili cijelo. Histološku sliku karakterizira kronična upala u aktivnoj fazi, odnosno aktivna upalna infiltracija sa kronično oštećenom sluznicom. Aktivne promjene uključuju mononuklearnu upalnu infiltraciju lamine proprije i epitela kripti u smislu kriptitisa te nakupljanje neutrofila u kriptama sa stvaranjem kriptapscesa (5). Nadalje, mišićni sloj sluznice može biti zahvaćen ulceracijama i granulacijskim tkivom, a submukozni sloj fibroznim promjenama uz proliferaciju Schwannovih stanica (6). Skraćenje i destrukcija kripti, bazalno limfoplazmocitoidna infiltracija sa metaplazijom Panethovih stanica te nastanak pseudopolipa govori u prilog kroničnih upalnih promjena (5). Tipičan endoskopski nalaz sluznice debelog crijeva zahvaćenog ulceroznim kolitisom uključuje: hiperemiju, gubitak vaskularnog crteža, erozije, ulceracije, kontaktna i spontana krvarenja (**Slika 2**). Pseudopolipi su benigne promjene koje nastaju nakon dužih perioda aktivne upale prekomjernim cijeljenjem sluznice (8). Opisane promjene su češće kod ulceroznog kolitisa nego kod Crohnove bolesti. Osim što mogu biti uzrok spontanih krvarenja, treba ih razlikovati od polipoidnih promjena sa displazijom kako bi se na vrijeme pristupilo endoskopskom ili kirurškom zbrinjavanju.



Slika 2. Endoskopski prikaz ulceroznog kolitisa (Preuzeto i prilagođeno prema: Feuerstein JD, Moss AC, Farraye FA. Ulcerative colitis. Mayo Clinic Proceedings. 2019;94:1357-73.)

Bolest se prezentira krvavo-sluzavim proljevima i bolovima u trbuhu (9). Dio kliničke slike ulceroznog kolitisa mogu biti nutritivni i metabolički poremećaji poput akutne ili kronične posthemoragijske anemije sa sideropenijom te pothranjenost sa hipoalbuminemijom, hipokalcemijom, hipokalijemijom i dehidratacijom. Ukoliko se upala širi u dublje slojeve stijenke, bolest se može komplicirati razvojem toksičnog megakolona, septičkog stanja, eventualno i perforacije debelog crijeva. Nadalje, bolesnici s ulceroznim kolitisom češće oboljevaju od kolorektalnog karcinoma, a rizik ovisi o trajanju i ekstenziji bolesti te raste ukoliko postoji obiteljsko opterećenje sporadičnim kolorektalnim karcinomom (10).

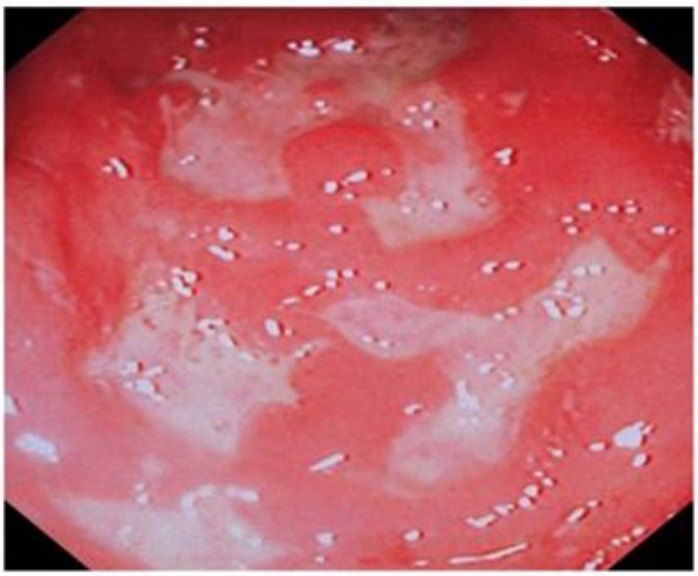
S obzirom na ekstenziju bolesti, prema Montrealskoj klasfikaciji iz 2005. godine ulcerozni kolitis se dijeli na proktitis koji podrazumijeva da je upalnim promjenama zahvaćena samo sluznica rektuma, na lijevostrani ili distalni kolitis ukoliko su upalne promjene sluznice do lijenalne fleksure te na prošireni kolitis ukoliko su promjene proširene prema oralnijem dijelu debelog crijeva sve do cekuma kada govorimo o pankolitisu (3) (**Tablica 1**).

Tablica 1. Montrealska klasifikacija ulceroznog kolitisa

E1	Proktitis
E2	Lijevostrani kolitis (distalni)
E3	Prošireni kolitis (pankolitis)

Crohnova bolest može zahvatiti bilo koji dio probavnog trakta od usne šupljine do anusa, tipično i najčešće terminalni ileum i debelo crijevo (11). Bolest karakteriziraju upalne promjene koje mogu biti diskontinuirane, isprekidane zdravim segmentima probavnog trakta, tvoreći takozvane skip lezije što predstavlja specifičnost Crohnove bolesti. Tipičan endoskopski nalaz tijekom ileokolonoskopije jest kaldrmasta sluznica i uzdužne duboke ulceracije (12) (**Slika 3**). Histološki nalaz tipičan za Crohnovu bolest jest transmuralna granulomatozna upala pri čemu

se bolest može širiti do mezenterija i lokalnih limfnih čvorova. Klinička prezentacija bolesti može biti različita ovisno o intenzitetu upale, proširenosti i lokalizaciji bolesti te razvoju strukturnih promjena i lokalnih komplikacija.



Slika 3. Endoskopski prikaz Crohnove bolesti (Preuzeto i prilagođeno prema: Rameshshanker R, Arebi N. Endoscopy in inflammatory bowel disease when and why. World J Gastrointest Endosc. 2012;4: 201-11.)

Crohnova bolest ima sklonost strukturnim fibrozirajućim i stenozirajućim promjenama; stvaranju fistula između crijevnih vijuga, okolnih organa i kože (enteroenteralne, enterokolične, enterovezikalne, enterouterine, enterokutane fistule) što može značajno otežati klinički tijek uz potrebu za kirurškim zbrinjavanjem (14). Najčešći oblik bolesti je regionalni ili terminalni ileitis koji se prezentira bolovima u donjem desnom abdominalnom kvadrantu i proljevima. Tipičan, klinički zahtjevan, iako ne i najčešći oblik Crohnove bolesti je perianalna bolest sa razvojem perianalnih fisura, fistula i apscesa. Oba oblika IBD-a imaju povećan rizik razvoja kolorektalnog karcinoma zbog pro-neoplastičnog učinka kronične upale.

Montrealska klasifikacija Crohnove bolesti temelji se na više parametara, tako da se u obzir uzima životna dob kada je bolest dijagnosticirana, ekstenzija bolesti te predominantni fenotip uz dodatak je li prisutna perianalna bolest ili ne (3) (**Tablica 2**).

Tablica 2. Montrealska klasifikacija Crohnove bolesti

Dob	A1	Do 16 godina
	A2	17-40 godina
	A3	Iznad 40 godina
Lokalizacija	L1	Ileum
	L2	Kolon
	L3	Ileum i kolon
	L4	Samo gornji trakt
Tip	B1	Bez penetracije, bez striktura (predominantni fenotip)
	B2	Strikturirajući tip
	B3	Penetrirajući tip
	p	Perianalna bolest

Nedeterminirani kolitis je oblik upalne bolesti crijeva kod kojeg se ni nakon kolektomije patolozi ne mogu sa sigurnošću izjasniti radi li se o ulceroznom kolitisu ili Crohnovoj bolesti. Ovaj oblik bolesti treba razlikovati od neklasificirane upalne bolesti crijeva (engl. *Inflammatory Bowel Disease, Type Unclassified, IBDU*) koja podrazumijeva upalu debelog crijeva, bez jasnih histoloških pokazatelja radi li se o ulceroznom kolitisu ili Crohnovoj bolesti (4).

1.1.1. Povijest

Rani opisi kroničnih proljeva potječu još iz antičkih vremena kada Hipokrat (460-573 p.n.e.) raspravlja o mogućim uzrocima (16,17). Sir Samuel Wilks (1824–1911) bio je prvi liječnik koji se u prikazu kliničkog slučaja iz 1859. godine koristio terminom „ulcerozni kolitis“ kada opisuje kliničko stanje nalik današnjem poimanju upalne bolesti crijeva (18,19). Kod 42-

godišnje bolesnice koja je umrla nakon višemjesečnih proljeva i vrućice, obdukcijom je dokazana transmuralna upala debelog crijeva i završnog dijela ileuma, stanja koje je tek naknadno shvaćeno kao poseban klinički entitet nazvan Crohnova bolest (20). 1909. godina ključna je za razumijevanje ulceroznog kolitisa kao kliničkog entiteta. Na simpoziju Kraljevskog društva za medicinu u Londonu opisano je preko 300 slučajeva ulceroznog kolitisa s detaljnim opisom rizičnih čimbenika, kliničke prezentacije, tadašnjih terapijskih mogućnosti i iskustava (21). Rasprave o mogućim uzrocima uključivale su alergiju na hranu i pelud te psihogene poremećaje. Učinkovito liječenje započinje upotrebom sulfonamida 1938. godine te otkrićem penicilina 1946. godine, čime se ponovno ističe bakterijska infekcija kao mogući uzrok bolesti (22). Sredinom 20. stoljeća dobar odgovor na kortikosteroidnu terapiju dodatno je potaknuo interes za mogući imunološki mehanizam nastanka bolesti (23).

Još u 17. stoljeću Wilhelm Fabry (1540-1643) opisuje obdukcijski nalaz kontrahiranog egzulceriranog cekuma s invaginacijom u ileum u dječaka koji je patio od kroničnih bolova u trbuhu i proljeva (24). Giovanni Battista Morgagni (1682-1771) u svom *"De Sedibus et Causis Morborum"* opisuje ulceracije i perforaciju upalno izmjenenog terminalnog ileuma s mezenterijalnom limfadenopatijom i splenomegalijom (25). Abraham Colles 1830. godine opisuje bolest u djece koja se komplicira perianalnim, rektovaginalnim i rektovezikalnim fistulama (22). Nadalje, Burrill B. Crohn 1932. godine (1884.-1983.) i sur. u časopisu Journal of the American Medical Association opisuju 14 oboljelih od nekrotizirajuće upale terminalnog ileuma sa strikturama i fistulama, dobi 17 do 52 godine te bolest nazivaju „regionalni ileitis" (26). Sljedećih nekoliko desetljeća spoznao se značaj „skip lezija" kao i da bolest može zahvatiti bilo koji dio probavnog trakta (27,28).

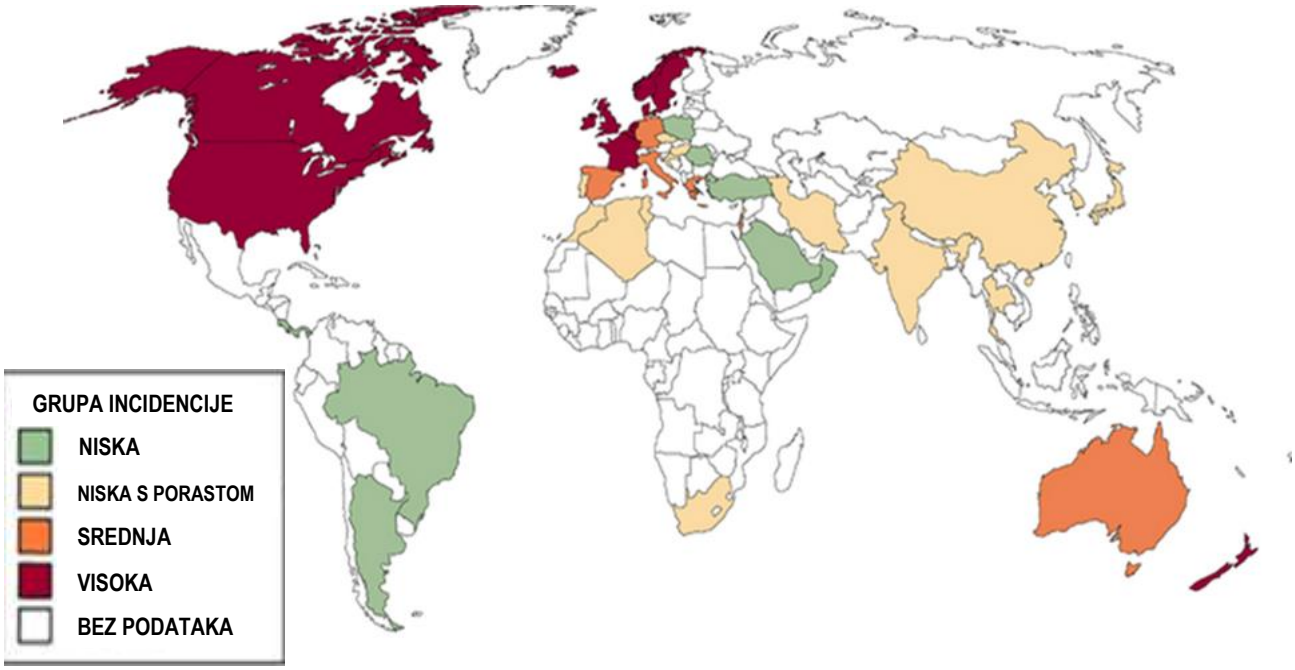
1.1.2. Epidemiologija

1.1.2.1. Upalne bolesti crijeva u svijetu

Prema provedenim istraživanjima epidemiološke značajke upalnih bolesti crijeva poput incidencije, prevalencije te epidemioloških trendova znatno se razlikuju između pojedinih država i dijelovima svijeta. Ulcerozni kolitis i Crohnova bolest smatraju se bolestima visoko razvijenih zemalja (29), tako da se češće javljaju u razvijenim zemljama Sjeverne Amerike poput Sjedinjenih Američkih Država i Kanade te zemljama zapadne Europe u skladu s paradigmom o gradijentu sjever-jug i zapad-istok (30) (**Slika 4**). Stope incidencije i prevalencije značajno su niže u Aziji, Japanu i Južnoj Americi.

Prevalencija upalnih bolesti crijeva u Sjedinjenim Američkim Državama najveća je na svijetu i iznosi 464 oboljela na 100 000 stanovnika. U Europi jednu od najvećih prevalencija ima Ujedinjeno Kraljevstvo i iznosi 449 na 100 000 stanovnika (32). Incidencija ulceroznog kolitisa u Europi je 9,8 na 100 000 stanovnika te Crohnove bolesti 6,3 na 100 000 stanovnika (33).

Prisutan je i već spomenuti gradijent zapad-istok tako da je u zapadnoeuropski zemljama incidencija ulceroznog kolitisa 10,8 te Crohnove bolesti 6,5 na 100 000 stanovnika dok je u istočnoeuropskim zemljama incidencija ulceroznog kolitisa 4,1 a Crohnove bolesti 3,1 na 100 000 stanovnika. Ukupna incidenciji za upalne bolesti crijeva u Europi je 15,2/100 000, dok je u Australiji 24,5/100 000 (35).



Slika 4. Incidencija upalnih bolesti crijeva u svijetu (Preuzeto i prilagođeno prema: Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. Gastroentero logy. 2011;140:1785-94.)

1.1.2.2. Upalne bolesti crijeva u Republici Hrvatskoj

Za Republiku Hrvatsku ne postoje cjeloviti epidemiološki podaci o upalnim bolestima, već pojedinačni za neke od županija. Među prvima su objavljeni podaci iz Zagreba za razdoblje 1980.-1989. koji govore o incidenciji ulceroznog kolitisa od 1,5 na 100 000 stanovnika i prevalenciji od 21,4 na 100 000 te o incidenciji Crohnove bolesti 0,7 na 100 000 i prevalenciji 8,3 na 100 000 stanovnika (36,37). Na području Primorsko-goranske županije, u razdoblju 2000.-200., incidencija ulceroznog kolitisa bila je 4,3 dok je incidencija Crohnove bolesti 7,9 na 100 000 stanovnika godišnje (38). Na području Zadarske županije, u razdoblju 2000.-2010., godišnja stopa incidencije ulceroznog kolitisa iznosila je 8,1 na 100 000 stanovnika, dok je za Crohnovu bolesti bila 8,3 na 100 000 stanovnika. Na kraju 2010. godine, prevalencija ulceroznog kolitisa iznosila je 128,4 na 100 000 te Crohnove bolesti 106,5 na 100 000 stanovnika (39). Na području Vukovarsko-srijemske županije, u razdoblju 2000.–2010.

pokazalo se kako je incidencija ulceroznog kolitisa 3,5 na 100 000, a Crohnove bolesti 0,95 na 100 000 stanovnika (40). Na području Splitsko-dalmatinske županije u razdoblju 2006.-2014. godine incidencija ulceroznog kolitisa bila je 7,7 na 100 000 stanovnika. Svi navedeni podaci pozicioniraju Republiku Hrvatsku u područje umjerenog rizika za nastanak upalnih bolesti crijeva (41).

1.1.2.3. Epidemiološki trendovi

Učestalost upalnih bolesti crijeva u razvijenim zapadnim zemljama rasla je kroz više generacija, dok je u novoindustrijaliziranim zemljama prihvaćanjem zapadnjačkih životnih navika primjećen ubrzani rast incidencije zadnjih nekoliko desetljeća (42). U novoindustrijaliziranim zemljama upalne bolesti crijeva imaju jednako težak oblik kao u visoko razvijenim zemljama, s istim kliničkim tijekom, komplikacijama, morbiditetom i mortalitetom (38). Unatoč postizanju platoa i očitog stabiliziranja incidencije u razvijenim zemljama, zbog značajnog rasta u novoindustrijaliziranim zemljama Azije, Afrike i Južne Amerike, upalne bolesti crijeva bivaju sve veći globalni javnozdravstveni problem (42,43,44).

1.1.2.4. Etničke i rasne razlike

O razlikama prevalencije upalnih bolesti crijeva između različitih etničkih skupina i rasa često se pisalo, tako naprimjer istraživanja govore o većoj prevalenciji Crohnove bolesti među potomcima Aškenazi Židova, uspoređujući ih sa ostalim nežidovskim europskim narodima (45). Isto tako, opisano je kako Afroamerikanci češće obolijevaju od Crohnove bolesti te imaju veću sklonost razvoju ekstraintestinalnih manifestacija poput artritisa i uveitisa. Amerikanci meksičkog porijekla češće obolijevaju od ulceroznog kolitisa te su skloniji afekciji zglobova i gotovo svi su pozitivni na p-ANCA, za razliku od 40% pozitivnih oboljelih bijelaca. Nadalje, kod bijelaca je češće pozitivna obiteljska anamneza za upalne bolesti crijeva i kolorektalni karcinom (46).

1.1.2.5. Dobna distribucija

S obzirom na dobnu strukturu, upalne bolesti pokazuju bimodalnu distribuciju s vršnom incidencijom u dobi 24-34 godine te ponovno u dobi 55-64 godina, što je izraženije kod ulceroznog kolitisa nego kod Crohnove bolesti (47).

1.1.3. Patogeneza

Iako uzrok nastanka upalnih bolesti crijeva nije do kraja jasan, istraživanja su pokazala da su u patogenezu uključene genetska sklonost, okolišni čimbenici, promjene crijevne mikrobiote i imunosni sustav (48).

Genomska istraživanja su potvrdila povezanost upalnih bolesti crijeva s više od 100 genskih lokusa koji ukazuju na važnost niza genskih i patofizioloških mehanizama poput aktivacije limfocita, funkcioniranja crijevne epitelne barijere, citokinskog signaliziranja i prepoznavanja mikroba. Većina lokusa povezanih s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom povezana je sa IL-23 signalnim putem te s ekspresijom transkripcijskih faktora poput NK2 transkripcijskog faktora, lokus 3 (NKX2-3), SMAD3, STAT3, ZMIZ1 (engl. *Zinc Finger MIZ-Type Containing 1*) i c-Rel (49). U skladu s očekivanjima, većina gena je pokazala povezanost s oba oblika upalne bolesti crijeva dok su neki genski lokusi bili povezani isključivo s jednim oblikom bolesti. Geni koji reguliraju autofagiju i ekspresiju NOD2 (engl. *Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing protein 2*) povezani su s Crohnovom bolesti (50). Geni povezani s ulceroznim kolitisom nalaze se na kromosomu 6p21, u regiji glavnog kompleksa histokompatibilnosti (klasa II MHC gena) te su geni koji reguliraju mehanizme epitelne obrane (49). Oba oblika upalnih bolesti crijeva povezana su sa specifičnim HLA klase II fenotipom tako da je ulcerozni kolitis povezan s DR2, DR9 i DRB1*0103b dok s druge strane bilježi negativnu povezanost s DR4. Nadalje, Crohnova bolest ima pozitivnu korelaciju s DR7,

DRB3*0301 i DQ4, dok je korelacija negativna s DR2 i DR3 (51). HLA haplotip DRB1*0103 povezan je s ekstenzijom bolesti ali i većim rizikom za kolektomiju. Koliko je genetska predispozicija tj. pozitivna obiteljska anamneza za upalne bolesti crijeva važan čimbenik rizika, govori podatak kako 5,7-15,5% oboljelih od ulceroznog kolitisa imaju rođake u prvoj liniji oboljele od iste bolesti dok jednojajčani blizanci oboljevaju u 6-13% slučajeva (52-55).

Oštećenje mukozne barijere zajedno sa smanjenim stvaranjem crijevnog mucina subtip 2 dovodi do povećanog prolaska te neposrednog kontakta luminalnih mikroba i antigena s imunim stanicama domaćina (56,57).

Crijevnu mikrofloru većim djelom čine obligatni anaerobi iz roda *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* i *Actinobacteria* koji u simbiotskom odnosu s ljudskim organizmom djeluju na metabolizam i neke fiziološke procese koji mogu imati značaj u nastanku IBD-a poput: fermentacije neprobavljivih ugljikohidrata radi proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina, biotransformacije konjugiranih žučnih kiselina, sinteze nekih vitamina te razgradnje oksalata (58,59). Mikroflora uključuje viruse i gljivice tako da je sve više pažnje usmjereno i na njihovu uloga u nastanku bolesti. Značajni dokazi o utjecaju promjene crijevne mikroflore na nastanak IBD-a su istraživanja na mišjim modelima. Iako mehanizam kojim promjena crijevne mikroflore utječe na nastanka bolesti nije do kraja razjašnjen pretpostavlja se da bi pojedini produkti metabolizma mogli imati učinak malih molekula u patogenezi. Promjena crijevne mikroflore (disbioza) smatre se značajnim čimbenikom za nastanak i aktivnost upalne bolesti crijeva, a dokazano je da utječe na fenotip i genotip upalne bolesti crijeva. Tako naprimjer, promjene u sastavu bakterija *Faecalibacterium* i *Escherichia taxa* utječe na fenotip bolesti, ATG16Lq (engl. *Autophagy related 16 like 1 locus*) i NOD2 genotip (60).

