Razine bioaktivnih peptida katestatina i adropina u bolesnika s reumatoidnim artritisom

Šimac, Petra

Doctoral thesis / Disertacija

2023

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:171:408029

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

PETRA ŠIMAC, dr. med.

RAZINE BIOAKTIVNIH PEPTIDA KATESTATINA I ADROPINA U BOLESNIKA S REUMATOIDNIM ARTRITISOM

DISERTACIJA

SPLIT, 2023.

Ova doktorska disertacija izrađena je u Zavodu za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju Klinike za unutarnje bolesti, Kliničkog bolničkog centra Split.

Voditeljica rada: dr. sc. Dijana Perković, izv. prof.

Zahvala

Hvala mojim dragim suradnicima sa Zavoda za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju i to posebno dr. med. Ivoni Božić, dr. med. Marijani Matijaš, vms. Petri Burić te vms. Ani Cvitanić te ostalim članovima istraživačkoga tima koji su pridonijeli izradi ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem dr. sc. Jošku Božiću, izv. prof. koji je na sebi svojstven način dao obol cijelome istraživanju.

Hvala svim prijateljima na podršci, a ponajviše na strpljenju koje ste pokazali tijekom mojih nebrojivih sati provedenih pri izradi ove disertacije.

Najveće hvala mojoj poštovanoj mentorici te profesionalnom, ali i ljudskom uzoru, dr. sc. Dijani Perković, izv. prof. bez čije potpore i stručnog usmjeravanja izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća. Neizmjerno Vam hvala na neiscrpnoj ustrajnosti, poticanju i vjeri u naš uspjeh. Boljeg učitelja nisam mogla poželjeti, u svakom smislu.

Posljednje, ali ne i najmanje važno hvala, izražavam svojoj obitelji, ocu Nikici, majci Anki, sestri Katiji i bratu Ivanu. Vi ste snaga koja me vodi kroz život te utočište u ovim nesigurnim vremenima.

Voljeni moji roditelji, Vama posvećujem ovu disertaciju kao izraz svoje neopisive zahvalnosti za sve što ste mi pružili.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Reumatoidni artritis 2

1.1.1. Epidemiologija i etiologija reumatoidnoga artritisa 2

1.1.2. Patogeneza i patofiziologija reumatoidnoga artritisa 5

1.1.3. Zglobne manifestacije 7

1.1.4. Izvanzglobne manifestacije i komorbiditeti 9

1.1.5. Bolesti kardiovaskularnoga sustava i poremećaj metabolizma glukoze 14

1.1.6. Dijagnoza 18

1.1.7. Liječenje reumatoidnog artritisa 24

1.2. Katestatin 27

1.2.1. Uloga katestatina u patofiziologiji kardiovaskularnih bolesti 29

1.2.2. Uloga katestatina u metabolizmu lipida i glukoze 30

1.2.3. Uloga katestatina u imunološkoj homeostazi 31

1.2.4. Povezanost katestatina i kroničnih upalnih stanja 32

1.3. Adropin 33

1.3.1. Metabolizam ugljikohidrata i lipida te kontrola pretilosti 35

1.3.2. Uloga adropina u šećernoj bolesti 36

1.3.3. Uloga adropina u kardiovaskularnim bolestima 36

1.3.4. Uloga adropina u kroničnim upalnim bolestima 37

1.4. Povezanost mediteranske prehrane i reumatoidnoga artritisa 39

2. HIPOTEZE 43

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 45

4. ISPITANICI I METODE 47

4.1. Ispitanici 48

4.2. Postupci 49

4.2.1 Antropometrijska mjerenja, klinički pregled i ispitivanje navika ispitanika 49

4.2.2 Uzorkovanje krvi i biokemijska analiza uzoraka 50

4.2.3. Procjena aktivnosti bolesti i funkcionalne onesposobljenosti 50

4.2.4. Procjena pridržavanja tradicionalne mediteranske prehrane 53

4.3. Statistička analiza podataka 53

5. REZULTATI 55

5.1. Antropometrijske i kliničke karakteristike ispitanika 56

5.2. Razina serumskoga katestatina 59

5.2.1. Korelacije katestatina s laboratorijskim i antropometrijskim parametrima 60

5.2.2. Korelacija katestatina s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa 61

5.3. Razina serumskoga adropina 64

5.3.1. Korelacije adropina s laboratorijskim i antropometrijskim parametrima 65

5.3.2. Korelacija adropina s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa 67

5.3.3. Korelacija adropina s parametrima metabolizma glukoze 67

5.4. Utjecaj arterijske hipertenzije na serumske razine katestatina i adropina 68

5.5. Utjecaj biološke terapije na serumske razine katestatina i adropina 68

5.6. Vrijednosti MDSS upitnika 69

5.6.1. Korelacija MDSS upitnika sa serumskim razinama katestatina i adropina 69

5.6.2. Korelacija MDSS upitnika s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa 69

6. RASPRAVA 70

7. ZAKLJUČCI 80

8. LITERATURA 83

9. SAŽETAK 114

10. SUMMARY 117

11. ŽIVOTOPIS 120

POPIS OZNAKA I KRATICA

RA Reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

MHC Glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*)

HLA Humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen*)

Th limfociti pomoćnički limfociti (engl. *T helper cells*)

STAT4 signal transkripcije i aktivator transkripcije 4 (engl. *signal transducer and activator of transcription 4*)

IL Interleukin (engl. *interleukin*)

RF reumatoidni faktor (engl. *rheumatoid factor*)

ACPA antitijela na cikličke citrulinirane peptide (engl. *anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies*)

IgG imunoglobulin G (engl. *immunoglobulin G*)

Fc kristalizirajući fragment (engl. *fragment crystallizable*)

IgM imunoglobulin M (engl. *immunoglobulin M*)

IgE imunoglobulin E (engl. *immunoglobulin E*)

MPs metaloproteinaze (engl. *metalloproteinases*)

DCs dendritičke stanice (engl. *dendritic cells*)

IFN-γ interferon gamma (engl. *interferon gamma*)

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

FLSc sinoviociti nalik fibroblastima (engl. *fibroblast-like synoviocytes*)

PG prostaglandini (engl. *prostaglandins*)

MMPs matriksne metaloproteinaze (engl. *matrix metalloproteinases*)

GM-CSF faktor stimulacije granulocitno-makrofagnih kolonija (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)

ICAM-1 unutarstanična adhezijska molekula -1 (engl. *intercellular adhesion molecule - 1*)

RANKL receptor aktivatora nuklearnog faktora κB (engl. *receptor activator of nuclear factor-κB-ligand*)

NF-kB nuklearni faktor κB (engl. *nuclear factor-κB*)

STAT3 transduktor signala i aktivator transkripcije 3 (engl. *signal transducer and activator of transcription 3*)

DNA deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

KV kardiovaskularni (engl. *cardiovascular*)

CVDs kardiovaskularne bolesti (engl. *cardiovascular diseases*)

ILD intersticijska bolest pluća (engl. *interstitial lung disease*)

DMARDs antireumatski lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (engl. *Disease-modifying antirheumatic drugs*)

HRCT kompjutorizirana tomografija visoke rezolucije (engl. *high-resolution computed tomography*)

SjS Sjögrenov sindrom (engl. *Sjögren's syndrome*)

DAS28 ocjena aktivnosti bolesti na 28 zglobova (engl. *Disease Activity Score 28*)

ESSDAI indeks aktivnosti bolesti za Sjögrenov sindrom [engl. *The European League Against Rheumatism Sjögren's syndrome (SS) disease activity index*]

RV reumatoidni vaskulitis (engl. *rheumatoid vasculitis*)

PŽS periferni živčani sustav

SŽS središnji živčani sustav

FRAX Alat za procjenu rizika prijeloma (engl. *Fracture Risk Assessment Tool*)

MI infarkt miokarda (engl. *myocardial infarction*)

SCORE tablica za sustavnu procjenu kardiovaskularnog rizika (engl. *Systematic Coronary Risk Evaluation*)

ŠBT2 šećerna bolest tipa 2

FRS engl. *Framingham Risk Score*

RSS engl. *Reynolds Risk Score*

CHF kongestivno srčano zatajivanje (engl. *congestive heart failure*)

IR inzulinska rezistencija (engl. *insulin resistance*)

ITM indeks tjelesne mase

HR omjer hazarda (engl. *hazard ratio*)

CRP C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

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

IRS supstrat inzulinskog receptora (engl. *insulin receptor substrate*)

SE brzina sedimentacije eritrocita (engl. *erythrocyte sedimentation rate*, ESR)

NO dušikov monoksid (engl. *nitric oxide*)

LDL lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*)

ACR/EULAR Američko društvo za reumatologiju/Europska liga protiv reumatizma (engl. *The American College of Rheumatology/ The European League Against Rheumatism*)

RTG rentgen

UZ ultrazvuk

MR magnetska rezonancija

SPECT jednofotonska emisijska tomografija (engl. *Single Photon Emission Tomography*)

PET pozitronska emisijska tomografija (engl. *Positron Emission Tomography*)

CT kompjutorizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

OA osteoartritis (engl. *osteoarthritis*)

SLE sistemski eritemski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*)

csDMARDs konvencionalni sintetski DMARD-ovi (engl. *conventional synthetic DMARDs*)

tsDMARDS ciljani sintetski DMARD-ovi (engl. *targeted synthetic DMARDs*)

bDMARDs biološki DMARD-ovi (engl. *biologic DMARDs*)

JAK Janus kinaza (engl. *Janus Kinase*)

NYHA engl. *New York Heart Association*

CgA kromogranin A (engl. *chromogranin A*)

nAChR nikotinski kolinergični receptor (engl. *nicotinic acetylcholine receptor*)

IBDs upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel diseases*)

PI3K fosfatidil-inozitol 3-kinaza (engl. *phosphatidylinositide 3-kinase*)

eNOS endotelna sintetaza dušičnog oksida (engl. *endothelial nitric oxide synthase*)

PDE2 fosfodiesteraza tipa 2 (engl. *phosphodiesterase type 2*)

VSMCs vaskularne glatke mišićne stanice (engl. *vascular smooth muscle cells*)

ROS reaktivni kisikovi radikali (engl. *reactive oxygen species*)

VCAM-1 vaskularna stanična adhezijska molekula-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*)

HDL lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*)

CCL2 kemokinski ligand 2 (engl. *CC-chemokine ligand 2*)

MARCO makrofagni receptor kolagene strukture (engl. *macrophage receptor with collagenous domain*)

iNOS inducibilna sintaza dušikova oksida (engl. *inducible nitric oxygen synthase*)

Mcp1 monocitni kemotaksijski protein-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein 1*)

INF-γ interferon gamma (engl. *interferon gamma*)

OSA opstrukcijska apneja tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*)

MS metabolički sindrom (engl. *metabolic syndrome*)

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

Mc3r−/− melanokortinski receptor 3 deficijentni miševi (engl. *melanocortin-3 receptor-deficient mice*)

mRNA glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger ribonucleic acid*)

GPR19 receptor (engl. *G Protein-Coupled Receptor 19*)

PPAR-γ receptor za aktivator proliferacije peroksisoma tip γ (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor γ*)

ERK1/2 signalni put kinaze regulirane izvanstaničnim signalima 1/2 (engl. *extracellular signal-regulated kinase 1/2*)

Ser/Thr - kinaza B signalni put (engl. *protein kinase B*, AKT)

Treg regulatorni T limfociti (engl. *T regulatory cells*)

PKB/Akt proteinska kinaza B (engl. *protein kinase B/Akt*)

VEGF2 receptor vaskularnog endotelnog faktor rasta 2 (engl. *Endothelial Growth Factor Receptor – 2*)

hs-CRP visoko osjetljivi CRP (engl. *hypersensitive CRP*)

MPO-ANCA antineutrofilna citoplazmatska autoantitijela na mijeloperoksidazu (engl. *myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody*)

SSc sistemska skleroza (engl. *systemic sclerosis*)

BD Behçetova bolest (engl. *Behçet's disease*)

SSA/Ro52 protutijela na antigen A povezana sa SjS-om (eng. *anti–Sjögren'ssyndrome-related antigen A*)

TGF-β transformirajući faktor rasta β (engl. *transformer growth factor β*)

PUFA višestruko nezasićene ili polinezasićene omega-3 masne kiseline (engl. *polyunsaturated fatty acid*)

MDS Ocjena mediteranske prehrane (engl. *Mediterranean Dietary Score*)

KIDMED Ocjena mediteranske prehrane za djecu i adolescente (engl. *the Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents*)

BQI Ocjena kvalitete doručka u mediteranskoj prehrani (engl. *Breakfast Quality Index*)

MDS-p Ocjena mediteranske prehrane za trudnice (engl. *index for pregnancy based on a Mediterranean-type diet*)

rMDS Relativna ocjena mediteranske prehrane (engl. *the relative Mediterranean Diet Score*)

MDSS Indeks konzumiranja mediteranske prehrane (engl. *The Mediterranean Dietary Serving Score*)

HAQ Upitnik procjene bolesnikova zdravlja (engl. *Health Assessement Questionnaire*)

SARS-CoV-2 Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (engl. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)

ELISA enzimsko vezani imunoapsorbirajući esej (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

HbA1c glikolizirani hemoglobin A1c

VAS vizualna analogna ljestvica (engl. *visual analogue scale*)

ANOVA jednosmjerna analiza varijance (engl. *analysis of variance*)

NR nuklearni receptor (engl. *nuclear receptor*)

ROR engl. *RAR-related orphan receptors*

AdrKO adropin deficijentni mišji modeli (engl. *adropin knockout mice*)

WAT bijelo masno tkivo (engl. *white adipose tissue*)

1. UVOD

1.1. Reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*, RA) najčešća je upalna reumatska bolest koja primarno zahvaća male i srednje velike zglobove simetrične distribucije, dovodeći do oštećenja zglobova i posljedičnoga invaliditeta (1). RA predstavlja značajan teret, kako za pojedinca tako i za društvo (2, 3, 4). Primarni je proces sinovitis, stanje u kojemu imunološke stanice ulaskom u acelularnu sinoviju (membrana koja obavija zglob) dovode do stvaranja upalnog panusa koji razara zglobnu hrskavicu, uzrokuje koštane erozije i gubitak funkcije zahvaćenih zglobova. RA često je praćen brojnim izvanzglobnim i sistemskim manifestacijama (srčanožilnim, dišnim i hematopoetskim) (5). Smatra se da je uzrokovan kombinacijom genetskih i epigenetskih čimbenika, poremećajem staničnoga i humoralnoga imunološkog odgovora te djelovanjem okolišnih čimbenika (osobito izloženost duhanskom dimu i prašini) (6). S obzirom na raznolikost kliničke prezentacije, složenost prirodnoga tijeka bolesti i terapijskoga odgovora, RA predstavlja značajan istraživački i terapijski izazov (5). Kao kronična bolest RA tijekom vremena uzrokuje eksponencijalna opterećenja, stoga je od izuzetne važnosti pravovremeno postavljanje dijagnoze i brzi početak liječenja. Ujedno, najvažniji su daljnji napori u osmišljavanju novih strategija liječenja kako bi se postigla što bolja kontrola upale i smanjenje ili sprječavanje posljedične dugoročne štete (7).

1.1.1. Epidemiologija i etiologija reumatoidnoga artritisa

Procijenjena učestalost RA-a u zemljama Europske unije i Sjedinjenih Američkih Država u odraslih osoba iznosi od 0,5% do 1% sa značajnim regionalnim varijacijama i tendencijom smanjenja od sjevera prema jugu te od urbanih prema ruralnim područjima (1, 5, 8, 9). Prema posljednjim objavljenim rezultatima metaanalize sustavnih pregleda, globalna prevalencija RA-a između 1980. i 2019. godine iznosila je 460 na 100 000 stanovnika, s oscilacijama ovisno o geografskome položaju (10). Godišnja incidencija RA-a u Sjedinjenim Američkim Državama i zemljama sjeverne Europe procjenjuje se na približno 40 novooboljelih na 100 000 osoba (11, 12, 13). Dostupni podatci o prevalenciji RA-a u svijetu uvelike se razlikuju, što je vjerojatno posljedica nekoliko čimbenika. Među njima najvažniji su: nedosljednosti u definiranju populacije i metodologije korištene za identifikaciju bolesnika s RA-om (uključujući korištene izvore podataka, veličinu uzorka, devijaciju u prikupljanju podataka i vremenskoga perioda) te primjena klasifikacijskih kriterija za RA (14). Najveća prijavljena prosječna prevalencija bila je u Sjevernoj Americi (1,46%), a zatim slijede Afrika (0,80%), Europa (0,53%), Južna Amerika (0,46%) i Azija (0,34%) (10). Veća prevalencija bolesti u urbanim područjima u odnosu na ruralna ukazuje na utjecaj okolišnih čimbenika,

uključujući pušenje i niži socioekonomski status, te različito genetsko podrijetlo na nastanak RA-a (7, 14, 15). Time se djelomično može objasniti i teža klinička slika RA-a u osoba koje puše i koje su nižega socioekonomskog statusa (7). Žene češće obolijevaju u odnosu na muškarce. Štoviše, u žena su stope incidencije i prevalencije RA-a dva do tri puta veće u odnosu na muškarce. Rizik za razvoj RA-a tijekom života u žena iznosi 3,6%, a u muškaraca 1,7% (16). Najčešća je životna dob obolijevanja za žene između 50 i 60 godina, a za muškarce iznad 70 godina (5). Veća učestalost RA-a u žena upućuje na to da spolni hormoni i reproduktivni čimbenici utječu na razvoj i težinu RA-a, uključujući trudnoću kao samostalan čimbenik rizika (5, 17, 18).

Etiologija RA-a je složena, a razvoj bolesti zahtijeva prisustvo nekoliko čimbenika koji djeluju u različitim vremenskim okvirima na orkestriran način (5, 19). Kao što je već spomenuto, sada je jasno kako je početak bolesti rezultat kombinacije genetskih i okolišnih čimbenika rizika koji rezultiraju prekidom imunološke tolerancije i postupnim razvojem patoloških imunoloških procesa koji se u konačnici očituju kao fenotip RA-a (19). Razvoj RA-a može se podijeliti u tri faze: prva uključuje međusobno djelovanje genetskih i okolišnih čimbenika rizika, potom slijedi druga faza koja označava početak, u pravilu, subkliničke upale („pre-RA stanje“), a u konačnici dolazi do razvoja klinički jasnoga kroničnog sinovitisa i sistemske upale (20). Dosadašnjim istraživanjima otkriveno je više od 100 genetskih polimorfizama povezanih s razvojem RA-a, od kojih je većina prisutna u različitim geografskim populacijama, a neki od njih povezuju se s razvojem i drugih kroničnih upalnih bolesti (21). Najsnažniji genetski čimbenik, koji čini i do 30% ukupnoga genetskog učinka, povezan je s određenim alelima lokusa glavnoga sustava tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) klase II, uključujući sustav humanoga leukocitnog antigena (engl. *human leukocyte antigen*, HLA) DRB1, posebno alela HLA-DRB1*04 (21-23). Neki od HLA specifičnih za RA povezani su s agresivnijim erozivnim oblikom bolesti te povećanom sveukupnom smrtnošću u oboljelih (24). Utvrđena je nasljedna predispozicija za razvoj RA-a, a smatra se kako pozitivna obiteljska anamneza povećava rizik od razvoja RA-a za otprilike 3 do 5 puta (25). Procijenjeni rizik razvoja RA-a u jednojajčanih blizanaca iznosi 15-30%, dok su stope konkordancije u dvojajčanih blizanaca manje od 5% (19).

Prema rezultatima brojnih epidemioloških studija, postoji povezanost razvoja RA-a s izloženošću okolišnim čimbenicima (prehrana, pretilost, konzumacija kave, pušenje, nedostatak vitamina D), od kojih najvažniju ulogu imaju pušenje duhana i izloženost drugim inhaliranim česticama, posebno silikatnoj prašini (5, 26). Različiti patogeni organizmi i infekcije (virusi, kronična bakterijska kolonizacija, parodontitis) također se povezuju s RA-om

(27). Od patogenih mikroorganizama najčešće se navode *Proteus*, *Escherichia coli*, *Epstein–Barrov* virus, *Porphyromonas gingivalis* (27, 28). Posebno se ističe visoka prevalencija parodontitisa u novootkrivenome, ali i u kroničnome RA-u uz pozitivnu korelaciju kolonizacije s *Porphyromonas gingivalis* s težinom parodontitisa (29). Sve se više istražuje utjecaj mikrobioma na razvoj i progresiju RA-a, naglašavajući ključnu ulogu sastavnica mikrobioma crijeva. Predloženi mehanizmi uključeni u razvoj RA-a jesu pojačana aktivnost pomoćničkih limfocita (engl. *T helper cells*, Th) 17 i promjene u sastavu crijevne mikrobiote i/ili promijenjena propusnost crijevne sluznice (30). Iako brojne studije potvrđuju kako poznati genetski i okolišni čimbenici doprinose razvoju RA-a, mnogo se toga još treba razjasniti (7, 19). Unatoč tome što se HLA smatra ključnom poveznicom interakcije genskih i okolišnih čimbenika, posebno pušenja, što predstavlja važan mehanizam nastanka RA-a, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se konačno definirali etiološki čimbenici (9, 21, 26, 31). Pretpostavlja se da u predisponirane osobe okolišni čimbenici mogu dovesti do kroničnoga fenotipa RA-a (19).

Brojna istraživanja pružila su nove uvide u varijabilnost unutar HLA-DRB1 i drugih HLA lokusa koji su povezani s rizikom nastanka RA-a. Navedeni aleli dijele homolognu sekvencu aminokiselina na β-lancu HLA-DR molekula koja povezuje različite peptide i utječe na prezentiranje antigena na T-stanicama (32). Ostali genetski faktori, koji u slabijoj mjeri pridonose razvoju RA-a, najvjerojatnije su posredovani izmijenjenim kostimulacijskim signalnim putevima T-staničnih molekula (npr. CD28, CD40), citokina, receptora limfocita i urođene imunosti (*PTPN22*, *STAT4*, *TRAF-1*, *TNFAIP3*, *CTLA4*, *KIF5A/PIP4K2C*, *CCL21*, *CDK6*, *CD28*, *PRDMI*, *CD2/CD58* i *IL2-RA*, *PADI4*) (5, 31). Polimorfizam gena *PSORS1C1*, *PTPN2* i *MIR146A* uključenih u signalne puteve pretvornica signala i aktivatora transkripcije 4 (engl. *signal transducer and activator of transcription 4*, STAT4) i interleukina (engl. *interleukin*, IL) 10, povezuje se s težom kliničkom slikom, odnosno prisustvom autoantitijela i radiografskoga oštećenja (33). Glavni prediktor povezan s nastankom manifestnog RA-a jest prisutnost većega broja podtipova autoantitijela: reumatoidnoga faktora (engl. *rheumatoid factor*, RF), antitijela na cikličke citrulinirane peptide (engl. *anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies*, ACPA) ili antitijela na druge posttranslacijske molekule (34). Dodatni rizični čimbenik za RA predstavlja tzv. dijeljenje epitopa HLA-DRB1 molekula koji je, pak, povezan s prisutnošću karakterističnih ACPA i RF - IgG (engl. *immunoglobulin G*) klase (u otprilike 80% bolesnika s utvrđenom bolešću te u otprilike 50% s ranom bolešću) (35). Prisutnost RF-a i ACPA-e povezana je s težim zglobnim oštećenjima i razvojem izvanzglobnih manifestacija (19). ACPA mogu se detektirati u oko 67% bolesnika s RA-om i služe kao vrijedna

dijagnostička smjernica u bolesnika s ranim, nediferenciranim artritisom k mogućem razvoju RA-a (36, 37). Bolesnici s pozitivnim ACPA imaju agresivniji klinički fenotip RA-a u odnosu na one s negativnim protutijelima (38). U 80% bolesnika s RA-om nalazi se povišeni titar RF-a, odnosno protutijela na Fc (engl. *fragment crystallizable*) protutijela IgG klase (39). Iako RF može biti IgM (engl. *immunoglobulin M*), IgG ili IgE (engl. *immunoglobulin E*) klase (iznimno rijetko), uglavnom se radi o IgG klasi koja snažnije aktivira receptore na makrofazima i neutrofilima, čime se inducira aktivacija citokina i vezanje komplementa. IgG podklasa RF-a može migrirati u ekstravaskularni prostor, za razliku od ACPA (40). Pretpostavlja se kako ACPA stvaraju imunološke komplekse s RF-om, čime se pojačava upalni i destruktivni odgovor (40, 41). ACPA visoko su specifična za RA te, u niskome titru i s ograničenom specifičnošću, mogu biti prisutna i do 10 godina prije jasne dijagnoze RA-a, u takozvanom „preartikularnom stadiju“ (42). ACPA prepoznaju citrulinirane sinovijalne proteine uključujući: humani kolagen tipa II, vimentin, fibrinogen, fibronektin i α-enolazu, što pokreće upalni proces u zglobu (7). ACPA mogu uzrokovati gubitak kosti prije početka sinovitisa, i to aktivacijom makrofaga ili osteoklasta ili pojačanim vezivanjem citruliniranoga vimentina na membranu sinovijalnih makrofaga (7, 43). Serumske koncentracije ACPA mogu se smanjiti djelotvornim terapijskim intervencijama, međutim, u pravilu, bolesnici ne postanu ACPA seronegativni, za razliku od moguće negativizacije RF-a (44). Temeljem ovih spoznaja, može se zaključiti kako postoje najmanje dvije podskupine RA-a koje se dijele prema prisutnosti ili odsutnosti ACPA (45).