Prepoznavanje antigena odvija se na razini dendritičnih stanica lamine proprije, glavnih predočnih stanica crijevne imunosti koje prezentirajući antigene T i B stanicama aktiviraju

imuni odgovor. U pacijenata s upalnim bolestima crijeva povećan je broj zrelih aktiviranih dendritičnih stanica, a njihov broj korelira s aktivnošću bolest (61,62). Dendritične stanice prepoznaju mikrobe preko *Toll-like* receptora (TLR) i NOD-like receptora te tako omogućavaju imuni odgovor aktivacijom NF-κB (engl. *Nuclear factor-κB*) i drugih transkripcijskih faktora (63). Zdrava crijevna sluznica pokazuje uglavnom TLR3 i TLR5 receptore dok je s druge strane ekspresija TLR4 bitno povećana kod upalnih bolesti crijeva (64). Polimorfizam TLR4 smatra se značajnim čimbenikom sklonosti za upalne bolesti crijeva tako su npr. TLR4 Asp299Gly i TLR4 Thr399Ile povezani sa sklonošću razvoja bolesti u bijelačkoj populaciji (65).

Kod ulceroznog kolitisa narušena je ravnoteža između različitih efektorskih T-stanica poput Th1, Th2 i Th17; s posljedičnim atipičnim Th2 odgovorom, stvaranjem interleukina 5 i interleukina 13 te citotoksičnom reakcijom prema epitelnim stanicama (66). Važnom karikom u patogenezi Crohnove bolesti smatraju se Th1 stanice. Nadalje, istraživanja su pokazala kako je u razvoju upalnih bolesti crijeva pojačano stvaranje interleukina 17 zbog čega su brojna novija istraživanja usredotočena upravo na Th17 stanice koje ga proizvode. Temeljeno na novijim spoznajama kako je kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva povišena razina čimbenika nekroze tumora (engl. *Tumor Necrosis factor, TNF*) u serumu, stolici i crijevnoj sluznici; TNF-α smatra se ključnim proupalnim citokinom u nastanku upalnih bolesti crijeva (68). Nadalje, lučenjem kemoatraktanata poput CXCL8 (engl. *C-X-C Motif Chemokine Ligand 8*) leukociti se preusmjeravaju iz sustavnog krvotoka u upalom zahvaćeni dio probavnog trakta te se tako umnaža upalni odgovor (69). Djelovanjem proupalnih citokina IFN-γ i TNF-α smanjuje se migracija fibroblasta koji se zadržavaju u lamini propriji crijeva te tako doprinose upalnom zbivanju, posebno kod Crohnove bolesti koja je sklona razvoju fibrostenoza (70).

1.1.3.1. Čimbenici okoliša

Istraživanja kojima je dokazano kako useljenička populacija iz zemalja niskog u zemlje visokog rizika često poprima razinu rizika nove sredine za razvoj bolesti, potvrđuju utjecaj okoliša na nastanak upalnih bolesti crijeva.

Pušenje je značajan okolišni čimbenik u nastanku upalnih bolesti crijeva. Treba naglasiti kako pušenje ima suprotan učinak na klinički tijek ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti. Nepušači češće oboljevaju od ulceroznog kolitisa, s druge strane istraživanja su dokazala kako je Crohnova bolest češća u pušača (71). Prva istraživanja o učinku pušenja na nastanak bolesti potječu iz 1982. godine kada je Harries sa suradnicima došao do zaključka kako je ulcerozni kolitis velikim djelom bolest nepušača (72). Ubrzo nakon spoznaje o povezanosti pušenja i ulceroznog kolitisa provedena su prva istraživanja o povezanosti s Crohnovom bolesti. Istraživanja su ukazala na povezanost lokalizacije bolesti s količinom popušenih cigareta, tako da je Crohnova bolest tankog i debelog crijeva povezana s većim brojem popušenih cigareta (73). Iako se nikotin smatra glavnom aktivnom supstancom odgovornom za učinak pušenja na nastanak i tijek upalnih bolesti crijeva, mehanizmi djelovanja ostaje još uvijek do kraja nerazjašnjen (74). Zna se kako pušenje utječe na promjene staničnog i humoralnog imunog odgovora, razinu proupalnih citokina, crijevni motilitet i permeabilitet, promjene cirkulacije, stvaranje sluzi i razinu slobodnih radikala (75,76). S druge strane, mehanizam i razlozi dvojnog učinka na nastanak ulceroznog kolitis i Crohnove bolesti nije u potpunosti jasan. Pretpostavlja se da utjecaj ima lokalizacija bolesti, transmuralnost promjena, genetske varijacije te odgovor domaćina na luminalne bakterije (77).

Dosadašnja iskustva i istraživanja pokazala su kako je pojavnost ulceroznog kolitisa niža u ljudi koji su u mladosti apendektomirani zbog upale crvuljka (78). Primijećeno je kako od ranije apendektomirani pacijenti imaju blaži klinički tijek bolesti dok mehanizam kojim bi

apendektomija imala zaštitni učinak nije do kraja poznat (79, 80). Pretpostavlja se kako je temelj zaštitnog učinka apendektomije promijenjen imunološki odgovor. Zaštitni učinak kombinacije upale crvuljka i apendektomije ukazuje na moguće primarno mjesto crvuljka u nastanku imunog zbivanja odgovornog za nastanak ulceroznog kolitisa (81,82). Porast $FoxP3^{+}CD25^{+}$T stanica tijekom apendicitisa može potaknuti imunološki odgovor kojim prevenira autorekativnost kakvu imamo kod ulceroznog kolitisa (83). Treba naglasiti kako je protektivni učinak apendektomije zabilježen samo kod bolesnika koji su operirani mlađi od 20 godina te kod onih koji su operirani isključivo zbog apendicitisa ili mezenterijalnog limfadenitisa (84). S druge strane, nije dokazan utjecaj apendektomije na pojavnost Crohnove bolesti te se ne zna mehanizam takvog dvojnog učinka (85).

Zapadnjački način prehrane karakteriziran visokim udjelom proteina životinjskog porijekla te siromašan biljnim vlaknima, smatra se jednim od glavnih okolišnih rizičnih čimbenika za razvoj upalnih bolesti crijeva. Prehrana bogata vlaknima biljnog porijekla utječe na raznolikost crijevnih bakterija te tako i na njihovu proizvodnju metabolita blagotvornog učinka za crijevnu sluznicu (86,87). Isto tako, smanjena količina biljnih vlakana u prehrani dovodi do promjena u fiziološkoj crijevnoj flori tj. do disbioze i ekspanzije nepoželjnih bakterija koje razgrađuju crijevnu sluz što nadalje uzrokuje disfunkciju sluznice te tako utječe na povećanu sklonost razvoju upalnih bolesti crijeva i drugih kroničnih bolesti (88,89).

Istraživanja ukazuju na povezanosti upotrebe antianaerobnih antibiotskih lijekova u djetinjstvu i nastanka upalnih bolesti crijeva (90). Provedena je meta-analiza na više od 7200 pacijenata kako bi se utvrdilo postoji li povezanost upotrebe antibiotika i razvoja upalne bolesti crijeva. Dokazano je kako antibiotici povećavaju vjerojatnost nastanka Crohnove bolesti, ali ne i ulceroznog kolitisa (91).

Kod oboljelih od upalnih bolesti crijeva razina vitamina D često je snižena, ali bez jasne povezanosti sa samim nastankom bolesti, no s druge strane povezana je s aktivnošću Crohnove bolesti dok nadoknadom čini se kako poboljšavamo kvalitetu života oboljelih (92,93,94).

Istraživana je povezanost upalnih bolesti crijeva s brojnim drugim okolišnim čimbenicima poput stresa, poremećaja spavanja, upotrebe nesteroidnih protuupalnih lijekova, zagađenja zraka, zagađenja vode, dojenja, intolerancije na hranu, cijepljenja, osobne higijene, virusnih, bakterijskih i parazitskih infekcija. Rezultati su često bili oprečni i nejasni što upućuje na potrebu daljnjih istraživanja.

1.1.4. Ekstraintestinalne manifestacije

Ekstraintestinalne manifestacije (engl. *extraintestinal manifestation, EIM*) javljaju se kod ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti učestalošću 25-40%, ali ne podrazumijevaju sekundarne učinke osnovne bolesti poput anemije, sideropenije, hipokalcemije ili hipoalbuminemije, koje ima gotovo svaki bolesnik s aktivnom bolešću. Ekstraintestinalne manifestacije su direktno ovisne o crijevnoj bolesti i vjerojatno imaju zajedničku patogenezu (95). Dosadašnje spoznaje ukazuju na crijevni epitelni protein (engl. *Colonic Epithelial Protein,* CEP) i humani tropomiozin izoforma 5 (engl. *Human Tropomyosin Isoform 5*, hTM5), koji su osim u crijevu izraženi u žučnim vodovima, koži, očima i zglobovima kao vjerovatni glavni cilj autoimune reakcije na ekstraintestinalnim organima (96). EIM se ponekad javljaju i prije nego što se dijagnosticira osnovna upalna bolest crijeva, a uključuju promjene na koštanomišićnom sustavu, zglobovima, koži, sluznicama, očima, jetri, žučnim vodovima, bubrezima i dišnom sustavu.

Najčešće EIM su artritisi, spondiloartropatije, nodozni eritem, gangrenozna pioderma, aftozni stomatitis, primarni sklerozirajući kolangitis, autoimuni hepatitis, uveitis, episkleritis

(**Tablica 3**). Artritis kao najčešća ekstraintestinalna manifestacija, prisutan je u 17-30 % oboljelih od upalnih bolesti crijeva te može značajno utjecati na morbiditet i kvalitetu života (97,98). Javlja se kao periferni i aksijalni artritis. Periferni artritis ima do 30% oboljelih, može biti u formi pauciartritisa ili poliartritisa (99). Aksijalna zahvaćenost se može prezentirati izoliranom boli u leđima, sakroileitisom te ankilozantnim spondilitisom koji je češći kod Crohnove bolesti.

Tablica 3. Ekstraintestinalne manifestacije upalnih bolesti crijeva

	Ekstraintestinalne manifestacije
Koštanomišićni sustav	1. Ankilozantni spondiloartritis 2. Sakroileitis 3. Periferni artrits 4. Periostitis 5. Aseptička nekroza 6. Polimiozitis 7. Osteoporoza
Koža i usna šupljina	1. Nodozni eritem 2. Gangrenozna pioderma 3. Aftozni stomatitis 4. Sweetov sindrom 5. Psorijaza 6. Vitiligo
Hepatobilijarni sustav	1. Primarni sklerozirajući kolanitis 2. Autoimuni hepatitis 3. Kolangiokarcinom 4. Apsces jetre 5. Tromboza vene porte
Oči	1. Uveitis 2. Iritis 3. Episkleritis 4. Keratopatija
Kardiovaskularni sustav	1. Perikarditis, miokarditis, srčane aritmije 2. Arterijske i venske tromboembolije 3. Takayasu arteritis
Metabolizam	1. Usporen rast i razvoj 2. Zakašnjeli pubertet

Kožne promjene su prisutne u 2-34% oboljelih od upalnih bolesti crijeva (100). Nodozni eritem je najčešća kožna manifestacija u oboljelih od upalnih bolesti crijeva, nastaje u 4-15% oboljelih od Crohnove bolesti te 3-10% oboljelih od ulceroznog kolitisa, a češći je kod žena (101) (**Slika 5**). Gangrenozna pioderma javlja se kod 0,5-5% oboljelih od IBD-a (102) (**Slika 6**). Od ostalih kožnih manifestacija česte su psorijatične promjene na koži, aftozni stomatitis i Sweetov sindrom (akutna febrilna neutrofilna dermatoza).

Oči mogu biti zahvaćene upalnim promjenama poput episkleritisa, skleritisa i uveitisa (104). Još je Crohn 1925. godine objavio prve podatke o zahvaćenosti očiju kod pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Prva dva opisana pacijenta uz ulcerozni kolitis imali su keratomalaciju i kseroftalmiju (105). Očne komplikacije su češće ukoliko su upalom aficirani i zglobovi te je uočeno češće javljanje kod žena (106). Unatoč spoznaji kako pušači imaju manji rizik oboljevanja od ulceroznog kolitisa, podaci govore da su skloniji očnim komplikacijama (107).



Slika 5. Nodozni eritem (Preuzeto prema: Pellicer Z, Santiago JM, Rodriguez A, Alonso V, Antón R, Bosca MM. Management of cutaneous disorders related to inflammatory bowel disease. Ann Gastroenterol. 2012; 25:21-6.)



Slika 6. Gangrenozna pioderma (Preuzeto prema: Pellicer Z, Santiago JM, Rodriguez A, Alonso V, Antón R, Bosca MM. Management of cutaneous disorders related to inflammatory bowel disease. Ann Gastroenterol. 2012; 25:21-6.)

Upalne bolesti crijeva mogu biti praćeme različitim bolestima jetre i žučnih vodova, od kojih neke zahtijevaju samo praćenje, dok druge mogu dovesti do ozbiljnog oštećenja, poput fibroze i ciroze jetre. Isto tako mogu biti neposredno povezane s upalnom bolesti crijeva, ali i uzrokovane lijekovima ili metaboličkim poremećajima koji prate primarnu crijevnu bolest (108). Neke bolesti jetre mogu biti dijagnosticirane prije, istovremeno ali i nakon dijagnoze upalnih bolesti crijeva. Patogeneza hepatobilijarnih poremećaja kao i osnovne crijevne bolesti nije jasna do kraja, no zna se da je više čimbenika uključeno u njihov nastanak. Uz upalne bolesti crijeva, posebno uz ulcerozni kolitis, najviše se veže primarni sklerozirajući kolangitis (PSC) koji može dovesti do progresivnog oštećenja te posljedične ciroze sa zatajenjem i potrebe za transplantacijom jetre (109).

PSC pridružen upalnim bolestima crijeva značajno povećava rizik nastanka kolangiokarcinoma, karcinoma žučnog mjehura i hepatocelularnog karcinoma (110). Ostali manje česti poremećaji hepatobilijarnog sustava su primarna bilijarna ciroza (PBC), žučni kamenci, steatoza jetre, tromboza vene porte, apsces jetre i granulomatozni hepatitis.

Iako oboljeli od upalnih bolesti crijeva spram opće populacije imaju manje klasičnih kardiovaskularnih rizika poput pretilosti i hiperkolesterolemije, primjećena je povećana incidencija ishemijske bolesti srca, fibrilacije atrija, arterijske hipertenzije, cerebrovaskularnog inzulta i drugih kardiovaskularnih bolesti. Patogenetski mehanizam kojim nastaju kardiovaskularne bolesti nije uvijek isti. Nastanak perikarditisa smatra se imunološki posredovanim, miokarditis može biti uzrokovan kardiotoksičnim učinkom aminosalicilata, dok se Takayasu arteritis javlja u genetski predisponiranih osoba (111). Uzrokom povećanog rizika za razvoj venske tromboembolije smatraju se poremećaji broja trombocita, hiperkoagulabilnost krvi, endotelna disfunkcija, venska staza, ali i genetski pridruženi poremećaji poput deficita proteina C, proteina S ili antitrombina. Arterijski tromboembolijski poremećaji uzrokovani su endotelnom disfunkcijom, ubrzanom aterosklerozom te polimorfizmom NOD2/CARD15 gena.

Između brojnih tvari koje stvaraju endotelne stanice, dušikov oksid stvoren iz L-arginina uz pomoć endotelne sintaze smatra se ključnim medijatorom u nastanku endotelne disfunkcije. (112). Nadalje, prema dosadašnjim saznanjima kronična upala crijeva smatra se čimbenikom nastanka endotelne disfunkcije, strukturnih aterosklerotskih promjena te povećanog rizika obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti u pacijenata s IBD-om (113).

S obzirom na rastuću prevalenciju upalnih bolesti u dječjoj dobi, prepoznat je značaj metaboličkih poremećaja nastalih kao posljedica aktivne bolesti s bolovima u trbuhu, gubitkom apetita, malapsorpcijom, rezistencijom na hormon rasta, lošim nutritivnim statusom te posljedičnom sideropenijom, anemijom, hipokalcemijom i hipoalbuminemijom. Usporen rast i razvoj prepoznat je kao vrlo važna komplikacija bolesti sa češćom pojavom u oboljelih od Crohnove bolesti spram ulceroznog kolitisa (114,115). Zakašnjeli pubertet također može kompliciratи klinički tijek kod djece, češće ukoliko se radio o Crohnovoj bolesti, nekad i uz dobar nutritivni status što se djelom pripisuje utjecaju upalnih medijatora (116).

1.1.5. Dijagnoza

Dijagnoza upalnih bolesti crijeva zasniva se na iscrpnim anamnestičkim podacima te temeljitom fizikalnom pregledu. Oboljeli se mogu žaliti na bolove u trbuhu, proljevaste stolice, krvarenje te gubitak tjelesne mase, simptome koji nisu dovoljno specifični kako bi samo na osnovu njih mogli razlučiti o kojem obliku IBD-a se radi (117). Bolovi u trbuhu mogu biti difuzni, u lijevom hemiabdomenu kod zahvaćenosti upalom silaznog dijela debelog crijeva te u donjem desnom abdominalnom kvadrantu kod lokalizacije upalnih promjena u području terminalnog ileuma ili cekuma. Ukoliko se bolesnici žale na bol analno svakako treba misliti na perianalni oblik Crohnove bolesti (118). Isto tako ukoliko tegobe traju duže vrijeme moguć je i gubitak tjelesne težine. Nerijetko je klinički tijek Crohnove bolesti podmukao te s razvojem

fibroznih promjena tako da se bolesnik prezentira kliničkom slikom akutnog abdomena. U klinički težoj bolesti te ukoliko se formiraju apscesi moguć je febrilitet.

Fizikalni pregled uključuje procjenu uhranjenosti, hidracije i općeg stanja bolesnika. Temeljit fizikalni pregled trbuha inspekcijom, palpacijom i auskultacijom pomaže u dijagnosticiranju bolesti, isključujući palpabilne rezistencije i enterokutane fistule. Digitorektalni pregled s inspekcijom perianalne regije važan je radi isključivanja perianalne bolesti (119).

S obzirom da se radi o kroničnoj upalnoj bolesti, laboratorijskom; hematološkom i biokemijskom obradom možemo dokazati ubrzanu sedimentaciju eritrocita, povišene vrijednosti CRP-a, anemiju koja može biti normocitna (iako je najčešće mikrocitna sa sideropenijom), leukocitozu s neutrofilijom, hipoalbuminemiju, hipokalijemiju i hipokalcemiju. Povišeni kalprotektin u stolici je pokazatelj upale i migracije leukocita u probavni trakt te značajno korelira s crijevnom upalom, a kao takav osim u praćenju tijeka bolesti vrlo koristan u procjeni radi li se o simptomima upalne bolesti ili sindroma iritabilnog crijeva (120).

Metode slikovnog prikaza poput ultrazvuka trbuha, kompjutorizirane tomografije (CT) ili enterografije magnetskom rezonancom su vrlo vrijedne u dijagnostici te praćenju aktivnosti i i proširenosti IBD (121). Intestinalni ultrazvuk pokazao se iznimno učinkovitim u dijagnostici upalne bolesti tankog crijeva, detekciji muralnih i ekstramuralnih komplikacija (122). CT se korisiti za detekciju perforacija ili uzroka intestinalne opstrukcije, a CT enterografija za evaluaciju crijevnih stenoza. Magnetna rezonanca je metoda izbora u dijagnostici i praćenju rektalnih fistula.

Endoskopska evaluacija kolonoskopijom uz biopsiju sluznice, zajedno s histološkom pretragom čine temelj dijagnostike upalnih bolesti crijeva (123). Ukoliko su prisutni simptomi

gornjeg dijela probavnog trakta te ukoliko se radi o Crohnovoj bolesti potrebna je ezofagogastroduodenoskopska evaluacija.

Svakako, dio dijagnostičke obrade kliničkog stanja sumnjivog na upalnu bolest crijeva jest isključiti sindrom iritabilnog crijeva (124), crijevne infekcije enteropatogenim bakterijama, virusima i parazitima te stanja poput intolerancije glutena.

1.1.6. Liječenje

Aminosalicilati (sulfasalazin, mesalazin) su skupina protuupalnih lijekova koji blokiranjem stvaranja prostaglandina i leukotrijena djeluju blagotovorno na upalni proces te se stoga koriste kao temeljna terapija za upalne bolest crijeva i reumatološke bolesti (125).

Kortikosterodi su vrlo učinkoviti u postizanju remisije ukoliko se to nije postiglo aminosalicilatima (126), ali nisu prikladni za održavanje stabilne remisije zbog znatnih nuspojava dugotrajne upotrebe kortikosteroida. Prekid kortikosteroidne terapije koja je trajala duže od 3 tjedna mora biti postupan zbog supresije kore nadbubrežne žlijezde kako ne bi došlo do fenomena ustezanja i adrenalne insuficijencije. Za razliku od spomenutih kortikosteroida koji imaju sustavno djelovanja budesonid u svega 5-10% prolazi jetru te manjim djelom dospijeva u krvotok tako da nema sustavnog djelovanja (127). Kao topička terapija mogu se koristiti hidrokortizonske klizme za liječenje distalnog kolitisa (128).

Azatioprin je metabolit 6-merkaptopurina koji inhibira učinak i izaziva apoptozu T-stanica što ga čini učinkovitim u održavanju remisije (129). Metotreksat se ponekad koristi za postizanje remisije kada to nije uspjelo azatioprinom.

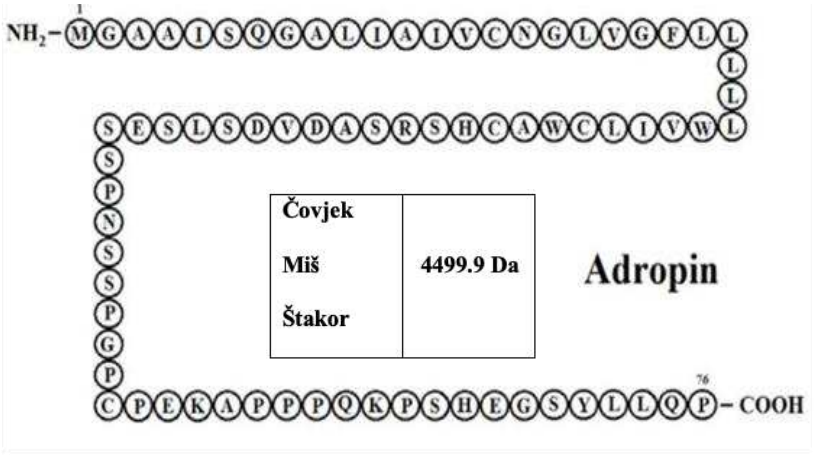
Pojavom nove skupine bioloških lijekova omogućeno je održavanje kliničke remisije upalnih bolesti crijeva bez nuspojava uzrokovanih dugotrajnim uzimanjem kortikosteroida ili

imunomodulatora. U ovu skupinu spadaju monokolonska protutijela protiv određenih upalnih medijatora poput TNF-α, interleukina 12 (IL-12), IL-23 te integrina $\alpha_4\beta_7$ (130,131). U skupinu anti-TNF-α lijekova spada infliksimab koji je monoklonsko kimerično, mišje-ljudsko protutijelo klase IgG1 koje se veže na TNFα i tako blokira njegovo daljnje djelovanje u upalnoj kaskadi. Adalimumab je rekombinantno humano IgG1 monoklonsko protutijelo koje također ima anti-TNFα učinak. Vedolizumab je monoklonsko protutijelo koje veže i blokira integrin $\alpha_4\beta_7$ te tako mijenja upalni odgovor (132). Ustekinumab je ljudsko monoklonsko protutijelo koje vezanjem za IL-12 i IL-23 ostvaruje protuupalni učinak. Biološki lijekovi se uvode klasičnim „*step-up*" pristupom liječenju, ukoliko se kortikosteroidima i imunomodulatorima nije postigla remisija bolesti. Temeljeno na novim spoznaja mijenja se i pristup u liječenju upalnih bolesti crijeva, tako da se umjesto „*step-up*" koristi „*top-down*" pristup ukoliko se na osnovu mlađe životne dobi, ekstenzije i aktivnosti bolesti te fistulirajuće-stenozirajućeg fenotipa procjeni visok rizik strukturnih promjena i potrebe za kirurškim zahvatom. „*Top-down*" pristup liječenju ranim uvođenjem bioloških lijekova i postizanjem stabilne remisije mjenja prirodni tijek upalnih bolesti crijeva.

Treba još spomenuti iz skupine malih molekula tofacitinib, Janus kinazni 3 (engl. *Janus Kinase*, JAK3) inhibitor koji interferira s JAK-STAT signalnim putem a koristi se u liječenju ulceroznog kolitisa (134). Ostala terapija uključuje antibiotike, probiotike, suprotivnu terapiju poput antidijaroika ili prokinetika, infuzije kristaloidnih otopina i humanih albumina. Ukoliko sve konzervativne metode liječenja ne daju željeni rezultat, izbor je pristupiti kirurškom zahvatu, primjerice u slučaju stenoza, fistula, apscesa ili toksičnog megakolona.

1.2. Adropin

Adropin je pleotropni peptid otkriven 2008. godine, koji ima važnu ulogu u regulaciji energije djelujući na metabolizam lipida i glukoze (135). Ime je dobio od latinskog korijena riječi „*aduro*“ i „*punguis*“ što znači „promiče izgaranje masti“. Kodiran je ENHO (engl. *Energy Homeostasis*) genom na kromosomu 9p13.3 te se sastoji od 25 egzona (136). Nakon proteolitičkog cijepanja prekursora od 76 aminokiselina adropin čini niz od 43 aminokiseline s istom sekvencom kod ljudi, miševa, štakora i svinja (137) (**Slika 7**).



Slika 7. Slijed aminokiselina u adropinu (Preuzeto i prilagođeno prema: Aydin S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. Peptides 2014;56:94-110.)

ENHO gen je najviše izražen u mozgu i jetri, no prisutan je također u mišićima, srcu, plućima, bubrezima, mononuklearnim leukocitima periferne krvi te stanicama karcinoma dojke (139,140). Aktivnost ENHO gena dokazana je u terminalnom ileumu i debelom crijevu primata (141), što ukazuje na moguću povezanost s nastankom upalnih bolesti crijeva. Adropin je prisutan u majčinom mlijeku, a tijekom trudnoće u krvi majke i krvi iz pupkovine.

Vrijeme poluživota adropina još uvijek nije točno određeno, no zna se da je, poput drugih sekretornih proteina, negdje između nekoliko minuta i pola sata (137). Biološki učinak adropina je moguć zahvaljujući interakciji s GPR19 receptorom (engl. *G Protein –Coupled Receptor, GPR*) (142). Osim učinka sekretornog proteina, adropin može biti dio stanične membrane te tako sudjelovati u međustaničnim signalnim putevima.

1.2.1. Adropin i metabolizam glukoze

Istraživanja na miševima potvrdila su ulogu adropina kao fiziološkog regulatora metabolizma glukoze i oksidacije masnih kiselina. Dokazano je kako se u miševa koji su pretili zbog hiperaklorijske dijete, davanjem adropina smanjuje inzulinska rezistencija, poboljšava tolerancija glukoze i oksidacija ugljikohidrata (143). Istraživanja provedena na bolesnim ljudima pokazala su značajnu povezanost serumske razine adropina, pretilosti i rizika za razvoj metaboličkog sindroma. Razina adropina bila je snižena u pretilih ispitanika s inzulinskom rezistencijom i smanjenom utilizacijom glukoze, dok je gubitak tjelesne težine utjecao na porast njegove razine uz smanjenje inzulinske rezistencije i poboljšanje parametara metabolizma glukoze (144).

1.2.2. Adropin i vazoprotekcija

Novija istraživanja dokazala su povezanost snižene razine adropina s visokim vrijednostima arterijskog tlaka. Negativna korelacija adropina s vrijednostima arterijskog tlaka kao i s razinom faktora vazokonstrikcije endotelina-1 govori u prilog povoljnog učinka na zaštitu krvnih žila (145,146). Isto tako, adropin je uključen u proces neovaskularizacije i vaskularne protekcije putem promocije endotelnog dušikovog oksida (NO), regulirajući receptor vaskularnog endotelnog faktor rasta 2 (engl. *Endothelial Growth Factor Receptor – 2,*

VEGF2) i učinak endotelne sintaze dušikovog oksida (engl. *Endothelial Nitric Oxide Synthase, eNOS*) (147). S druge strane, poznato je kako razina adropina i TNF-α imaju negativnu korelaciju i u drugim stanjima poput šećerne bolesti, ateroskleroze, sindroma policističnih jajnika, osteoartritisa, sindroma apneje u spavanju (148-150). Daljnji anti-aterosklerotski učinak adropina temelji se na supresiji upalnog odgovora u endotelnim stanicama, monocitima i makrofagima, supresiji adhezije monocita i endotelnih stanica te migraciji i proliferaciji glatkih mišićnih stanica krvnih žila (151).

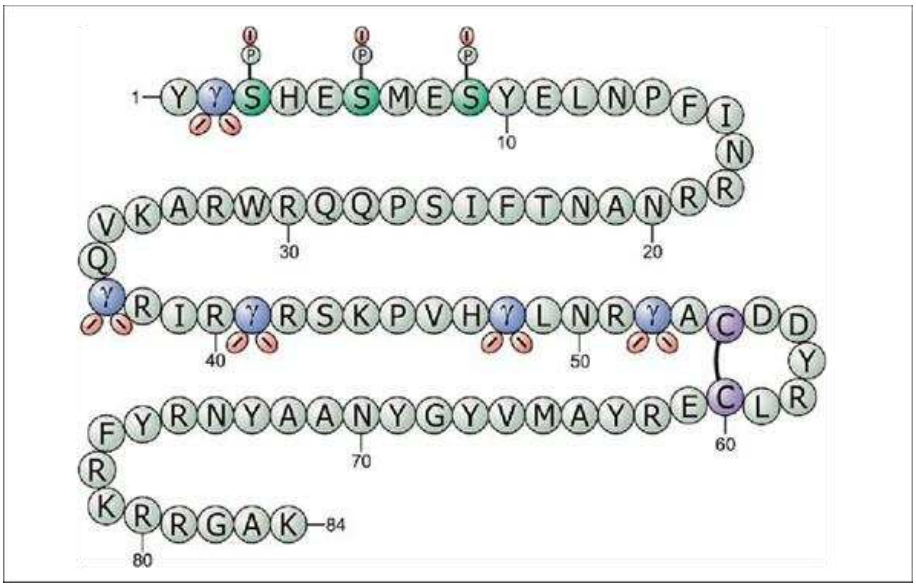
1.2.3. Adropin i druga stanja

Osim povezanosti razine adropina s TNF-α u sindromu apneje u spavanju, dokazana je i povezanost s aktivnošću same bolesti što nadalje sugerira i moguću ulogu u patofiziološkom procesu. Isto tako, zna se kako razina serumskog adropina negativno korelira s vrijednosti TNF-α, ali i aktivnošću osteoartritisa (152). Nadalje, istraživanja su pokazala da adropin ima zaštitnu ulogu u oštećenju jetre kod nealkoholnog steatohepatitisa regulirajući Nrf2 (engl. *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*) – ROS (engl. *Reactive Oxygen Species*) signalni put (152). Zbog visoke GPR19 mRNA kod karcinoma dojke, postoje naznake da bi adropin mogao biti uključen i u patogenezu ove bolesti (153). Aktivacijom i pojačanom ekspresijom GPR19 te posljedično tranzicijom mezenhimalnih u epitelne stanice mogla bi se potaknuti karcinogeneza i nastanak metastaza. S druge strane, razina adropina je snižena kod karcinoma endometrije i ne zna se točno koja bi bila njegova uloga u mehanizmu nastanka bolesti (154).

1.3. Matriks Gla protein

Matriks Gla protein (MGP) je protein ekstracelularnog matriksa ovisan o vitaminu K koji se sastoji od 84 aminokiseline **(Slika 8)**. Molekularna masa mu je 10.6 kDa, a sadrži pet γ-glutamatnih (Gla) rezidua i jednu disulfidnu vezu (156)**.** Prvi put je izoliran iz kosti goveda 1983. godine (157), da bi u slijedećih nekoliko godina bio otkriven kod čovjeka, miša, štakora, i morskog psa.

Najvećim dijelom stvaraju ga glatke mišićne stanice krvnih žila i hondrociti (158), a ima ga u kostima, srcu i bubrezima. MGP ima visok afinitet za vezanje kristala hidroksiapatita. Smatra se jednim od najjačih bioloških inhibitora kalcifikacije krvnih žila, a jedini ima sposobnost obrnuti proces kalcifikacije (159-161). MGP štiti krvne žile od kalcifikacije visokim afinitetom za vezanje kristala hidroksiapatita te tako spriječava nakupljanje u stijenci krvnih žila, kao i poticanjem arterijskih makrofaga na fagocitozu i apoptozu kompleksa MGP-hidroksiapatit (162). MGP onemogućava djelovanja BMP-2 (engl. *bone morphogenetic protein-2*) blokiranjem njegova vezanja za vlastiti receptor (159). BMP-2 se inače nalazi u pjenastim stanicama aterosklerotskog plaka te vezanjem na receptor potiče vaskularnu kalcifikaciju transformacijom glatkim mišićnih stanica stijenke krvnih žila.



Slika 8. Slijed aminokiselina u matriks Gla proteinu (Preuzeto i prilagođeno prema: Liabeuf S, Bourron O, Olivier B, Vemeer C, Theuwissen E, Magdeleyns E i sur. Vascular calcification in patients with type 2 diabetes: the involvement of matrix Gla protein. Cardiovascular Diabetology. 2014;13:85.)

Da bi postao metabolički učinkovit, MGP mora proći proces posttranslacijske modifikacije aktivacijom inaktivnog oblika koji je defosfoliran i nekarboksiliran (engl. *dephosphorylated-uncarboxylated Matrix Gla protein, dp-ucMGP*) (163)**.** Procesi γ-karboksilacije pet glutamatnih rezidua ovisan je o razini vitamina K, dok fosforilacija serinskih nastavaka to nije (164, 165). Razina inaktivnog MGP-a negativno korelira s razinom vitamina K, što znači da osobe s visokom razinom inaktivnog MGP-a imaju nisku razinu vitamina K i obratno. S obzirom da nema standardne metode kojom bi se procjenio status vitamina K, razina inaktivnog MGP-a često se koristi kao zamjenska metoda i marker razine vitamina K (166,167).

1.3.1 Inaktivni MGP i ateroskleroza

Dokazano je kako je povišena razina inaktivnog oblika MGP (dp-uc MGP) povezana je s brojnim kardiovaskularnim posljedicama i komplikacijama, uključujući endotelnu disfunkciju, sužavanje krvnih žila očne pozadine, aterosklerozu, tvrdoću stijenke aorte te povećan kardiovaskularni i ukupni mortalitet (168-170). Isto tako, Jaminon i sur. dokazali kako u bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem MGP može biti neovisni prediktor vaskularne kalcifikacije te poveznaost vaskularna ekspresija MGP-a s povećanim CAC (engl. *Coronary artery calcium*) zbirom, važnim neovisnim markerom kardiovaskularnog rizika (171).

1.3.2. Inaktivni MGP i kolitis

Nadalje, istraživanja ukazuju na mogući učinak MGP-a kao značajnog novootkrivenog medijatora u imunomodulaciji mezenhimalnim stromalnim stanicama miševa oboljelih od eksperimentalnog kolitisa (172). Naime, u eksperimentalnim istraživanjima dokazano je da pojačana ekspresija MGP u mezenhimalnim stromalnim stanicama utječe na smanjeno stvaranje upalnih citokina poput TNF-α i INF-γ te ublažavanje eksperimentalnog kolitisa, no za sada nisu rađena istraživanja na ljudima kako bi procjenili mogući značaj MGP-a u nastanku i aktivnosti upalnih bolesti crijeva.

1.3.3. Inaktivni MGP i druga stanja

MGP protein pokazao se kao vrijedan biljeg aktivnosti te prediktor ishoda u nekim drugim bolestima. Istraživanjem provedenim na ispitanicima s opstruktivnom apnejom tijekom spavanja potvrđena je povezanost MGP s pokazateljima koštanog zdravlja (161). Naime, inaktivni MGP bio je statistički značajno viši u OSA bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja (engl. Obstrucitve Sleep Apnea, OSA) spram kontrolne skupine, a vrijednosti

su pozitivno korelirale s AHI (engl. *Apnea-Hypopnea Index*) indeksom, pokazateljem aktivnosti bolesti. TBS (engl. *Trabecular Bone Score*) indeks bio je značajno niži u OSA pacijenata te je negativno korelirao s AHI indeksom, što ukazuje na to da vrijednosti inaktivnog MGP-a negativno koreliraju s TBS indeksom, pokazateljem koštanog zdravlja. Nadalje, istraživanja na ljudima i miševim potvrdila su pojačanu bubrežnu ekspresiju MGP-a te negativnu korelaciju s bubrežnom funkcijom, dok se razina tubulointersticijske ekspresije MGP-a može koristiti kao prediktor ishoda bubrežne bolesti (173).

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Glavni ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi razliku serumske razine adropina u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika
2. Utvrditi razliku serumske razine inaktivnog MGP-a u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati postoji li razlika u razinama adropina i dp-ucMGP-a između bolesnika koji boluju od Crohnove bolesti i one koji boluju od ulceroznog kolitisa
2. Ispitati postoji li povezanost razine adropina i dp-ucMGP-a s vrijednostima visoko osjetljivog C-reaktivnog proteina (hsCRP) i fekalnog kalprotektina
3. Ispitati postoji li povezanost razine adropina i dp-ucMGP-a s endoskopskim zbirovima aktivnosti bolesti
4. Ispitati postoji li razlika u razinama adropina i dp-ucMGP-a između skupine bolesnika koji su na biološkoj terapiji i skupine liječenih drugom terapijom
5. Ispitati postoji li povezanost razine adropina s parametrima metabolizma glukoze
6. Ispitati postoji li povezanost razine adropina i dp-ucMGP-a s trajanjem bolesti

Hipoteze istraživanja su:

1. Razina adropina bit će manja u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika
2. Razina dp-ucMGP-a proteina (inaktivni MGP) bit će veća u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Ispitanici

U oba istraživanja, uz informirani pristanak uključeni su odrasli ispitanici s dijagnosticiranom upalnom bolesti crijeva koji se liječe u Dnevnoj bolnici Zavoda za gastroenterologiju Kliničkog bolničkog centra Split.

Uključeni su ispitanici koji zadovoljavaju sljedeće kriterije:

- najmanje jedna godina trajanja bolesti
- zadnja tri mjeseca stabilna bolest
- dob između 18 i 65 godina

Isključeni su ispitanici koji su imali neki od isključnih kriterija:

- šećerna bolest
- druge endokrine bolesti
- kardiovaskularna bolest
- bubrežna bolest
- pulmonalna bolest
- maligna bolest
- zloupotreba lijekova i sredstava ovisnosti
- unos više od 40 g/dan alkohola
- terapija kortikosteroidima posljednja 3 mjeseca prije uključenja u studiju

U istraživanje kojim se ispitivala razina adropina u IBD populaciji, uključeno je ukupno 55 bolesnika (30 bolesnika s ulceroznim kolitisom i 25 s Crohnovom bolesti). Kontrolna skupina je uključivala 50 zdravih ispitanika.

U istraživanje kojim se ispitivala razina inaktivnog MGP-a u IBD populaciji, uključeno je 70 pacijenata (30 bolesnika s ulceroznim kolitisom i 40 s Crohnovom bolesti), te 60 kontrolnih zdravih ispitanika.

Dijagnoza ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti temeljena je na anamnestičkim, kliničkim, endoskopskim, histološkim i radiološkim kriterijama u skladu sa smjernicama Europskog društva za Crohn i kolitis (ECCO). U kontrolnu skupinu uključeni su zdravi dobrovoljci podudarne dobi i razdiobe spola s istraživanom skupinom. Provjereni su dostupni raniji medicinski podaci u svezi gastrointestinalnih tegoba: prema Rimskim IV kriterijima radi isključivanja sindroma iritabilnog kolona (bolovi u trbuhu ovisno o defekaciji, promjene u pražnjenju i konzistenciji stolice) te moguće intolerancije laktoze i glutena. Iz daljnjeg istraživanja isključeni su svi ispitanici kod kojih je utvrđeni neki od navedenih poremećaja.

3.2. Postupci

3.2.1. Antropometrijska mjerenja

Ispitanici obje skupine u oba istraživanja nakon uzimanja temeljitih anamnestičkih podataka, podvrgnuti su antropometrijskim mjerenjima: tjelesne težine, tjelesne visine i indeksa tjelesne mase, ITM (engl. *Body Mass Index, BMI*). Korištena je medicinska vaga s ugrađenim mjerenjem visine (Seca, Birmingham, UK). Indeks tjelesne mase izračunat je prema formuli = [tjelesna težina (kg)] / tjelesna visina na kvadrat (m2)]. Opseg struka mjeren je na sredini udaljenosti između donjeg ruba rebrenog luka u srednjoj aksilarnoj liniji i vrha grebena bočne kosti u stojećem uspravnom položaju. Opseg bokova mjeren je na razini najvećeg opsega glutelanih mišića, iznad linije što spaja velike trohantere bedrenih kostiju.

3.2.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza uzoraka

Svi uzorci krvi prikupljeni su natašte (nakon 12 sati gladovanja) polietilenskim kateterom iz kubitalne vene. Dio uzoraka krvi odmah je iskorišten za standardne laboratorijske parametre, dok je dio za analizu adropina i dp-ucMGP-a pohranjen na -80° C. Uzorci su analizirani u istom laboratoriju te su sve analize napravljene od strane istog specijaliste medicinske biokemije, koji nije bio upoznat kojoj skupini pojedini uzorci pripadaju. Razina adropina određen je metodom dvostrukog enzim-imunoadsorpcijskog testa (ELISA) (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame CA, USA). Kalibracija je dvostruko mjerena, vrijednosti optičke gustoće (engl. *Optical Density, OD*) bile su u skladu s vrijednostima prema uputama proizvođača, dok je koeficijent varijabilnosti bio <15%. Koncentracija kontrolnog uzorka bila je unutar predviđenih vrijednosti. Raspon vrijednosti eseja bio je 0,3-8,2 ng/mL s osjetljivošću 0,3 ng/mL. Razina inaktivnog MGP-a analizirana je metodom imunokemijske kemiluminiscencije (CLIA) putem IDS-iSYS InaKtif MGP seta (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Germany). Najniža razina detekcije bila je 200 pmol/L, intraesejni koeficijent varijabilnosti bio je 4,5% dok je interesejni bio 7,9%. Razina hsCRP-a određena je lateks turbidimetrijskom metodom (Abbott Laboratories, Chicago, USA).

Fekalni kalprotektin je preuzimao u sterilnim posudicama unutar tri dana od uzorkovanja, obučen i iskusan medicinski tehničar. Ekstracija i razrijeđivanja do koncentracije 1:500 je urađena je Buhlmann Calex Cap uređajem a prema uputama proizvođača (Buhlmann Laboratories Aktiengesellschaft, Schonenbuch, Switzerland). Koncentracija fekalnog kalprotektina je mjerena turbidimetrijskom imunoesej metodom koristeći Bühlmann fecal calprotectin turbo assay a kvantifikacija biokemijskim analizatorom Beckman Colter AU680 (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Ostali biokemijski parametri određeni su standardnim laboratorijskim metodama.

3.2.3. Procjena aktivnosti bolesti

Procjenu aktivnosti bolesti radio je uvijek isti iskusni gastroenterolog na osnovu kliničkih i endoskopskih pokazatelja, unutar dva tjedna od uzorkovanja krvi. U istraživanju kojim se određivala razine adropina za procjenu aktivnosti ulceroznog kolitisa korišteni su zbirovi UCEIS i MES, dok je za procjenu aktivnosti Crohnove bolesti korišten SES-CD. U istraživanju u kojem se određivala razina inaktivnog MGP-a za endoskopsku procjenu korišteni su zbirovi UCEIS i SES-CD.