1.1.2. Patogeneza i patofiziologija reumatoidnoga artritisa

Patogeneza i patofiziologija RA-a uključuje invaziju i aktivaciju velikoga broja različitih stanica i otpuštanje upalnih i štetnih medijatora, uključujući citokine, prostaglandine i metaloproteinaze (engl. *metalloproteinases*, MPs) (7, 46). Nakon stimulacije prirođene i stečene imunosti upalne stanice infiltriraju u sinovijalnu membranu te dolazi do složene interakcije: limfocita T, antigen prezentirajućih stanica, dendritičkih stanica (engl. *dendritic cells*, DCs), makrofaga, limfocita B, neutrofila i mastocita, uz istovremenu invaziju pomoćničkih CD4+ T limfocita, čime se potiče daljnji upalni odgovor i lučenje IL-2 i interferona gamma (engl. *interferon gamma*, IFN-γ) (5, 7, 47). B limfociti sudjeluju u patogenezi RA-a, ne samo prijenosom antigena već i razvojem antitijela, i to RF-a i ACPA i citokina (47). Limfociti B ujedno otpuštaju proteine stanične membrane, uključujući imunoglobuline, te na površini eksprimiraju površinske antigene diferencijacije, kao što su CD20 i CD22 (48). Autoantitijela formiraju imunološke komplekse koji dodatno pospješuju razvoj proupalnih citokina, uključujući TNF-α (engl. *Tumor Necrosis Factor α*), stimuliranjem

Fc protutijela (41, 47). Tijekom upale B limfociti infiltriraju sinoviju potaknuti sinoviocitima nalik fibroblastima (engl. *fibroblast-like synoviocytes*, FLSs) i DCs. Ove stanice ujedno izlučuju faktore koji privlače B limfocite i utječu na njihovu diferencijaciju i preživljavanje (5). Aktivacija T- i B- limfocita doprinosi povećanomu otpuštanju citokina i kemokina, što rezultira povratnom spregom za dodatne interakcije T limfocita, makrofaga i B limfocita (47). Makrofazi sudjeluju u osteoklastogenezi, ponašajući se kao antigen prezentirajuće stanice te izlučivanjem proupalnih citokina, uključujući TNF-α, IL-1 i IL-6. Nadalje, pojačava se i aktivnost FLSs unutar sinovijalne membrane, koji također otpuštaju upalne citokine, prostaglandine (engl. *prostaglandins*, PG) i matriksne metaloproteinaze (engl. *matrix metalloproteinases*, MMPs) (7, 47). MMPs pripadaju obitelji endopeptidaza ovisnih o cinku te su djelotvorni medijatori u upalnim vezivnim bolestima kao što je RA (49).

TNF-α citokin je s pleiotropnim učincima u upalnoj kaskadi u RA-u, a uglavnom ga otpuštaju makrofazi sinovijalne membrane i panusa (5-7, 19, 50). TNF-α potiče otpuštanje IL-1, IL-6, IL-8 i faktora stimulacije granulocitno–makrofagnih kolonija (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, GM-CSF) (46). Ujedno se smatra da TNF-α aktivira fibroblaste koji otpuštaju adhezijske molekule kao što je unutarstanična adhezijska molekula - 1 (engl. *intercellular adhesion molecule 1*, ICAM-1) (51). TNF-α ubrzava proces osteoklastogeneze inducirajući ekspresiju receptora aktivatora nuklearnoga faktora κB (engl. *receptor activator of nuclear factor-κB-ligand*, RANKL) i pojačavajući RANKL signalizaciju (52, 53). Smatra se da je RANKL povezan s upalnim odgovorom preko signalnoga puta nuklearnoga faktora κB (engl. *nuclear factor-κB*, NF-kB) koji je identificiran kao jedan od glavnih upalnih putova, odgovoran za ekspresiju proupalnih gena (52-54). Štoviše, visoke razine upalnih citokina IL-1, TNF-a i IL-6 ciljni su geni, ali i aktivatori NF-kB signalnoga puta. Ključni su citokini povezani s indukcijom RANKL-a: CXCL10, TNF-a, IL-1b i IL-6 (54). Povećana ekspresija RANKL-a povezana je s drugim ključnim signalnim putem - transduktorom signala i aktivatorom transkripcije 3 (engl. *signal transducer and activator of transcription 3*, STAT3). STAT3 signalizacija uključena je u aktivaciju Th17 stanica povezanih s visokim razinama RANKL-a, što ukazuje na potencijalno važnu ulogu IL-17 u upalnome signalnom procesu u RA-u (55). Povišena razina proupalnoga citokina IL-6 najviše utječe na nastanak osteoklasta, posebno u akutnoj fazi sinovitisa (56). Razine IL-6 u sinovijalnoj tekućini koreliraju sa stupnjem radiološkoga oštećenja zglobova. IL-6 uglavnom otpuštaju sinovijalni fibroblasti, a u manjoj mjeri makrofazi (57). Koštana destrukcija u RA-u uvelike je posredovana osteoklastima u procesu koji se naziva osteoklastogeneza. Svi navedeni čimbenici, uključujući

makrofage, sinovijalne fibroblaste, T stanice, RANKL i citokine (TNF-α i IL-1), važni su za diferencijaciju osteoblasta u osteoklaste (5, 58).

Epigenetske modifikacije FLSs uzrokuju njihovu pojačanu aktivaciju i otpornost na apoptozu, što dovodi do hiperplazije sinovije. Nadalje, FLSs sposobni su proizvoditi kemokine i citokine i time potaknuti upalu. Proizvodnja MMPs dovodi do invazije tih stanica u hrskavicu, što pridonosi razaranju zglobova, gubitku funkcije, onesposobljenosti i boli. Promjene u epigenetskim modifikacijama, kao što su metilacija deoksiribonukleinske kiseline (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) te acetilacija, metilacija i sumoilacija histona, opisane su u patološki aktiviranim FLSs (59).

Zaključno, RA kompleksna je bolest koja nastaje djelovanjem različitih čimbenika u genetski predisponirane osobe, što dovodi do poremećaja imunosne tolerancije, stoga je dijagnoza pretkliničkoga RA-a postala fokus istraživačkih aktivnosti u cilju primjene preventivne terapije, a ne samo liječenja bolesti (7, 60).

1.1.3. Zglobne manifestacije

RA heterogena je multisistemska kronična upalna bolest, definirana kao simetrični deformirajući poliartritis sa sinovitisom kao glavnim obilježjem (5, 61). Sinovitis kao vodeći, ali ne i za RA specifični klinički simptom, označava oticanje zglobova zbog upale u sinovijalnoj membrani (7). Dijagnoza RA-a temelji se na kombinaciji kliničkih simptoma te laboratorijskih i slikovnih dijagnostičkih pretraga (5). Bolest se najčešće manifestira simetričnim bolnim, otečenim i zakočenim zglobovima, uglavnom zahvaćajući manje zglobove šaka i stopala (61). Ponekad prva manifestacija RA-a bude asimetrični oligo- ili poliartritis, a rijetko monoartritis (5). Tipične su promjene: oticanja, osjetljivost i smanjeni opseg pokreta koje započinju u proksimalnim interfalangealnim, metakarpofalangealnim, ručnim i metatarzofalangealnim zglobovima. Distalni interfalangealni zglobovi uglavnom nisu zahvaćeni (61).

Uobičajeni je rani simptom bolesti volarna osjetljivost stiloidnoga nastavka lakatne kosti, što može upućivati na upalu ekstenzornih tetiva vezanih na glavu lakatne kosti. U pravilu, zglobne deformacije ne pojavljuju se u ranoj fazi bolesti. Kada su deformiteti prisutni, važno je utvrditi razliku između onih reverzibilnih (Jaccoudova artropatija) i ireverzibilnih. Klasični su deformiteti šaka: „rupica za dugme“ (nepovratna fleksijska kontraktura proksimalnoga interfalangealnog zgloba i hiperekstenzija distalnoga interfalangealnog zgloba); „labuđi vrat“ (ireverzibilna hiperekstenzija proksimalnoga i fleksija distalnoga interfalangealnog zgloba); „Z“ palac (fleksija metakarpofalangealnoga zgloba i ekstenzija interfalangealnoga zgloba do 90^{o}); „glasovirska tipka“ (posljedica dorzalne subluksacije glave lakatne kosti). Navedene

promjene nastaju kao posljedica oštećenja tetiva i zglobne čahure. Tenosinovitis fleksornih tetiva može uzrokovati bol i „škljocavi prst" (engl. *"trigger finger"*), dok se tenosinovitis ekstenzornih tetiva manifestira kao oteklina dorzuma šake. Ruptura ekstenzornih tetiva češća je od rupture fleksornih. Dugotrajne promjene metakarpofalangealnih zglobova uzrokuju volarnu subluksaciju i ulnarnu devijaciju. Ulnarna devijacija metakarpofalangealnih zglobova i prstiju šaka sa zakretanjem ručnih zglobova prema radijalno može uzrokovati deformitet cijele šake koja poprima tzv. „Z“ oblik (Slika 1) (5, 61).



Slika 1. Tipične promjene šaka u sklopu reumatoidnog artritisa.

Lakatni zglob često je zahvaćen u RA-u s tipičnim ranim znakovima gubitka ekstenzije, za razliku od ramenoga zgloba koji je rjeđe zahvaćen. Karakteristične promjene ramenoga zgloba uključuju tendinopatiju rotatorne manšete, rupturu tetiva, adukcijsku kontrakturu, sinovitis i burzitis. Zahvaćenost vratne kralježnice iznimno je rijetka te je obično prisutna u bolesnika s uznapredovalom bolešću koji prijavljuju bol u vratu i zatiljku. Neurološki ispadi mogu nastati posljedično kompresiji korijena živaca ili same leđne moždine. Sinovitis zglobnoga prostora između prvoga i drugoga vratnog kralješka može rezultirati atlantoaksijalnom subluksacijom, erozijom odontoida, nestabilnošću transverzalnoga ligamenta i rupturom (5, 61).

Deformacije metatarzofalangealnih zglobova nastaju kao posljedica sinovitisa i velikoga opterećenja navedenih zglobova. Haluks valgus često je prisutan u bolesnika s RA-om, a ukoliko dođe do subluksacije ostalih falangi i zahvaćenosti fleksornih tetiva, razvija se kandžasti prst. Karakteristična je deformacija stopala lateralna devijacija metatarzofalangealnih zglobova, pri čemu stopalo poprima trokutasti oblik. Ove promjene uzrokuju prijenos opterećenja na drugi i treći metatarzofalangealni zglob, s posljedičnim razvojem boli, podležećih kalcifikata i deformiteta. Zahvaćenost stražnje tibijalne tetive, subtalarnoga i talonavikularnoga zgloba rezultira bolnošću, erozijama i subtalarnom dislokacijom s gubitkom svoda stopala. Bol u koljenu često se javlja u bolesnika s RA-om i može biti posljedica: aktivnoga sinovitisa, izljeva, velike Bakerove ciste ili sekundarnih degenerativnih promjena. Kuk je rjeđe zahvaćen u odraslih bolesnika, a zbog anatomskoga položaja, sinovitis kuka teže je dijagnosticirati (7, 61, 62-64). Rijetko je prisutna zahvaćenost ostalih zglobova, poput temporomandibularnoga i krikoaritenoidnoga zgloba. Oprečno, burzitis se može razviti na brojim lokalizacijama (olekranon, subakromijalno, subdeltoidno, trohanterno) (7, 61, 62).

Ostali klinički znakovi uključuju: sarkopeniju, atrofiju unutarnjih mišića šake, sniženu gustoću kostiju i koštane erozije zahvaćenih zglobova. U otprilike jedne četvrtine bolesnika s RA-om prisutni su potkožni reumatoidni čvorići. Najčešće su smješteni na ekstenzornoj strani proksimalnoga dijela lakatne kosti, što je vrlo specifično za seropozitivni RA. Reumatoidni čvorići mogu se razviti i na drugim mjestima kao što su: zatiljak, dlanovi i Ahilova tetiva. Diferencijalno dijagnostički ponekad ih je teško razlikovati od tofa u sklopu gihta (5, 61, 63-65).

Ukratko, dominantni su simptomi u bolesnika s RA-om: bol, jutarnja zakočenost (obično traje dulje od 30 minuta) i oticanje perifernih zglobova, što je često praćeno slabošću, deformitetima, umorom, malaksalošću, vrućicom, gubitkom težine i depresijom. Navedeni simptomi povezani s RA-om mogu prethoditi ili, što je češće, pojaviti se istovremeno sa zglobnim promjenama: palpatorna osjetljivost, zadebljanje sinovije, izljev (rano), eritem (rano), smanjen opseg pokreta (kasnije), ankiloza (kasnije) i subluksacija (kasnije) (65).

1.1.4. Izvanzglobne manifestacije i komorbiditeti

Izvanzglobne manifestacije mogu se razviti bilo kada tijekom bolesti, a njihova prisutnost povezana je s povećanom smrtnošću (66). Zahvaćenost drugih organa u RA-u češća je u bolesnika s teškom, aktivnom bolešću te u prisutnosti RF-a, ACPA i/ili HLA-DR4 alela (65). Prema rezultatima određenih studija izvanzglobne manifestacije pojavljuju se čak u do 40% bolesnika (8, 67).

Patogeneza izvanzglobnih manifestacija uključuje poremećaj urođene i stečene imunosti. Visoke razine cirkulirajućih imunoloških kompleksa i aktivnost komplementa (osobito C4 sastavnice) dokazane su u bolesnika s teškim izvanzglobnim manifestacijama, a demonstrirano je i da predviđaju smrtnost u bolesnika s reumatoidnim vaskulitisom (engl. *rheumatoid vasculitis*, RV). Izravna uključenost RF-a u formiranje cirkulirajućih imunoloških kompleksa, koji aktiviraju komplement, dodatno naglašava njegovu ključnu ulogu u patogenezi izvanzglobnih manifestacija (68). Pretpostavlja se kako su ACPA uključena u indukciju subkliničkoga aterosklerotskog oštećenja u bolesnika s RA-om, čime se podupire pretpostavka o njihovu doprinosu u razvoju kardiovaskularnih (KV) bolesti (engl. *cardiovascular diseases*, CVDs) (69). Ujedno se povezuju i s razvojem intersticijske bolesti pluća (engl. *interstitial lung disease*, ILD) u RA-u, temeljem nalaza visokih razina ACPA pronađenih u plućima bolesnika s RA-om i bronhiektazijama (70). Pretpostavlja se da genetska predispozicija ima dvostruku ulogu u patogenezi izvanzglobnih manifestacija (71). Naime, podtip HLA-DRB1*04 u pozitivnoj je korelaciji s pojavom izvanzglobnih manifestacija, posebno vaskulitisa i Feltyjeva sindroma, iako se pokazalo kako djeluje protektivno na nastanak ILD-a (72). U konačnici, muški spol i pušenje duhana dobro su poznati čimbenici rizika za razvoj izvanzglobnih manifestacija (70). Izvanzglobne manifestacije neophodno je identificirati jer je liječenje tih poremećaja povezano s kontrolom osnovne bolesti (65, 66).

Najčešći hematološki poremećaj u RA-u normocitna je anemija kronične bolesti koja, uz trombocitozu, korelira s aktivnošću bolesti i akutnom fazom upale. U bolesnika se može razviti i anemija uzrokovana nedostatkom željeza (gastrointestinalni gubitak krvi zbog kronične uporabe nesteroidnih protuupalnih lijekova i glukokortikoida). Terapija metotreksatom može uzrokovati anemiju uzrokovanu nedostatkom vitamina B12 i folata (5, 61, 65). Feltyjev je sindrom trijas RA-a, splenomegalije i neutropenije (73). Ponekad se može zabilježiti trombocitopenija, koja se u pravilu korigira optimiziranjem antireumatskih lijekova koji modificiraju tijek bolesti (engl. *Disease-modifying antirheumatic drugs*, DMARDs) (61, 65).

Zahvaćenost pluća u bolesnika s RA-om može biti uzrokovana samom bolešću, infekcijom ili štetnim djelovanjem imunomodulatorne terapije (5). Iako je prevalenciju različitih vrsta plućnih bolesti povezanih s RA-om teško procijeniti, čini se kako su ILD-a i bolesti pleure najčešće (74). Čimbenici rizika za nastanak ILD-a uključuju muški spol, stariju dob, povijest pušenja duhana i seropozitivnost (61). Štoviše, smatra se da interakcije između vanjskih čimbenika (pušenje duhana) i modifikacija HLA gena rezultiraju citrulinacijom proteina i razvojem autoantitijela na citrulinirane proteine. Aleli zajedničkoga epitopa HLA-DRB1*04 u kombinaciji sa štetnim sastojcima duhana pokreću citrulinaciju proteina i peptide,

čime započinje stvaranje ACPA i pojačana aktivnost ostalih proupalnih medijatora. To je ključan patogenetski mehanizam razvoja ILD-a u RA-u (75). Temeljem nalaza kompjuterizirane tomografije visoke rezolucije (engl. *high-resolution computed tomography*, HRCT) razlikuje se nekoliko oblika ILD-a u sklopu RA-a: uobičajeni intersticijski pneumonitis (obostrane bazalne subpleuralne promjene sa saćastim plućima), nespecifični intersticijski pneumonitis (bilateralna zasjenjenja poput mliječnoga stakla) i organizirajuća upala pluća (mrljaste konsolidacije) (76). Reumatoidni plućni čvorići rijedak su entitet sa širokom diferencijalnom dijagnozom (poput infekcija i malignih bolesti) (5). Bolesti dišnih puteva, koje pogađaju od 39% do 60% bolesnika s RA-om, mogu se manifestirati kao bolesti velikih (bronhiektazije, bronhiolitis, hiperreaktivnost, krikoaritenoidni artritis) ili malih dišnih puteva (konstriktivni i opstruktivni bronhiolitis) (62). Zahvaćenost pleure može oscilirati od pleuralnih izljeva, pleuritisa i zadebljanja pleure, do empijema, pneumotoraksa i sindroma zarobljenih pluća. Najčešće je prisutan jednostrani i asimptomatski pleuralni izljev (71).

Jedna od najčešćih očnih manifestacija u RA-u je keratokonjunktivitis (upala rožnice i spojnice), koja se očituje peckanjem, svrbežom, osjećajem pritiska iza oka ili osjećajem pijeska u oku, a može se pojaviti samostalno ili u kontekstu sekundarnoga Sjögrenova sindroma (engl. *Sjögren's syndrome*, SjS) (77). Sekundarni SjS relativno je česta manifestacija RA-a iako postotak bolesnika s RA-om, koji ispunjavaju klasifikacijske kriterije za SjS, i prevalencija simptoma suhoće u bolesnika s RA-om značajno variraju među objavljenim studijama - od 4% do 31% (78, 79). Također, postoji polemika o tome je li sekundarni SjS povezan s aktivnošću i trajanjem RA-a iako neki podatci impliciraju kako bolesnici sa sindromom preklapanja RA-a i SjS-a imaju svjostvene osobine: veću učestalost komplikacija i sistemske zahvaćenosti te veće zbrojeve DAS28 (engl. *Disease Activity Score 28*, DAS28) i ESSDAI [engl. *The European League Against Rheumatism Sjögren's syndrome (SS) disease activity index*] upitnika (79, 80).

Uz najčešće kožne manifestacije, reumatoidne čvoriće, postoji cijeli spektar mogućih kožnih promjena uključujući: RV, granulomatozne poremećaje i neutrofilnu dermatozu (71, 81). RV neuobičajena je komplikacija RA-a koja pogađa 2 do 3% bolesnika (68). Može zahvatiti male i srednje velike arterije i obično se razvija u dugotrajnim i teškim oblicima bolesti. Nadalje, pokazalo se kako su visoki titar RF-a, dugotrajna bolest, koštane erozije i reumatoidni čvorići značajni čimbenici rizika za zahvaćenost velikih krvnih žila u ovih bolesnika (82). Kožni vaskulitis najčešća je manifestacija RV-a (71). RV razmatra se kada se vaskulitis ne može objasniti drugim patološkim stanjima kao što su: šećerna bolest, ateroskleroza, infekcija, preosjetljivost na lijekove ili zloćudna bolest (83). Najčešće su kožne

promjene RV-a: periungualni infarkti (engl. *Bywater's lesions*), petehije, purpura i rijetko *erythema elevatum diutinum*. Nekrotizirajući vaskulitis srednje velikih krvnih žila obično dovodi do retikularne purpure, gangrene i dubokih ulkusa donjih udova (84). Rijetka su kožna stanja u RA-u: Sweetov sindrom, gangrenozna pioderma i subkornealna pustuloza (84, 85). S obzirom na heterogenost kliničke prezentacije, RV može biti životno ugrožavajuće stanje, što ovisi o zahvaćenome organskom sustavu [crijeva, pluća, bubrezi i središnji živčani sustav (SŽS)] (86). Važno je spomenuti kako se kožne promjene mogu pojaviti i kao posljedica specifičnih lijekova koji se koriste u terapiji RA-a: lihenoidna erupcija povezana s hidroksiklorokinom i TNF-a inhibitorima, ubrzano stvaranje kožnih čvorića povezano s metotreksatom, reakcije na intravenske lijekove, leukocitoklastični vaskulitis, psorijaziformne erupcije i TNF-a inhibitorima inducirani kožni eritematozni lupus (87).