UCEIS (engl. *Ulcerative Colitis Endocscopis Index of Severity*) je kvantitativni zbir za ocjenu upale sluznice temeljen na specifičnom endoskopskom nalazu. Ocjenjuju se tri parametra: uzorak krvnih žila, krvarenje, erozije i ulceracije. Ovisno o zbiru moguće su 4 ocjene aktivnosti bolesti: remisija (0-1); blagi oblik (2-4), umjereni oblik (5-6) i teški oblik (7-8).

MES zbir (engl. *Mayo Endoscopic Score*) također se koristi za procjenu aktivnosti ulceroznog kolitisa prema endoskopskom nalazu. U procjeni su moguća četiri stupnja aktivnosti: 0- remisija; 1- blagi oblik bolesti s eritemom, blago trošnom sluznicom i reduciranim krvnim žilama; 2- umjereni oblik bolesti sa značajnim eritemom, trošnom sluznicom, erozijama i gubitkom uzorka krvnih žila; 3- teški oblik bolesti sa spontanim krvarenjima i ulceracijama.

Mayo zbir za procjenu aktivnosti ulceroznog kolitisa temelji se na 4 značajke (krvarenje, učestalost stolica, endoskopskom nalazu i procjeni liječnika).

SES-CD (engl. *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*) je endoskopski sustav ocjene aktivnosti Crohnove bolesti. Prema vrijednostima četiri su praga aktivnosti bolesti: ≤2 remisija; 2–7 blagi oblik; 7–16 umjereni oblik i≥16 teški oblik bolesti.

CDAI (engl. *Crohn's Disease Activity Index)* je kvantitativni zbir koji se temelji na kliničkim znakovima, rezultatima laboratorijskih testova i simptomima koje bolesnik prijavi

unatrag 7 dana. Tri su stupnja aktivnosti bolesti: <150- remisija; 150-450 umjerena aktivnost; i teški oblik bolesti >450.

Harvey-Bradshaw zbir (engl. *Harvey-Bradshaw Index, HBI*) je pojednostavljena varijanta CDAI za procjenu aktivnosti Crohnove bolesti. Prag s četiri stupnja aktivnosti je: <5- remisija, 5-7 blaga aktivnost, 8-16 umjerena aktivnost; i >16 teški oblik bolesti.

S obzirom na moguću nedosljednost kliničkih pokazatelja aktivnosti upalnih bolesti crijeva, prema ECCO smjernicama iste treba koristiti s oprezom. Stoga je preporuka endoskopske zbirove koristiti za klasifikaciju dok je kliničke značajke poželjno koristiti deskriptivno.

3.3. Statistička analiza podataka

Za izračun potrebne veličine uzorka istraživanja korišten je statistički program MedCalc za Windows, verzija 17.9.4. (MedCalc Software, Ostend, Belgija) te t-test za nezavisne uzorke.

Za potrebe istraživanja razine adropina podaci su dobiveni pilot istraživanjem na 12 ispitanika odabranih slučajnim odabirom iz populacije IBD bolesnika (6 s Crohnovom bolesti i 6 s ulceroznim kolitisom) te 12 kontrolnih ispitanika. Vrijednost serumskog adropina u bolesnika s upalnom bolesti crijeva bila je 2,72 ± 0,72 ng/mL, dok je u kontrolnoj skupini bila 3,19 ± 0,65 ng/mL. Uz α od 0,05 te snagu istraživanja od 90% , izračunata potrebna veličina uzorka je iznosila 46 ispitanika po skupini.

Za istraživanje razine inaktivnog MGP-a podaci su dobiveni pilot istraživanjem na 10 ispitanika odabranih slučajnim odabirom iz populacije IBD bolesnika (5 s Crohnovom bolesti i 5 s ulceroznim kolitisom) te 10 kontrolnih ispitanika. Vrijednosti dp-ucMGP-a u bolesnika s upalnom bolesti crijeva bila je 648,8 ± 128,8 pg/mL, a u kontrolnoj skupini 568,2 ± 112,4

pg/mL. Uz α 0,05 te snagu istraživanja od 90% izračunata je potrebna veličina uzorka je iznosila 52 ispitanika po skupini.

Za statističku obradu ukupnih podataka istraživanja korišten je također statistički paket MedCalc za Windows, verzija 17.9.4. (MedCalc Software, Ostend, Belgija). Kvantitativni podaci izraženi su kao aritmetička sredina ± standardna devijacija ili medijan i interkvartilni raspon dok su kvalitativni podaci i izraženi kao cijeli brojevi i postotci. Normalnost distribucije podataka testirana je Kolmogorov-Smirnov testom. Za usporedbu kvalitativnih varijabli korišten je hi-kvadrat test ili Fisherov egzaktni test. Za usporedbu kvantitativnih varijabli koristili su se t-test za nezavisne uzorke, Mann-Whitney U test ili jednosmjerni ANOVA test s post hoc Scheffé testom. Za određivanje povezanosti između kvantitativnih varijabli koristili su se Pearsonova i Spearmanova metoda korelacije. Multipla linearna regresijska analiza prilagođena za dob i antropometrijska mjerenja korištena je za utvrđivanje značajnih neovisnih prediktora razine inaktivnog MGP-a u plazmi. Multivarijatna logistička regresijska analiza koristila se za određivanje neovisnih prediktora pozitivnog IBD statusa. Statistička značajnost postavljena je na vrijednost $P<0,05$.

4. REZULTATI

4.1. Osnovne značajke i laboratorijski parametri

U istraživanje razine adropina uključeno je ukupno 105 ispitanika, 55 je pripadalo skupini oboljelih od upalne bolesti crijeva dok je 50 ispitanika pripadalo kontrolnoj skupini. Nije zabilježeno statistički značajne razlike u dobi, spolu i antropometrijskim značajkama između ove dvije skupine ispitanika (P>0,05; za sve analize) (**Tablica 4**). Prema endoskopskom zbiru aktivnosti bolesti 4 pripadnika skupine oboljelih bili su u remisiji, 6 je imalo blagi oblik bolesti, 35 umjereni a 10 teški oblik bolesti. Ispitanici oboljeli od ulceroznog kolitisa imali su umjereni do teški oblik bolesti, dok je većina ispitanika oboljelih od Crohnove bolesti imalo umjereno aktivnu bolest. Laboratorijska analiza pokazala je značajno niži hemoglobin (137,5 ± 21,1 vs 148,4 ± 12,9 g/L, P = 0,001), ureu (4,4 ± 1,3 vs 5,4 ± 1,5 mmol/L, P = <0,001) i serumske albumine (39,5 ± 5,6 vs 44,1 ± 2,6 g/L, P = <0,001) u skupini oboljelih ispitanika uspoređujući ih s kontrolnom skupinom ispitanika (**Tablica 5**).

U istraživanje razine inaktivnog matriks Gla proteina uključeno je ukupno 130 ispitanika, 70 u skupinu oboljelih od upalnih bolesti crijeva te 60 u kontrolnu skupinu zdravih ispitanika. Nije zabilježeno statistički značajnih razlika u dobi, spolu i antropometrijskim značajkama između dvije skupine ispitanika (P > 0,05; za sve analize) (**Tablica 6**). Prema endoskopskom zbiru procjene aktivnosti bolesti 8 oboljelih ispitanika bilo je u remisiji, 9 je imalo blagi oblik, 33 umjereni dok je 20 ispitanika imalo teški oblik bolesti. Statističkom obradom laboratorijskih parametara dokazan je značajno viši hsCRP u skupini oboljelih spram kontrolne skupine (2,65 (1,0-7,8) *vs* 0,75 (0,4-1,75) mg/L, P < 0,001) (**Tablica 6**).

Tablica 4. Osnovne značajke oboljelih i kontrolne skupine u istraživanju razine adropina

Parametar	**IBD grupa (N=55)**	**Kontrolna grupa (N=50)**	***P****
Muškarci (N, %)	32 (58,2)	30 (60,0)	0,850
Dob (godine)	39,2 ± 14,2	37,1 ± 12,6	0,421
Tjelesna težina (kg)	73,9 ± 15,1	78,7 ± 12,5	0,080
Tjelesna visina (cm)	176,5 ± 10,1	179,7 ± 9,2	0,101
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	23,6 ± 3,9	24,3 ± 2,5	0,292
Opseg struka (cm)	86,1 ± 13,4	86,3 ± 11,1	0,935
Opseg bokova (cm)	95,1 ± 15,2	98,5 ± 12,8	0,205
Trajanje bolesti (godine)	8,4 ± 7,9	-	-
Hospitalizacije zbog IBD-a	2,0 (0,0-3,0)	-	-
Ekstraintestinalne manifestacije (N, %)	19 (34,5)	-	-
UCEIS zbir [a]	6,0 (5,0-7,0)	-	-
MES zbir [a]	2,5 (2,0-3,0)	-	-
Mayo zbir [a]	4,5 (2,0-7,0)	-	-
SES-CD [b]	8,0 (3-12)	-	-
HBI zbir [b]	4,0 (1,7-6,0)	-	-
CDAI zbir [b]	56,0 (29,0-133,0)	-	-
Aminosalicilati	36 (65,4%)	-	-
DMARD	19 (34,5%)	-	-
Monoklonska protutijela	33 (60,0%)	-	-

Kratice: UCEIS – engl. Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity; **MES** – engl. Mayo Endoscopic Score; **SES-CD** – engl. Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease; **HBI** – engl. Harvey Bradshaw Index; **CDAI** – engl. Crohn's Disease Activity Index; **DMARD** – engl. Disease-modifying antirheumatic drug
Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardn devijacija ili medijan (IQR)
*hi-kvadrat test ili t-test za nezavisne uzorke
[a]Ulcerozni kolitis grupa (N=30)
[b]Crohnova bolest grupa (N=25)

Tablica 5. Laboratorijski parametri IBD bolesnika i zdrave kontrolne skupine u istraživanju razine adropina

Parametar	IBD grupa (N=55)	Kontrolna grupa (N=50)	*P**
Hemoglobin (g/L)	137,5 ± 21,1	148,4 ± 12,9	0,001
Glukoza na tašte (mmol/L)	5,0 ± 0,8	5,1 ± 0,7	0,594
Inzulin na tašte (pmol/L)	61,5 ± 16,5	68,1 ± 19,0	0,117
Urea (mmol/L)	4,4 ± 1,3	5,4 ± 1,5	<0,001
Urična kiselina (μmol/L)	276,5 ± 76,4	297,3 ± 77,2	0,169
Ukupni bilirubin (μmol/L)	12,9 ± 8,0	15,6 ± 8,7	0,097
Ukupn proteini (g/L)	72,6 ± 7,6	73,2 ± 3,7	0,581
Albumini (g/L)	39,5 ± 5,6	44,1 ± 2,6	<0,001
hsCRP (mg/L)	6,4 ± 3,01	1,37 ± 0,95	<0,001
Trigliceridi (mmol/L)	1,33 ± 1,26	1,24 ± 0,6	0,672
Ukupni kolesterol (mmol/L)	5,02 ± 1,52	5,25 ± 1,19	0,391
HDL kolesterol (mmol/L)	1,37 ± 0,43	1,41 ± 0,32	0,630
LDL kolesterol (mmol/L)	2,98 ± 1,2	3,25 ± 1,1	0,237
Fekalni kalprotektin (μg/g)	220 (13,5-632)	-	-

Kratice: hsCRP-engl. high sensitivity C-reactive protein; **HDL-** high-density lipoprotein; **LDL-** low-density lipoprotein. Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija ili mediaan (interkvartilni raspon-IQR).
*t-test za nezavisne uzorke

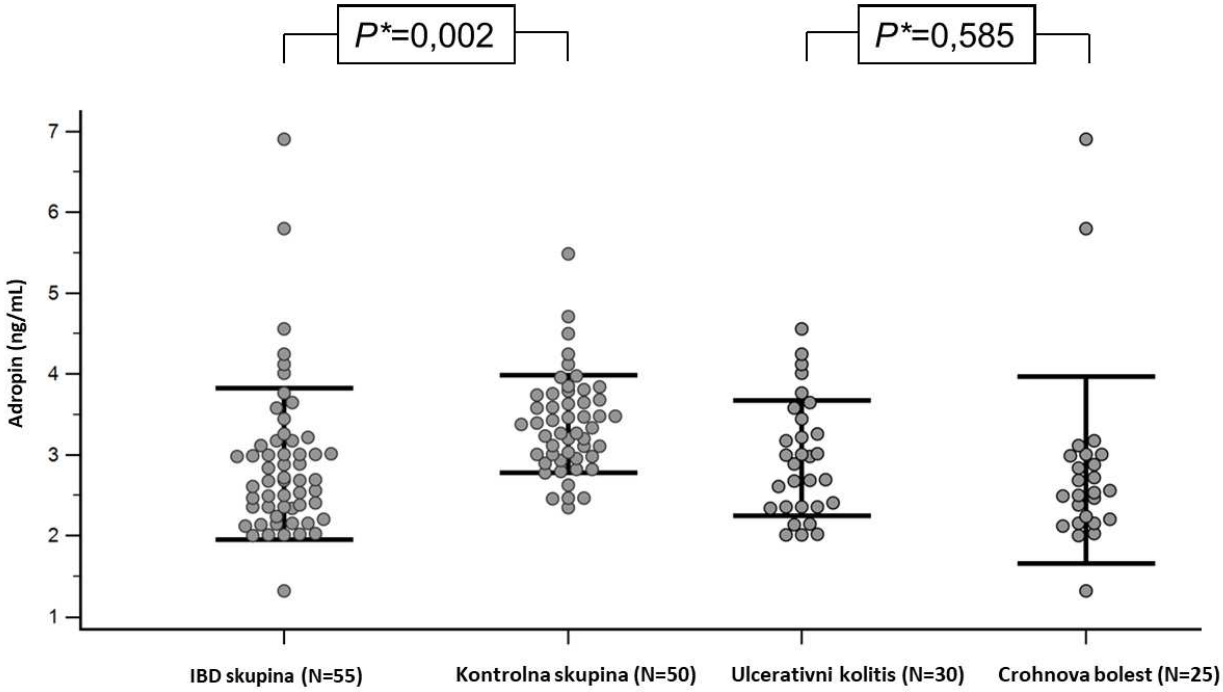
Tablica 6. Osnovne značajke IBD pacijenata i zdrave kontrolne skupine u istraživanju MGP

Parametar	IBD grupa (*n*=70)	Kontrolna grupa (*n*=60)	*P*
Muškarci (N, %)	46 (65,7)	38 (63,3)	0,778[a]
Žene (N, %)	24 (34,3)	22 (36,7)	
Dob (godine)	40,8 ± 14,9	38,7 ± 12,6	0,390[b]
Tjelesna težina (kg)	77,7 ± 12,5	81,3 ± 13,2	0,111[b]
Tjelesna visina (cm)	177,7 ± 8,2	180,1 ± 9,1	0,132[b]
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	24,6 ± 3,5	25,0 ± 2,8	0,493[b]
Opseg bokova (cm)	88,1 ± 12,6	88,0 ± 12,1	0,997[b]
hsCRP (mg/L)	2,65 (1,0-7,8)	0,75 (0,4-1,75)	<0,001[c]
Fekalni kalprotektin (μg/g)	235 (56,0-658)	-	-
Trajanje bolesti (godine)	8,5 (3,5-13,0)	-	-
UCEIS zbir	6,0 (5,0-7,0)	-	-
SES-CD	10,3 (5,2-13,6)	-	-
Biološka terapija (N, %)	48 (68,5%)	-	-

Kratice: UCEIS – engl. Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity; **SES-CD –** engl. Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease**; hsCRP –** engl. high sensitivity C-reactive protein
Podaci su izraženi kao aritmetička sredina ± standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon) ili N (%)
[a] *hi-kvadrat test* [b] t-test za nezavisne uzorke [c] Mann-Whitney U test

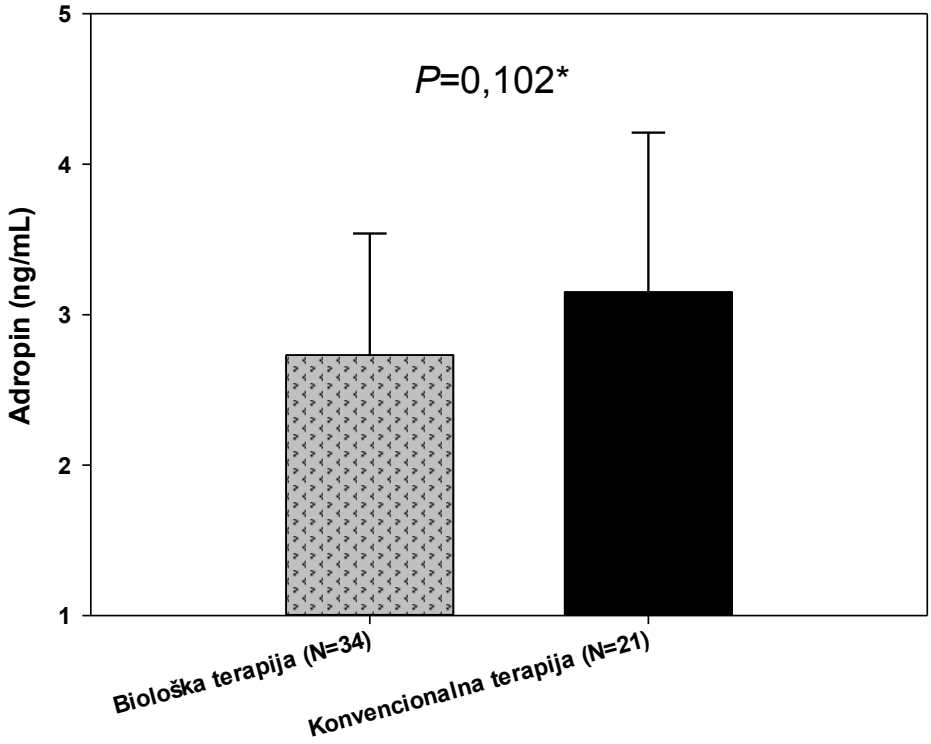
4.2. Razina serumskog adropina u IBD bolesnika i kontrolnoj skupini

Razina adropina u serumu bila je statistički značajno niža u skupini ispitanika oboljelih od upalnih bolesti crijeva spram kontrolne zdrave skupine ispitanika (2,89 ±0,94 vs 3,37 ± 0,60 ng/mL, *P* = 0,002). Uspoređujući postoji li razlika u razini serumskog adropina između dva klinička oblika upalnih bolesti crijeva nije dokazana statistički značajna razlika između skupina oboljelih od ulceroznog kolitisa i oboljelih od Crohnove bolesti (2,96 ± 0,71 vs 2,81 ± 1,16 ng/mL, *P* = 0,585) (**Slika 9**). Nadalje, nije bilo značajne razlike u razinama adropina između onih ispitanika koji su primali biološku terapiju u odnosu na one s konvencionalnom terapijom (2,73 ± 0,81 vs 3,15 ± 1,06, *P*=0,102) (**Slika 10**).



Slika 9. Serumska razina adropina u IBD grupi i kontrolnoj grupi (A) i grupi ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti (B).

*t-test za nezavisne uzorke

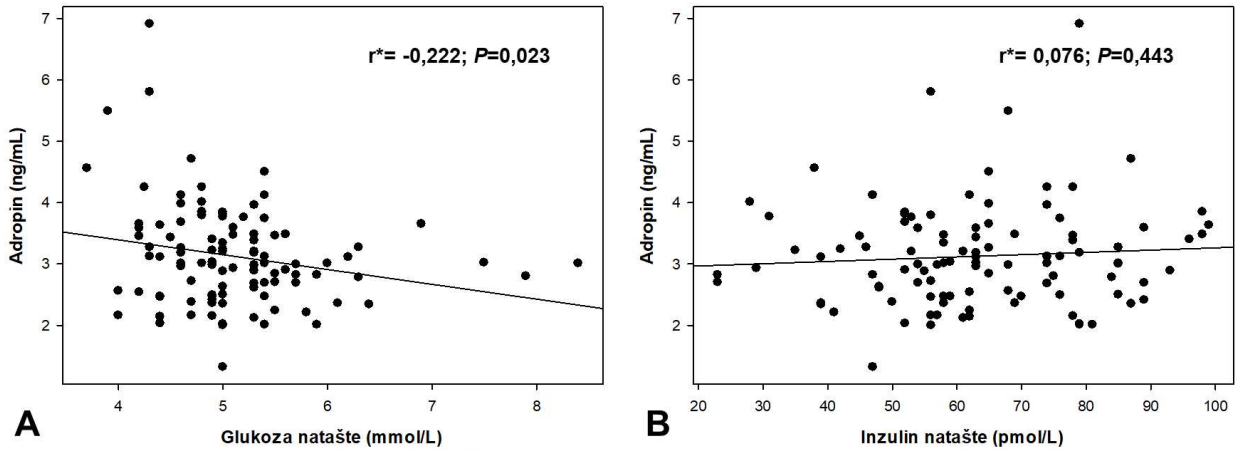


Slika 10. Serumska razina adropina u ispitanika na biološkoj terapiji u odnosu na one s konvencionalnom terapijom

*t-test za nezavisne uzorke

4.3. Korelacija adropina s drugim parametrima

Analizirajući korelaciju serumske razine adropina s razinom hsCRP-a u oboljelih od upalnih bolesti crijeva nije pronađena statistički značajna povezanost (r = -0,101, *P* = 0,461), za razliku od ukupne populacije ispitanika gdje je dokazana značajna negativna korelacija (r = -0,235, *P* = 0,015) (**Tablica 7**). U ukupnoj ispitivanoj populaciji dokazana je i značajna negativna korelacija serumske razine adropina s glukozom na tašte (r = -0,222, *P* = 0,023) (**Slika 11**).



Slika 11. Analiza korelacija serumske razine adropina i razine glukoze na tašte (A), razine inzulina (B) u ukupnoj populaciji (N=105)

*Pearsonov koeficijent korelacije

Nadalje, u skupini oboljelih pronađena je statistički značajna negativna korelacija između serumske razine adropina i razine fekalnog kalprotektina (r = -0,303, *P* = 0,025) (**Tablica 7**).