Zahvaćenost perifernoga živčanog sustava (PŽS) prijavljena je u oko 20% bolesnika s RA-om i uključuje: mononeuritis multipleks, distalnu senzornu neuropatiju i senzomotornu neuropatiju (88). Neurološka zahvaćenost nastaje kao posljedica vaskulitisa *vasa nervorum*, zglobnih deformacija, kroničnoga sinovitisa i strukturnih promjena zglobova (71). Najčešća je manifestacija zahvaćenosti SŽS-a cervikalna mijelopatija zbog atlanto-aksijalne subluksacije ili subaksijalne subluksacije, a javlja se u do 40% bolesnika s RA-om (89). Diferencijalna dijagnoza neurološke zahvaćenosti u RA-u obuhvaća veliki raspon neuroloških nuspojava na lijekove koji se obično koriste u liječenju. Visoke doze glukokortikoida mogu se povezati s psihijatrijskim manifestacijama i kognitivnim oštećenjem, sulfasalazin i metotreksat s glavoboljom i perifernom neuropatijom, dok su antimalarici povezani s oštećenjem mrežnice i ototoksičnošću (90, 91). „Biološka" terapija povezuje se s mogućim razvojem: Guillain-Barréova sindroma, Miller Fisherova sindroma, kronične upalne demijelinizirajuće polineuropatije, multifokalne motoričke neuropatije, mononeuritis multipleksa i aksonalne senzomotorne polineuropatije (90). Naposljetku, do 40% bolesnika s RA-om razvija psihijatrijske poremećaje, poput anksioznosti i depresije. Prevalencija ovih stanja slična je kao i u ostalima kroničnim bolestima, a povezuje se s prisutnošću prezistirajuće boli (92).

Zahvaćenost srca izvanzglobna je manifestacija povezana s većom smrtnošću, uglavnom zbog veće učestalosti srčanoga zatajenja (93). Iako mogu biti zahvaćeni svi slojevi srca, perikarditis najčešći je oblik, dok se miokarditis i poremećaji provođenja znatno rjeđe razvijaju. Procijenjena prevalencija perikarditisa iznosi 10% do 50% bolesnika s RA-om (93, 94). Tipični simptomi uključuju oštru pleuritičnu bol u prsištu, perikardijalno trenje te, u teškim slučajevima, tamponadu perikarda (95). Bolesnici s RA-om imaju veći rizik od razvoja perikardijalnoga izljeva u usporedbi sa zdravom kontrolnom skupinom, a dominantni su

simptomi zaduha pri naporu koja napreduje do ortopneje, bol u prsištu i/ili osjećaja „punoće" (94). Ostale su klinički neuobičajene srčane manifestacije miokarditis i KV autonomna disfunkcija (93, 96).

Manje su česte izvanzglobne manifestacije poremećaji probavnog trakta koje mogu biti izravna posljedica RA-a, sekundarne pridružene autoimune bolesti ili terapije (97). Najčešći su među njima povišeni testovi jetrene funkcije i RV malih i srednje velikih krvnih žila probavnoga trakta, što može uzrokovati intestinalno krvarenje ili perforaciju, ulkus jednjaka ili želuca te upalu slijepoga crijeva (68, 97, 98). Važno je istaknuti kako su poremećaji jetrene funkcije uglavnom izazvani lijekovima, masnom infiltracijom ili nespecifičnim reaktivnim hepatitisom s limfocitnom infiltracijom (99). Sekundarna amiloidoza neuobičajena je komplikacija RA-a koja se može razviti u do 13% bolesnika (97). Pretpostavlja se da je više povezana s trajanjem nego s težinom kliničke slike RA-a (100). Ovisno o položaju amiloidnih naslaga mogu se očekivati različite komplikacije: ruptura jetre i slezene, bol, mučnina, malapsorpcija i kronični proljev (100, 101).

Prevalencija bubrežih bolesti u RA-u iznosi između 20% i 50% (102). Može se manifestirati kao mezangijski ili membranski glomerulonefritis te bolest minimalnih promjena. Navedene bolesti mogu nastati kao izravna posljedica dugotrajnoga upalnog procesa, no češće su povezane s komplikacijama terapije (103, 104). Rijetko je oštećenje bubrežne funkcije povezano s RV-om i amiloidozom (102).

RA ima umjereno veću stopu ukupne incidencije malignih oboljenja u odnosu na opću populaciju, što se posebno odnosi na povećanu stopu limfoma, kako Hodgkinova tako i ne-Hodgkinova, kao i karcinoma pluća (105, 106, 107). Zanimljivo je kako je zabilježena smanjena incidencija raka debeloga crijeva i dojke, dok je incidencija raka prostate, jajnika i vrata maternice te melanoma slična onoj u općoj populaciji (105). Pretpostavlja se da interakcija autoimune patogeneze RA-a, genetskih čimbenika i virusnih infekcija doprinosi povećanome riziku za razvoj spomenutih karcinoma (105-107). Brojna randomizirana kontrolirana klinička istraživanja nisu pokazala statistički značajan povećan rizik od malignoga oboljenja povezana s „biološkom" terapijom u odnosu na kontrolne skupine, osim moguće povezanosti s razvojem melanoma (108-110). Maligna bolest u RA-u može utjecati na procjenu aktivnosti bolesti. Naime, u takvih bolesnika često dolazi do povećanja umora, depresije i porasta reaktanata akutne faze upale, što se sve može pogrešno protumačiti kao pogoršanje RA-a. To pak može utjecati na odluku o daljnjemu liječenju te o povećanju doze imunosupresivnih lijekova i neželjenih ishoda. Time bi se potencijalno mogao objasniti opaženi porast stope dijagnosticiranih malignoma na početku primjene „biološke" terapije. Posebnu pozornost treba

obratiti na bolesnike liječene glukokortikoidima, starije bolesnike i one s pozitivnom anamnezom karcinoma (111).

Bolesnici s RA-om imaju povećani rizik razvoja ozbiljnih infekcija zbog prirode same bolesti, komorbiditeta i imunosupresivnoga liječenja, što se posebno odnosi na bolesnike s visokom aktivnošću bolesti (112). Promjene urođenoga i stečenoga imunološkog sustava pridonose povećanome riziku od infekcija kroz nekoliko signalnih puteva koji prvenstveno rezultiraju neutropenijom i smanjenom sposobnošću naivnih T limfocita da prepoznaju sve potencijalno bezopasne, ali i one štetne antigene (113, 114). Štoviše, prerano starenje imunološkoga sustava može biti odgovorno za oštećenje ključnih imunoloških funkcija, a time i za oslabljenu zaštitu od infektivnih bolesti (115). Najčešća su mjesta ozbiljnih infekcija donji dišni put, koža i meka tkiva. Potvrđeno je kako bolesnici s RA-om, kojima je potrebna hospitalizacija, imaju višu stopu težih infekcija u usporedbi s bolesnicima bez RA-a, što je u najvećoj mjeri posljedica obilježja same bolesti (116). Stoga se u svih bolesnika s RA-om preporučuje cijepljenje, primjerice protiv gripe, pneumokoka i herpes zostera (117).

RA predstavlja visoki rizik za razvoj osteoporoze zbog ubrzanoga lokalnog i sustavnog gubitka koštane mase (118). Ostali su čimbenici koji pridonose osteoporozi: proupalni citokini (TNF-a, IL-1, IL-6, IL-17), koji imaju osteoklastogene učinke; ACPA i RF s ključnom ulogom u posredovanju gubitka koštane mase (potiču povećano otpuštanje TNF-a iz makrofaga i imaju izravnu interakciju s prekursorima osteoklasta); kumulativna doza glukokortikoida i smanjena pokretljivost bolesnika (5, 43, 119, 120). Procijenjena prevalencija osteoporoze u bolesnika s RA-om oscilira od 30% do 50%, a rizik od niskoenergetskih prijeloma uslijed krhkosti koštanoga sustava veći je u RA-u u usporedbi s općom populacijom. Unatoč odgovarajućoj primarnoj prevenciji osteoporoze putem pripravaka kalcija i vitamina D i prihvatljivom tjelesnom aktivnošću, većina bolesnika s RA-om razvit će osteoporozu tijekom napredovanja bolesti (121). Redoviti probir za osteoporozu u bolesnika s RA-om ključan je za prevenciju prijeloma jer RA ima jedinstvene čimbenike rizika (120, 122). Klinička procjena, biokemijska analiza markera koštane pregradnje, dijagnostičke pretrage (denzitometrija kostiju, radiografija kralježnice i kvantitativna kompjuterizirana tomografija visoke rezolucije) i FRAX (engl. *Fracture Risk Assessment Tool*) računalni algoritam dostupni su alati koje je potrebno koristiti u svakodnevnome kliničkom radu za određivanje rizika prijeloma u bolesnika s RA-om (122).

1.1.5. Bolesti kardiovaskularnoga sustava i poremećaj metabolizma glukoze

KV-e bolesti predstavljaju najvažnije komorbiditete u RA-u zbog toga što su veliki KV-i incidenti još uvijek vodeći uzroci smrtnosti u RA-u, što smanjuje očekivani životni vijek tih

bolesnika (1, 123). Štoviše, smrtnost je u bolesnika s RA-om za 1,5 puta veća u usporedbi s općom populacijom, a 30 do 40% svih smrtnih slučajeva uzrokovano je upravo KV-im bolestima (124-127).

Dosadašnja istraživanja pokazala su kako bolesnici s RA-om imaju dvostruko veći rizik nastanka infarkta miokarda (engl. *myocardial infarction*, MI) te do 50% veći rizik KV-e smrtnosti u usporedbi s općom populacijom (124, 125). Visoka prevalencija klasičnih KV-ih čimbenika rizika uključenih u bodovni sustav SCORE (engl. *Systematic Coronary Risk Evaluation*), kao što su: šećerna bolest tip 2 (ŠBT2), arterijska hipertenzija, pretilost, pušenje i dislipidemija, ne može u potpunosti objasniti navedeni 50% povećani rizik KV-ih morbiditeta i mortaliteta u RA-u, stoga se smatra kako sinergistički učinak tradicionalnih KV-ih rizičnih čimbenika i proupalna intrinzička obilježja RA-a doprinose tako značajnom KV-om morbiditetu i mortalitetu (128-134). Pri tome se posebno izdvaja utjecaj kronične upale u razvoju ključnoga patofiziološkog mehanizma KV-ih bolesti - ateroskleroze (135). Unatoč dobro poznatoj i definiranoj prevalenciji tradicionalnih KV-ih čimbenika rizika u RA-u u svakodnevnome kliničkom radu u rutinskoj primjeni još uvijek nisu upitnici za njihovu procjenu, kao što su: [FRS (engl. *Framingham Risk Score*), RSS (engl. *Reynolds Risk Score*), SCORE] (134, 136).

Najčešća je srčana manifestacija u RA-u perikarditis. Uglavnom je asimptomatski te se utvrdi slučajno elektrokardiografski ili tijekom obdukcije u gotovo 50% bolesnika s RA-om. No, perikarditis nije povezan s povećanim KV-im rizikom (137). Rizik nastanka MI-a, nakon prilagodbe modela za klasične KV-e čimbenike rizika, dvostruko je veći u bolesnika s RA-om spram odgovarajuće kontrolne skupine (132). Nadalje, bolesnici s RA-om imaju veću vjerojatnost razvoja asimptomatske ishemijske bolesti srca, srčanoga zatajivanja i iznenadne srčane smrti (8). Utvrđen je i dvostruko veći rizik za nastanak cerebrovaskularnih i venskih tromboembolijskih incidenata u bolesnika s RA-om u usporedbi s općom populacijom (138, 139). Dominantne su kliničke manifestacije KV-ih oboljenja u RA-u ishemijska bolest srca i kongenstivno srčano zatajivanje (engl. *congestive heart failure*, CHF). Akutni koronarni sindrom u ovih je bolesnika znatno teži i s lošijim ishodom u odnosu na opću populaciju (140). Za naglasiti je kako je pojavnost CHF-a u bolesnika s RA-om gotovo dvostruko veća nego u općoj populaciji, što se posebno odnosi na one bolesnike sa slabijom kontrolom bolesti i sniženom ejekcijskom frakcijom lijeve klijetke koja korelira s aktivnošću RA-a (133, 138, 141). Rizik iznenadnoga srčanog zastoja, značajno povezan sa sustavnom upalom te u znatnoj mjeri neovisan o konvencionalnim čimbenicima rizika, gotovo je dva puta veći u RA-u u usporedbi s općom populacijom (140). Dvostruko većemu riziku KV-ih obolijevanja u bolesnika s RA-

om pridonosi i veća prevalencija metaboličkih poremećaja uključujući: visceralnu pretilost, arterijsku hipertenziju, inzulinsku rezistenciju (engl. *insulin resistance*, IR) i protrobmotsko stanje (142).

Bolesnici s RA-om izloženi su povećanome riziku nastanka šećerne bolesti zbog nekoliko čimbenika, od kojih su najvažniji kronična upala, intolerancija glukoze i IR-a (128, 132, 143). Procijenjena je prevalencija šećerne bolesti u bolesnika s RA-om između 15% i 19%, dok je svjetska prevalencija šećerne bolesti u 2012. godini procijenjena na 8,3% (144, 145). Omjer hazarda (engl. *hazard ratio*, HR) za razvoj šećerne bolesti u bolesnika s RA-om iznosi 1,5, a nakon prilagodbe modela za tradicionalne KV čimbenike rizika, konzumaciju alkohola, terapiju glukokortikoidima i komorbiditete 0,94 (144, 146). Zaključno, šećerna bolest predstavlja zaseban dodatni rizični čimbenik za KV-e bolesti u bolesnika s RA-om (130). U britanskoj kohorti, od 11 158 bolesnika s RA-om praćenih od 1986. do 2010. godine, stopa incidencije šećerne bolesti iznosila je 6,3/1000, sa znatnim utjecajem pretilosti i životnih navika na razvoj šećerne bolesti (pušenje i konzumacija alkohola) (146). Zanimljiva je činjenica o većoj prevalenciji šećerne bolesti tipa 1 u bolesnika koji imaju pozitivna ACPA, što upućuje na moguću modifikaciju zajedničkih gena za razvoj ovih dviju bolesti (HLA-DRB1, *PTPN22*, *CTLA-4*, *TAGAP*, *KIAA*, *1109/TENR/*, *IL2/IL21*) (147, 148). Povezanost ŠBT2 i RA-a još uvijek nije u potpunosti objašnjena. Smatra se kako povišene razine C-reaktivnoga proteina (engl. *C-reactive protein*, CRP) ili IL-6 u RA-u potiču razvoj ŠBT2 (149), no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova hipoteza.

Za razliku od prethodno navedenoga, povezanost između RA-a i IR-e dobro je istražena (147). IR je poznati rizični čimbenik za nastanak KV-ih bolesti i ŠBT2 (128). Štoviše, utvrđeno je kako su ključni proupalni citokini u RA-u, IL-6 i TNF-α, povezani s IR-om i ŠBT2 (128, 143, 144, 150). IR rezultira povećanim otpuštanjem inzulina kako bi se dobio odgovarajući odgovor na hormon. IR ima središnju ulogu u patofiziologiji metaboličkoga sindroma koji je povezan s dvostrukim povećanjem rizika nastanka KV-ih bolesti (151). Dostupna metoda za kvantifikaciju IR-e jest određivanje indeksa matematičkoga homeostatskog modela za IR-u (engl. *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*, HOMA-IR) koji se temelji na povezanosti razine glukoze u krvi natašte i inzulina (147, 151). Prevalencija IR-e veća je u bolesnika s RA-om u odnosu na opću populaciju (51% u novootkrivenom te 58% u dugotrajnom RA-u naspram 19% u kontrolnoj skupini) (152, 153). Oprečni rezultati prethodnih studija ukazuju na moguću povezanost IR-e s masnim tkivom, primjenom glukokortikoida, prisutnošću RF-a, aktivnošću bolesti i određenim biljezima upale (TNF-α, CRP, IL-1β, IL-6) (152-155). Na temelju vrijednosti HOMA-IR, IR teža je u bolesnika s visokom aktivnošću bolesti, mjerena

DAS28 upitnikom (DAS28 > 5,1) u usporedbi s onima koji imaju umjereno aktivnu bolest (DAS28 između 3,2 i 5,1) (155). TNF-α djeluje kao najizraženiji pokretač IR-e modificirajući signalni put inzulinskoga receptora vezivanjem za supstrat 1 inzulinskoga receptora (engl. *insulin receptor substrate 1*, IRS-1), čime inducira IR-u (156). Neovisno o glukokortikoidima i klasičnim KV-im čimbenicima rizika smatra se kako kronična upala visokoga stupnja posredovana, prvenstveno TNF-a i IL-6, ima dijabetogeni učinak (143, 144, 150, 157, 158). Uz dijabetogeni učinak, KV-e bolesti predstavljaju ogledni primjer sistemskoga djelovanja kronične upale u RA-u, odnosno njenog utjecaja izvan mišićno-koštanoga sustava (159-164).

Povećani KV rizik je povezan s obilježjima kronične upale kao što su ubrzana sedimentacija eritrocita (SE) (engl. *erythrocyte sedimentation rate*, ESR), razina CRP-a, broj zahvaćenih zglobova, aktivnost i težina bolesti te autoantitijela patognomonična za RA (133, 160, 163, 164). Cirkulacija i taloženje imunoloških kompleksa, koje pokreće RF, imaju ključnu ulogu u patogenezi vaskulitisa, dok prisustvo ACPA potiče subkliničko aterosklerotsko oštećenje (68, 165). Nadalje, ACPA pozitivnost samostalan je čimbenik povezan s ishemijskom bolešću srca i oštećenjem miokarda (166). Ovi podatci sugeriraju da autoimuno djelovanje autoantitijela na citrulirane proteine u RA-u može rezultirati remodeliranjem miokarda te, u konačnici, oštećenjem funkcije miokarda (167). Proupalni citokini poput TNF-α, IL-17, IL-6 i IL-1β prevladavaju u bolesnika s RA-om i KV-im bolestima. Ti citokini, osim što su uključeni u nastanak sinovijalnoga panusa, pridonose aktivaciji endotelnih stanica, čime, zajedno s enzimima koji razgrađuju izvanstanični matriks, pokreću proces ateroskleroze i aterosklerotskih vaskularnih lezija. Ujedno potiču koagulacijsku kaskadu unutar krvnih žila, čime povećavaju rizik rupture aterosklerotskih plakova (160-162). U cijelome navedenom procesu središnju ulogu ima endotel jer proizvodi vazoaktivne tvari koje djeluju na tonus krvnih žila te utječu na homeostazu između cirkulirajućih krvnih stanica i stijenke krvnih žila. Jedna je od ključnih vazoaktivnih molekula dušikov monoksid (engl. *nitric oxide*, NO). Kronična upala može utjecati na ravnotežu između otpuštanja NO-a i drugih vazoaktivnih tvari, uzrokujući endotelnu disfunkciju s posljedičnim poticanjem ateroskleroze (168). NO-om posredovana aktivacija endotelnih stanica dovodi do povećane propusnosti endotela omogućujući prodor lipoproteina niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*, LDL) i imunoloških stanica (T limfociti i monociti) u subendotelni prostor i *tunicu intimu*. Potom se monociti transformiraju u makrofage koji fagocitiraju oksidirani LDL pretvarajući se u pjenušave masne stanice. Makrofazi istodobno izlučuju proupalne citokine (IL-6 i TNF-α) koji potiču daljnje nakupljanje limfocita i monocita u unutarnjemu sloju stijenke krvne žile (169). Navedeni rezultati ukazuju na moguću ključnu pretpostavku o utjecaju povišenih razina

proupalnih citokina na ubrzanu aterosklerozu u RA-u. Naime, proupalni citokini potiču protrombotsko stanje obilježeno endotelnom disfunkcijom, IR-om, dislipidemijom i poremećenom aktivacijom koagulacijske kaskade, što dovodi do rupture aterosklerotskoga plaka, razvoja KV-ih bolesti s poznatim posljedicama (170). CRP također korelira sa smanjenom vazodilatacijom i veličinom aterosklerotskoga plaka. Više razine CRP-a povezane su s aterosklerozom, MI-a, CHF-em i povećanim ukupnim mortalitetom u RA-u (171). Nadalje, osjetljivost plaka na oštećenja i rupturu veća je u bolesnika s aktivnom bolešću u odnosu na bolesnike s niskom aktivnošću RA-a, što implicira povezanost sastavnica plaka i kronične upale (172). Aktivacija signalnih puteva, koji povećavaju otpor u perifernim krvnim žilama, i prisutnost specifičnih genetskih polimorfizama pridonose razvoju arterijske hipertenzije u RA-u. Iako je arterijska hipertenzija utvrđena u 79,5% bolesnika s RA-om, čak 39,4% bolesnika ne uzima antihipertenzivnu terapiju (173).

Temeljem svih navedenih spoznaja zaključeno je kako je RA samostalan i vrlo značajan KV-i rizični čimbenik, stoga bi, uz zbrinjavanje tradicionalnih čimbenika rizika, kontrola aktivnosti RA-a trebala biti imperativ (129, 166, 170).

1.1.6. Dijagnoza

Dijagnoza RA-a temelji se na kombinaciji anamnestičkih (osobnih i obiteljskih) podataka, kliničkoga pregleda, te radioloških i laboratorijskih pretraga (7, 40). Subklinička upala zglobne ovojnice ili membrane (sinovije) može se utvrditi ultrazvučno (UZ) ili magnetskom rezonancijom (MR), a pokazuje promjene kao što su oteklina unutarzglobnih mekih tkiva ili hipervaskularizacija sinovijalne membrane (40). Anamnestički podatci opisuju nedavni početak bolova u zglobovima uz otekline i jutarnju zakočenost u trajanju od najmanje 30 minuta (7). Tegobe su prisutne u malim zglobovima šaka i stopala te mogu biti praćene povišenim serumskim razinama CRP-a ili ubrzanom SE-a. Ponekad RA može započeti naglo, u vidu poliartritisa i vrućice s brzim razvojem izvanzglobnih manifestacija. No, uglavnom se radi o bolesti s vrlo podmuklim, sporim i postupnim razvojem zglobnih oštećenja (5, 174). Od iznimne je važnosti pravovremeno prepoznati bilo kakav oblik potencijalno kronične upale zglobova poradi primjene DMARD-ova kako bi se spriječila daljnja trajnja oštećenja, uz redovnu procjenu aktivnosti bolesti (7).

U svrhu identifikacije i usklađivanja homogene skupine bolesnika za klinička ispitivanja, 2010. godine ustanovljeni su ACR/EULAR (engl. *The American College of Rheumatology/The European League Against Rheumatism*) klasifikacijski kriteriji koji kliničarima služe u svakodnevnome radu kao pomoćni alat pri postavljanju dijagnoze RA-a. Za

razliku od prethodnih ACR klasifikacijskih kriterija iz 1987. godine novi kriteriji omogućuju postavljanje dijagnoze RA-a u ranoj fazi bolesti (175-177). Klasifikacija RA-a prema novim ACR/EULAR kriterijima zahtijeva prisutnost najmanje jednoga klinički otečenoga zgloba i najmanje 6 od ukupno 10 mogućih zbirnih bodova (Tablica 1). Osjetljivost ovih kriterija iznosi 82%, a specifičnost 61% (175). U odnosu na ranije ACR-ove kriterije osjetljivost je za 11% veća, dok je specifičnost za 4% niža (177). Krajni je cilj dijagnosticiranja preciznost i točnost za svakoga pojedinačnog bolesnika, dok je cilj klasifikacije maksimizirati homogenost populacije za studijske protokole iako često upravo klasifikacijski kriteriji služe kao potpora dijagnozi (7).

Tablica 1. ACR/EULAR klasifikacijski kriteriji za RA iz 2010. godine. (**tablica prilagođena prema:** Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, i sur. Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010;62:2569-81.).

ZGLOBNA DISTRIBUCIJA (0-5)	
1 veliki zglob	0
2-10 velikih zglobova	1
1-3 mala zgloba*	2
4-10 malih zglobova*	3
> 10 zglobova**	5
SEROLOGIJA (0-3)	
Negativni RF i ACPA	0
RF ili ACPA pozitivni u niskom titru	2
RF ili ACPA pozitivni u visokom titru	3
TRAJANJE SIMPTOMA (0-1)	
< 6 tjedana	0
≥ 6 tjedana	1
REAKTANTI AKUTNE FAZE UPALE (0-1)	
Uredne vrijednosti CRP-a i SE	0
Povišene vrijednosti CRP-a ili ubrzana SE	1

*bez broja zahvaćenih velikih zglobova

*uz najmanje jedan mali zahvaćeni zglob

Kratice: ACR/EULAR - *American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism*; **RA -** reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **RF** - reumatoidni faktor (engl. *rheumatoid factor*); **ACPA** - antitijela na cikličke citrulinirane peptide (engl. *anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies*); **CRP** - C- reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*); **SE** - sedimentacija eritrocita

Fizikalni pregled uključuje detaljan pregled zglobova, kao i opći sistemski pregled. Tipičan nalaz upaljenoga zgloba uključuje oteklinu mekih česti uz palpatornu osjetljivost zgloba, što je vrlo često praćeno ograničenim opsegom pokreta (5, 7). Vrlo koristan test za procjenu

zahvaćenosti metakarpofalangealnih ili metatarzofalangalnih zglobova jest takozvani „test stiska“ (5). Prepoznavanje sinovitisa ključno je za postavljanje dijagnoze RA-a (7).

S obzirom na to da je RA kronična upalna bolest, često se u laboratorijskim, hematološkim i biokemijskim nalazima bilježe ubrzana SE, povišene vrijednosti CRP-a i feritina te trombocitoza i leukocitoza kao reaktanti akutne upale uz sideropenijsku ili normocitnu anemiju (5, 174). U cilju procjene zahvaćenosti pojedinih organskih sustava analiziraju se testovi jetrene i bubrežne funkcije te nativni urin (5). Porast serumske koncentracije CRP-a može nastati, ne samo zbog upale zgloba već i zbog infekcije ili ozljede tkiva. Uglavnom ga izlučuju hepatociti pod utjecajem vodećih proupalnih citokina (IL-6, IL-1β i TNF-α), dok manji dio izlučuju monociti, limfociti, adipociti, neuroni te stanice glatkih mišića (178). Razine CRP-a pozitivno koreliraju sa stupnjem aktivnosti bolesti, histološkim promjenama sinovije, radiološkom progresijom zglobnih oštećenja, jutarnjom zakočenošću, pozitivnim „testom stiska“, bolnošću, umorom i funkcionalnim oštećenjem (179). Često se u koagulacijskim nalazima bilježe povišene koncentracije fibrinogena kao markera kronične upale (174). Autoprotutijela specifična za RA jesu RF i ACPA. Prisutnost ovih protutijela povezana je s težinom kliničke slike i povećanom smrtnošću, a osim za postavljanje dijagnoze, važni su i za praćenje bolesnika. ACPA specifičnija su za RA (85–99%) u odnosu na RF (7). Bolesnici s detektiranim RF-om i/ili ACPA smatraju se „seropozitvnima“ te uglavnom imaju teži klinički tijek (45). RF prisutan je u 69% oboljelih te ima specifičnost između 60% i 85% iako može biti povišen i u drugim stanjima, uključujući druge sistemske upalne bolesti, infektivne i maligne bolesti (6). Najčešće se određuje IgM subklasa RF-a koja se veže na Fc ljudskog IgG-a, međutim mogu se odrediti i IgA te IgG subklase (6, 36). ACPA se također mogu detektirati u IgA, IgM ili IgG izotipu, a obilježava ih vezivanje za citrulinske dijelove raznih proteina kao što su: kolagen tipa 2, histoni, fibrinogen, fibronektin, vimentin i α-enolaza (7). Oko 60 do 80% bolesnika s RA-om ima pozitivna ACPA, dok je rizik obolijevanja od RA-a u osoba s pozitivnim RF i ACPA oko 40% (35-37). S obzirom na to da se ACPA mogu zabilježiti u određenih pojedinaca čak i desetak godina prije razvoja prvih simptoma bolesti, ova autoantitijela smatraju se vrijednim testom u dijagnosticiranju vrlo ranoga oblika artritisa (7, 42). Ujedno, koncentracije ACPA i raznolikosti epitopa povećavaju se paralelno s razinama proupalnih citokina tijekom bolesti, što dodatno potvrđuje ulogu ovih autoantijela u patofiziologiji RA-a (aktivacija makrofaga i osteoklasta te vezivanje na citrulirani vimentin koštane membrane) (7, 43). Ponekad, usprkos jasnoj kliničkoj slici i radiološkim slikovnim metodama specifičnim za RA, u laboratorijskim nalazima ne nalaze se pozitivna RF ili ACPA, stoga se takav oblik RA-a naziva seronegativnim (oko 30% bolesnika) (180). Određivanje

ostalih specifičnih autoantitijela nije pokazalo dijagnostičku kao ni kliničku značajnost, stoga se rutinsko utvrđivanje antinuklearnih protutijela i protutijela na ekstraktibilne nuklearne antigene ne preporučuje, osim u slučajevima prisustva kliničkih znakova specifičnih za ostale autoimune sistemske bolesti. Čak i u pridruženom, sekundarnom SjS-u, razine visoko specifičnih autoantitijela nisu uvijek povišene (5).

Metode slikovnoga prikaza, koje se koriste za dijagnosticiranje RA-a, uključuju konvencionalne rendgenograme (rentgensko snimanje, RTG), UZ pregled zglobova i MR. Ponekad se koriste i nuklearno-medicinske metode: scintigrafija skeleta, jednofotonska emisijska tomografija (engl. *Single Photon Emission Tomography*, SPECT) i pozitronska emisijska tomografija (engl. *Positron Emission Tomography*, PET) (5, 181). Tipične promjene na RTG-u pojavljuju se tek u kasnijoj fazi bolesti, a uključuju periartikularnu osteopeniju, suženje zglobnoga prostora, subhondralne ciste i koštane erozije. U kasnijoj fazi bolesti može se vidjeti subluksacija zahvaćenih zglobova (182). U pravilu, u ranoj se fazi bolesti ne uočavaju značajne strukturalne promjene (5, 182). Često se u toj fazi opisuju promjene po tipu oticanja mekih česti uz već spomenutu periartikualrnu osteopeniju (182). Najčešće se koriste postero-anteriorne snimke šaka i stopala uz prikaz ručnih i skočnih zglobova, a radi boljega detektiranja mogućih ranih promjena često se primjenjuje i snimanje u lateralnoj projekciji (Norggaard projekcija) (183). Standardne radiološke snimke svakako treba uraditi na početku bolesti. Time se omogućuje praćenje aktivnosti bolesti kao i razvoj zglobnih oštećenja, što predstavlja nepovoljan prognostički znak (5, 182). Postoji nekoliko dizajniranih protokola za procjenu proširenosti oštećenja zglobova na RTG snimkama, kao što je modificirani Sharp-van der Heijde indeks (184). UZ omogućuje detaljni prikaz morfoloških, strukturnih i perfuzijskih promjena zglobova i tetiva u sklopu manifestnoga i subkliničkoga sinovitisa (185). Uloga UZ-a u dijagnosticiranju RA-a postaje sve važnija s obzirom na mogućnost otkrivanja promjena u vrlo ranome stadiju bolesti, a posebno UZ s *power doplerom* koji je osjetljiviji od kliničkoga pregleda i RTG snimki (5, 185). U bolesnika s RA-om erozije kostiju najčešće se uočavaju na lateralnoj strani glavice druge metakarpalne kosti, glavici pete metatarzalne kosti i stioloidnom nastavku lakatne kosti. UZ-a procjena hijaline hrskavice u pravilu se rutinski ne provodi, a uglavnom se odnosi na promjene metakarpofalangealnih etaža u vidu stanjivanja sloja hrskavice s gubitkom oštrine površinskoga ruba. Uznapredovale promjene dovode do potpunoga gubitka hrskavice koji je često praćen i erozijama subhondralne kosti (185). Česta prezentacija ranoga oblika RA-a jest tenosinovitis ekstenzora glavice lakatne kosti koji se relativno jednostavno može utvrditi UZ-om (186). Unatoč revidiranim smjernicama za upućivanje i provođenje UZ-a mišićno-koštanoga sustava u RA-u, još uvijek ne postoje

standardizirani protokoli bodovnoga sustava i procjene aktivnosti na temelju *dopler* signala (185). MR omogućuje procjenu zahvaćenosti mekoga tkiva i koštane srži upalom koja prethodi razvoju destruktivnih lezija vidljivih RTG-om ili kompjuteriziranom tomografijom (engl. *computed tomography*, CT). MR-om može se procijeniti stupanj oštećenja zglobnih prostora, ovojnica, sinovije, burza, hrskavice, tetiva i mišića, kao i prisustvo edema koštane srži te oštećenje vratne kralježnice u sklopu bolesti. Jedna je od glavnih prednosti MR-e upravo prikaz edema koštane srži kao jednoga od najranijih procesa u RA-u, a koji ukazuju na osteitis i/ili osteomijelitis (181). Scintigrafija kostiju vrlo je osjetljiva, ali slabo specifična metoda za RA (187). Koristi se u dijagnosticiranju različitih kliničkih stanja, a najčešće je korišteni izotop Tehnecij-99m (181). Razlikuje se statičko i dinamičko nakupljanje radiofarmaka u zahvaćenim koštanim strukturama, što može pomoći pri dijagnosticiranju bolesti te u praćenju učinka terapije (187). Scintigram, SPECT i PET tehnike uglavnom se koriste u slučajevima nejasne etiologije koštane zahvaćenosti, posebno u stanjima mogućega malignog, infektivnoga ili metaboličkoga procesa (181, 187). Analiza sinovijalne tekućine nije nužna za postavljanje dijagnoze RA-a iako je punkciju upaljenoga zgloba potrebno uraditi u slučaju visoke kliničke sumnje na septički artritis ili giht (174).

Budući da rana dijagnoza i liječenje sprječavaju progresiju trajnih zglobnih oštećenja u 90% bolesnika s ranim oblikom RA-a, što ranije dijagnosticiranje bolesti od iznimne je važnosti (40). U cilju postizanja pravodobne dijagnoze nužno je koristiti se svim mogućim, gore navedenim, dijagnostičkim testovima.

Uzimajući u obzir brojna stanja koja mogu uzrokovati oticanje i bolnost zglobova, posebno u prisustvu manje specifičnih simptoma, diferencijalna dijagnoza RA-a vrlo je široka. Ponekad se čak smatra i „bolešću isključenja“, stoga svakome bolesniku treba pristupiti maksimalno ozbiljno. Najčešće bolesti koje oponašaju RA uključuju reaktivni artritis, osteoartritis (engl. *osteoarthritis*, OA), fibromialgiju te ostale upalne bolesti vezivnoga tkiva (Tablica 2) (7).

Tablica 2. Diferencijalna dijagnoza reumatoidnog artritisa.

Infektivni artritis	Virusni, bakterijski, mikobakterijski, gljivični
Spondiloartropatije	Reaktivni artritis, ankilozantni spondilitis, psorijatični artritis, enetropatski artritis
Sistemske reumatske bolesti	SLE, polimiozitis, dermatomiozitis, SjS, sistemski vaskulitisi, SSc, reumatska polimialgija
Kristalični artritis	Giht, bolest odlaganja kalcijevih kristala
Endokrinološki poremećaji	Hipertireoza, hipotireoza
Malignomi	Metastatski karcinomi, paraneoplastički sindrom, limfomi
Ostalo	OA, sarkoidoza, fibromialgija, amiloidoza, hemokromatoza

Kratice: **SLE** - sistemski eritemski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*); **SjS** - Sjögrenov sindrom (engl. *Sjögren's syndrome*); **SSc** - sistemska skleroza (engl. *systemic sclerosis*); **OA** - osteoartritis (engl. *osteoarthritis*)

1.1.7. Liječenje reumatoidnog artritisa

Nakon postavljanja dijagnoze RA-a, osnovni je cilj liječenja postizanje apsolutne remisije ili pak niske aktivnosti bolesti, idealno unutar prvih šest mjeseci, kako bi se spriječilo trajno oštećenje zglobova, smanjena funkcionalna sposobnost i razvoj izvanzglobnih manifestacija bolesti (40, 188). Važnost brze i ciljane terapije RA-a naglašava činjenica kako će čak 80% od nedostatno liječenih bolesnika razviti zglobne deformitete, dok će gotovo 40% bolesnika biti radno nesposobno unutar 10 godina od početka bolesti (40, 189). Iako je RA neizlječiva bolest, moderni terapijski pristupi omogućuju postizanje izvrsne kontrole bolesti (7). Terapija RA-a temelji se na primjeni DMARD-ova (190, 191). DMARD-ovi jesu lijekovi koji ublažavaju simptome i znakove RA-a, poboljšavaju fizičku funkciju i zaustavljaju napredovanje zglobnih oštećenja. Nesteroidni protuupalni lijekovi i analgetici ne sprječavaju progresiju oštećenja i invalidnost, stoga ih treba koristiti kratkotrajno, odnosno do postavljanja dijagnoze (40). Odluka o liječenju temelji se na aktivnosti bolesti, sigurnosti lijekova i drugim faktorima kao što su: komorbiditeti, izvanzglobne manifestacije i progresija strukturalnoga oštećenja (190).

Liječenje RA-a može se podijeliti u četiri osnovne skupine: nefarmakološke metode (kombinacija fizikalne terapije, promjene životnih navika i kirurško zbrinjavanje zahvaćenih zglobova); nesteroidni protuupalni lijekovi (simptomatska terapija ublažavanja boli i zakočenosti); glukokortikoidi (nespecifična supresija imunološkoga sustava s brzim učinkom

smirivanja bolesti, ali uz vremensko ograničenje trajanja primjene zbog nuspojava); DMARD-ovi (ciljano djelovanje na upalu, prevenciju daljnjih oštećenja i napredovanje bolesti) (192).

Antireumatike dijelimo na: konvencionalne sintetske DMARD-ove (engl. *conventional synthetic DMARDs,* csDMARDs), ciljane sintetske DMARD-ove (engl. *targeted synthetic* DMARDs, tsDMARDS) i biološke DMARD-ove (engl. *biologic DMARDs*, bDMARDs) (193). Metotreksat, sulfasalazin, leflunomid i hidroksiklorokin csDMARD-ovi su s dokazanom učinkovitošću, kako u monoterapiji tako i u kombinacijama te su, prema najnovijim revidiranim smjernicama ACR-a i EULAR-a, prvi lijekovi izbora ukoliko ne postoje kontraindikacije (190, 191). Metotreksat strukturni je analog folne kiseline koji se u koristi u oralnome ili parenteralnome obliku, a ometa aktivnost dihidrofolat reduktaze, čime inhibira sintezu nukleotida i metabolizam purina. Posljedično dolazi do pojačanoga stvaranja i oslobađanja adenozina za koji se pokazalo kako ima izravno protuupalno djelovanje (194). Metotreksat se i dalje smatra „zlatnim standardom“ u liječenju RA-a. Štoviše, svi b- i ts- DMARD-ovi imaju veću učinkovitost u kombinaciji s metotreksatom, ali i drugim csDMARD-ovima, u usporedbi s monoterapijom (190, 191). Kratkotrajnu primjenu glukokortikoida, u različitim režimima doziranja, treba razmotriti pri započinjanju ili promjeni antireumatika, međutim, njihovu primjenu treba postupno smanjivati i prekinuti što je brže moguće. U slučaju razvoja nuspojava i/ili neučinkovitosti csDMARD-ova (prisustvo loših prognostičkih znakova), primjenjuju se drugi dostupni lijekovi. Loši su prognostički čimbenici trajno umjerena ili visoka aktivnost bolesti (unatoč terapiji csDMARD-ovima), veći broj zahvaćenih zglobova, visoke razine reaktanata akutne faze upale, velik broj otečenih zglobova, prisutnost RF i/ili ACPA (posebno u većem titru), prisutnost ranih erozija te neučinkovitost dvaju ili više csDMARD-ova (190).

U bDMARD-ove ubrajaju se: TNF infibitori (etanercept, adalimumab, infliksimab, golimumab, certolizumab pegol), T stanični ko-stimulacijski inhibitor (abatacept), inhibitori receptora IL-6 (tocilizumab, sarilumab), inhibitori IL-1 (anakinra, kanakinumab) i anti-CD20 monoklonsko protutijelo (rituksimab). Ovoj skupini pripadaju i bioslični lijekovi (trenutno dostupni za adalimumab, etanercept, infliksimab, rituksimab (190, 191). tsDMARD-ovi uključuju inhibitore Janus kinaze (engl. *Janus Kinase*, JAK) (tofacitinib, baricitinib, upadacitinib, filgotinib). Prilikom odabira terapije trebaju se uvijek razmotriti i sljedeći rizični faktori: KV-i događaji i maligne bolesti, dob iznad 65 godina, pozitivna anamneza ili trenutno konzumiranje duhana, klasični KV-i čimbenici rizika (šećerna bolest, pretilost, arterijska hipertenzija), dodatni čimbenici rizika za maligne bolesti (sadašnja ili prošla zloćudna bolest, izuzev uspješno liječenoga nemelanomskog raka kože), čimbenici rizika za tromboembolijske događaje (anamneza MI-a ili srčanoga zatajivanja, maligna bolest, nasljedni poremećaji

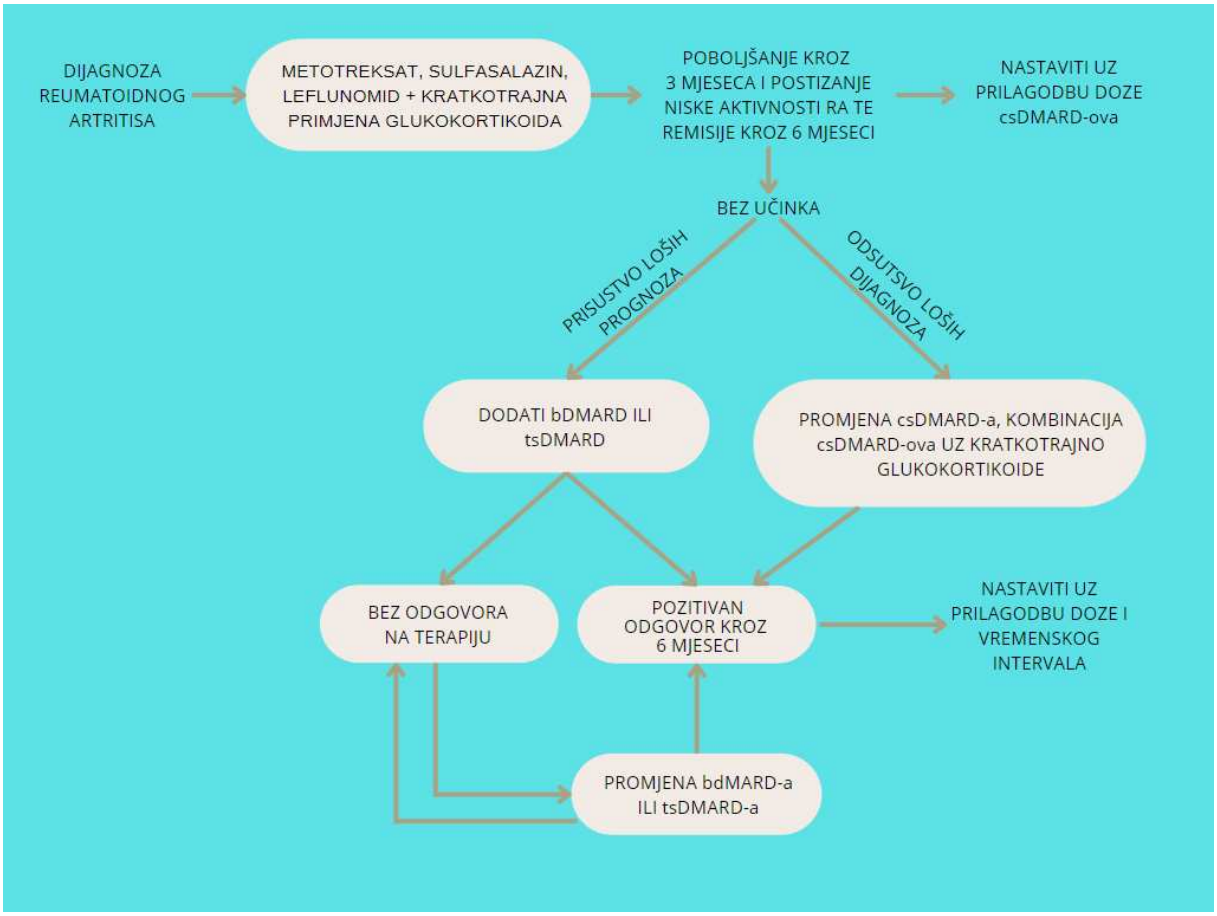
koagulacije, trenutna uporaba kombiniranih hormonskih kontraceptiva ili hormonske nadomjesne terapije, nedavni veći operativni zahvati, slabija pokretljivost ili imobilizacija) (190).

Modifikacija liječenja RA, kao i preporuke, odnose se na određene populacije bolesnika. U takvu skupinu bolesnika ubrajamo: 1) bolesnike s potkožnim čvorićima (uvjetna preporuka ordiniranja metotreksata), 2) bolesnike s blagom i stabilnom bolesti dišnih puteva ili plućnoga parenhima (uvjetna preporuka ordiniranja metotreksata), 3) bolesnike s NYHA (engl. *New York Heart Association*) klasom III ili IV srčanoga popuštanja (uvjetna preporuka neuvođenja TNF inhibitora), 4) bolesnike s limfoproliferativnim bolestima (uvjetna prednost rituksimaba naspram ostalih bioloških i ciljanih sintetskih antireumatika), 5) bolesnike s nealkoholnom masnom bolešću jetre (uvjetna preporuka uvođenja metotreksata ukoliko su vrijednosti transaminaza uredne te nema znakova jetrene fibroze) (191).

Prirodni tijek RA-a obilježen je uskom povezanošću stupnja aktivnosti bolesti i progresije oštećenja zglobova koju usporava primjena b- ili ts- DMARD-ova. Takvo djelovanje DMARD-ova temelji se na spoznaji o većoj graničnoj razini proupalnih citokina potrebnih za zglobna oštećenja u odnosu na razine citokina potrebnih za upalu sinovije, stoga će se, čak i ako biološki DMARD-ovi ne pokažu dovoljnu kliničku učinkovitost, napredovanje oštećenja zglobova usporiti ili zaustaviti (195). Međutim, bol i zakočenost uzrokuju postojanu narušenu fizičku funkcionalnost kao i smanjenu kvalitetu života u bolesnika s RA-om (40).

Najčešća je nuspojava povezana s primjenom ciljanih sintetskih i bioloških antireumatika povećani rizik od infekcija (40). Moguća je i reaktivacija tuberkuloze, stoga je probirni test za tuberkulozu obvezatan prije uvođenja navedenih lijekova (196). Manje česte nuspojave uključuju demijelinizirajuće poremećaje (TNF inhibitori), reaktivaciju herpes zostera (JAK inhibitori) te divertikulitis (tocilizumab) (40).