Tablica 7. Analiza korelacije serumske razine adropina s biokemijskim i antropometrijskim parametarima

	Adropin (ng/mL)	
Parametar	**Ukupna populacija (N=105)**	**IBD skupina (N=55)**
	r*(*P*)	**r*(*P*)**
Ukupni proteini (g/L)	-0,075 (0,449)	-0,135 (0,326)
Albumini (g/L)	0,124 (0,208)	-0,074 (0,589)
Trigliceridi (mmol/L)	-0,184 (0,059)	-0,103 (0,456)
Ukupni kolesterol (mmol/L)	-0,031 (0,754)	-0,084 (0,542)
HDL kolesterol (mmol/L)	0,123 (0,211)	-0,036 (0,797)
LDL kolesterol (mmol/L)	-0,008 (0,934)	-0,055 (0,692)
Dob (godine)	-0,268 (0,087)	-0,069 (0,614)
Trajanje bolesti (godine)	-	0,045 (0,745)
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	0,040 (0,688)	0,029 (0,834)
Opseg struka (cm)	-0,047 (0,636)	-0,004 (0,975)
Fekalni kalprotektin (μg/g)	-	-0,303 (0,025)
hsCRP (mg/l)	-0,235 (0,015)	-0,101 (0,461)

Kratice: hsCRP- engl. *high sensitivity C-reactive protein*; **IBD-** engl. *Inflammatory Bowel Disease*; **HDL-** high-density lipoprotein; **LDL-** low-density lipoprotein.
* Pearsonov koeficijent korelacije

Štoviše, multipla linearna regresijska analiza pokazala je da razina adropina zadržava značajnu korelaciju s fekalnim kalprotektinom (β ± SE, 0,003 ± 0,001, *P* = 0,014) i nakon prilagodbe modela za dob, ITM i spol, sa serumskom razinom adropina kao ovisnom varijablom. Analizirajući zbirove aktivnosti bolesti, u oboljelih od ulceroznog kolitisa dokazana je statistički značajna negativna korelacija između razine adropina i UCEIS (r = -0,372, *P* = 0,043) te Mayo zbira (r = -0,369, *P* = 0,044). Isto tako dokazana je značajna negativna korelacija između zbirova aktivnosti za Crohnovu bolest i razine adropina: SES-CD (r = -0,514, *P* = 0,008), HBI (r = - 0,568, *P* = 0,003) i CDAI (r = -0,469, *P* = 0,018) (**Tablica 8**).

Tablica 8. Analiza korelacije između zbirova aktivnosti IBD-a i serumske razine adropina

Parametar	Adropin (ng/mL)	
	r*	*P*
Ulcerozni kolitis (N=30)		
UCEIS zbir	-0,372	0,043
Mayo zbir	-0,369	0,044
Crohnova bolest (N=25)		
SES-CD	-0,514	0,008
HBI zbir	-0,568	0,003
CDAI zbir	-0,469	0,018

Kratice: UCEIS- engl. *Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity*; **SES-CD –** engl. *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*; **HBI –** engl. *Harvey Bradshaw Index*; **CDAI –** engl. *Crohn's Disease Activity Index*
* Spearmanov koeficijent korelacije

4.4. Adropin kao prediktor pozitivnog IBD statusa

Multivarijatna logistička regresijska analiza dokazala je da serumska razina adropina navedena uz druge osnovne značajke, predstavlja značajan prediktor pozitivnog IBD statusa (OR 0,455, 95% CI 0,251 – 0,823, *P* = 0,009) (**Tablica 9**).

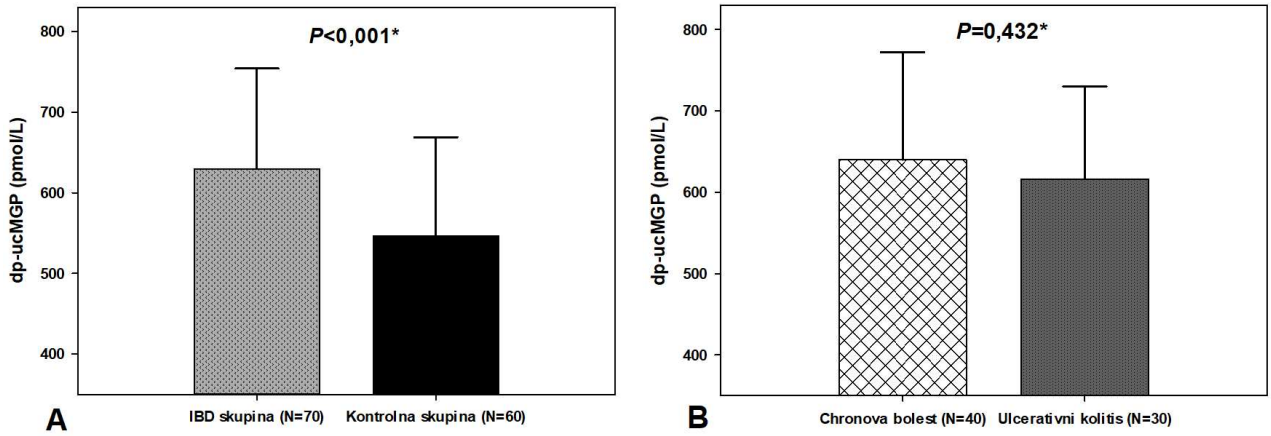
Tablica 9. Multivarijatna logistička regresijska analiza nezavisnih prediktora pozitivnog IBD statusa

Varijabla	OR	95% CI	*P*
Dob (godine)	1,014	0,975 – 1,053	0,484
BMI (kg/m^2)	0,863	0,694 – 1,073	0,186
Opseg struka (cm)	1,018	0,958 – 1,082	0,552
Spol	0,853	0,345 – 2,011	0,731
Adropin (ng/mL)	0,455	0,251 – 0,823	0,009

Kratice: 95% CI- 95% interval pouzdanosti; **BMI**- engl. *body mass index*; **OR-** engl. *multivariable adjusted odds ratio.*

4.5. Razina inaktivnog MGP-a u IBD bolesnika i kontrolnoj skupini

Serumska razina inaktivnog MGP-a bila je statistički značajno viša u skupini ispitanika oboljelih od upalnih bolesti crijeva nego u kontrolnoj zdravoj skupini (629,83 ± 124,20 *vs* 546,7 ± 122,09 pmol/mL, $P < 0,001$), dok s druge strane nije bilo statistički značajne razlike između ispitanika oboljelih od Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa (640,02 ± 131,88 *vs* 616,23 ± 113,92 pmol/mL, $P = 0,432$) (**Slika 12**).



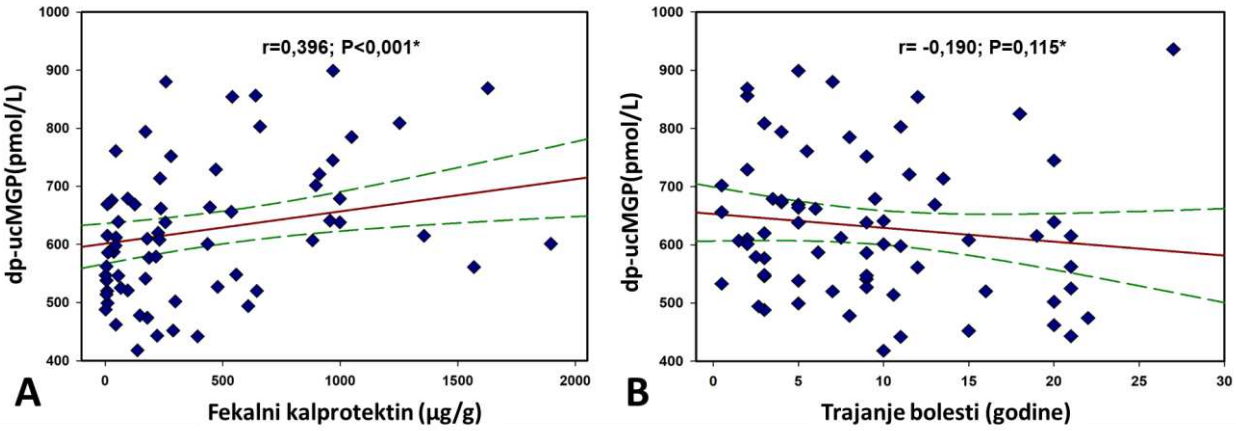
Slika 12. Razina inaktivnog MGP-a u (**A**) IBD pacijenata i kontrolnoj grupi; (**B**) u pacijenata s Crohnovom bolesti i pacijenata s ulceroznim kolitisom.

* t-test za nezavisne uzorke

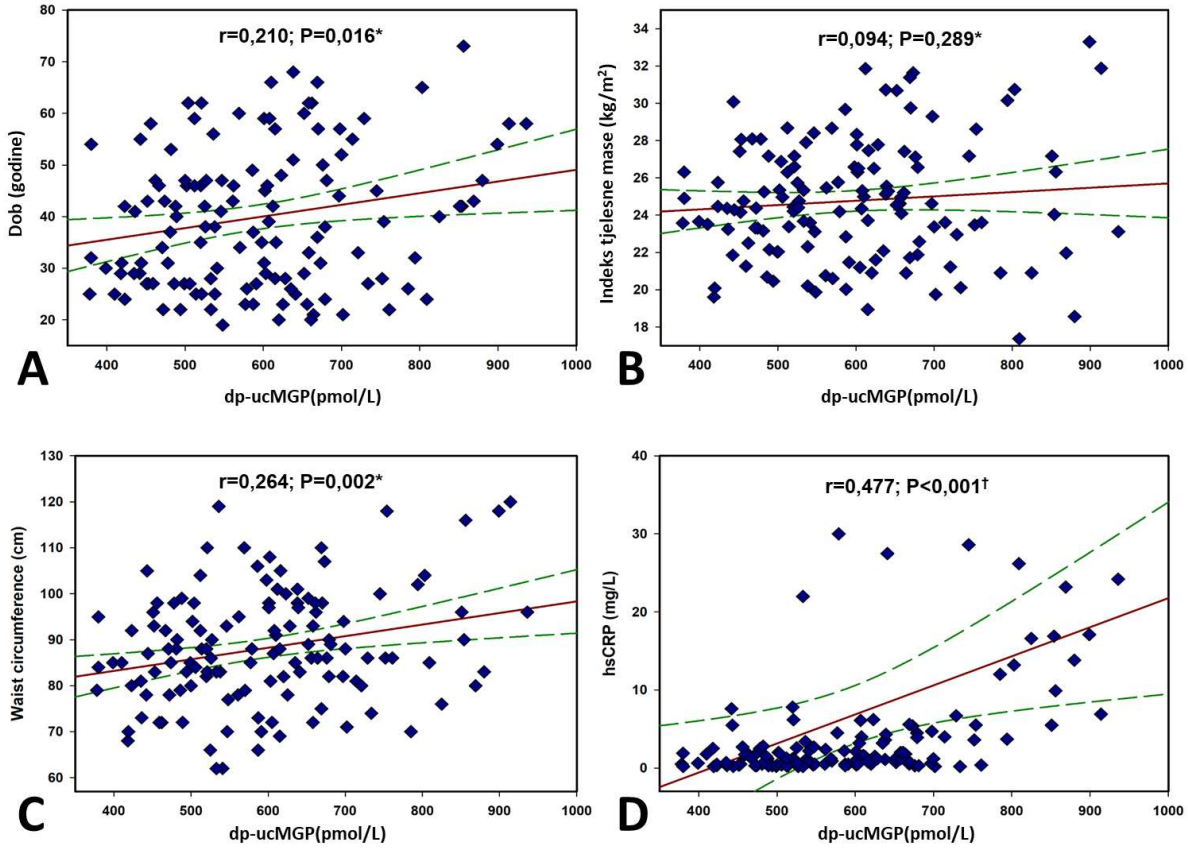
4.6. Korelacija inaktivnog MGP i drugih parametara

Značajna pozitivna korelacija između razine inaktivnog MGP-a i fekalnog kalprotektina dokazana je u skupini bolesnika oboljelih od upalne bolesti crijeva (r = 0,396, $P < 0,001$), ali bez statistički značajne korelacije između serumske razine inaktivnog MGP-a i trajanja bolesti (r = -0,190, $P = 0,115$) (**Slika 13**). Dodatno, u ukupnoj ispitivanoj populaciji dokazana je značajna pozitivna korelacija između razine inaktivnog MGP-a i hsCRP-a (r = 0,477, $P < 0,001$), životne dobi (r = 0,210, $P = 0,016$) i opsega struka (r = 0,264, $P = 0,002$), ali ne i ITM-a (r = 0,094, $P = 0,289$) (**Slika 14**). Nadalje, nije bilo statistički značajne korelacije u pacijenata

s ulceroznim kolitisom između razina inaktivnog MGP-a i UCEIS zbroja (r = 0,173, *P* = 0,361), kao ni između inaktivnog MGP-a i SES-CD zbroja u pacijenata s Crohnovom bolesti (r= -0,083, *P*=0,612).



Slika 13. Korelacija između razine inaktivnog MGP-a i (A) razine fekalnog kalprotektina, i (**B**) trajanja bolesti u pacijenata s IBD-om (n=70). Zelena linija predstavlja 95%-tni interval pouzdanosti

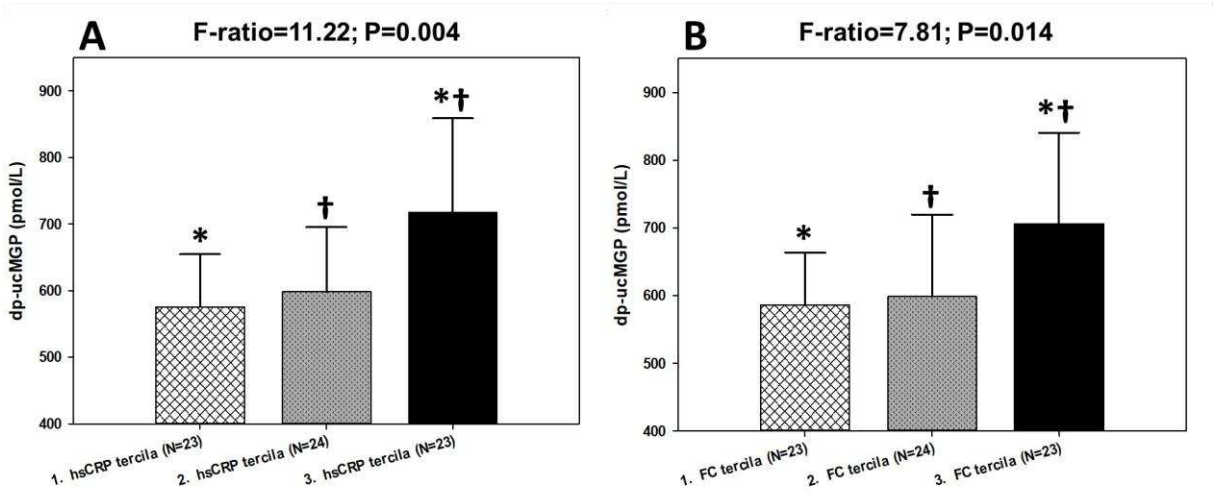


Slika 14. Analiza korelacije razine inaktivnog MGP i (**A**) dobi, (**B**) ITM, (**C**) opsega struka i (**D**) hsCRP-a u ukupnoj populaciji (n=130). Zelena linija predstavlja 95%-tni interval pouzdnosti

* Pearsonov korelacijski koeficijent

† Spearmanov korelacijski koeficijent

Usporedbom tercila hsCRP-a u bolesnika oboljelih od upalnih bolesti crijeva (F-ratio = 11,22, P = 0,004) dokazana je značajno višu razinu inaktivnog MGP-a u trećoj tercili uspoređujući s drugom i prvom tercilom ($P < 0,05$) (**Slika 15A**). Isto tako, usporedbom tercila fekalnog kalprotektina u oboljelih ispitanika (F-ratio = 7,81, $P = 0,014$) dokazana je značajno viša razina inaktivnog MGP-a u trećoj tercili uspoređujući s drugom i prvom tercilom ($P < 0,05$) (**Slika 15B**).



Slika 15. Koncentracije inaktivnog MGP-a između (**A**) tercila hsCRP-a i (**B**) razine fekalnog kalprotektina. Kratice: **FC-** engl. *fecal calprotectin***; hsCRP-** engl. *high sensitivity C-reactive protein*. Analiza jednosmjernim testom varrijance (ANOVA) s post hoc Sceffé testom radi ispitivanja razlika između grupa.

*$P < 0,05$ *vs* prva hsCRP/FC tercila

†$P < 0,05$ *vs* druga hsCRP/FC tercila

Multipla linearna regresijska analiza dokazala je da su razine inaktivnog MGP-a zadržale značajnu povezanost s fekalnim kalprotektinom (β ± SE, 0,06 ± 0,02, $P = 0,003$) i opsegom struka (4,35 ± 1,72, $P = 0,013$) nakon prilagodbe modela za indeks tjelesne mase, životnu dob i trajanje bolesti, s razinom inaktivnog MGP-a kao ovisnom varijablom (**Tablica 10**).

Tablica 10. Multipla linearna regresija neovisnih prediktora za razinu inaktivnog MGP.

Varijabla	**B**[a]	**SE**[b]	**t-value**	***P***
Fekalni kalprotektin (μg/g)	0,06	0,02	3,08	0,003
Visoko senzitivni C reaktivni protein (mg/L)	0,66	0,47	1,41	0,162
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	-11,15	5,82	-1,92	0,058
Dob (godine)	1,87	1,13	1,65	0,102
Opseg struka (cm)	4,35	1,72	2,54	0,013
Trajanje bolesti (years)	-3,96	1,81	-1,84	0,062

[a] nestandardizirani koeficijent β
[b] standardna pogreška

4.7. Inaktivni MGP kao prediktor pozitivnog IBD statusa

Nadalje, multivarijatnom logističkom regresijoma dokazalo se da je razina inaktivnog MGP-a značajan prediktor pozitivnog IBD statusa, kada se računa uz osnovne značajke (OR 1,006, 95% CI 1,002-1,009, $P < 0,001$). Nije bilo statistički značajne razlike razine inaktivnog MGP-a između oboljelih ispitanika koji se liječe biološkom terapijom monoklonskim protutijelima i onih koji se liječe konvencionalnom terapijom (621,37 ± 115,03 *vs* 648,27 ± 143,36 pmol/L, $P = 0,404$).

5. RASPRAVA

Istraživanjem, koje je dio ove doktorske disertacije, dokazana je niža serumska razina adropina u osoba koje boluju od upalnih bolesti crijeva spram kontrolne skupine zdravih ispitanika. Nadalje, istraživanjem se nije dokazala statistički značajna razlika serumske razine adropina između skupina bolesnika koje boluju od ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti. Dokazano je da adropin ima negativnu korelaciju sa zbirovima aktivnosti upalnih bolesti crijeva te, prema multivarijatnoj logističkoj regresiji, predstavlja značajan pozitivni prediktor IBD statusa. Iako se multivarijatnom logisitičkom regresijom dokazala povezanost, to nije dovoljno za dokazivanje i uzročne povezanosti. Prema spoznajama temeljenim na dostupnoj stručnoj literaturi, ovo je prvo istraživanje što procjenjuje adropin u oboljelih od upalnih bolesti crijeva te daje poticaj i temelj za sljedeća istraživanja.

Adropin je pleiotropni peptid koji uglavnom stvaraju jetra i mozak te je najčešće vezan uz održavanje energetske homeostaze, ali i vaskularnu protekciju. Postoje naznake da bi adropin svojim patofiziološkim putevima i interakcijama mogao biti povezan i s upalnim procesom koji predstavlja osnovni patogenetski proces u nastanku upalnih bolesti crijeva. Isto tako, nekoliko nedavnih studija ukazuje na povezanost serumske razine adropina s različitim bolestima poput ateroskleroze, šećerne bolesti, sindroma policističnih jajnika te sa sindromom opstruktivne apneje u spavanju (149,161,174,175). Kronični upalni proces, pokretanje upalne kaskade aktivacijom proupalnih citokina te endotelna disfunkcija su poveznice svih navedenih i istraživanih poremećaja s upalnim bolestima crijeva (150,176,177).

S obzirom da je endotelna disfunkcija uključena u patogenezu upalnih bolesti crijeva, a s druge je strane potvrđeno da adropin ima ulogu u procesu neovaskularizacije i vaskularne protekcije putem regulacije VEGF i eNOS (178), spoznaje iz ove disertacije ukazuju na mogućnost da adropin bude jedna od poveznica između upalnog procesa i endotelne disfunkcije. Moguće je da upalni proces smanjuje razinu adropina preko proupalnih citokina od kojih je u nastanku upalnih bolesti crijeva najznačajniji TNF-α. Posljedično, snižavanje razine

adropina moglo bi voditi prema endotelnoj disfunkciji. Kao što je već poznato, adropin regulira stvaranje NO-a, dok je kod upalnih bolesti crijeva endotelna disfunkcija povezana sa smanjenim stvaranjem NO-a. U skladu s navedenim spoznajama, ranija istraživanja ukazuju na značajno poboljšanje endotelne disfunkcije u bolesnika koji su liječeni inhibitorima TNF-α poput infliksimaba koji je već etabliran u liječenju upalnih bolesti crijeva (179,180). Time bi se mogao objasniti povišeni rizik za razvoj koronarne srčane bolesti i popuštanje srca u oboljelih od upalnih bolesti crijeva, unatoč prisutnosti manje tradicionalnih čimbenika kardiovaskularnog rizika poput povišenog ITM-a, pretilosti, šećerne bolesti i hiperlipidemije u odnosu na opću zdravu populaciju (181,182,183). Nadalje, antioksidativni učinak može biti jedan od mehanizama preko kojeg se adropin uklapa u patogenezu upalnih bolesti crijeva. Nedavnim istraživanjem provedenim na miševima s induciranim nealkoholnim steatohepatitisom pokazalo se kako isključivanjem gena za adropin značajno potičemo steatozu, upalni proces i fibrozu, dok s druge strane intraperitonealnom primjenom adropina utječemo na smanjenu ekspresiju upalnih gena te podižemo Nrf2, jedan od istaknutijih regulatora stanične otpornosti na oksidativni stres (184). Postoji mogućnost da adropin na sličan način djeluje preko Nrf2 te ublažava oksidativni stres koji je prema dosadašnjim istraživanjima usko povezan s upalnim procesom kod upalnih bolesti crijeva (185,186). S druge strane, od ranije je poznata veza upalne bolesti crijeva i nealkoholne masne bolesti jetre, što ukazuje na moguću dodatnu patogenetsku vezu (187). Svakako, potrebna su dodatna istraživanja kako bi se razjasnila uloga adropina u složenom procesu nastanka upalnih bolesti crijeva.