Važno je istaknuti kako svaki od navedenih lijekova ima ograničenu učinkovitost pa se liječenjem postiže niska aktivnost bolesti u do 40% bolesnika, a remisija u do 20% bolesnika (40). Između 20% i 25% bolesnika ima trajno umjerenu do visoku aktivnost bolesti, posebice u zemljama lošijega socioekonomskog statusa (197). Liječenje RA-a zahtijeva pravilan strateški pristup, koji se temelji na redovnoj procjeni stupnja aktivnosti bolesti prema kojoj se vrše terapijske prilagodbe, što je osnovni dio tzv. "*Treat to Target*" postulata (Slika 2) (198).



Slika 2. Shematski prikaz liječenja reumatoidnog artritisa sukladno EULAR smjernicama (**prilagođeno prema** Smolen JS, Landewé RBM, Bergstra SA, Kerschbaumer A, Sepriano A, Aletaha D, i sur. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update. Ann Rheum Dis. 2023;82:3-18.).

Kratice: EULAR: *The European League Against Rheumatism*; **bDMARD -** biološki antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *biologic disease-modifying antirheumatic drug*); **tsDMARD -** ciljani sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug*); **csDMARD -** konvencionalni sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drug*)

1.2. Katestatin

Katestatin jest multifunkcionalni bioaktivni peptid koji nastaje proteolitičkim cijepanjem od kromogranina A (engl. *chromogranin A*, CgA). Primarno djeluje kao inhibitor otpuštanja katekolamina tako što se reverzibilno i nekompetitivno veže na nikotinske kolinergične receptore (engl. *nicotinic acetylcholine receptor*, nAChR) (199). CgA neuroendokrini je polipeptid koji se dominantno taloži u granulama kromafinih (feokromnih) stanica srži nadbubrežne žlijezde i u jezgri vezikula postganglijskih simpatičkih aksona. Navedene stanice otpuštaju granule s CgA-om zajedno s katekolaminima te ostalim aktivnim

peptidima (200). Daljnjim istraživanjima otkriveno je kako je CgA jedan od glavnih članova obitelji sekretornih proteina granina (kromogranina-sekretogranina) prisutnih u brojnim granulama neuroendokrinih tkiva i živčanoga sustava (201, 202). Ljudski gen za CgA, sačinjen od osam ezgona, smješten je na 14 kromosomu te u konačnici kodira protein od 439 aminokiselina (203). Cijepanjem molekule CgA-a, ovisno o lokaciji proteolize, nastaje nekoliko peptida-hormona s brojnim različitim biološkim učincima: vazostatin, prokromacin, parastatin, pankreastatin, kromofungin, beta-granin, serpinin, proteini WE-14 i GE-25, katestatin (204). Navedeni bioaktivni fragmenti CgA-a uključeni su u regulaciju KV-a, metaboličkoga i imunološkoga sustava, kao i u procese angiogeneze i obnove tkiva (201, 202, 205-207). Prisustvo CgA dokazano je i u granulama drugih stanica poput keratinocita, stanicama miokarda, endotelnim stanicama, makrofazima i stanicama Langerhansovih otočića gušterače (206-210). Sukladno tome, povišene razine CgA-a pronađene su u bolesnika s neuroendokrinim tumorima, karcinoidima, srčanim i bubrežnim zatajivanjem, arterijskoj hipertenziji, RA-u, vaskulitisu i upalnim bolestima crijeva (engl. *inflammatory bowel diseases*, IBDs) (207, 211-218). Zaključno, ChgA i njegovi razgradni produkti, kao biomarkeri mjerljivi u perifernoj cirkulaciji, imaju potencijalnu dijagnostičku i prognostičku ulogu u čitavome spektru patoloških stanja kao što su: maligna oboljenja, KV-e bolesti, metabolički, gastrointestinalni i sistemski upalni poremećaji (219).

Humani katestatin ($hChgA_{352-372}$) identificiran je 1997. godine kao produkt prohormona CgA-a s inhibitornim učinkom na sekreciju katekolamina, a sastoji se od 21 aminokiseline (199). Inhibicijom nAChR-a, metodom negativne povratne sprege, katestatin kontrolira izlučivanje katekolamina u sistemsku cirkulaciju iz feokromnih stanica srži nadbubrežne žlijezde i završetaka adrenergičkih neurona. Patofiziološki mehanizam djelovanja katestatina temelji se na blokiranju signalnoga puta koji je posredovan ulaskom kationske struje, odnosno iona Na^+ i Ca^{2+} u stanicu. Acetilkolin je fiziološki sekretagog za kromafine stanice koji djeluje na ionotropni neuronski tip nikotinskih kolinergičnih receptora. Kada se navedeni receptor aktivira, dolazi do ulaska kationa u stanicu i posljedičnoga izlučivanja katestatina, ali i ostalih katekolamina, CgA i peptida. Izlučeni katestatin potom se veže za isti kolinergički nikotinski receptor, spriječi depolarizaciju stanice inhibirajući ulazak Na^+ u citosol, čime se onemogućuje ulazak iona Ca^{2+} voltažnim kalcijskim kanalima (negativna povratna sprega) (220). Iako na periferiji katestatin ima simpatoinhibitorno djelovanje, na SŽS djeluje prokolinergično, a dodatno djeluje na kromafine granule inhibiranjem otpuštanja zrnaca neuropeptida Y (NPY) i adenozin trifosfata (221, 222). Prisutnost katestatina dokazana je i u sekretornim granulama

srčanoga mišića, kože i osjetnim organima, što dodatno ukazuje na pleiotropne i multifunkcionalne učinke ovoga peptida (220).

1.2.1. Uloga katestatina u patofiziologiji kardiovaskularnih bolesti

Prema rezultatima brojnih istraživanja, katestatin je prepoznat kao vrlo važan peptid uključen u patofiziološke procese arterijske hipertenzije, akutnoga koronarnog sindroma, srčanoga popuštanja, ishemijske kardiomiopatije, reperfuzijskih ozljeda miokarda te ostalih srčanih poremećaja (209, 223-228). Katestatin djeluje kardioprotektivno na nekoliko različitih razina. Blokiranjem β2 i β3 adrenergičnih receptora ostvaruje negativne inotropne i luzitropne učinke, dok stimulacijom oslobađanja histamina iz mastocita i povećanom ekspresijom NO na endotelnim stanicama i kardiomiocitima potiče vazodilataciju (223, 229-231). Uplitanje u endotelni *PI3K-Akt-eNOS* signalni put pokazao se kao najvažniji mehanizam kojim katestatin ostvaruje svoje antiadrenergične i vazodilatacijske učinke (232). Naime, pojačano aktiviranje fosfatidil-inozitol 3-kinaze (engl. *phosphatidylinositide 3-kinase*, PI3K) dovodi do jače aktivnosti endotelne sintetaze dušičnoga oksida (engl. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS) i fosfodiesteraze tipa 2 (engl. *phosphodiesterase type 2*, PDE2), dviju ključnih molekula koje utječu na kontraktilnost krvnih žila (223). Na ovaj način katestatin sudjeluje u regulaciji krvnoga tlaka (229-231). Druga razina kardioprotektivnoga djelovanja katestatina odnosi se na modulaciju autonomnoga živčanog sustava, čime se smanjuju simpatički, a pojačavaju parasimpatički učinci (233). Katestatin djeluje i na razini poboljšanja reperfuzije ishemijskoga oštećenja tkiva i na agregaciju trombocita (antitrombotski) (209). Supresija ateroskleroze te upale u endotelnim stanicama i srcu smatraju se temeljnim patofiziološkim mehanizmima kojima katestatin ostvaruje gore navedene učinke (209, 225, 226).

Ateroskleroza nastaje kao posljedica upalom inducirane ozljede arterija, odnosno procesom koji uključuje hiperpermeabilnost stijenke krvnih žila, proliferaciju ednotelnih stanica, migraciju i proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica (engl. *vascular smooth muscle cells*, VSMCs) i stvaranje izvanstaničnoga matriksa (234). Endotelne stanice, makrofazi i VSMCs igraju ključnu ulogu u razvoju ateroskleroze (235). Cijeli proces započinje upalom i povećanom permeabilnošću endotelnih stanica u stijenkama krvnih žila, što inducira ulazak LDL-a u subednotelni prostor. Pod utjecajem reaktivnih kisikovih radikala (engl. *reactive oxygen species*, ROS) LDL se modificira u oksidirani oblik, čime se potiče daljnja upala. Oksidacijom LDL-a dolazi do ekspresije vaskularne stanične adhezijske molekule-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*, VCAM-1) i ICAM-1 koje potiču prianjanje monocita na endotelne stanice i njihov ulazak u subendotel. Nakon toga slijedi diferencijacija monocita u

makrofage koji fagocitiraju oksidirani LDL, čime se pretvaraju u masne, pjenušave stanice. Masivno nakupljanje masnih stanica rezultira formiranjem lipidne ovojnice koja je okružena molekulama izvanstaničnoga matriksa izlučenima od VSMCs-a (234). Navedene su molekule stanične metaloproteinaze, kolagen, fibronektin i elastin (234, 235). U konačnici, dolazi do nastanka ateromatoznoga plaka (234). Katestatin stimulira migraciju i proliferaciju endotelnih stanica, čime potiče angiogenezu (236). Katestatin ometa vezivanje monocita na endotelne stanice tako što suprimira ekspresiju VCAM-1 i ICAM-1 koja je inače inducirana TNF-α i lipopolisaharidima (226, 237-240). Ujedno, katestatin suprimira adheziju leukocita na endotelne stanice, čime smanjuje upalni medij koji je nužan za aterosklerotski proces (209). Katestatin djeluje na migraciju i diferencijaciju monocita potičući njihovu diferencijaciju k protuupalnom fenotipu makrofaga, što je jedan od ključnih protuupalnih učinaka ovoga peptida (209, 226, 241). Ujedno, suprimira fagocitozu oksidiranoga LDL-a i formiranje masnih stanica, smanjuje proliferaciju VSMCs-a i ekspresiju kolagena tip 1 i 3 te na taj način sprječava daljnju progresiju plaka (209).

1.2.2. Uloga katestatina u metabolizmu lipida i glukoze

Unatoč oskudnijim literaturnim podatcima o ulozi katestatina u regulaciji metabolizma lipida u usporedbi s dobro istraženim ranije opisanim učincima na KV-i sustav, poznato je kako katestatin potiče razgradnju lipida beta oksidacijom u hepatocitima (242). Ujedno, inhibiranjem α2 adrenergičkih receptora, katestatin potiče lipolizu u adipocitima te poboljšava receptorsku osjetljivost za leptin. Na eksperimentalnome mišjem modelu, intraperitonealnom injekcijom katestatina dolazi do pojačane ekspresije gena uključenih u oksidaciju masnih kiselina, kao i do snižavanja razina triglicerida i redukcije masnih nakupina. Zaključno, katestatin inhibira lipogenezu, što je suprotno od djelovanja inzulina (205). Štoviše, u bolesnika s novootkrivenom arterijskom hipertenzijom utvrđena je pozitivna korelacija serumske razine katestatina s razinom lipoproteina visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*, HDL), što ukazuje na mogući pozitivan učinak katestatina na lipidni i metabolički profil ispitivane skupine bolesnika (243).

Katestatin inhibira glukoneogenezu najvjerojatnije djelovanjem na Kupfferove stanice i makrofage, čiji su citokini uključeni u signalni put metabolizma glukoze i inzulina. Intraperitonealna primjena katestatina na genetski modificiranome mišjem modelu rezultirala je smanjenjem IR-e i poboljšanom tolerancijom glukoze (242). Takvome učinku katestatina pridonosi i neutralizacija TNF-α (238). Podatci nedavno publiciranog *in vivo* istraživanja također su potvrdili kako katestatin izravno djeluje na metabolizam glikogena, što dovodi do

smanjenoga izlučivanja glukoze, povećane sinteze glikogena te pojačanoga signalnog puta inzulinske osjetljivosti (244). Na temelju dostupnih podataka o indirektnoj korelaciji katestatina, šećerne bolesti i metabolizma ugljikohidrata, pretpostavlja se kako će u budućnosti katestatin postati ciljna molekula liječenja ovih poremećaja (210, 211, 238, 242, 244).

1.2.3. Uloga katestatina u imunološkoj homeostazi

Katestatin je, među svim ostalim razgradnim produktima CgA-a, prepoznat kao peptid koji ima najizraženiji utjecaj na imunološki sustav i upalne reakcije (209, 245, 246). Osim što djeluje lokalno katestatin ima značajni sistemski protuupalni učinak (246). Lokalna djelovanja ostvaruje aktivacijom mastocita i otpuštanjem histamina. Povećanjem unutarstanične koncentracije Ca^{2+} u mastocitima katestatin potiče otpuštanje aktivnih molekula, kao što su kemokini i različiti proupalni citokini, čime se može objasniti njegovo imunomodulatorno djelovanje (241, 245). Katestatin, uz mastocite, može aktivirati i neutrofilne stanice, što je dio odgovora urođene imunosti na infekcije, posebno bakterije i gljivične patogene (238, 239, 245, 247). Štoviše, katestatin, prisutan lokalno u većim koncentracijama, može proći membranske ovojnice navedenih patogena potičući njihovu razgradnju. Ovime se postiže antimikrobni učinak katestatina (245). Glavna su obilježja upalnoga medija povišene koncentracije CRP-a, promjene u endotelnim stanicama, povećana infiltracija i migracija monocita i makrofaga i CD8+ T stanica te prisutnost brojnih proupalnih kemokina i citokina. Osnovne promjene, koje dovode do upale, započinju u endotelnim stanicama izlučivanjem kemokinskoga liganda 2 (engl. *CC-chemokine ligand 2*, CCL2) i disregulacijom liganda za adhezijske molekule. Potom dolazi do migracije monocita regulirane proupalnim čimbenicima iz makrofaga i proupalnim citokinima s kojima katestatin interfenira (246). Na animalnim modelima eksperimentalnoga kolitisa, ateroskleroze i pretilosti pokazano je kako katestatin smanjuje migraciju monocita i makrofaga na mjesto upale iako točni patofiziološki mehanizmi ovakvoga učinka nisu u potpunosti jasni (209, 226, 238, 239, 242, 246). Prema dosadašnjim saznanjima katestatin izravno djeluje na migraciju leukocita i smanjenu aktivnost CCL2-a, smanjuje ekspresiju ICAM-1 i VCAM-1, što korelira s ekstravazacijom limfocita te djeluje i na monocite, što smanjuje razine proupalnoga makrofagnog receptora kolagene strukture (engl. *macrophage receptor with collagenous domain*, MARCO) (209, 241, 242). U konačnici, katestatin smanjuje izlučivanje proupalnih citokina (IL-6, IL-1β, TNF-α) iz makrofaga mijenjajući njihovu diferencijaciju s proupalnoga u protuupalni fenotip (238, 239, 242). Naime, kada se makrofazi regrutiraju u tkiva, oni postaju „aktivirani makrofazi" i mogu imati dva različita fenotipa: M1 (klasično aktiviran) i M2 (alternativno aktiviran). M1 makrofazi otpuštaju veliku količinu

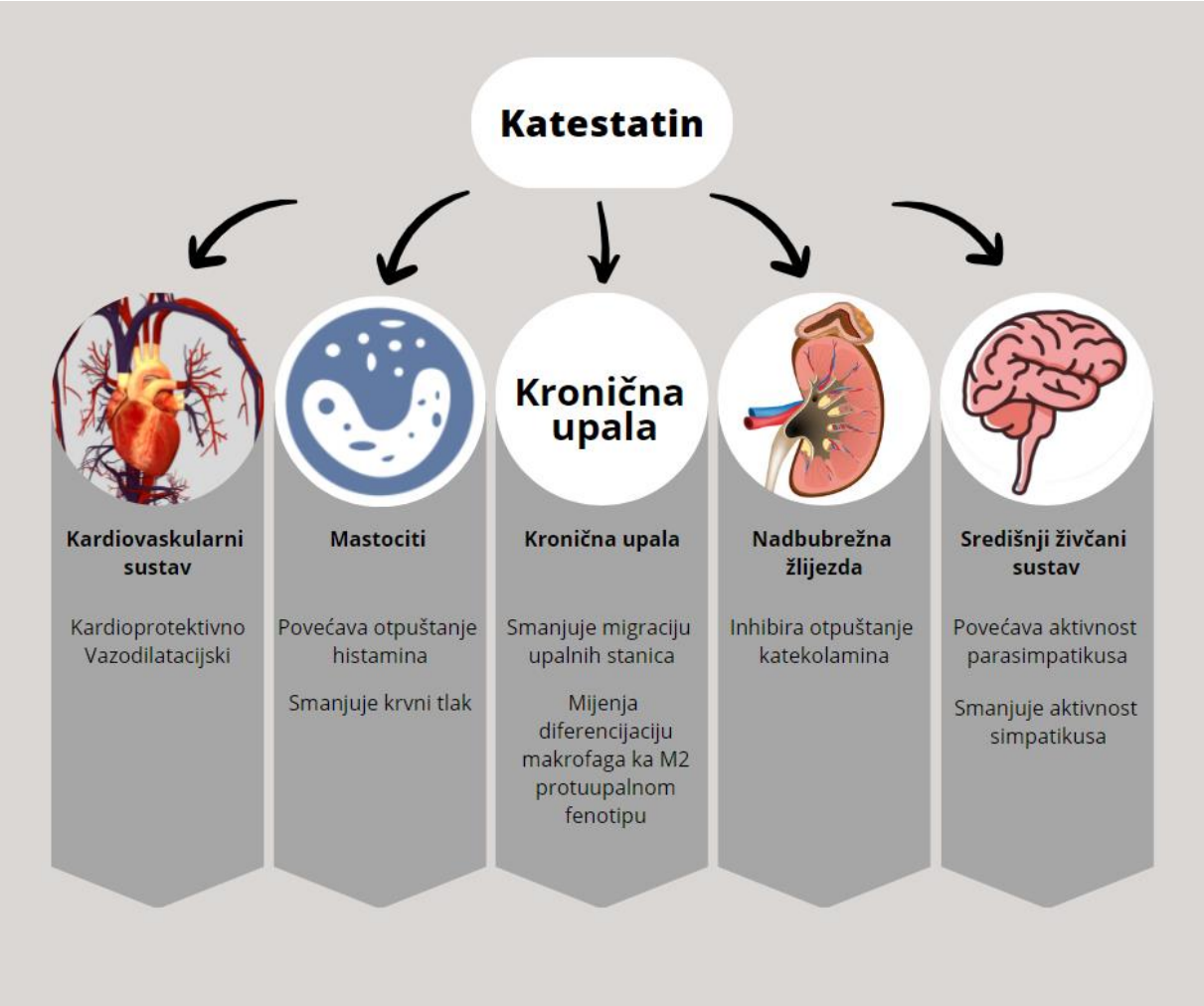
proupalnih citokina (IL-6, IL-12, IL-15, IL-23, TNF-α) i molekula ROS-a i NO-a, dok su M2 makrofazi ključni u smanjenju upale (fagocitiraju apopotske neutrofile, smanjuju otpuštanje proupalnih citokina, potiču remodeliranje ozlijeđenoga tkiva i angiogenezu) (240). Katestatin također utječe i na gensku ekspresiju molekula i citokina uključenih u upalne procese na način da povećava ekspresiju protuupalnih gena, a smanjuje ekspresiju onih gena koji promiču upalu (238, 239, 242). Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su kako injekcija katestatina smanjuje ekspresiju gena koji kodiraju inducibilnu sintazu dušikova oksida (engl. *inducible nitric oxygen synthase*, iNOS), monocitni kemotaksijski protein-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein 1*, Mcp1) te ključne proupalne molekule poput TNF-α, INF-γ i CCL2 (238, 239, 242). Pretpostavlja se da katestatin ima utjecaj i na urođenu imunost smanjenjem inflitracije CD8+ T stanica na mjestu upale, međutim potrebna su dodatna istraživanja koja bi potvrdila ovu hipotezu (246).

1.2.4. Povezanost katestatina i kroničnih upalnih stanja

Zahvaljujući svojim djelovanjima na upalne procese katestatin se povezuje s patofiziologijom brojnih bolesti koje imaju zajednički nazivnik - kronična upala (246). Povišene serumske koncentracije katestatina zabilježene su u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*, OSA) te su pozitivno korelirale s težinom bolesti u podskupini bolesnika koji nisu bili pretili (248). Niske serumske koncentracije katestatina utvrđene su u pretile djece i adolescenata, a još niže vrijednosti u podskupini s pridruženim metaboličkim sindromom (engl. *metabolic syndrome*, MS) (249). Provedene su brojne studije koje su ispitivale povezanost katestatina, pretilosti, šećerne bolesti i MS-a (205, 244, 250, 251). U bolesnika sa šećernom bolešću (tipa 1 i tipa 2) navedene su snižene, ali i povišene serumske koncentracije katestatina i ostalih razgradnih produkata CgA-a, što dijelom ovisi o lokalizaciji cijepanja prohormona CgA-a, ali prvenstveno ukazuje na složenost uključenosti katestatina u patofiziologiju ovih bolesti (250, 251). Bolesnici sa završnim stadijem bubrežnoga zatajivanja, koji su na trajnoj terapiji hemodijalizom, također imaju povišene serumske koncentracije katestatina u usporedbi s kontrolnom, zdravom skupinom ispitanika, što može predstavljati povišeni rizik od KV-ih oboljenja u tih bolesnika (252). Slični rezultati dobiveni su i u studijama bolesnika s IBD-om (238, 253).

Zanimljivo, u bolesnika s RA-om izmjerene su povišene koncentracije CgA-a koje se, zajedno s povišenim koncentracijama NPY, povezuju s pojačanom simpatičkom akitvnošću u RA-u (216, 217, 254). Povišene koncentracije CgA-a pozitivno koreliraju s koncentracijama receptora I i II za TNF-α, sugerirajući moguću poveznicu neuroendokrinih i upalnih signalnih

puteva u bolesnika s RA-om (254). Ujedno, povišene koncentracije CgA-a povezuju se s prisutnošću izvanzglobnih manifestacija, posebno plućnom fibrozom, RV-om, serozitisom i perifernom neuropatijom (255). Navedeni rezultati mogu se interpretírati u okviru učinka CgA na smanjenu aktivaciju endotelnih stanica putem negativne povratne sprege (254). U bolesnika sa SLE-om utvrđene su povišene serumske koncentracije CgA (216). Prema saznanjima, a nakon detaljnoga pregleda dostupne literature, nema studija koje su istraživale povezanost razine katestatina s RA-om (Slika 3).



Slika 3. Shematski prikaz najvažnijih učinaka katestatina.