Temeljeno na kliničkim smjernicama, CRP se često koristi za procjenu aktivnosti upalne bolesti crijeva, no suprotno očekivanjima, u ovom istraživanju nije dokazana značajna povezanost između razine adropina i hsCRP-a u bolesnika s IBD-om. Unatoč tome što se hsCRP koristi kao dobro oruđe u procjeni aktivnosti upalnih bolesti crijeva, ipak nije dostatan kako bi zamijenio endoskopske i radiološke metode evaluacije (188). Sva ranije spomenuta

istraživanja provedena na bolestima s upalnim odgovorom dokazala su povezanost razine CRP-a i adropina (149,181). Moguće da je naš ishod dobiven stjecajem okolnosti. Naime, u istraživanje su bili uključeni samo pacijenti koji su imali stabilnu bolest tri mjeseca prije početka istraživanja te je samim time i upalni proces bio pod kontrolom.

Značajan rezultat provedenog istraživanja jest negativna korelacija između serumske razine adropina i fekalnog kalprotektina. Više studija pokazalo je kako fekalni kalprotektin snažno korelira s drugim laboratorijskim i kliničkim znakovima aktivnosti bolesti (188, 189), tako da ovaj ishod dodatno upućuje na moguću povezanost razine adropina s težinom i aktivnosti upalnih bolesti crijeva. Navedenoj spoznaji dodatno na snazi doprinosi nalaz značajne povezanosti između razine adropina i od ranije etabliranih zbirova aktivnosti kao dobrih pokazatelja aktivnosti ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti. Ovi rezultati mogu biti posljedica učinka adropina na ranije spominjani kronični upalni proces. Viša razina aktivnosti upalne bolesti crijeva podiže razinu kalprotektina u stolici, ali podiže i razinu proupalnih citokina poput TNF-α, te time možebitno utječe i na smanjenje razine adropina u serumu.

Negativna korelacije serumske razine adropina s glikemijom na tašte u cjelokupnoj populaciji uključenoj u istraživanje također ima veliki klinički značaj, u skladu s ranije poznatom činjenicom kako je adropin regulator metabolizma glukoze te da utječe na energetsku homeostazu organizma (190). Do sada provedena istraživanja na miševima pokazala su kako intraperitonealna aplikacija adropina uzrokuje značajno sniženje glukoze u krvi i razine inzulina dok s druge strane rastu serumske razine adropina, što ukazuje na moguću povezanost adropina i inzulinske rezistencije (191). Povezanost niže razine adropina s disregulacijom metabolizma glukoze pokazala su još neka istraživanja na životinjskim modelima (192). Istraživanje provedeno na ljudima pokazalo je porast serumske razine adropina unosom fruktoze što je bilo najizraženije u ispitanika koji su imali hipertrigliceridemiju (193). U nedavno provedenom istraživanju ispitanika s OSA-om također je utvrđena negativna korelacija između razine

adropina i glukoze na tašte, HOMA-IR (engl. *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*) i glikoziliranog hemoglobina HbA1c. Ovu spoznaju treba promatrati kroz mogućnost interakcija adropina s eNOS te posljedično povišenom sustavnom bioraspoloživošću NO-a. U skladu s navedenim, pad razine adropina doveo bi do manje inzulinske osjetljivosti te jačeg upalnog odgovora kako je i pokazao odnos adropina s HOMA-IR, TNF-α i IL-6 u istraživanju (150). Nedavno istraživanje pokazalo je da aplikacija adropina smanjuje ekspresiju glukoneogenih regulacijskih enzima jetre što potom inhibira stvaranje glukoze, dok istovremeno poboljšava inzulinsku osjetljivost u jetri (194). Ova spoznaja je u skladu s rezultatima istraživanja na miševima koji potvrđuju da je razina adropina viša u hranjenih jedinki spram jedinki koje su bile na tašte (191). Postoji mogućnost da je gladovanjem snižena razina adropina kako ne bi bila inhibirana glukoneogeneza te kako bi masne kiseline iz triglicerida podržale stvaranje glukoze u jetri i omogućile središnjem živčanom sustavu dovoljnu razinu energije iz glukoze. Tijekom ponovnog hranjenja dolazi do obrnutog procesa tj. porasta razine adropina i aktiviranja iskorištavanja glukoze.

Ovo je prvo istraživanje koje ukazuje na sniženu serumsku razinu adropina u oboljelih od upalnih bolesti crijeva te negativnu korelaciju između serumske razine adropina i aktivnosti bolesti. Rezultati istraživanja ukazuju na moguću ulogu adropina u složenom patofiziološkom procesu upalnih bolesti crijeva te da bi adropin potencijalno mogao imati ulogu kao prediktor aktivnosti bolesti. Svakako, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se evaluirao značaj ovih rezultata.

Drugim istraživanjem u kojem smo mjerili razine inaktivnog MGP-a, također dizajniranim kao poprečno istraživanje, dokazali smo da je serumska razina inaktivnog MGP-a (dp-ucMGP) značajno viša u oboljelih od upalnih bolesti crijeva spram skupine zdravih ispitanika, dok nije bilo značajne razlike između oboljelih od ulceroznog kolitisa i oboljelih od Crohnove bolesti. Nadalje, dokazana je pozitivna korelacija razine inaktivnog MGP-a s hsCRP-

om i razinom fekalnog kalprotektina. Koliko nam je poznato, ovo je prvo kliničko istraživanje razine inaktivnog MGP u oboljelih od upalnih bolesti crijeva.

Rezultati su u skladu s ishodima nedavnog istraživanja provedenog na pacijentima s ulceroznim kolitisom te miševima s kolitisom izazvanim dekstran sulfat natrijem (DSS) (195). Dokazana je značajno viša razina MGP mRNA u obje skupine uspoređujući ih s kontrolnim skupinama. Isto tako, ekspresija MGP mRNA je rasla s težinom bolesti, dok su ispitanici u remisiji imali sličnu ekspresiju MGP mRNA kao i kontrolna skupina. Feng Y i sur. su *in vitro* istraživanjem na mezenhimalnim stromalnim stanicama dokazali imunomodulatorni učinak MGP-a navodeći smanjenu proliferaciju T stanica i supresiju proizvodnje proupalnih citokina (172). Koristeći miševe s eksperimetalno induciranim kolitisom, uspoređivali su rezultate intraperitonealne aplikacije stromalnih stanica s MGP-om te aplikacije stromalnih stanica bez MGP. Rezultati su pokazali kako MGP poboljšava klinički tijek i patolohistološku sliku upale debelog crijeva, ublažavajući infiltraciju T stanicama i smanjujući stvaranje proupalnih citokina te tako ukazuju na moguću ulogu pa čak i terapijski učinak MGP u upalnim bolestima crijeva.

Druga značajka koja bi mogla biti veza inaktivnog MGP i upalnih bolesti crijeva je endotelna disfunkcija. Poznato je da upalne bolesti crijeva vode funkcionalnim i strukturnim promjenama endotela krvnih žila, što na posljetku rezultira povećanim kardiovaskularnim rizikom oboljelih od upalnih bolesti crijeva (196,197). Štoviše, kako aktivnost bolesti i upalni proces napreduju i endotelna disfunkcija je izraženija. Istraživanja kod bolesnika na hemodijalizi povezala su povišen inaktivni MGP-a s markerima endotelne disfunkcije, putem dilatacije nadlaktične arterije posredovane protokom (engl. *Brachial Artery Flow-Mediated Dilation,* FMD) (198) te kod zdravih žena u postmenopauzi putem biokemijskih markera (engl. *Vascular Cell Adhesion Molecule*, VCAM; E-selectin; engl. *Advanced Glycation Endproducts*, AGEs) (199). U skladu sa spoznajama, razina inaktivnog MGP-a može se povisiti zbog

kombinacije učinka na upalni proces, pojačane endotelne disfunkcije ali i zbog manjka vitamina K.

Poznato je da učinak MGP ovisi o razini vitamin K potrebnog za aktivaciju karboksilacijom Gla rezidua, a potom i fosforilacijom serinskih nastavaka. Inaktivna forma matriks Gla proteina znana je kao direktni marker manjka vitamina K zbog njegove nesposobnosti da se zadrži u arterijskoj stijenci s posljedičnim serumskim porastom (200). S druge strane, dobro je poznata veza upalnih bolesti crijeva i manjka vitamina K, najčešće uzrokovanog malnutricijom, posljedicom izbjegavanja hrane zbog bolova u trbuhu te neadekvatnom parenteralnom prehranom (201,202,203). Dodatni uzrok manjka vitamina K često je smanjena crijevna apsorpcijska površina zbog upalno izmijenjenog dijela ili cijele sluznice s erozijama i ulceracijama te zbog prethodnih kirurških resekcija (204).

U randomiziranoj kontroliranoj studiji, oboljelima od upalnih bolesti crijeva tijekom 12 mjeseci dodavano je 1000μg vitamina K_1 (filokinon) bez značajnijeg učinka na pokazatelje zdravlja kostiju (205) što upućuje na izostanak učinka iako su zalihe vitamina K bile poboljšane. Postoji mogućnost da je manjak vitamina K_2 (menakinona) glavni razlog za ovakav ishod s obzirom da on ima intezivniji protektivni učinak na endotel krvnih žila i kosti za razliku od vitamina K_1 (206). U skladu s tim, dvije velike studije pokazale su da adekvatan unos hranom vitamina K_2 značajno korelira s boljim kardiovaskularnim ishodima te koštanim metabolizmom, dok s druge strane nisu pokazale da vitamin K_1 pokazuje protektivni učinak protiv vaskularne kalcifikacije i osteoporoze (207,208).

Kao što je već kazano, oboljeli od upalnih bolesti crijeva imaju povišen rizik nastanka koronarne srčane bolesti kao i popuštanja srca iako imaju manje tradicionalnih kardiovaskularnih rizika u usporedbi s općom populacijom (182,183,209). Jedan od razloga za povećan ukupni kardiovaskularni rizik vjerojatno leži u ubrzanoj vaskularnoj kalcifikaciji, važnom rizičnom faktoru za razvoj kardiovaskularnih bolesti, uzrokovanoj nemogućnošću

aktiviranja MGP-a zbog manjka vitamina K_2. Nekoliko studija već je potvrdilo značajnu povezanost povišenih razina inaktivnog MGP-a i vaskularne kalcifikacije (210,211). Knapen i sur. proveli su kontrolirano randomizirano istraživanje kojim su dokazali da trogodišnje dodavanje vitamina K_2 kod zdravih žena u postmenopauzi značajno poboljšava parametre arterijske krutosti te snižava razinu inaktivnog MGP-a za 50% u usporedbi sa placebom (199). Nedavno provedeno istraživanje na miševima s kolitisom izazvanim dekstran sulfat natrijem ukazalo je na smanjenje simptoma kolitisa zajedno sa sniženom ekspresijom IL-6 u jedinki koji su dodatno dobivali vitamin K_2 (212). U skladu s navedenim, MGP i vitamin K_2 su usko povezani te svi ovi dokazi ukazuju na potrebu za novim istraživanjima radi daljnje procjene njihova značaja kao i moguće terapijske primjene u budućnosti.

Značajan rezultat ovog istraživanja je pozitivna korelacija razine inaktivnog MGP s hsCRP-om i fekalnim kalprotektinom. Nedavna istraživanja su pokazala da se MGP sintetizira i karboksilira u većini stanica imunološkog sustava koje čine urođeni ili stečeni imunitet (213). Nadalje, pokazalo se da stimulacija monocita i makrofaga lipopolisaharidima ili hidroksiapatitom uzrokuje upalni odgovor koji regulira ekspresiju MGP-a slijedeći regulaciju IL-1β, što dodatno upućuje da je MGP uključen u upalni odgovor monocita i makrofaga. Upalni proces, glavna značajka upalne bolesti crijeva, smatra se potencijalno glavnim uzrokom vaskularne kalcifikacije te je usko povezan i s endotelnom disfunkcijom. Fekalni kalprotektin i hsCRP su od ranije dobro poznati i dokazani pokazatelji aktivnosti upalnih bolesti crijeva, dok istovremeno više istraživanja ukazuje na korelaciju CRP-a i kalcifikacije koronarnih arterija (51-54). Spoznaje iz ovog istraživanja ukazuju na mogućnost da pojačana aktivnost upalne bolesti crijeva preko složenog upalnog odgovora potiče MGP, no zbog manjka vitamina K peptid ne može biti potpuno aktiviran te time gubi svoj inhibitorni učinak na vaskularnu kalcifikaciju. Navedeno tumačenje je u skladu s Danskim kohortnim istraživanjem koje upućuje na činjenicu da aktivnost upalne bolesti crijeva kao i svako pogoršanje podižu rizik za nastanak

infarkta miokarda, moždanog udara i ukupne kardiovaskularne smrtnosti (214), kao i ranije spominjano istraživanje oboljelih od ulceroznog kolitisa kojim se pokazao porast ekspresije MGP mRNA s aktivnošću bolesti (195). Nakon podjele oboljelih od upalnih bolesti crijeva u tercile ovisno o vrijednostima hsCRP-a i fekalnog kalprotektina, pokazala se u oba slučaja značajno viša razina inaktivnog MGP-a u trećoj nego u prvoj i drugoj tercili što upućuje na povezanost inaktivnog MGP-a i aktivnosti upalne bolesti crijeva. Svakako su potrebna dodatna istraživanja kako bi dobili još bolji uvid u odnos MGP-a i aktivnosti upalne bolesti crijeva.

Ovo je prvo kliničko istraživanje koje je dokazalo povišenu razinu inaktivnog MGP-a u osoba oboljelih od upalne bolesti crijeva te korelaciju razine inaktivnog MGP-a s razinama hsCRP i fekalnog kalprotektina. Rezultati našeg istraživanja podupiru ranije eksperimentalno dobivene podatke o uključenosti MGP-a u patofiziologiju upalnih bolesti crijeva putem upalnog odgovora i aktivnosti bolesti, no svakako ih treba evaluirati u budućim većim studijama. Zbog tehničkih razloga nismo bili u mogućnosti oboljelima od upalnih bolesti crijeva odrediti razinu vitamin K_2, što bi svakako u narednim istraživanjima bilo poželjno kako bi se bolje razjasnila i potvrdila povezanost navedenih patofizioloških procesa.

Ograničenja za oba istraživanja na kojima se temelji ova disertacija predstavlja dizajn presječnog istraživanja koje ne omogućava utvrđivanje uzročne povezanosti te relativno mala veličina uzorka i provođenje istraživanja samo u jednom centru.

6. ZAKLJUČCI

1. Razina adropina je statistički značajno manja u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
2. Razina inaktivnog MGP-a je statistički značajno veća u bolesnika s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
3. Ne postoji statistički značajna razlika u razinama adropina i inaktivnog MGP-a između bolesnika koji boluju od Crohnove bolesti i onih koji boluju od ulceroznog kolitisa.
4. Pronađena je statistički značajna povezanost između razine adropina i fekalnog kalprotektina, dok između razine adropina i vrijednosti hsCRP-a nema statistički značajne povezanosti.
5. Pronađena je statistički značajna povezanost razine inaktivnog MGP-a s vrijednostima hsCRP-a i fekalnog kalprotektina.
6. Potvrđena je statistički značajna povezanost razine adropina s endoskopskim zbirovima bolesti, dok povezanost razine inaktivnog MGP-a s endoskopskim zbirovima nije dokazana.
7. Nije pronađena statistički značajna povezanost razine adropina i inaktivnog MGP-a između skupine bolesnika koji su na biološkoj terapiji i skupine koja se liječi konvencionalnom terapijom.
8. Pronađena je statistički značajna povezanost razine adropina s parametrima metabolizma glukoze.
9. Nije pronađena statistički značajna povezanost razine adropina i inaktivnog MGP-a s trajanjem bolesti.

Upalne bolesti crijeva su idiopatske kronične bolesti probavnog trakta koje karakterizira kronični upalni proces, endotelna disfunkcija i povećan rizik razvoja kardiovaskularnih bolesti. Adropin je protein kojem je dokazana uloga regulatora metabolizma glukoze i lipida te vazoprotektivni učinak. Postoji mogućnost da je TNF-α povezan s ranije poznatim mehanizmima vazoprotekcije preko eNOS-a i VEGF2. S druge strane, MGP je snažni inhibitor vaskularne kalcifikacije koji ima i imunomodulatorni učinak na životinjskim modelima, a učinak mu ovisi o razini vitamina K. Provedena istraživanja temelje se na procjeni uloge adropina i MGP-a u bolesnika s upalnim bolestima crijeva o čemu trenutačno nema dovoljno spoznaja u literaturi. Dobiveni rezultati mogli bi doprinijeti boljem razumijevanju povezanosti poremećaja imunomodulacije i kronične upale u upalnim bolestima crijeva s kardiometaboličkim poremećajima i drugim bolestima s kroničnim upalnim odgvorom. Isto tako, mogli bi pomoći u poboljšanju ukupnih ishoda liječenja oboljelih od upalne bolesti crijeva boljim praćenjem faktora rizika te pravovremenim otkrivanjem i adekvatnim liječenjem kardiometaboličkih poremećaja. Oba istraživanja pokazala su da, uz etablirane, postoji potreba za novim molekularnim biljezima koji bi mogli pružiti dodatan uvid u neki od aktiviranih patofizioloških mehanizama, procjenu aktivnosti upalne bolesti crijeva, moguće i otvoriti put k novim modalitetima liječenja te koji bi mogli facilitirati prognozu u oboljelih od IBD-a.

Konačno, ovi rezultati mogu pomoći u sljedećim istraživanjima kojima bi se zaokružila integrativna slika uloge adropina i MGP-a te utvrdio njihov odnos s relevantnim biokemijskim i kliničkim parametrima u bolesnika s upalnim bolestima crijeva.

7. SAŽETAK

Uvod: Adropin je novi peptid povezan s homeostazom energije i vaskularnom zaštitom. Prema našem saznanju, za sada nema studija koje su istraživale vezu adropina i upalnih bolesti crijeva (IBD). Matriks Gla protein je peptid ovisan o vitaminu K sa značajnom ulogom u zaustavljanju vaskularne kalcifikacije. Nedavne studije ukazuju na moguću poveznicu između imunomodulatornog učinka MGP-a i upalne bolesti crijeva.

Cilj: Cilj ove studije je usporedba serumske razine adropina oboljelih od upalnih bolesti crijeva i zdrave kontrolne skupine. Nadalje, istraživali smo povezanost razine adropina sa zbirovima aktivnosti IBD-a, CRP-om, fekalnim kalprotektinom, glukozom na tašte i razinom inzulina. Cilj druge studije je bila uspredba razine inaktivnog MGP između oboljelih od IBD i zdrave kontrolne skupine. Dodatno, namjera je bila istražiti povezanost razine inaktivnog MGP s kliničkim i laboratorijskim parametrima.

Metode: Presječna studija evaluacije serumske razine adropina provedena je na 55 bolesnika s IBD (30 bolesnika s ulceroznim kolitisom, 25 bolesnika s Crohnovom bolesti) uspoređujući s kontrolnom skupinom podudarnih dobnih i spolnih značajki. Presječno istraživanje serumske razine inaktivnog MGP provedena je na 70 bolesnika s IBD-om (30 bolesnika s ulceroznim kolitisom , 40 s Crohnovom bolesti) te na 60 zdravih isipitanika koji pripadaju kontrolnoj skupini podudarnih dobnih i spolnih značajki. Serumska razina adropina određivana je ELISA metodom (dual enzyme-linked immunosorbent assay) za humani adropin (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, USA), prema uputama proizvođača. Razina inaktivnog MGP analizirana je CLIA metodom koristeći IDS-iSYS InaKtif MGP (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Germany) prema uputama proizvođača. Razina fekalnog kalprotektina određivana je turbidimetrijskom imunoesej metodom koristeći Buhlmann fCAL turbo assay (Buhlmann Laboratories AG, Schonenbuch, Switzerland). Ostali parametri određivani su standardnim laboratorijskim procedurama.

Rezultati: Serumska razina adropina bila je značajno niža u bolesnika s IBD uspoređujući s kontrolnom skupinom (2.89±0.94 vs 3.37±0.60 ng/mL, *P*=0.002), dok nije bilo značajne razlike između oboljelih od ulceroznog kolitis i oboljelih od Crohnove bolesti (P=0.585). Nadalje, pronađena je značajna negativna korelacija između adropina i fekalnog kalprotektina (r= -0.303, *P*=0.025). U ukupnoj populaciji ispitanika pronađena je značajna negativna korelacija razine adropina i glukoze na tašte (r= -0.222, *P*=0.023). Multivarijatna logisitička regresija pokazala je vrijednost adropin kao značajnog prediktora pozitivnog IBD statusa, navedena s drugim temeljnim značajkama (OR 0.455, 95% CI 0.251-0.823, *P*=0.009).

Razina inaktivnog MGP bila je značajno viša u bolesnika s IBD uspoređujući s kontrolnom skupinom (629.83 ± 124.20 *vs* 546.7 ± 122.09 pmol/mL, $P < 0.001$), a statistički značajne razlike između skupina bolesnika s ulceroznim kolitisom i bolesnika s Crohnovom bolesti nije bilo (640.02 ± 131.88 *vs* 616.23 ± 113.92 pmol/mL, $P = 0.432$). Nadalje, utvrđena je značajna pozitivna korelacija između razine inaktivnog MGP i fekalnog kalprotektina ($r = 0.396$, $P < 0.001$) kao i između inaktivnog MGP-a i CRP-a ($r = 0.477$, $P < 0.001$). Multipla linearna regresijska analiza zadržava statistički značajnu povezanost s fekalnim kalprotektinom ($\beta \pm SE$, 0.06 ± 0.02, $P = 0.003$).

Zaključak: Rezultati istraživanja daju naslutiti kako bi adropin mogao biti uključen u složeni patofiziološki proces upalnih bolesti crijeva, ali su potrebna daljna istraživanja koja bi to dodatno potvrdila. Nadalje, rezultati istraživanja razine inaktivnog MGP-a potvrđuju eksperimentalno dobivene podatke o imunomodulacijskom učinku MGP-a na IBD te ukazuju na mogući značaj u nastanku upalnih bolesti crijeva i ekstraintestinalnih manifestacija.