1.3. Adropin

Adropin je sekretorni peptid kojeg sačinjava 76 aminokiselina, a kodira ga *ENHO* (engl. *Energy Homeostasis Associated*) gen (256). Otkriven je 2008. godine prilikom istraživanja na eksperimentalnome modelu *Mc3r−/−* miševa (melanokortinski receptor 3 deficijentnih miševa, engl. *melanocortin-3 receptor-deficient mice*) identifikacijom nove sekvence prepisivanja u jetri, koja je bila poremećena u pretilih miševa, a za koju se kasnije ispostavilo kako izlučuje

protein važan u regulaciji metabolizma lipida i glukoze. Upravo je taj protein nazvan adropin, što na latinskome znači onaj koji „promiče izgaranje masti“ (*„aduro“* i *„punguis“*). Gen koji kodira *ENHO* nalazi se na kromosomu 9p13,3 i sastoji se od 25 egzona (257). *ENHO* je primarno prisutan u jetri i mozgu, ali pronađen je i u perifernim mononuklearnim krvnim stanicama, stanicama karcinoma dojke, srcu, mišićima te bubrezima (256, 257). Moguće je da na ekspresiju glasničke ribonukleinske kiseline (engl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA) za *ENHO* djeluje udio ugljikohidrata i masti u prehrani. Točnije, na animalnim modelima dokazana je smanjena ekspresija mRNA *ENHO* u pretilih miševa zbog hiperkalorijske dijete, dok je u miševa koji su bili na dijeti bogatoj mastima, učinak dvofazičan (257, 258). Posljedično pojačanoj ili sniženoj ekspresiji mRNA *ENHO* mijenaju se i koncentracije adropina, stoga su u pretilih miševa izmjerene snižene, a u onih hranjenih dijetom bogatom mastima tijekom 48 sati, povišene koncentracije adropina (257). Na serumske koncentracije adropina u ljudi utječe nekoliko čimbenika kao štu su: pretilost, prehrambene navike, dob i spol. Postoji pozitivna povezanost između koncentracije adropina u ljudskome serumu i unosa masti te negativna povezanost s unosom ugljikohidrata i indeksom tjelesne mase (ITM) (259, 260, 261). Cirkulirajuće razine serumskoga adropina niže su u žena u odnosu na muškarce, a dodatno je u muškaraca utvrđena negativna povezanost adropina s razinom LDL-a (259, 262). Rezultati studija provedenih na ljudima u skladu su s rezultatima *in vivo* i *in vitro* studija koje su pokazale da kolesterol suprimira ekspresiju mRNA *ENHO* te smanjuje vrijednosti adropina, međutim nije utvrđena izravna uključenost adropina u metabolizam kolesterola (262, 263). Osim što djeluje kao sekretorni protein, adropin može djelovati i putem stanične membrane, odnosno kao membranski protein, čime se potvrđuje njegova multifunkcionalnost (264). Sekretornu funkciju adropin uglavnom ostvaruje interakcijom s GPR19 receptorom (engl. *G Protein-Coupled Receptor 19*). Na taj način utječe na smanjeni unos vode u miševa te modulira ekspresiju E-kadherina u stanicama karcinoma dojke i piruvat dehidrogenaze u miokardu (265-267). Potrebna su daljnja istraživanja koja bi potvrdila navedene tvrdnje, s obzirom na nedavno objavljenu studiju prema kojoj adropin ne interferira u tolikoj mjeri s GPR19 receptorom (268). Membranski učinci adropina najbolje su prikazani na animalnome modelu na kojemu je utvrđena uloga adropina u *NB3/Notch* signalnome putu SŽS-a, čime se reguliraju fizička aktivnost, motorna koordinacija i razvoj maloga mozga (269). Adropin djeluje i neuroprotektivno smanjenjem štetnih učinaka slobodnih radikala oksidativnoga stresa (270).

1.3.1. Metabolizam ugljikohidrata i lipida te kontrola pretilosti

Adropin ima višestruke sposobnosti poboljšanja metaboličkih poremećaja u pretilosti i ŠBT2 (263, 264). Ključni regulator energetske ravnoteže u organizmu, koji je poremećen u pretilosti, je masno tkivo. Ono se nalazi u središtu energetske homeostaze, upale i ateroskleroze, a kada se njegov potencijal pohrane slobodnih masnih kiselina prekorači, započinje aktivacija upalnih puteva koji dovode do IR-e, ŠBT2 i masnim tkivom inducirane sistemske upale. Vodeći posrednici navedenoga upalnog procesa aktivirani su proupalni makrofazi u adipocitima i visceralnome masnom tkivu koji otpuštaju TNF-α (271). Adropin kontrolira lipogenezu djelovanjem na receptor za aktivator proliferacije peroksisoma tip γ (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor γ*, PPAR-γ) i signalnoga puta kinaze regulirane izvanstaničnim signalima 1/2 i Ser/Thr - kinaza B (engl. *extracellular signal-regulated kinase 1/2*, ERK1/2; *protein kinase B*, AKT) (257, 263). PPAR-γ, nuklearni transkripcijski faktor s nezamjenjivom ulogom u metabolizmu masnih stanica, regulira diferencijaciju adipocita i transport masnih kiselina te djeluje na sekreciju adipokina (adiponektina i resistina), proupalnih citokina (TNF-α i iL-6) i MCP-1 (272). Potičući ekspresiju i aktivaciju PPAR-γ i inhibiranjem diferencijacije pre-adipocita u zrele adipocite ERK1/2 i AKT singalnim putem, adropin smanjuje proupalno djelovanje makrofaga, temeljem čega demonstrira svoje protuupalne učinke (264, 273, 274). Regulatorni T-limfociti (engl. *T regulatory cells*, Treg) kontroliraju Th limfocite koji imaju ključnu ulogu u nastanku imunološkoga odgovora. Neravnoteža imunosnih stanica u masnome tkivu dovodi do upale masnoga tkiva i pojave IR-e, što se povezuje sa smanjenim brojem Treg stanica (275). Također, dokazano je da primjena adropina na animalnim modelima rezultira suprimiranom ekspresijom lipogenih gena u masnome tkivu, dok prekomjerno izlučivanje adropina ima povoljan učinak i na inzulinsku osjetljivost, snižavanje razine inzulina i triglicerida natašte. Zaključno, prekomjerno izlučivanje adropina pozitivno korelira s poboljšanom tolerancijom glukoze, smanjenom IR-om, procijenjenom HOMA-IR te ubrzanom oksidacijom ugljikohidrata (257, 258). Adropin djeluje na neke od ključnih signalnih puteva sinteze glukoze u jetri (258). Naime, adropin poboljšava fosforilaciju IRS-1 i IRS-2 i proteinske kinaze B (engl. *protein kinase B/Akt*, PKB/Akt) te smanjuje ulogu stresa endoplazmatskoga retikuluma, što dovodi do povećane inzulinske osjetljivosti u jetri (257, 258). Također, adropin modulira jetrenu glukogeogenezu ometanjem transkripcije gena potrebnih za *de novo* sintezu glukoze (257). Slične učinke adropin ima i na metabolizam glukoze u poprečno-prugastim mišićima, smanjujući utilizaciju glukoze, a pojačavajući aktivnost piruvat dehidrogenaze, što dovodi do glikolize (276).

1.3.2. Uloga adropina u šećernoj bolesti

Nekoliko je studija pokazalo povezanost sniženih serumskih koncentracija adropina i razvoja šećerne bolesti (261, 277-281). Osim što su snižene serumske koncentracije adropina dokazane u odraslih bolesnika sa ŠBT2 (261, 277) i djece sa šećernom bolesti tipa 1 (278), utvrđena je i pozitivna korelacija koncentracije adropina s većom IR-om i većim vrijednostima glukoze natašte u ŠBT2 (282). Štoviše, adropin korelira s povećanim rizikom razvoja endotelne disfunkcije, dijabetičke retinopatije i nefropatije te gestacijskoga dijabetesa (279-281, 283). Smatra se kako je aktivacija STAT3 signalnoga puta u jetri poveznica hiperglikemije i povišenih serumskih koncentracija adropina u eksperimentalnom modelu dijabetogenoga miša (257, 258). Zanimljivo je da su muškarci sa ŠBT2, liječeni liraglutidinom (agonist humanog glukagonu sličnog peptida-1 koji pripada skupini probavnih hromona inkretina), imali povišene vrijednosti adropina. S obzirom na to da navedeni peptidi pospješuju sintezu i lučenje inzulina i smanjuju lučenje glukagona te da primjenom liraglutidina dolazi do povišenja serumskih razina adropina, dodatno se potvrđuje pozitivan učinak adropina na metabolizam glukoze (284). Bolesnici s masnom distrofijom ili lipomatozom gušterače imaju snižene serumske koncentracije adropina (277). S obzirom na oprečne rezultate studije u kojoj su bolesnici sa ŠBT2 imali povišene serumske koncentracije adropina (282), potrebna su daljnja istraživanja koja bi, što je moguće preciznije, definirala ulogu adropina u patofiziologiji i nastanku šećerne bolesti.

1.3.3. Uloga adropina u kardiovaskularnim bolestima

Imunomodulatorni učinak adropina zabilježen je u brojnim tkivima, uključujući endokard, miokard i perikard (256). Glavna su djelovanja adropina na KV-i sustav: poboljšanje angiogeneze i krvnoga protoka, povećanje gustoće kapilara, zaštita endotelnih stanica te poboljšanje rada srca i protoka kroz koronarne krvne žile (285). Prema dosadašnjim istraživanjima, pretpostavlja se kako snižene serumske koncentracije adropina pridonose razvoju koronarne arterijske bolesti. Štoviše, snižene serumske koncentracije adropina pokazale su se prediktorom aterosklerotske bolesti koronarnih krvnih žila, kao i kasnoga razvoja okluzije safenskoga venskog grafta (286, 287). Rezultati su provedenih studija o arterijskoj hipertenziji oprečni, odnosno zabilježene su snižene, ali i povišene serumske koncentracije adropina u tih bolesnika (288, 289). Također je ustanovljeno kako na povećanje koncentracije adropina djeluju antihipertenzivni lijekovi (posebno amlodipin i valsartan) (289). Objašnjenja potencijalne uloge adropina u KV-ome sustavu proizlaze i iz *in vitro* i *in vivo* istraživanja (264). Adropin eksprimiran na endotelnim stanicama ima protektivan učinak, prvenstveno potičući

pojačanu sintezu NO-a aktivacijom eNOS-a i receptora vaskularnoga endotelnog faktora rasta 2 (engl. *Endothelial Growth Factor Receptor – 2*, VEGF2) (285). NO ima značajnu ulogu u održavanju homeostaze endotelnih stanica, ali i mogućnost sprječavanja adhezije leukocita i monocita na ednotelne stanice (168). Adropin također može inhibirati vezivanje THP-1 monocita na endotelne stanice, čime inhibira proupalno djelovanje endotelnih stanica i monocita/makrofaga (277). Ometanjem interakcije endotela i makrofaga te uplitanjem u signalni put transkripcijskoga NF-κB i proupalnih citokina adropin smanjuje upalni proces u endotelu i usporava stvaranje aterosklerotskog plaka (274). U srčanim oboljenjima utvrđena je negativna korelacija adropina s homocisteinom, visoko osjetljivim CRP-om (engl. *hypersensitive CRP*, hs-CRP), i razinama citokina, posebno TNF-α i IL-6 (257). Protuupalno djelovanje adropina u procesu ateroskleroze ostvaruje se regulacijom iNOS-a, što utječe na smanjenu ekspresiju gena za TNF-α i IL-6 (265). Adropin smanjuje razine serumskih triglicerida, ukupnoga kolesterola i LDL-a te povećava razine HDL-a čime djeluje na jedan od najvažnijih KV-ih čimbenika rizika – hiperlipidemiju (273). Nedostatak adropina rezultira i povećanom ekspresijom gena za ključne proupalne citokine (IL-1b, IL-6 i TNF-α) što dodatno pridonosi povećanom KV-om riziku (290). Zaključno, adropin regulira neke od ključnih patofizioloških signalnih puteva KV-ih bolesti, što posljedično utječe na vaskularnu upalu, lipotoksičnost, IR-e i oksidativni stres (264).

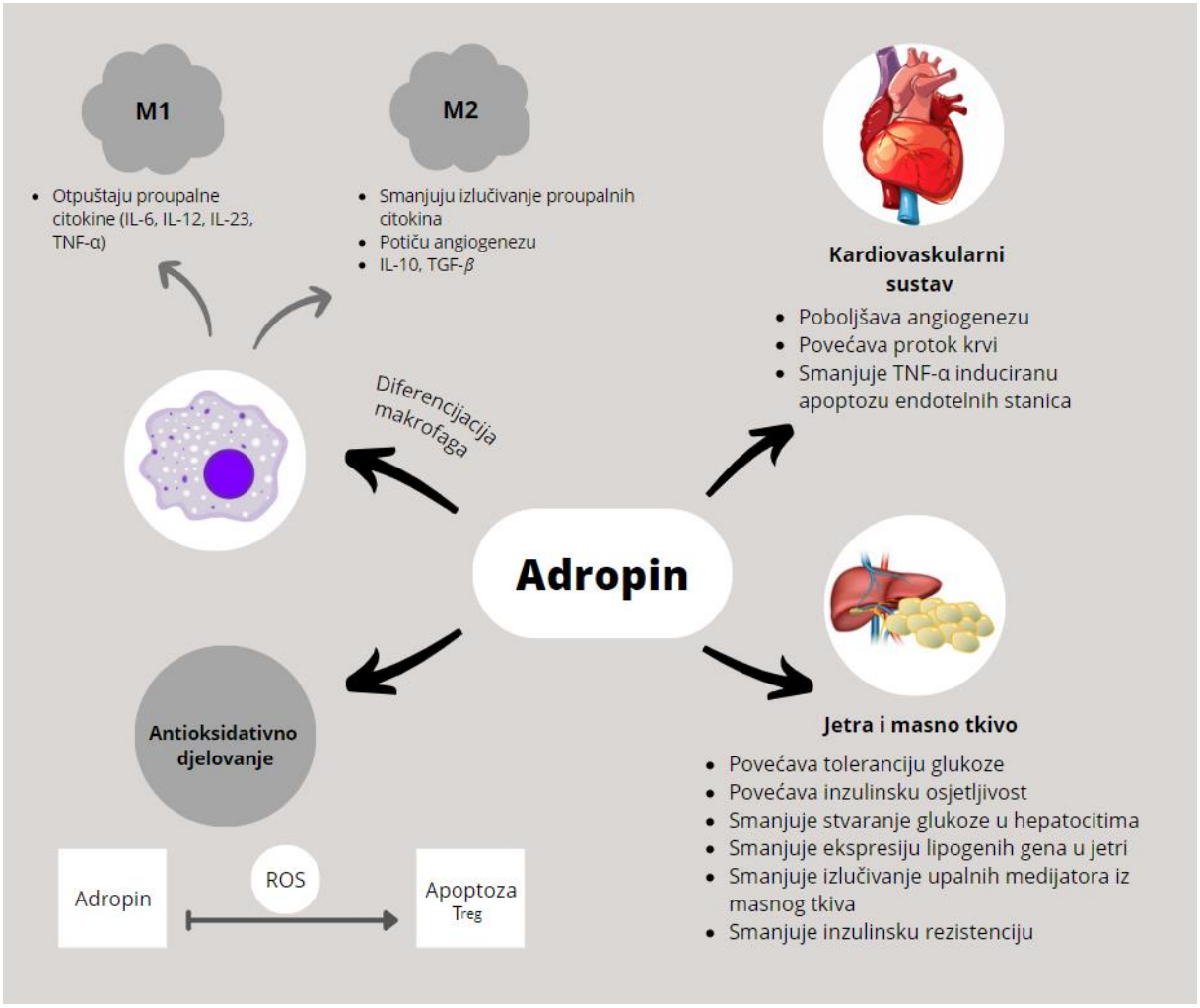
1.3.4. Uloga adropina u kroničnim upalnim bolestima

Dosadašnja istraživanja demonstrirala su višestruke protuupalne učinke adropina, kako na imunološkim stanicama tako i na citokinima, što potvrđuje njegovu sve važniju imunomodulatornu ulogu (274). S obzirom na to da snižene razine adropina mogu dovesti do neravnoteže imunoloških stanica i upalnih citokina, čime se poništava negativna regulacija imunološkoga sustava i potiče upala, ispitivana je uključenost adropina u patofiziologiju brojnih kroničnih upalnih stanja, uključujući autoimune bolesti (291-296). Smatra se kako nedostatak adropina i/ili *ENHO* mutacija imaju ključnu ulogu u plućnome oštećenju uzrokovanome antineutrofilnim citoplazmatskim autoantitijelima na mijeloperoksidazu (engl. *myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody*, MPO-ANCA). Patofiziološki mehanizam takvoga učinka temelji se na aktivaciji endotelnih stanica tijekom migracije leukocita, što je potaknuto proupalnim djelovanjem IL-1 i TNF-α (291). Bolesnici s OA-om imaju snižene serumske koncentracije adropina. Štoviše, teži stupanj OA-a koljena povezan je s još nižim vrijednostima adropina te je utvrđena negativna korelacija adropina sa serumskim koncentracijama TNF-α (294), što ukazuje na protuupalni učinak adropina u ovoj bolesti. I

bolesnici s IBD-om imaju značajno niže serumske koncentracije adropina u usporedbi s kontrolnom skupinom. U IBD-u adropin se pokazao kao značajan prediktor pozitivnoga statusa bolesnika (296). Studija provedena u bolesnika s OSA-om također je pokazala povezanost niskih serumskih koncentracija adropina s višim vrijednostima proupalnih citokina, TNFα i IL-6 (297).

Za razliku od prethodno navedenih rezultata, povišene serumske koncentracije adropina primijećene su u skupini bolesnika sa SSc-om i Behçetovom bolešću (engl. *Behçet's disease*, BD), u usporedbi s kontrolnom skupinom (293). Ovi rezultati sugeriraju kako na povišenje koncentracije adropina najvjerojatnije utječe kronična upala, što je u korelaciji s rezultatima studije o povezanosti IL-6 i viših koncentracija adropina u bolesnika sa srčanim zatajivanjem (256, 293). Također, pretpostavljeno je kako se koncentracije adropina povećavaju s ciljem poboljšanja ishemije tkiva i hipoksije, ali i zbog fibroze u SSc-i (293). Slični rezultati dobiveni su i u bolesnika s primarnim SjS-om, i to istraživanjem u kojem je dokazana pozitivna korelacija povišenih serumskih koncentracija adropina s HDL-om i SSA/Ro52 protutijelima u tih bolesnika (295).

U samo jednome istraživanju određivane su serumske razine adropina i ekspresija *ENHO* gena na malome uzorku bolesnika s RA-om i SLE-om, u usporedbi s istom kontrolnom skupinom, usprkos značajnoj heterogenosti među samim skupinama. Rezultati ove studije nisu utvrdili statistički značajnu razliku u serumskoj razini adropina među ispitivanim skupinama (Slika 4.) (292).



Slika 4. Shematski prikaz učinka adropina.

Kratice: IL-6 - Interleukin 6; **IL-12 -** Interleukin 12; **IL-23** Interleukin 23; **TNF-α -** čimbenik nekroze tumora α **(**engl. *tumor necrosis factor α*)**; IL-10 -** Interleukin 10; **TGF-β -** transformirajući faktor rasta β **(**engl. *transformer growth factor β*); **ROS -** reaktivni kisikovi radikali (engl. *reactive oxygen species*)**; Treg -** regulatorni T limfociti (engl. *T regulatory cells*)

1.4. Povezanost mediteranske prehrane i reumatoidnoga artritisa

Prehrana predstavlja vodeću promjenjivu značajku kroničnih bolesti, što potvrđuju brojne studije koje su pokazale višestruke zdravstvene dobrobiti nastale modifikacijom prehrambenih navika (298). Prehrana sve više postaje fokus istraživanja u RA-u jer prehrambene navike bolesnika s RA-om mogu utjecati na simptome bolesti, a mogu doprinijeti i u prevenciji i liječenju RA-a (299, 300). Naime, unos različitih namirnica povezan je s razinom upale u RA-u i sa sastavnicama crijevne mikrobiote, čimbenicima koji uvelike doprinose razvoju kliničkih manifestacija bolesti (299). Zahvaljujući blagotvornome učinku na zglobove i kardiometaboličke poremećaje mediteranski način prehrane smatra se optimalnim za sve bolesnike s RA-om iako do sada nisu objavljenje znanstveno utemeljene smjernice za prehranu u RA-u (301, 302). Niža incidencija RA u južnoj Europi (0,3–0,7%) u odnosu na sjevernu

Europu i Sjevernu Ameriku (0,5–1,1%) može se u određenoj mjeri povezati s mediteranskom prehranom, uz genetsku podlogu i životni stil (1).

Smatra se kako prehrana ima važnu ulogu u složenoj patofiziologiji RA-a s obzirom na to da nutrijenti mogu modulirati upalni status u ljudi (303). Prema dostupnim podatcima, bolesnici s RA-om često konzumiraju određene namirnice s ciljem ublažavanja boli i zakočenosti zglobova, dok izbjegavaju one koje mogu izazvati „razbuktavanje“ (engl. "*flare-up*") bolesti. Pretjerana konzumacija crvenoga mesa, krumpira i necitrusnoga voća, kao i visoki unos proteina, povezani su s povećanim rizikom za razvoj upalnoga poliartritisa i RA-a, dok je konzumacija gljiva, citrusnoga voća i mliječnih proizvoda pokazala protektivan učinak na RA (304). Nadalje, veća konzumacija ribe, maslinovoga ulja i kuhanoga povrća povezana je s nižom aktivnošću RA-a, a posebno se ističe zaštitno djelovanje omega-3 masnih kiselina (299, 303). Premda su dva istraživanja dokazala da određena dnevna konzumacija masne ribe smanjuje rizik za RA čak i do 49%, velika epidemiološka studija opovrgnula je ove rezultate, pokazujući kako je redovna konzumacija masne ribe povezana tek s blagim smanjenjem rizika za RA-a (305-307). Voće, povrće i maslinovo ulje mogu smanjiti rizik od razvoja RA-a zahvaljujući hranjivim tvarima s antioksidativnim djelovanjem, poput tokoferola u maslinovome ulju koji uklanja slobodne radikale (307). Vitamin D pokazao se značajnim markerom aktivnosti i trajanja RA-a, s obzirom na to da su niže serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D (25-OH D) povezane s težom kliničkom slikom, ali i duljim trajanjem RA-a. Suplementacija vitamina D značajno korelira s poboljšanjem parametara aktivnosti RA-a (308). Korekcija serumskih razina 25-OH D, ključnoga regulatora metabolizma kalcija i funkcionalnosti mišićno-koštanoga sustava, smatra se imperativom u bolesnika s RA-om (299). Visoki unos natrija (soli) hranom povezan je s povećanim rizikom nastanka RA-a, i to posebno u pušača u kojih dodatno povećava rizik od stvaranja ACPA (309).

Model je mediteranske prehrane (engl. *Mediterranean diet*, MD), prije svega, zasnovan na biljnoj prehrani koja uključuje veliku konzumaciju svježega voća, povrća, cjelovitih žitarica i mahunarki, umjerenu konzumaciju ribe, bijeloga mesa i alkohola te nisku konzumaciju crvenoga mesa i šećera (310). Rezultati metaanalize, u koju je bilo uključeno više od 12 800 000 ispitanika koji su se pridržavali MD-e, čvrsto podupiru važnost mediteranskoga načina prehrane u smanjenju rizika ukupne smrtnosti, prevalencije KV-ih bolesti, ukupne incidencije raka, neurodegenerativnih bolesti i šećerne bolesti (311). Nadalje, pokazano je kako MD utječe i na kvalitetu života, odnosno pridržavanje mediteranskoga načina prehrane u starijih ljudi povezano je s boljim zdravstvenim stanjem i kvalitetom života, dok je slabije pridržavanje MD u adolescenata značajno povezano s visokom percepcijom usamljenosti i visokim razinama

stresa (312, 313). Protektivno djelovanje MD-e povezano je s antioksidativnim i protuupalnim učinkom nekoliko hranjivih tvari, osobito mononezasićenih masnih kiselina, polifenola i tokoferola, koji potiču smanjenje IR-e, nastanak šećerne bolesti i KV-ih bolesti (299). Upravo protuupalna svojstva MD-e mogla bi usporiti razvoj i progresiju RA-a (314). Iako trenutna literatura nudi relativno ograničene dokaze o povezanosti MD-e i RA-a, nedavno objavljeni sustavni pregled pokazao je da pridržavanje mediteranskoga načina prehrane u bolesnika s RA-om ima blagotvorne učinke na smanjenje boli i aktivnosti RA-a te povećanje funkcionalnosti oboljelih osoba. Štoviše, protuupalni model prehrane, uključujući MD-u, značajno je smanjio razinu boli u ispitanika s RA-om u odnosu na one ispitanike s RA-om koji su imali uobičajene prehrambene navike, odnosno manje su konzumirali protuupalne namirnice (315). Rezultati velike populacijske studije, pokazali su da je ukupni zbir upitnika pridržavanja MD-e u negativnoj korelaciji s rizikom za RA, međutim to se odnosilo samo na muškarce i seropozitivne ispitanike (316). Prijašnje studije o utjecaju MD-e na stabilni ili umjereno aktivni RA pokazale su poboljšanje subjektivne procjene aktivnosti RA-a, kao što su bolesnikova opća procjena bolesti i procjena boli, što je rezultiralo smanjenim zbrojem DAS28 upitnika. Ujedno je utvrđeno smanjenje jutarnje zakočenosti te poboljšanje tjelesne funkcionalnosti i vitalnosti, ali i smanjenje razina CRP-a u određenih bolesnika (317, 318). Oprečno ovim podatcima, u dvama istraživanjima nisu utvrđena protektivna djelovanja MD-e na razvoj RA-a (319, 320). Dodatak MD-e u vidu višestruko nezasićenih ili polinezasićenih omega-3 masnih kiselina (engl. *polyunsaturated fatty acid*, PUFA) djeluje obećavajuće u bolesnika s RA-om, u vidu smanjenja upale i rizika za razvoj komorbiditeta, posebice KV-ih bolesti, a time i razvoja dugoročnih komplikacija bolesti (315).

Postoji nekoliko upitnika koji se koriste za procjenu pridržavanja mediteranskoga načina prehrane. Jedan je od najčešće korištenih MDS (engl. *Mediterranean Dietary Score*) indeks, na osnovu kojega su se razvili i ostali prilagođeni upitnici: KIDMED (za djecu i adolescente); BQI [(engl. *Breakfast Quality Index*), procjena kvalitete doručka u MD-i]; MDS-p (za trudnice); rMDS [(engl. *the relative Mediterranean Diet Score*), procjena unosa hranjivih tvari obrokom podijeljena na tercile] (310, 321). Sukladno najnovijemu ažuriranju „Piramide mediteranske prehrane“, Monteagudo i suradnici kreirali su verziju upitnika prema preporučenoj učestalosti konzumiranja namirnica i grupa namirnica, nazvanoga MDSS (engl. *The Mediterranean Dietary Serving Score*). Navedeni upitnik pokazao se preciznim i jednostavnim alatom u procjeni pridržavanja MD-e te se smatra korisnim u budućim edukacijama o prehrani, čime bi se mogao spriječiti nastanak kroničnih bolesti (Tablica 3) (321).

Tablica 3. Prikaz MDSS upitnika (**prilagođeno prema** Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Rivas A, Lorenzo-Tovar ML, Tur JA, Olea-Serrano F. Proposal of a Mediterranean Diet Serving Score. PLoS One. 2015;10:e0128594.).

NAMIRNICE	Svaki dan, 2 ili više puta dnevno	Svaki dan, 1 dnevno	3 puta tjedno	2 puta tjedno	1 tjedno	1 mjesečno	Rijetko ili nikada
Žitarice (uključujući i kruh, rižu, tjesteninu)	1	2	3	4	5	6	7
Krumpir	1	2	3	4	5	6	7
Maslinovo ulje (uključujući i pripremu hrane)	1	2	3	4	5	6	7
Orašasti plodovi (npr. badem, orah, lješnjak, kikiriki…)	1	2	3	4	5	6	7
Svježe voće (isključujući voćne sokove)	1	2	3	4	5	6	7
Povrće	1	2	3	4	5	6	7
Mlijeko i mliječni proizvodi	1	2	3	4	5	6	7
Mahunarke (leća, bob, slanutak, grašak, grah i sl.)	1	2	3	4	5	6	7
Jaja	1	2	3	4	5	6	7
Riba (i bijela i plava)	1	2	3	4	5	6	7
Bijelo meso (piletina i puretina)	1	2	3	4	5	6	7
Crveno meso (svinjetina, teletina, govedina)	1	2	3	4	5	6	7
Slastice (šećer, slatkiši, keksi, kolači, zaslađeni voćni sokovi, gazirani sokovi)	1	2	3	4	5	6	7
Vino (u količini: 1 čaša za žene, 1-2 čaše za muškarce)	1	2	3	4	5	6	7

Kratice: MDSS - engl. *The Mediterranean Dietary Serving Score*

Zaključno, iako navedene studije impliciraju povezanost konzumacije određenih namirnica, uglavnom voća, povrća i mesa, s razvojem RA-a, konačni rezultati još uvijek nisu dovoljni za donošenje konkretnih i jasno definiranih preporuka i smjernica (306, 314-320).

2. HIPOTEZE

Hipoteze istraživanja:

1. Razina katestatina bit će značajno viša u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
2. Razina adropina bit će značajno niža u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
3. Očekuje se pozitivna povezanost razine katestatina s aktivnošću RA-a mjerena DAS28 upitnikom i funkcijskom onesposobljenošću u bolesnika s RA-om mjerena HAQ (engl. *Health Assessement Questionnaire*) upitnikom.
4. Očekuje se negativna povezanost razine adropina s aktivnošću RA-a mjerena DAS28 upitnikom i funkcijskom onesposobljenošću u bolesnika s RA mjerena HAQ upitnikom.
5. Očekuje se pozitivna povezanost razina katestatina s upalnim parametrima i trajanjem RA-a.
6. Očekuje se negativna povezanost razina adropina s upalnim parametrima i trajanjem RA-a.
7. Očekuje se pozitivna povezanost razina katestatina s antropometrijskim, kliničkim i laboratorijskim parametrima u bolesnika s RA-om.
8. Očekuje se negativna povezanost razina adropina s antropometrijskim, kliničkim i laboratorijskim parametrima u bolesnika s RA-om.
9. Ukupni MDSS zbir bit će značajno niži u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
10. Očekuje se negativna povezanost MDSS zbira s razinom katestatina u bolesnika s RA-om.
11. Očekuje se pozitivna povezanost MDSS zbira s razinom adropina u bolesnika s RA-om.
12. Očekuje se negativna povezanost MDSS zbira s aktivnošću RA-a (mjerena DAS28 upitnikom) i s funkcijskom onesposobljenošću bolesnika s RA-om (mjerena HAQ upitnikom).

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni su ciljevi istraživanja:

1. Utvrditi razliku u razinama katestatina između bolesnika s RA-om i kontrolne skupine ispitanika.
2. Utvrditi razliku u razinama adropina između bolesnika s RA-om i kontrolne skupine ispitanika.
3. Utvrditi razliku u MDSS zbiru između bolesnika s RA-om i kontrolne skupine ispitanika.

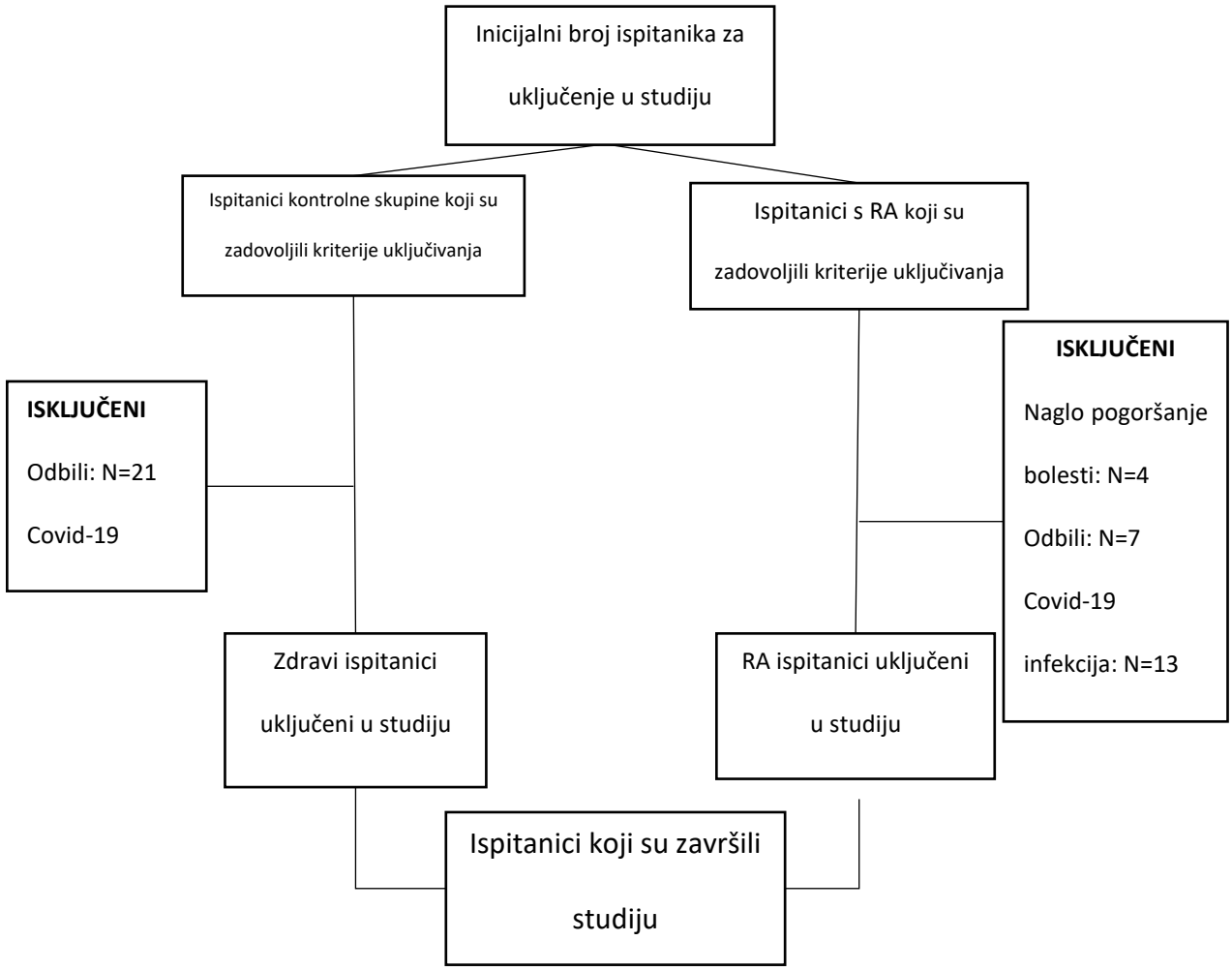
Sporedni su ciljevi istraživanja:

1. Utvrditi postoji li povezanost aktivnosti RA-a, mjerena upitnikom DAS28, s razinama katestatina i adropina.
2. Utvrditi postoji li povezanost funkcijske onesposobljenosti bolesnika s RA-om, mjerena upitnikom HAQ, s razinama katestatina i adropina.
3. Utvrditi postoji li povezanost upalnih parametara i trajanja RA s razinama katestatina i adropina.
4. Utvrditi postoji li povezanost antropometrijskih, kliničkih i laboratorijskih parametara s razinama katestatina i adropina u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika odgovarajuće dobi.
5. Utvrditi postoji li povezanost intolerancije glukoze s razinama katestatina i adropina u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika odgovarajuće dobi.
6. Utvrditi postoji li povezanost serumskih razina katestatina i adropina s MDSS zbirom u skupini ispitanika s RA-om.
7. Utvrditi postoji li povezanost aktivnosti RA-a, mjerena upitnikom DAS28, s MDSS zbirom.
8. Utvrditi postoji li povezanost funkcijske onesposobljenosti bolesnika s RA-om, mjerena upitnikom HAQ, s MDSS zbirom.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

U istraživanje je uključeno 80 ispitanika s RA-om liječenih u Dnevnoj bolnici Zavoda za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju Kliničkoga bolničkog centra Split te 80 zdravih ispitanika. Svi su ispitanici imali između 18 i 80 godina te su prošli cijeli protokol studije, osim mjerenja aktivnosti bolesti pomoću DAS28 i funkcionalne onesposobljenosti pomoću HAQ upitnika, koji su određeni samo u skupini bolesnika s RA-om. Inicijalno je izvršen probir 106 ispitanika s RA-om, od kojih je 80 ispitanika zadovoljilo kriterije za uključenje u istraživanje s katestatinom i pridržavanjem MD-e, odnosno 70 ispitanika za studiju s adropinom. Iz ispitivane skupine isključeno je 26, odnosno 36 ispitanika, zbog nagloga pogoršanja bolesti, iznenadnoga operativnog zahvata, infekcije SARS-CoV-2 virusom, iznenadne trudnoće ili odbijanja u daljnjemu sudjelovanju (Slika 5).



Slika 5. Hodogram dizajna istraživanja.

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **COVID-19**: korona virus 2019.

Svi bolesnici uključeni u istraživanje su zadovoljili ACR/EULAR klasifikacijske kriterije iz 2010. godine (175).

Uključni su kriteriji bili: trajanje bolesti najmanje 2 godine; dob između 18 i 80 godina; obvezno liječenje sa ts- ili b- DMARD-ovima. Navedeni lijekovi uključuju: 1) TNF inhibitore (adalimumab, certolizumab, etanercept, golimumab ili infliksimab te dostupne biosličnе lijekove za adalimumab, etanercept i infliksimab); 2) monoklonsko protutijelo na CD20 receptore B limfocita (rituksimab i biosličnі rituksimab); 3) inhibitore IL-6 (sarilumab ili tocilizumab); 4) JAK inhibitore (tofacitinib, baricitinib, upadacitinib).

Iz studije su isključeni ispitanici koji su ispunili neki od sljedećih kriterija: 1) kronična upalna bolest, izuzev RA-a; 2) šećerna bolest; 3) trudnoća; 4) dojenje; 5) oštećenje bubrežne funkcije [eGFR (procijenjena brzina glomerularne filtracije) $\leq$ 60 mL/min/1,73 m^2]; 6) pozitivna anamneza KV-e bolesti; 7) bolesti dišnoga sustava; 8) bolesti jetre; 9) aktivna maligna bolest; 10) značajna zlouporaba droga i konzumacija alkohola veća od 40 g/dan; 11) dugotrajna izloženost oralnoj terapiji glukokortikoidima $\geq$ 10 mg/dan.

Navedeno istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/20-01/109; Ur. Br.: 2181-147- 01/06/M.S.-20-02, Split, 30.10.2020.) i provedeno je u skladu s Helsinškom deklaracijom revidiranom 2013. godine. Svi ispitanici su dobrovoljno potpisali informirani pristanak prije uključenja u studiju. Prethodno su bili u potpunosti upoznati s metodologijom i ciljevima ispitivanja, kao i potencijalnim neželjenim ishodima. Istraživanje je provedeno u Zavodu za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju Klinike za unutarnje bolesti, Kliničkog bolničkog centra Split.

4.2. Postupci

4.2.1 Antropometrijska mjerenja, klinički pregled i ispitivanje navika ispitanika

Svim sudionicima u istraživanju uzeta je detaljna anamneza te su urađeni fizikalni pregled i antropometrijska mjerenja. Nakon prikupljanja klinički relevantnih podataka iz medicinske dokumentacije, uz sistematski i reumatološki pregled, izvršeno je mjerenje tjelesne težine i visine, izračunati su ITM-e, određena je vrijednost krvnoga tlaka i srčane frekvencije. Tjelesna masa i visina izmjereni su na kalibriranoj vagi i visinomjeru (Seca, Birmingham, Ujedinjeno Kraljevstvo). ITM izračunat je kao tjelesna masa (kg) podijeljena s kvadratom tjelesne visine (m^2). Za mjerenje arterijskoga krvnog tlaka korišten je standardni sfigmomanometar s primjerenom veličinom orukvice [Riester Big Ben Aneroid (Rudolf Riester GmbH, Jungingen, Njemačka)]. Ispitanici su prije mjerenja arterijskog tlaka mirovali u

sjedećemu položaju 10 minuta s nadlakticom postavljenom u razini srca. Vrijednost arterijskoga tlaka određena je kao srednja vrijednost nakon dvaju mjerenja. Ujedno je provjerena anamnezu o pušenju, konzumaciji kave i alkohola svim ispitanicima.

4.2.2 Uzorkovanje krvi i biokemijska analiza uzoraka

Uzorci krvi sakupljeni su svim ispitanicima u jutarnjim satima, a nakon 12-satnog posta. Svi su uzorci analizirani u istome laboratoriju medicinske biokemije od strane iskusnoga biokemičara, prateći standardni postupak. Biokemičar je bio zaslijepljen u odnosu na skupine ispitanika. Krv je vađena polietilenskim kateterom iz kubitalne vene. Uzorci su seruma centrifugirani i pohranjen na -80 °C za daljnju analizu, dok su rutinski laboratorijski testovi urađeni isti dan. Serumske razine katestatina i adropina određene su enzimsko vezanim imunoapsorbirajućim esejom (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), korištenjem komercijalno dostupnih dijagnostičkih testova. Za katestatin korišten je EK-053-27CE, EIA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, CA, SAD), dok je za adropin korišten EK-032-35, EIA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, CA, SAD). Razine ACPA određene su kemiluminiscencijskim imunološkim testom mikročestica na Architect analizatoru (Abbott, Abbott Park, IL, SAD). RF i hsCRP određeni su imunoturbidimetrijskim metodama (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). RF i ACPA testirani su samo u bolesnika s RA-om. Vrijednost glukoze izmjerena je fotometrijski pomoću enzimske metode s heksokinazom (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka), dok je elektrokemiluminescentni imunotest (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) korišten za mjerenje razine inzulina. HOMA - IR korišten je kao surogat mjerenja IR-e. Izračunat je prema sljedećoj formuli = [glukoza natašte (mmol/L) x inzulin natašte (μU/mL)/[5,22]. Za određivanje glikoliziranoga hemoglobina A1c (HbA1c) korištena je metoda kromatografije ionske izmjene na Tosoh G8 analizatoru (Tosoh Bioscience, Tokyo, Japan). Druge biokemijske analize određivane su standardnim laboratorijskim metodama.

4.2.3. Procjena aktivnosti bolesti i funkcionalne onesposobljenosti

Procjena aktivnosti RA-a izvršena je pomoću DAS28 upitnika, a funkcionalna onesposobljenost ispitanika s RA-om HAQ upitnikom. Zbroj DAS28 iznosi od 0 do 9,4. Stupanj aktivnosti RA- određen je pragovima: <2,6 označava remisiju, 2,6 do 3,2 označava nisku aktivnost bolesti, 3,2 do 5,1 označava umjerenu aktivnost bolesti, a >5,1 označava visoku aktivnost bolesti. Procjenu DAS28 izvršila su dva iskusna specijalista reumatologije zasebno. Konačan je rezultat dobiven pomoću „*online*“ kalkulatora Dawn® visual DAS28. DAS28 predstavlja ukupan zbroj broja bolnih i otečenih zglobova, razine hsCRP-a (mg/L) plus

odgovora na upitnik o jačini boli [pacijentova procjena aktivnosti bolesti pomoću 100 mm vizualne analogne ljestvice (engl. *visual analogue scale*, VAS) prema kojoj 0 označava najbolje stanje, a 100 najgore] (322). Tradicionalno, HAQ se koristi kao alat za procjenu poteškoća u uobičajenim svakodnevnim aktivnostima u životu bolesnika s RA-om. HAQ rezultat kreće se od 0 do 3, pri čemu se ukupni zbroj iznad 1,5 smatra teškim invaliditetom. Upitnik je podijeljen na 20 pitanja u osam kategorija, uključujući smetnje pokreta gornjih i donjih udova (Slika 6) (323).

UPITNIK ZA OCJENU ZDRAVSTVENOG STANJA (HAQ)-DI Datum: _____

Ime, prezime, dob, zanimanje: _____

Dijagnoza: _____

Molimo Vas, križićem obilježite onaj odgovor koji najbolje opisuje Vaše mogućnosti tijekom proteklog tjedna.

	0 bez ikakvih poteškoća	1 s nešto poteškoća	2 s puno poteškoća	3 nesposoban za to
1. OBLAČENJE I NJEGA Možete li se:				
a. sami obući, vezati cipele i zakopčati puceta?				
b. oprati kosu?				
2. USTAJANJE Možete li:				
a. ustati iz stolice bez oslanjanja na ruke?				
b. ući i izići iz postelje?				
3. JEDENJE Možete li:				
a. narezati meso?				
b. podignuti napunjenu šalicu ili čašu do usta?				
c. otvoriti mlijeko u kartonskom pakiranju?				
4. HODANJE Možete li:				
a. šetati po ravnom?				
b. popeti se uz 5 stuba?				
5. HIGIJENA Možete li:				
a. oprati se i obrisati cijelo tijelo?				
b. okupati se u kadi?				
c. sjesti i dići se sa zahodske školjke?				
6. DOHVATANJE Možete li:				
a. dohvatiti i spustiti predmet težak 3 kg (npr. vrećicu šećera) koji je iznad Vaše glave?				
b. sagnuti se i podignuti odjeću s poda?				
7. HVATANJE Možete li:				
a. otvoriti vrata od auta?				
b. otvoriti staklenke koje su već bile otvarane?				
c. otvoriti i zatvoriti slavinu?				
8. AKTIVNOSTI Možete li:				
a. obavljati svakodnevne poslove i kupovinu?				
b. sjesti i izaći iz automobila?				
c. usisavati prašinu ili raditi lakše poslove u kući ili u vrtu?				
UKUPNO				

Rezultat (iz svake od 8 kategorija uzeti u obzir najveću vrijednost, zbrojiti ih i podijeliti s 8)
(0-3): _____

0-1: blaga nesposobnost, 1-2: umjerena nesposobnost, 2-3: teška nesposobnost

Ako bolesnik koristi za neku aktivnost pomagalo ili mu je potrebna pomoć druge osobe ocjena za tu aktivnost je najmanje 2

Slika 6. HAQ upitnik (**prilagođeno prema** Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. Arthritis Rheum. 1980;23:137-45.).

Kratice: HAQ - engl. *Health Assessement Questionnaire*

4.2.4. Procjena pridržavanja tradicionalne mediteranske prehrane

Ispitanicima u istraživanju s katestatinom dodatno je izvršena procjena načina prehrane za koju se smatra tradicionalnom mediteranskom prehranom temeljem MDSS zbroja. MDSS predstavlja unaprijeđeni, jednostavan i točan upitnik za procjenu pridržavanja mediteranske prehrane, a temelji se na bodovanju konzumacije prehrambenih namirnica po obroku, danu i tjednu. Zbroj MDSS za odrasle osobe iznosi od 0 do 24, odnosno od minimalnoga do maksimalnoga pridržavanje mediteranskoga načina prehrane. Minimalni MDSS zbroj za adolescente iznosi 23 zbog različitoga načina bodovanja konzumacije alkohola (0 naspram 1 bod za populaciju osoba iznad 18. godine života). MDSS upitnik podijeljen je u 13 kategorija koje uključuju namirnice s preporučenim dnevnim i tjednim unosom uz dodanu kategoriju koja se odnosi na unos alkohola za odrasle osobe (5-25 g/dan za žene, što predstavlja 1 decilitar crnog vina; 25-50 g/dan za muškarce, što predstavlja 2 decilitra crnog vina). Upitnikom se dodjeljuju 1, 2, ili 3 boda za svaku kategorički podijeljenju namirnicu koja se nalazi unutar preporučenoga raspona unosa po obroku na dnevnoj ili tjednoj bazi. Nula bodova označava unos namirnica ispod ili iznad razine preporučenoga praga. Ukupni zboj MDSS < 14 označava nepridržavanje mediteranskoga načina prehrane, dok se zbroj ≥14 odnosi na osobe koje se hrane sukladno smjernicama mediteranske prehrane (321).