8. SUMMARY

Background: Adropin is a novel peptide mostly associated with energy homeostasis and vascular protection. To our knowledge, there are no studies that investigated its relationship with inflammatory bowel diseases (IBD). Matrix Gla protein (MGP) is a vitamin K dependent peptide which has an established role in suppression of vascular calcification. Recent studies have pointed to a possible link between immunomodulatory effect of MGP and inflammatory bowel disease.

Aim: The aim of this study was to compare serum adropin levels between patients with IBD and healthy controls. Furthermore, we explored adropin levels correlations with IBD severity scores, hsCRP, fecal calprotectin and fasting glucose and insulin levels. The aim of the second study was to compare serum levels of inactive, dephosphorylated and uncarboxylated MGP form (dp-ucMGP) between patients with IBD and healthy controls. The additional goal was to investigate the association of plasma dp-ucMGP levels with the anthropometric, clinical and laboratory parameters.

Methods: This cross-sectional evaluation study of serum adropin levels was conducted on 55 patients with IBD (30 Ulcerative colitis patients, 25 Crohn's disease patients) in comparison with 50 age and gender matched controls. Furthermore, cross-sectional study of serum dp-ucMGP levels was conducted on 70 patients with IBD (30 patients with ulcerative colitis and 40 patients with Crohn's disease) and 60 age and gender matching healthy controls. Serum concentrations of adropin were determined using the dual enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of human adropin (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, USA), according to the manufacturer's instructions. Plasma dp-ucMGP levels were analyzed from blood samples by CLIA method using IDS-iSYS InaKtif MGP (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Germany) according to the manufacturer's instructions. FC levels were determined from stool samples by turbidimetric immunoassay method using Buhlmann fCAL turbo assay (Buhlmann

Laboratories AG, Schonenbuch, Switzerland)**.** Other parameters were analyzed according to the standard laboratory procedures.

Results: Serum adropin levels were significantly lower in patients with IBD in comparison with 50 controls (2.89±0.94 vs 3.37±0.60 ng/mL, *P*=0.002), while there was no significant difference in comparison of UC patients with CD patients (P=0.585). Furthermore, there was a negative correlation between adropin and fecal calprotectin (r= -0.303, *P*=0.025), whereas in the total study population, we found a significant negative correlation with fasting glucose levels (r= -0.222, *P*=0.023). A multivariable logistic regression showed that serum adropin was a significant predictor of positive IBD status when enumerated along with baseline characteristics (OR 0.455, 95% CI 0.251-0.823, *P*=0.009).

Plasma levels of dp-ucMGP were significantly higher in patients with IBD compared to the control group (629.83 ± 124.20 *vs* 546.7 ± 122.09 pmol/mL, $P < 0.001$), and there was no significant difference between patients with Crohn's disease and patients with ulcerative colitis (640.02 ± 131.88 *vs* 616.23 ± 113.92 pmol/mL, $P = 0.432$). Furthermore, a significant positive correlation of plasma dp-ucMGP levels was found with both fecal calprotectin (FC) levels ($r = 0.396$, $P < 0.001$) and high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) levels ($r = 0.477$, $P < 0.001$). Multiple linear regression analysis showed that dp-ucMGP levels retained significant association with FC (β ± SE, 0.06 ± 0.02, $P = 0.003$).

Conclusion: Our findings imply that adropin could be involved in complex pathophysiology of IBD, but further larger scale studies are needed to address these findings. Moreover, results with inactive MGP support experimental data of MGP immunomodulatory IBD effect and indicate potential involvement in the pathophysiology of the disease, and possibly extraintestinal manifestations.

9. LITERATURA

1. Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of inflammatory bowel disease and recent advances in biologic therapies. Immune Netw. 2017;17:25-40.

2. S Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. World J Gastroenterol. 2014;20:91-9.

3. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. Gut. 2006; 55:749-53.

4. Guindi M, Riddell RH. Ideterminate colitis. J Clin Pathol. 2004; 57: 1233–1244.

5. DeRoche TC, Xiao SY, Liu X. Histological evaluation in ulcerative colitis. Gastroenterol Rep (Oxf). 2014; 2:178-92.

6. Mosnier JF, Jarry A, Camdessanché JP, Antoine JC, Laboisse CL. In situ evidence of involvement of Schwann cells in ulcerative colitis: autocrine and paracrine signaling by A disintegrin and metalloprotease-17-mediated tumor necrosis factor alpha production. Hum Pathol. 2009;40:1159-67.

7. Feuerstein JD, Moss AC, Farraye FA. Ulcerative colitis. Mayo Clinic Proceedings. 2019;94:1357-73.

8. Politis DS Katsanos KH, Tsianos EV, Christodoulou DK. Pseudopolyps in inflammatory bowel diseases: Have we learned enough? World J Gastroenterol. 2017;23:1541-51.

9. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. Clin Microbiol Rev. 2002;15:79-94.

10. Lakatos PL, Lakatos L. Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: Changes, causes and management strategies. World J Gastroenterol. 2008;14:3937-47.

11. Thia KT Sandborn WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Loftus EV Jr. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. Gastroenterology. 2010;139:1147-55.
12. Lee JM, Lee KM. Endoscopic Diagnosis and Differentiation of Inflammatory Bowel Disease. Clin Endosc. 2016;49:370-5.
13. Rameshshanker R, Arebi N. Endoscopy in inflammatory bowel disease when and why. World J Gastrointest Endosc. 2012;4: 201-11.
14. Bataille F, Klebl F, Rümmele P, Schroeder J, Farkas S, Wild PJ i sur. Morphological characterisation of Crohn's disease fistulae. Gut. 2004;53:1314-21.
15. Panes J, Rimola J. Perianal fistulizing Crohn's disease: pathogenesis, diagnosis and therapy. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017;14:652-64.
16. Lim ML, Wallace MR. Infectious diarrhea in history. Infect Dis Clin North Am. 2004; 18:26174.
17. Mulder DJ, Noble AJ, Justinich CJ, Duffin JM. A tale of two diseases: The history of inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis. 2014;8:341-8.
18. Wilks S. Morbid appearances in the intestine of Miss Bankes. London Medical Gazette. 1859;2:264.
19. Bing X, Crusius JBA, Meuwissen SGM, Peña AS Inflammatory bowel disease: definition, epidemiology, etiologic aspects, and immunogenetic studies. World J Gastroenterol. 1998;4:446-58.
20. Fielding JF. "Inflammatory" bowel disease. Br Med J (Clin Res Ed) 1985;290:47-8.
21. Allchin WHA. A discussion on "ulcerative colitis": introductory address. Proc R Soc Med. 1909;2:59-75.
22. Joseph BK. Historical origins of current IBD concepts. World J Gastroenterol. 2001;7:175-84.

23. Kirsner JB, Palmer WL. Effect of corticotropin (ACTH) in chronic ulcerative colitis; observations in forty patients. J Am Med Assoc. 1951;147:541-9.
24. Fielding JF. Crohn's disease and Dalziel's syndrome. A history. J Clin Gastroenterol. 1988;10:279-85.
25. Morgagni GB. The Seats and Causes of Diseases Investigated by Anatomy. New York: Hafner Publishing; 1761 64-66 str.
26. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity J Am Med Assoc. 1932;99:1323-9.
27. Ross JR. Cicatrizing enteritis, colitis and gastritis; a case report. Gastroenterology. 1949;13:344-50.
28. Wells C. Ulcerative colitis and Crohn's disease. Ann R Coll Surg Engl. 1952;11:105-20.
29. Loftus EV. Update on the Incidence and Prevalence of Inflammatory Bowel Disease in the United States. Gastroenterol Hepatol. 2016;12:704-7.
30. Arias-Loste MT, Castro B, Rivero M, Crespo J. Epidemiology of intrafamilial inflammatory bowel disease throughout Europe. Ann Gastroenterol. 2012;25:188-92.
31. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. Gastroentero logy. 2011;140:1785-94.
32. GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators.The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020;5:17-30.
33. Burisch J, Munkholm P. The epidemiology of inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol. 2015;50:942-51.

34. Frangos CC, Frangos CC. Inflammatory bowel disease: reviewing an old study under a new perspective. Gut. 2007;56;1638-39.

35. Burisch J, Pedersen N, Čuković-Čavka S, Brinar M, Kaimakliotis I, Duricova D. East-West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort. Gut. 2014;63:588-97.

36. Vucelić B Korać B, Sentić M, Milicić D, Hadzić N, Juresa V. Ulcerative colitis in Zagreb, Yugoslavia: incidence and prevalence 1980-1989. Int J Epidemiol. 1991;20:1043-7.

37. Vucelić B Korać B, Sentić M, Milicić D, Hadzić N, Juresa V. Epidemiology of Crohn's disease in Zagreb, Yugoslavia: a ten-year prospective study. Int J Epidemiol. 1991;20:216-20.

38. Mijandrusic-Sincić B, Vucelic B, Persić M, Brncić M, Jurisić-Erzen D, Radaković B i sur. Incidence of inflammatory bowel disease in Primorsko-goranska County, Croatia, 2000-2004: A prospective population-based study. Scand J Gastroenterol. 2006;41:437-44.

39. Klarin I, Majnarić L, Jovanović Z, Nakic D, Vcev I, Vcev A. Epidemiology and clinical presentation of inflammatory bowel disease in Zadar County, Croatia. Coll. Antropol. 2013, 37:1161-70.

40. Pezerovic D, Žulj M, Klarin I, Majnarić Lj, Včev I, Včev A: Clinical expressioon of Inflamatory Bowel Disease - A Retrospective Population-Based Cohort Study; Vukovarsko-Srijemska County, Croatia, 2010. Coll Antropol. 2013;37:919-27.

41. Despalatović BR, Bratanić A, Radić M, Jurišić Z, Tonkić A. Epidemiological trends of inflammatory bowel disease (IBD) in Split-Dalmatia County, Croatia from 2006 to 2014. Eur J Intern Med. 2017;46:e17-e19.

42. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. Lancet. 2017;390:2769-78.

43. Zhao J, Ng SC, Lei Y, Yi F, Li J, Yu L. First prospective, population-based inflammatory bowel disease incidence study in mainland of China: the emergence of “western” disease. Inflamm Bowel Dis. 2013;19:1839-45.
44. Kamm MA. Rapid changes in epidemiology of inflammatory bowel disease. Lancet. 2018;390:2741-2.
45. Kenny EE, Pe'er I, Karban A, Ozelius L, Mitchell AA, Ng SM. A genome-wide scan of Ashkenazi Jewish Crohn's disease suggests novel susceptibility loci. PLoS Genet. 2012;8;e1002559.
46. Basu D, Lopez I, Kulkarni A, Sellin JH. Impact of race and ethnicity on inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol. 2005;100:2254-61.
47. Hou JK, Kramer JR, Richardson P, Mei M, El-Serag HB. The Incidence and Prevalence of Inflammatory Bowel Disease Among U.S. Veterans: A National Cohort Study. Inflamm Bowel Dis. 2013;19:1059-64.
48. Loddo I, Romano C. Inflammatory Bowel Disease: Genetics, Epigenetics, and Pathogenesis. Front Immunol. 2015;6:551.
49. Cho JH, Branz SR. Recent Insights Into the Genetics of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterology. 2011;140:1704-12.
50. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J i sur. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. Nature. 2001;411:599-603.
51. Stokkers P, Reitsma P, Tytgat G, van Deventer SJH. HLA-DR and -DQ phenotypes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. Gut. 1999;45:395-401.
52. Farmer RG, Michener WM, Mortimer EA. Studies of family history among patients with inflammatory bowel disease. Clin Gastroenterol. 1980;9:271-7.

53. Monsén U, Broström O, Nordenvall B, Sörstad J, Hellers G. Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. Scand J Gastroenterol. 1987;22:214-8.

54. Tysk C, Lindberg E, Järnerot G, Flodérus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. Gut. 1988;29:990-6.

55. Orholm M, Binder V, Sørensen TI, Rasmussen LP, Kyvik KO. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. Scand J Gastroenterol. 2000;35:1075-81.

56. Shaoul R, Okada Y, Cutz E, Marcon MA. Colonic expression of MUC2, MUC5AC, and TFF1 in inflammatory bowel disease in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;38:488-93.

57. Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. Gastroenterology. 2005;129:550-64.

58. Albenberg LG, Lewis JD, Wu GD. Food and the Gut Microbiota in IBD: A Critical Connection. Curr Opin Gastroenterol. 2012; 28: e328354586f.

59. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. Science. 2001;292:1115-8.

60. Frank DN, obertson CE, Hamm CM, Kpadeh Z, Zhang T, Chen H. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. Inflamm Bowel Dis. 2011;17:179-84.

61. Middel P, Raddatz D, Gunawan B, Haller F, Radzun HJ. Increased number of mature dendritic cells in Crohn's disease: evidence for a chemokine mediated retention mechanism. Gut. 2006;55;220-7.

62. Bates J, Diehl L. Dendritic cells in IBD pathogenesis: an area of therapeutic opportunity? J Pathol. 2014;232:112-20.
63. Rogler G, Brand K, Vogl D, Page S, Hofmeister R, Andus T i sur. Nuclear factor kappaB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. Gastroenterology. 1998;115:357-69.
64. Lu Y, Li X, Liu S, Zhang Y, Zhang D. Toll-like Receptors and Inflammatory Bowel Disease. Front Immunol. 2018;9:72.
65. Cheng Y, Zhu Y, Huang X, Zhang W, Han Z, Liu S. Association between TLR2 and TLR4 Gene Polymorphisms and the Susceptibility to Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis. PLoS One. 2015; 10:e0126803.
66. Ordas I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative coltis. Lancet. 2012;380:1606-19.
67. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. Nat Rev Immunol, 2014; 14: 329-342.
68. Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. Lancet. 1992;339:89-91.
69. Matsuda R, Koide T, Tokoro C, Yamamoto T, Godai T, Morohashi T. Quantitive cytokine mRNA expression profiles in the colonic mucosa of patients with steroid naïve ulcerative colitis during active and quiescent disease. Inflamm Bowel Dis. 2009;15:328-34.
70. Leeb SN, Vogl D, Gunckel M, Kiessling S, Falk W, Göke M. Reduced migration of fibroblasts in inflammatory bowel disease: role of inflammatory mediators and focal adhesion kinase. Gastroenterology. 2003;125:1341-54.
71. Sommerville KW, Logan RF, Edmond M, Langman MJ. Smoking and Crohn's disease. BMJ 1984;289:954-6.

72. Harries AD, Baird A, Rhodes J. Non-smoking: a feature of ulcerative colitis. BMJ 1982;284:706.
73. Lindberg E, Jarnerot G, Huitfeldt B. Smoking in Crohn's disease: effect on localisation and clinical course. Gut. 1992;33:779-82.
74. Thomas G, Rhodes J, Green J, Richardson C. Role of smoking in inflammatory bowel disease: implications for therapy. Postgrad Med J. 2000;76:273-9.
75. Barton JR, Raid MA, Gaze MN, Maran AG, Ferguson A. Mucosal immunodeficiency in smokers and in patients with epithelial head and neck tumours. Gut. 1990;31:378-82.
76. Miller LG, Goldstein G, Murphy M, Ginns LC. Reversible alterations in immunoregulatory T cells in smoking. Chest. 1982;5:527-9.
77. Karban A, Eliakim R. Effect of smoking on inflammatory bowel disease: Is it disease or organ specific? World J Gastroenterol. 2007;13:2150-2.
78. Russel MG, Dorant E, Brummer RJ, van de Kruijs MA, Muris JW, Bergers JM i sur. Appendectomy and the risk of developing ulcerative colitis or Crohn's disease: results of a large case-control study. South Limburg Inflammatory Bowel Disease Study Group. Gastroenterology. 1997;113:377-82.
79. Radford-Smith GL, Edwards JE, Purdie DM, Pandeya N, Watson M, Martin NG. Protective role of appendicectomy on onset and severity of ulcerative colitis and Crohn's disease. Gut. 2002; 51:808-13.
80. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekbom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. N Engl J Med. 2001;344:808-14.
81. Sahami S, Kooij IA, Meijer SL, Van den Brink GR, Buskens CJ, Te Velde AA. The link between the appendix and ulcerative colitis: clinical relevance and potential immunological mechanisms. Am J Gastroenterol. 2016;111:163-9.

82. Polese L, Boetto R, De Franchis G, Angriman I, Porzionato A, Norberto L i sur. B1a lymphocytes in the rectal mucosa of ulcerative colitis patients. World J Gastroentero.l 2012;18:144-9.
83. Kooij LA, Sahami S, Meijier SL, Buskens CJ, Velde AA. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. Clin Exp Immunol. 2016;186:1-9.
84. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekbom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. N Engl J Med. 2001;344:808-14.
85. Kaplan GG, Jackson T, Sands BE, Frisch M, Andersson RE, Korzenik J. The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy: a meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2008;103:2925-31.
86. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. Starving our microbial self: The deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. Cell Metab. 2014;20:779-86.
87. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K i sur. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. J Transl Med. 2017;15:73.
88. Chiba M, Nakane K, Komatsu M. Westernized Diet is the Most Ubiquitous Environmental Factor in Inflammatory Bowel Disease. Permanente J. 2019;23:18-107.
89. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M i sur. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. Cell. 2016;167:1339-53.
90. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. Pediatrics. 2012;130:794-803.

91. Ungaro R, Bernstein CN, Gearry R, Hviid A, Kolho KL, Kronman M i sur. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2014;109:1728-38.
92. Abegunde AT, Muhammad BH, Bhatti O, Ali T. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. World J Gastroenterol. 2016;22:6296-317.
93. Raffner Basson A, Swart R, Jordaan E, Mazinu M, Watermeyer G. Vitamin D Deficiency Increases the Risk for Moderate to Severe Disease Activity in Crohn's Disease Patients in South Africa, Measured by the Harvey Bradshaw Index. J Am Coll Nutr. 2016;35:163-74.
94. Jørgensen SP, Agnholt J, Glerup H, Lyhne S, Villadsen GE, Hvas CL i sur. Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease - a randomized double-blind placebo-controlled study. Aliment Pharmacol Ther. 2010;32:377-83.
95. Danese S, Semeraro S, Papa A, Roberto I, Scaldaferri F, Fedeli G i sur. Extraintestiml manifestations in inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2005;11:7227-36.
96. Geng X, Biancone L, Dai HH, Lin JJ, Yoshizaki N, Dasgupta A i sur. Tropomyosin isoforms in intestinal mucosa: production of autoantibodies to tropomyosin isoforms in ulcerative colitis. Gastroenterology. 1998;114:912-22.
97. Salvarani C, Vlachonikolis IG, van der Heijde DM, Fornaciari G, Macchioni P, Beltrami M i sur. Musculoskeletal manifestations in population-based cohort of inflammatory bowel disease patients. Scand J Gastroenterol. 2001;36:1307-13.
98. Arvikar SL, Fisher MC. Inflammatory bowel disease associated arthropath. Curr Rev Musculoskelet Med. 2011;4:123-31.
99. Rodríguez-Reyna TS, Martínez-Reyes C, Yamamoto-Furusho JK. Rheumatic manifestations of inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2009;15:5517-24.

100. Tavarela Veloso F. Review article: skin complications associated with inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ter. 2004;20:50-3.

101. Chowaniec M, Starba A, Wiland P. Erythema nodosum - review of the literature. Reumatologia. 2016;54:79-82.

102. Pellicer Z, Santiago JM, Rodriguez A, Alonso V, Antón R, Bosca MM. Management of cutaneous disorders related to inflammatory bowel disease. Ann Gastroenterol. 2012; 25:21-6.

103. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, Yu N. The prevalence of extra-intestinal manifestations in inflammatory bowel disease: a population based study. Am J Gastroenterol. 2001;96:1116-22.

104. Tronsco LL, Biancardi AL, Vieira de Morales H, Zaltman C. Ophthalmic manifestations in patients with inflammatory bowel disease: A review. World J Gastroenterol. 2017;23:5836-48.

105. Crohn BB. Ocular lesions complicating ulcerative colitis. Am J Med Sci. 1925;169:260-67.

106. Salmon JF, Wright JP, Murray AD. Ocular inflammation in Crohn's disease. Ophthalmology. 1991;98:480-84.

107. Orchard TR, Chua CN, Ahmad T, Cheng H, Welsh KI, Jewell DP. Uveitis and erythema nodosum in inflammatory bowel disease: clinical features and the role of HLA genes. Gastroenterology. 2002;123:714-8.

108. Yarur AJ, Czul F, Levy C. Hepatobiliary manifestations of inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2014;20:1655-67.

109. Fousekis FS, Theopistos VI, Katsanos KH, Tsianos EV, Christodoulou DK. Hepatobiliary Manifestations and Complications in Inflammatory Bowel Disease: A Review. Gastroenterology Res. 2018;11:83-94.

110. 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.
111. 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.
112. Cibor D, Domagala-Rodacka R, Rodacki T, Jurczyszyn A, Mach T, Owczarek D. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: Pathogenesis, assessment and implications. World J Gastroenterol. 2016;22:1067-77.
113. Zivkovic PM, Matetic A, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D i sur. Serum catestatin levels and arterial stiffness parameters are increased in patients with inflammatory bowel isease. J Clin Med. 2020;9:628.
114. Ishige T. Growth failure in pediatric onset inflammatory bowel disease: mechanisms, epidemiology, and management. Transl Pediatr. 2019;8:16-22.
115. Sanderson IR. Growth problems in children with IBD Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014;11:601-10.
116. Ballinger AB, Savage MO, Sanderson IR. Delayed puberty associated with inflammatory bowel disease. Pediatr Res. 2003;53:205-10.
117. 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.
118. Safar B, Sands D. Perianal Crohn's Disease. Clin Colon Rectal Surg. 2007;20:282-93.
119. Jones J, Tremaine W. Evaluation of Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. Med Gen Med. 2005;7:16.
120. Walsham NE, Sherwood RA. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. Clin Exp Gastroenterol. 2016;9:21-9.

121. Haas K, Rubesova E, Bass D. Role of imaging in the evaluation of inflammatory bowel disease: How much is too much? World J Radiol. 2016;8:124-131.
122. Kucharzik T, Maaser C. Intestinal ultrasound and management of small bowel Crohn's disease. Therap Adv Gastroenterol. 2018;11:1756284818771367.
123. Kim YG, Jang BI. The Role of Colonoscopy in Inflammatory Bowel Disease. Clin Endosc. 2013;46:317-20.
124. 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.
125. 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.
126. 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.
127. O'Donnell S, O'Morain CA. Therapeutic benefits of budesonide in gastroenterology. Ther Adv Chronic Dis. 2010;1:177-86.
128. Zhang Y, Chen D, Wang F, Li X, Xue X, Jiang M. Comparison of the efficiency of different enemas on patients with distal ulcerative colitis. Cell Prolif. 2019;52:e12559.
129. Peppelenbosch MP, van Deventer SJH. T cell apoptosis and inflammatory bowel disease. Gut. 2004;53:1556-8.
130. Peyrin-Biroulet L. Anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a huge review. Minerva Gastroenterol Dietol. 2010;56:233-43.
131. Levin AD, Wildenberg ME, van den Brink GR. Mechanism of Action of Anti-TNF Therapy in Inflammatory Bowel Disease. J Crohns Colitis. 2016;10:989-97.

132. Crooks B, Barnes T, Limdi JK. Vedolizumab in the treatment of inflammatory bowel disease: evolving paradigms. Drugs Context. 2020;9:2019-10-2.
133. Simon EG, Ghosh S, Iacucci M, Moran GW. Ustekinumab for the treatment of Crohn's disease: can it find its niche? Therap Adv Gastroenterol. 2016;9:26-36.
134. Troncone E, Marafini I, Del Vecchio Blanco G, Di Grazia A, Monteleone G. Novel Therapeutic Options for People with Ulcerative Colitis: An Update on Recent Developments with Janus Kinase (JAK) Inhibitors. Clin Exp Gastroenterol. 2020;13:131-9.
135. Kumar KG, Trevaskis JL, Lam DD, Sutton GM, Koza RA, Chouljenko VN. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. Cell Metab. 2008;8: 468-81.
136. Zhang S, Chen Q, Lin X, Chen M, Liu Q. A review of adropin as the medium of dialogue between energy regulation and immune regulation. Oxid Med Cell Longev. 2020;394780.
137. Marczuk N, Cecerska-Heryć E, Jesionowska A, Dołęgowska B. Adropin - physiological and pathophysiological role. Postepy Hig Med Dosw. 2016;70:981-8.
138. Aydin S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. Peptides 2014;56:94-110.
139. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Kalayci M i sur. Expression of adropin in rat brain, cerebellum, kidneys, heart, liver, and pancreas in streptozotocin-induced diabetes. Mol. Cell Biochem. 2013;380:73-81.
140. Tuna BG, Atalay PB, Altunbek M, Kalkan BM, Dogan S. Effects of Chronic and Intermittent Calorie Restriction on Adropin Levels in Breast Cancer. Nutr Cancer. 2017;69:1003-10.
141. Butler AA, Zhang J, Price CA, Stevens JR, Graham JL, Stanhope KL i sur. Low plasma adropin concentrations increase risks of weight gain and metabolic dysregulation in

response to a high-sugar diet in male nonhuman primates. J. Biol. Chem. 2019; 294:9706-19.

142. Stein LM, Yosten GLC, Samson WK. Adropin acts in brain to inhibit water drinking: potential interaction with the orphan G protein-coupled receptor, GPR19. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2016;310:476-80.
143. Gao S, McMillan RP, Zhu Q, Lopaschuk GD, Hulver MW, Butler AA. Therapeutic effects of adropin on glucose tolerance and substrate utilization in diet-induced obese mice with insulin resistance. Mol Metab. 2015; 4, 310-24 .
144. Celik E, Yilmaz E, Celik O, Ulas M, Turkcuoglu I, Karaer A, i sur. Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus. J Perinat. Med. 2013; 41:375-80.
145. Goetze JP, Albrethsen J. Adropin: a new regulatory peptide in cardiovascular endocrinology. Regul Pept. 2014; 41-42:190-191.
146. Gulen B, Eken C, Kucukdagli OT, Serinken M, Kocyigit A, Kılıc E i sur. Adropin levels and target organ damage secondary to high blood pressure in the ED. Am J Emerg Med. 2016;34:2061-4.
147. Lovren F, Pan Y, Quan A, Singh KK, Shukla PC, Gupta M i sur. Adropin is a novel regulator of endothelial function. Circulation. 2010;122: 185-92.
148. Gundogdu G, Gundogdu K. A novel biomarker in patients with knee osteoarthritis: adropin. Clin Rheumatol. 2018;37:2179-86.
149. Kume T, Calan M, Yilmaz O, Kocabas GU, Yesil P, Temur M i sur. A possible connection between tumor necrosis factor alpha and adropin levels in polycystic ovary syndrome. J Endocrinol Invest. 2016;39:747-54.
150. Bozic J, Borovac JA, Galic T, Kurir TT, Supe-Domic D, Dogas Z. Adropin and Inflammation Biomarker Levels in Male Patients With Obstructive Sleep Apnea: A Link With Glucose Metabolism and Sleep Parameters. J Clin Sleep Med. 2018;14:1109-18.

151. Sato K, Yamashita T, Shirai R, Shibata K, Okano T, Yamaguchi M i sur. Adropin Contributes to Anti-Atherosclerosis by Suppressing Monocyte-Endothelial Cell Adhesion and Smooth Muscle Cell Proliferation. Int J Mol Sci. 2018;19:293.
152. Chen X, Xue H, Fang W, Chen K, Chen S, Yang W i sur. Adropin protects against liver injury in nonalcoholic steatohepatitis via the Nrf2 mediated antioxidant capacity. Redox Biol. 2019; 21:101068.
153. Jasaszwili M, Billert M, Strowski MZ, Nowak KW, Skrzypski M. Adropin as A Fat-Burning Hormone with Multiple Functions—Review of a Decade of Research. Molecules. 2020;25:549.
154. Nergiz S, Altinkaya SO, Kurt Ömürlü İ, Yuksel H, Küçük M, Demircan Sezer S. Circulating adropin levels in patients with endometrium cancer. Gynecol. Endocrinol. 2015;31:1-6.
155. Liabeuf S, Bourron O, Olivier B, Vemeer C, Theuwissen E, Magdeleyns E i sur. Vascular calcification in patients with type 2 diabetes: the involvement of matrix Gla protein. Cardiovascular Diabetology. 2014;13:85.
156. Hackeng T, Rosing J, Spronk HMH, Vermeer C.Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. Protein Sci. 2001;10:864-70.
157. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. Biochem Biophys Res Commun. 1983;117:765-71.
158. Bjørklund G, Svanberg E, Dadar M, Card DJ, Chirumbolo S, Harrington DJ i sur. The Role of Matrix Gla Protein (MGP) in Vascular Calcification. Curr Med Chem. 2020;27:1647-60.

159. Roumeliotis S, Dounousi E, Salmas M, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease: The Role of Vitamin K- Dependent Matrix Gla Protei. Front Med (Lausanne). 2020;7:154.
160. Barrett H, O'Keeffe M, Kavanagh E, Walsh M, O'Connor EM. Is Matrix Gla Protein Associated With Vascular Calcification? A Systematic Review. Nutrients. 2018;10:415.
161. Vilovic M, Dogas Z, Ticinovic Kurir T, Borovac JA, Supe-Domic D, Vilovic T. Bone metabolism parameters and inactive matrix Gla protein in patients with obstructive sleep apnea. Sleep 2020;43:zsz243.
162. Karsli-Ceppioglu S, Yazar S, Keskin Y, Karaca M, Luleci NE, Yurdun T. Association of genetic polymorphisms in the *Matrix Gla Protein (MGP)* gene with coronary artery disease and serum mgp levels. *Balkan J* Med Genet. 2019;22:l43-50.
163. Griffin TP, Islam MN, Wall D, Ferguson J, Griffin DG, Griffin MD i sur. Plasma dephosphorylated-uncarboxylated Matrix Gla-Protein (dp-ucMGP): reference intervals in Caucasian adults and diabetic kidney disease biomarker potential. Sci Rep. 2019;9:18452.
164. El Asmar MS, Naoum JJ, Arbid EJ. Vitamin K Dependent Proteins and the Role of Vitamin K2 in the Modulation of Vascular Calcification: A Review. Oman Med J. 201;29:172-7.
165. Bandyopadhyay PK, Garrett JE, Shetty RP, Keate T, Walker CS, Olivera BM. Gamma-Glutamyl carboxylation: an extracellular posttranslational modification that antedates the divergence of molluscs, arthropods, and chordates. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:1264-9.
166. Shea MK, Booth SL. Concepts and controversies in evaluating vitamin K status in population-based studies. Nutrients. 2016;8:8.
167. Piscaer I, Wouters EFM, Vermeer C, Janssens W, Franssen FME, Janssen R. Vitamin K deficiency: the linking pin between COPD and cardiovascular diseases? Respir Res. 2017;18:189.

168. Wei FF, Huang QF, Zhang ZY, Van Keer K, Thijs L, Trenson S i sur. Inactive matrix Gla protein is a novel circulating biomarker predicting retinal arteriolar narrowing in humans. Sci Rep. 2018;8:15088.

169. Liu YP, Gu YM, Thijs L, Knapen MH, Salvi E, Citterio L i sur. Inactive matrix Gla protein is causally related to adverse health outcomes: a Mendelian randomization study in a Flemish population. Hypertension. 2015;65:463-70.

170. Mayer O, Seidlerová J, Wohlfahrt P, Filipovský J, Vaněk J, Cífková R i sur. Desphospho-uncarboxylated matrix Gla protein is associated with increased aortic stiffness in a general population. J Hum Hypertens. 2016;30:418-23.

171. Jaminon A, Reesink K, Kroon A, Schurgers L. The Role of Vascular Smooth Muscle Cells in Arterial Remodeling: Focus on Calcification-Related Processes. Int J Mol Sci. 2019;20:5694.

172. Feng Y, Liao Y, Huang W, Lai X, Luo J, Du C, Lin J, Zhang Z, Qiu D, Liu Q, Shen H, Xiang AP, Zhang Q. Mesenchymal stromal cells-derived matrix Gla protein contribute to the alleviation of experimental colitis. Cell Death Dis. 2018;9:691.

173. Miyata KN, Nast CC, Dai T, Dukkipati R, LaPage JA, Troost JP i sur. Renal matrix Gla protein expression increases progressively with CKD and predicts renal outcome. Exp Mol Pathol. 2018;105:120-9.

174. Wu L, Fang J, Chen L, Zhao Z, Luo Y, Lin C i sur. Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. Clin Chem Lab Med. 2014;52:751-8.

175. Zang H, Jiang F, Cheng X, Xu H, Hu X. Serum adropin levels are decreased in Chinese type 2 diabetic patients and negatively correlated with body mass index. Endocr. J. 2018;65:685-91.

176. Badawi A, Klip A, Haddad P, Cole DE, Bailo BG, El-Sohemy A i sur. Type 2 diabetes mellitus and inflammation: Prospects for biomarkers of risk and nutritional intervention. Diabetes Metab Syndr Obes. 2010;3, 173-86.
177. Duleba AJ, Dokras A. Is PCOS an inflammatory process? Fertil Steril. 2012;97,7-12.
178. Tigas S, Tsatsoulis A. Endocrine and metabolic manifestations in inflammatory bowel disease. Ann. Gastroenterol. 2012;25,37-44.
179. Schinzari F, Armuzzi A, De Pascalis B, Mores N, Tesauro M, Melina D i sur. Tumor necrosis factor alpha antagonism improves endothelial dysfunction in patients with Crohn's disease. Clin Pharmacol Ther. 2008;83,70-6.
180. Theocharidou E. Aortic stiffness in patients with inflammatory bowel diseases. Hell J Atherosclerosis. 2013;4:200-7.
181. Wu P, Jia F, Zhang B, Zhang P. Risk of cardiovascular disease in inflammatory bowel disease. Exp Ther Med. 2017;13, 395-400.
182. 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.
183. Jahnsen J, Falch JA, Mowinckel P, Aadland E. Body composition in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. Am J Gastroenterol 2013; 98:1556-62.
184. Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. Annu Rev Pharmaco. Toxicol. 2013;53:401-26.
185. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. Oxid Med Cell Longev. 2017;4535194.

186. Vaghari-Tabari M, i sur. Positive Correlation of Fecal Calprotectin With Serum Antioxidant Enzymes in Patients With Inflammatory Bowel Disease: Accidental Numerical Correlation or a New Finding? Am J Med Sci. 2018;355:449-55.
187. Principi M, Iannone A, Losurdo G, Mangia M, Shahini E, Albano F i sur. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease: Prevalence and Risk Factors. Inflamm Bowel Dis. 2018;24:1589-96.
188. Reenaers C, Bossuyt P, Hindryckx P, Vanpoucke H, Cremer A, Baert F. Expert opinion for use of faecal calprotectin in diagnosis and monitoring of inflammatory bowel disease in daily clinical practice. United European Gastroenterol J. 2018;6:1117-25.
189. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Armstrong D i sur. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes. Inflamm Bowel Dis. 2013;19:332-41.
190. Kumar KG, Zhang J, Gao S, Rossi J, McGuinness OP, Halem HH i sur. Adropin deficiency is associated with increased adiposity and insulin resistance. Obesity (Silver Spring). 2012;20:1394-402.
191. Akcilar R, Emel Koçak F, Şimşek H, Akcılar A, Bayat Z, Ece E i sur. The effect of adropin on lipid and glucose metabolism in rats with hyperlipidemia. Iran J Basic Med. Sci. 2016;19:245-51.
192. Butler AA, Zhang J, Price CA, Stevens JR, Graham JL, Stanhope KL i sur. Low plasma adropin concentrations increase risks of weight gain and metabolic dysregulation in response to a high-sugar diet in male nonhuman primates. J Biol Chem. 2019;294:9706-19.

193. Butler AA, St-Onge MP, Siebert EA, Medici V, Stanhope KL, Havel PJ. Differential responses of plasma adropin concentrations to dietary glucose or fructose consumption in humans. Sci Rep. 2015;5:14691.

194. Thapa D, Xie B, Manning JR, Zhang M, Stoner MW, Huckestein BR i sur. Adropin reduces blood glucose levels in mice by limiting hepatic glucose production. Physiol Rep. 2019;7:e14043.

195. Dong XY, Wu MX, Zhang HM, Lyu H, Qian JM, Yang H. Association between matrix Gla protein and ulcerative colitis according to DNA microarray data. Gastroenterol Rep. 2020;8:66-75.

196. Cibor D, Domagala-Rodacka R, Rodacki T, Jurczyszyn A, Mach T, Owczarek D. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: Pathogenesis, assessment and implications. World J Gastroenterol. 2016;22:1067-77.

197. Biondi RB, Salmazo PS, Bazan SGZ, Hueb JC, de Paiva SAR, Sassaki LY. Cardiovascular risk in individuals with inflammatory bowel disease. Clin Exp Gastroenterol. 2020;13:107-113.

198. Fain ME, Kapuku GK, Paulson WD, Williams CF, Raed A, Dong Y, Knapen MHJ, Vermeer C, Pollock NK. Inactive Matrix Gla Protein, Arterial Stiffness, and Endothelial Function in African American Hemodialysis Patients. Am J Hypertens. 2018;31:735-41.

199. Knapen MH, Braam LA, Drummen NE, Bekers O, Hoeks AP, Vermeer C. Menaquinone-7 supplementation improves arterial stiffness in healthy postmenopausal women. A double-blind randomized clinical trial. Thromb Haemost. 2015;113:1135-44.

200. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Magdeleyns E, Ahmed N, Vermeer C, Beulens JW. The effect of menaquinone-7 supplementation on circulating species of matrix Gla protein. Atherosclerosis. 201;225:397-402.

201. Fabisiak N, Fabisiak A, Watala C, Fichna J. Fat-soluble vitamin deficiencies and inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. J Clin Gastroenterol 2017;51:878-89.
202. Kuwabara A, Tanaka K, Tsugawa N, Nakase H, Tsuji H, Shide K i sur. High prevalence of vitamin K and D deficiency and decreased BMD in inflammatory bowel disease. Osteoporos Int. 2008;20:935-42.
203. Zallot C, Quilliot D, Chevaux JB, Peyrin-Biroulet C, Gueant-Rodriguez RM, Freling E, i sur. Dietary beliefs and behavior among inflammatory bowel disease patients. Inflamm Bowel Dis. 2013;19:66-72.
204. Lucendo AJ, De Rezende LC. Importance of nutrition in inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2009;15:2081-8.
205. O'Connor EM, Grealy G, McCarthy J, Desmond A, Craig O, Shanahan F, i sur. Effect of phylloquinone (vitamin K1) supplementation for 12 months on the indices of vitamin K status and bone health in adult patients with Crohn's disease. Br J Nutr. 2014;112:1163-74.
206. van Ballegooijen AJ, Beulens JW. The role of vitamin k status in cardiovascular health: evidence from observational and clinical studies. Curr Nutr Rep. 2017;6:197-205.
207. Geleijnse JM, Vermeer C, Grobbee DE, Schurgers LJ, Knapen MH, Van Der Meer IM i sur. Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam study. J Nutr. 2004;134:3100-5.
208. Gast GC, de Roos NM, Sluijs I, Bots ML, Beulens JW, Geleijnse JM i sur. A high menaquinone intake reduces the incidence of coronary heart disease. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2009;19:504-10.

209. Geerling BJ, Badart-Smook A, Stockbrugger RW, Brummer RJ. Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls. Eur J Clin Nutr. 2010;54:514-21.

210. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Vermeer C, Magdeleyns EJ, Schurgers LJ, Beulens JWJ. Circulating matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification and vitamin K status in healthy women. J Nutr Bioche. 2013;24:624-28.

211. Budoff MJ, Shaw LJ, Liu ST, Weinstein SR, Mosler TP, Tseng PH i sur. Long-term prognosis associated with coronary calcification: observations from a registry of 25,253 patients. J Am Coll Cardiol. 2007;49:1860-70.

212. Shiraishi E, Iijima H, Shinzaki S, Nakajima S, Inoue T, Hiyama S i sur. Vitamin K deficiency leads to exacerbation of murine dextran sulfate sodium-induced colitis. J Gastroenterol. 2016;51:346-56.

213. Viegas CSB, Costa RM, Santos L, Videira PA, Silva Z, Araújo N i sur. Gla-rich protein function as an anti-inflammatory agent in monocytes/macrophages: Implications for calcification-related chronic inflammatory diseases. PLoS One. 2017;12:e0177829.

214. Kristensen SL, Ahlehoff O, Lindhardsen J, Erichsen R, Jensen GV, Torp-Pedersen Ci sur. Disease activity in inflammatory bowel disease is associated with increased risk of myocardial infarction, stroke and cardiovascular death-a Danish nationwide cohort study. PLoS One. 2013;8:e56944.

10. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODATCI:

Ime i prezime: Darko Brnić

Datum rođenja: 30. travnja 1973.

Adresa stanovanja: Drage Ivaniševića 52, 21 000 Split

Kontakt: +385 91 588 3937

Email: d.brnic@yahoo.com

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:

1997. doktor medicine, Medicinski fakultet Zagreb Studij u Splitu

2007. specijalist interne medicine

2013. uži specijalist iz gastroenterologije

2013. magistar znanosti, Medicinski fakultet u Splitu

RADNO ISKUSTVO

1997.-1998. pripravnik doktor medicine, Ustanova za hitnu medicinsku pomoć Split

2000.-2002. liječnik opće medicine, Dom zdravlja Metković

2002.-2007. specijalizant interne medicine, poliklinika Vlašić

2007.-2008. specijalist interne medicine, Poliklinika Sunce

2008.- danas, specijalist interne medicine, uži specijalist iz gastroenterologije, Klinički Bolnički Centar Split

NASTAVNA AKTIVNOST

2009.- danas, asistent, Katedra za internu medicinu (studij medicine, studij medicine na engleskom jeziku), Medicinski fakultet u Splitu

STRANI JEZICI

Engleski jezik (napredno), njemački jezik (osnovno)

PUBLIKACIJE

1. Brnić D, Martinovic D, Zivkovic PM, Tokic D, Tadin-Hadjina I, Rusic D i sur. Serum adropin levels are reduced in patients with inflammatory bowel diseases. Sci Rep. 2020;10:9264.

2.Grgurevic I, Bokun T, Mustapic S, Matic V, Rahelic D, Matic T i sur. FIB-4 first strategy for non-alcoholic fatty liver disease might not be appropriate for rulingout advanced liver fibrosis with current cut-off values in patients with type 2 diabetes mellitus. J Hepatol. 2020;73:S416.

3. Brnić D, Martinovic D, Zivkovic PM, Tokic D, Vilovic M, Rusic D i sur. Inactive matrix Gla protein is elevated in patients with inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2020;26:4866-4877.

4. Brnic D, Brnic D, Simundic I, Vanjaka Rogosic L, Tadic T. MRI and comparison mammography: a worthy diagnostic alliance for breast microcalcifications?Acta Radiol. 2016;57:413-21.

5. Grgurevic I, Puljiz Z, Brnic D, Bokun T, Heinzl R, Lukic A i sur. Liver and spleen stiffness and their ratio assessed by real-time two dimensional-shear wave elastography in patients with liver fibrosis and cirrhosis due to chronic viral hepatitis. Eur Radiol. 2015;25:3214-21.

6. Grgurevic I, Bokun T, Brnić D, Puljiz Ž, Heinzl R, Milošević M i sur. P494 liver and spleen stiffness assessed by quantitative real-time supersonic shear wave elastography (swe™) correlate with clinical stages and portohypertensive complications in patients with liver cirrhosis. J Hepatol 2014;60:S234.

7. Tonkic A, Tonkic M, Brnic D, Novak A, Puljiz Z, Simunic M. Time trends of primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates in Southern Croatia. J Chemoth. 2012;24:182-184.

8. Tonkić A, Tonkić M, Brnić D. Increasing prevalence of primary clarithromycin resistance in Helicobacter pylori strains in Split, Croatia. J Chemother. 2009;21:598-9

9. Maras-Simunic M, Grandic L, Brnic D, Simunic M, Druzijanic N. Massive gastrointestinal bleeding and obstruction of the ureter caused by the migration of a swallowed toothpick from the sigmoid colon-a case report. Coll Antropol. 2008;32:311-313.

10. Korljan Babić B, Ljutić D, Brnić D, Dodig J. The role of plasmapheresis in the treatment of amiodarone-induced thyrotoxicosis. Dial and Transplant 2007;4:227-9.