4.3. Statistička analiza podataka

Statistička analiza podataka provedena je korištenjem MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgija, verzija 19.1.2) te SPSS Statistics for Windows® (verzija 25.0, IBM, Armonk, NY, SAD).

Za potrebe istraživanja serumskih razina katestatina korišteni su podatci dobiveni iz pilot studije provedene na 10 bolesnika s RA-om i 10 kontrolnih ispitanika odgovarajuće dobi i spola. Bolesnici s RA-om uključeni u pilot studiju bili su izabrani slučajnim probirom. Za izračun je korištena vrijednost serumske razine katestatina, kao glavnoga rezultata istraživanja. Srednja vrijednost serumske razine katestatina u skupini ispitanika s RA-om iznosila je 9,40 ± 2,75 ng/mL, dok je u kontrolnoj skupini iznosila 3,71 ± 2,55 ng/mL. Uz α od 0,05 i snagu istraživanja od 90%, potrebna veličina uzorka bila je 29 ispitanika po skupini.

Analiza veličine uzorka za istraživanje serumskih razina adropina provedena je pomoću podataka iz pilot studije provedene na 10 nasumično odabranih bolesnika s RA-om i 10 podudarnih ispitanika kontrolne skupine. Za izračun je korištena vrijednost serumske razine adropina koja je bila glavni rezultat istraživanja. Srednja vrijednost serumske razine adropina

u skupini s RA-om bila je 3,01 ± 1,02 ng/mL, a u kontrolnoj skupini ispitanika 3,77 ± 1,12 ng/mL. Uz α od 0,05 i snagu istraživanja od 90% potrebna veličina uzorka iznosila je 43 ispitanika po skupini.

Kvantitativni podatci prikazani su kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon), dok su kvalitativni podatci izraženi kao cijeli brojevi (N) s postotcima (%). Za procjenu normalne distribucije podataka koristio se Kolmogorov-Smirnovljev test. Statističke razlike između skupina u odnosu na kvantitativne varijable bile su određene Studentovim t-test-om ili Mann-Whitney U test-om, dok je za kvalitativne varijable korišten hi-kvadrat ($\chi 2$) test. Procjena korelacija između varijabli dobivena je prema Pearsonovu i Spearmanovu korelacijskom koeficijentu. Čimbenici neovisno i značajno povezani s razinama katestatina i adropina određeni su multiplom linearnom regresijskom analizom. Sukladno tome, katestatin i adropin definirani su kao zavisne kontinuirane varijable. Za usporedbu između ispitivane i kontrolne skupine u razlikama kategoričkih varijabli korišten je Hi-kvadrat ($\chi 2$) test. Dodatno, uspoređene su serumske razine katestatina i trajanje RA-a, podijeljeno na vremenske trećine, pomoću jednosmjerne analize varijance (engl. *analysis of variance*, ANOVA) s post hoc Tukey testom. Statistička značajnost definirana je kao $P < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Antropometrijske i kliničke karakteristike ispitanika

U istraživanju razina katestatina ukupno je bilo uključeno 160 ispitanika, odnosno 80 ispitanika s RA-om i 80 ispitanika kontrolne skupine. Nije bilo statistički značajnih razlika u antropometrijskim mjerenjima, dobi i spolu između bolesnika s RA-om i zdrave kontrolne skupine ispitanika. Medijan trajanja RA-a iznosio je 15,0 (10,0-20,0) godina, dok je 51 (63,7%) bolesnik imao pozitivan RF, a 56 (70%) pozitivna ACPA (Tablica 4).

Tablica 4. Osnovne značajke oboljelih i kontrolne skupine u ispitivanju razine katestatina.

Varijabla	**RA grupa (N=80)**	**Kontrolna grupa (N=80)**	***P****
Ženski spol (N, %)	72 (90,0)	70 (87,5)	0,802
Dob (godine)	56,1 ± 12,2	53,0 ± 13,5	0,126
Tjelesna težina (kg)	73,2 ± 13,6	70,0 ± 14,0	0,145
Tjelesna visina (cm)	169,3 ± 7,1	168,2 ± 9,8	0,441
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	25,5 ± 4,1	24,6 ± 4,0	0,163
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	131,0 ± 17,5	126,8 ± 15,6	0,113
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	80,3 ± 10,7	78,1 ± 11,1	0,209
Pušači (N, %)	27 (34,2)	23 (28,7)	0,571
Trajanje bolesti (godine) †	15,0 (10,0-20,0)		-
RF (N, %)	51 (63,7)		-
ACPA (N, %)	56 (70)		-
DAS28 (zbroj)‡	2,52 ± 0,96		-
HAQ (zbroj)	0,84 ± 0,59		-
csDMARD	55 (68,7)		-
tsDMARD	12 (15)		
bDMARD	68 (83,7)		

Kratice: RF - reumatoidni faktor (engl. *rheumatoid factor*); **ACPA** - antitijela na cikličke citrulinirane peptide (engl. *anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies*); **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*; **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire*; **csDMARD –** konvencionalni sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drug*); **tsDMARD -** ciljani sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug*); **bDMARD** - biološki antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *biologic disease-modifying antirheumatic drug*)

Podaci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) ili medijan (interkvartilni raspon, IQR)

* hi-kvadrat test ili t-test za nezavisne uzorke

† vremenski period od postavljanja dijagnoze

‡ izračunat korištenjem vrijednosti hsCRP-a [visoko osjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein*)]

Ispitanici s RA-om imali su statistički značajno višu koncentraciju serumskoga kreatinina (68,9 ± 16,9 *vs*. 64,0 ± 11,1 μmol/L, *P* = 0,030), hsCRP-a (3,6 ± 2,6 *vs.*1,2 ± 1,1 mg/L, *P* < 0,001), ukupnog kolesterola (5,3 ± 1,1 *vs.* 4,8 ± 1,0 mmol/L, *P* = 0,007) i LDL-a (3,2 (2,5-3,7) *vs.* 2,8 (2,1-3,6) mmol/L, *P* = 0,034) u odnosu na ispitanike kontrolne skupine. Koncentracija 25-OH D također je bila značajno niža u ispitanika s RA-om u odnosu na ispitanike kontrolne skupine (39,5 ± 5,1 *vs.* 43,7 ± 2,4 nmol/L, *P* < 0,001) (Tablica 5).

Tablica 5. Laboratorijski parametri RA bolesnika i zdrave kontrolne skupine u ispitivanju razine katestatina.

Varijabla	**RA grupa (N=80)**	**Kontrolna grupa (N=80)**	***P***
Eritrociti (x10^{12}/L)	4,4 ± 0,4	4,5 ± 0,4	0,275**
Hemoglobin (g/L)	133,8 ± 13,0	136,3 ± 10,7	0,192**
Glukoza natašte (mmol/L)	4,9 ± 0,6	4,7 ± 0,5	0,143**
TSH (mIU/mL)	2,2 (1,3-3,2)	1,7 (1,2-3,0)	0,334***
25-OH D (nmol/L)	39,5 ± 5,1	43,7 ± 2,4	<0,001**
Urea (mmol/L)	5,4 ± 1,7	5,2 ± 1,6	0,513**
Kreatinin (μmol/L)	68,9 ± 16,9	64,0 ± 11,1	0,030**
eGFR (mL/min/1.73 m2)	83,0 (70,4–96,2)	86,3 (75,2–02,7)	0,164****
hsCRP (mg/L)	3,6 ± 2,6	1,2 ± 1,1	<0,001**
Trigliceridi (mmol/L)	1,4 ± 0,7	1,3 ± 0,6	0,552**
Ukupni kolesterol (mmol/L)	5,3 ± 1,1	4,8 ± 1,0	0,007**
HDL kolesterol (mmol/L)	1,7 ± 0,4	1,8 ± 0,5	0,363**
LDL kolesterol (mmol/L)	3,2 (2,5-3,7)	2,8 (2,1-3,6)	0,034***

Kartice: TSH - tireoidni stimulirajući hormon; **25-OH D** - 25 hidroksi-vitamin D; **eGFR** - procijenjena glomerularna filtracija (engl. *estimated glomerular filtration rate*); **hsCRP** - visoko osjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein*); **HDL** - lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*); **LDL** - lipoprotein niske gustoće (engl. low-density lipoprotein)

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) ili medijan (interkvartilni raspon, IQR)

** t-test za nezavisne uzorke

*** Mann–Whitney U test za nezavisne uzorke

**** Izračunata prema MDRD jednadžbi

U istraživanju razina adropina ukupno je bilo uključeno 140 ispitanika, odnosno 70 ispitanika s RA-om i 70 ispitanika kontrolne skupine. Nisu utvrđene statistički značajne razlike

u osnovnim karakteristikama između ispitivanih skupina. U skupini ispitanika s RA-om, njih 46 (65,7%) je bilo RF pozitivno, a 51 (72.8%) ACPA pozitivno. Prosječno trajanje RA-a bilo je 15,0 (10,0-20,0) godina (Tablica 6).

Tablica 6. Osnovne značajke oboljelih i kontrolne skupine u ispitivanju razine adropina.

Varijabla	**RA grupa (N=70)**	**Kontrolna grupa (N=70)**	***P****
Ženski spol (N, %)	64 (91,4)	61 (87,1)	0,737
Dob (godine)	55,9 ± 12,5	52,5 ± 14,1	0,134
Tjelesna težina (kg)	73,2 ± 13,6	69,6 ± 14,1	0,124
Tjelesna visina (cm)	169,1 ± 7,2	168,1 ± 10,1	0,487
Indeks tjelesne mase (kg/m^2)	25,6 ± 4,2	25,0 ± 4,3	0,394
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	131,2 ± 17,5	126,3 ± 15,2	0,078
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	80,9 ± 10,9	78,7 ± 11,4	0,244
Pušači (N, %)	22 (31,4)	16 (22,9)	0,349
Trajanje bolesti (godine) †	15,0 (10,0-20,0)	-	-
RF (N, %)	46 (65,7)	-	-
ACPA (N, %)	51 (72,8)	-	-
DAS28 (score)‡	2,49 ± 0,94	-	-
HAQ (score)	0,83 ± 0,60	-	-
csDMARD	50 (71,4)	-	-
tsDMARD	10 (14,2)		
bDMARD	60 (85,8)		

Kratice: RF - reumatoidni faktor (engl. *rheumatoid factor*); **ACPA -** antitijela na cikličke citrulinirane peptide (engl. *anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies*); **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*; **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire*; **csDMARD -** konvencionalni sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drug*); **tsDMARD -** ciljani sintetski antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug*); **bDMARD** - biološki antireumatski lijek koji modificira tijek bolesti (engl. *biologic disease-modifying antirheumatic drug*)

Podatci su prikazani kao cijeli broj (%), srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) ili medijan (interkvartilni raspon, IQR)

* hi-kvadrat test ili t-test za nezavisne uzorke

† vremenski period od postavljanja dijagnoze

‡ izračunat korištenjem vrijednosti CRP-a

Laboratorijska analiza podataka pokazala je da su ispitanici s RA-om u usporedbi s ispitanicima kontrolne skupine imali značajno više serumske koncentracije hsCRP-a (1,7 (0,7-

3,1) *vs.*1,2 (0,6-1,9) mg/L, *P* = 0,009), kreatinina (70,0 ± 17,3 *vs.* 64,1) ± 10,7 μmol/L, *P* = 0,017), ukupnog kolesterola (5,3 ± 1,2 *vs*. 4,7 ± 1,0 mmol/L, *P* = 0,002), LDL-a (3,3 (2,5-3,8) *vs*. 2,7 (2,0-3,6) mmol/L, *P* = 0,025), glukoze natašte (5,0 ± 0,7 *vs*. 4,7 ± 0,5 mmol/L, *P* = 0,007) i HOMA-IR (2,7 ± 1,6 *vs*. 2,1 ± 1,1, *P* = 0,027). Navedene skupine nisu se statistički značajno razlikovale u vrijednostima ostalih laboratorijskih parametara (Tablica 7).

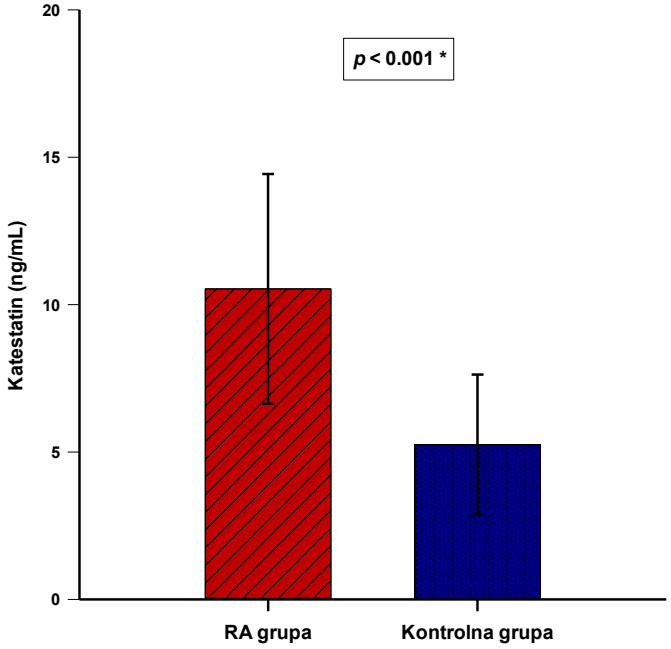
Tablica 7. Laboratorijski parametri RA bolesnika i zdrave kontrolne skupine u ispitivanju razine adropina.

Varijabla	**RA grupa (N=70)**	**Kontrolna grupa (N=70)**	***P****
Eritrociti (x10^{12}/L)	4,4 ± 0,4	4,5 ± 0,5	0,330
Hemoglobin (g/L)	133,8 ± 12,9	136,1 ± 10,8	0,269
TSH (mIU/mL)	2,2 (1,3-3,4)	1,8 (1,2-3,2)	0,365
Urea (mmol/L)	5,2 ± 1,7	5,0 ± 1,6	0,355
Kreatinin (μmol/L)	70,0 ± 17,3	64,1 ± 10,7	0,017
hsCRP (mg/L)	1,7 (0,7-3,1)	1,2 (0,6-1,9)	0,009
Trigliceridi (mmol/L)	1,4 ± 0,7	1,3 ± 0,6	0,384
ukupni kolesterol (mmol/L)	5,3 ± 1,2	4,7 ± 1,0	0,002
HDL kolesterol (mmol/L)	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,5	0,515
LDL kolesterol (mmol/L)	3,3 (2,5-3,8)	2,7 (2,0-3,6)	0,025
Glukoza natašte (mmol/L)	5,0 ± 0,7	4,7 ± 0,5	0,007
Inzulin natašte (pmol/L)	80,3 ± 37,0	71,1 ± 36,2	0,164
HbA1C (%)	5,7 ± 0,4	5,5 ± 0,4	0,052
HOMA-IR	2,7 ± 1,6	2,1 ± 1,1	0,027

Kartice: TSH - tireoidni stimulirajući hormon; **hsCRP** - visoko osjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein*); **HDL** - lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*); **LDL** - lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*); **HbA1c** - glikolizirani hemoglobin A1c; **HOMA - IR** - *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*
Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± SD (standardna devijacija) ili medijan (interkvartilni raspon, IQR)
*t-test ili Mann-Whitney U test za nezavisne uzorke

5.2. Razina serumskoga katestatina

Serumske razine katestatina bile su statistički značajno više u bolesnika s RA-om u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (10,53 ± 3,90 *vs.*5,24 ± 2,37 ng/mL, *P* < 0,001) (Slika 7).



Slika 7. Usporedba serumskih razina katestatina ispitanika s RA-om (N=80) i kontrolne skupine ispitanika (N=80).

* t-test za nezavisne uzorke

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

5.2.1. Korelacije katestatina s laboratorijskim i antropometrijskim parametrima

U ispitanika s RA-om dokazana je statistički značajna pozitivna korelacija između katestatina i životne dobi (r = 0,418, $P < 0,001$). Nisu zabilježene druge statistički značajne korelacije između katestatina i laboratorijskih i antropometrijskih parametara, uključujući i vrijednosti HOMA-IR, glukoze natašte, inzulina natašte i HbA1c (Tablica 8).

Tablica 8. Korelacija serumske razine katestatina s biokemijskim, antropometrijskim i kliničkim parametrima u skupini RA ispitanika (N=80).

Varijabla	**r***	***P***
hsCRP (mg/L)	0,163	0,150
Glukoza natašte (mmol/L)	0,065	0,568
Trigliceridi (mmol/L)	0,114	0,315
Ukupni kolesterol (mmol/L)	0,155	0,173
HDL kolesterol (mmol/L)	0,126	0,266
LDL kolesterol (mmol/L)	0,130‡	0,252

Urea (mmol/L)	0,164	0,148
Kreatinin (μmol/L)	0,115	0,313
25-OH D (nmol/L)	0,020	0,860
TSH (mIU/mL)	0,045‡	0,696
HOMA-IR	0,093	0,454
Glukoza natašte	0,007	0,949
Inzulin natašte	-0,174	0,147
HbA1c	-0,062	0,607
Dob (godine)	0,418	<0,001
ITM (kg/m^2)	0,098	0,391
SBP (mmHg)	0,133	0,241
DBP (mmHg)	0,131	0,248

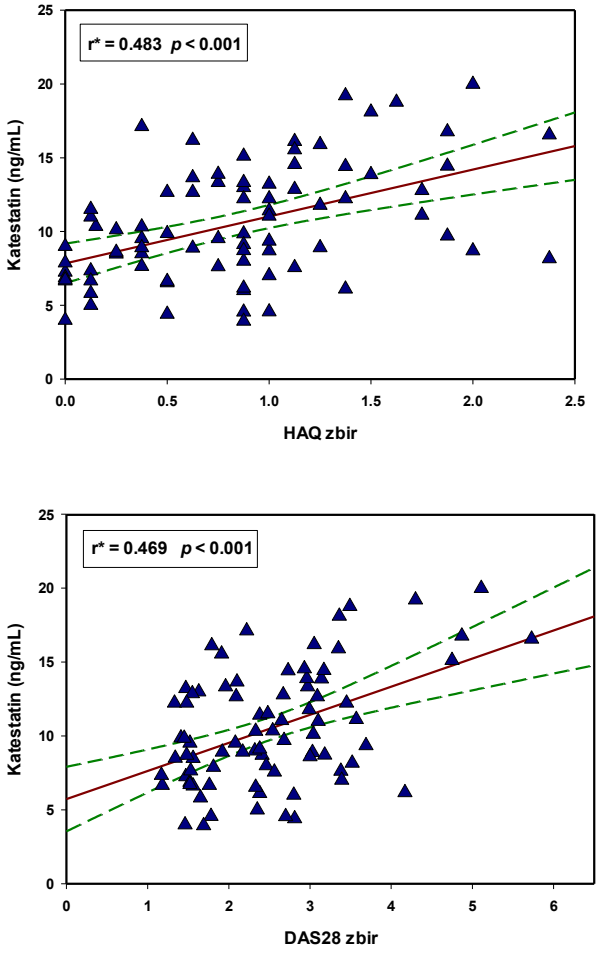
Kratice: hsCRP - visoko osjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein*); **HDL -** lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*); **LDL -** lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*); **TSH -** tireoidni stimulirajući hormon; **25-OH D -** 25 hidroksi-vitamin D; **HOMA-IR -** *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*; **HbA1c -** glikolizirani hemoglobin A1c; **ITM** - indeks tjelesne mase; **SBP - s**istolički arterijski tlak (engl**.** *systolic blood pressure*); **DBP -** dijastolički arterijski tlak (engl. *diastolic blood pressure*)

* Pearsonov koeficijent korelacije

‡ Spearmanov koeficijent korelacije

5.2.2. Korelacija katestatina s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa

U skupini ispitanika s RA-om pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija između serumskih razina katestatina i ukupnoga zbira DAS28 (r = 0,469, $P < 0,001$) i HAQ upitnika (r = 0,483, $P < 0,001$) (Slika 8).

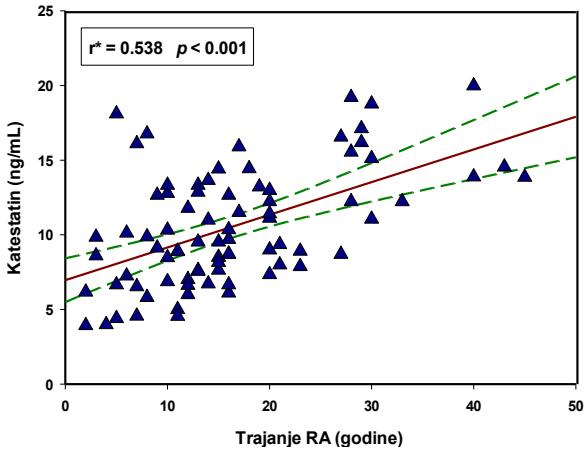


Slika 8. Korelacija između serumskih razina katestatina i (a) HAQ i (b) DAS28 zbira (N=80).

* Pearsonov koeficijent korelacije

Kratice: HAQ - *Health Assessment Questionnair*e; **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*

Štoviše, utvrđena je statistički značajna korelacija između serumske razine katestatina i trajanja RA-a (r = 0,583, *P* < 0,001) (Slika 9).

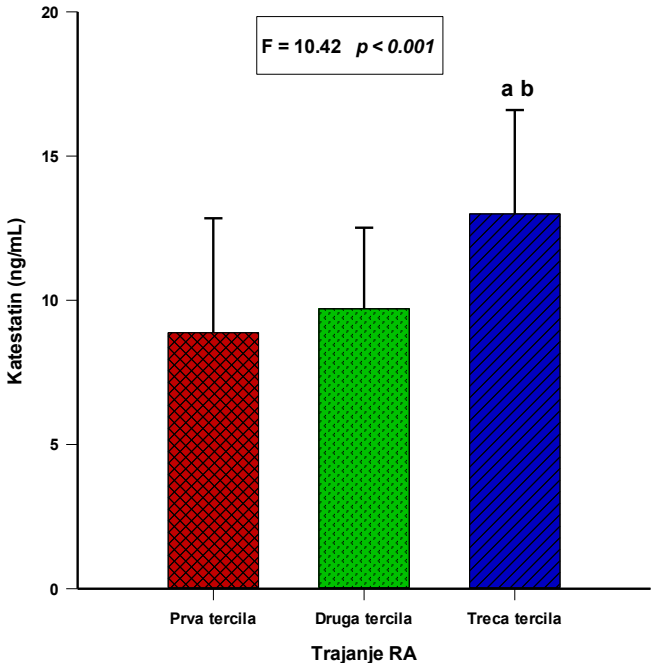


Slika 9. Korelacija između serumske razine katestatina i trajanja RA-a (N=80).

* Spearmanov koeficijent korelacije

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

Nadalje, uspoređujući serumske razine katestatina između tercila trajanja RA-a (F-omjer = 10,42, $P < 0,001$) dokazane su statistički značajno više razine serumskoga katestatina u trećem tercilu (12,99 ± 3,60 ng/mL) naspram drugoga (9,70 ± 2,81 ng/mL). mL) i prvoga (8,87 ± 3,97 ng/mL) tercila ($P < 0,05$) (Slika 10).



Slika 10. Usporedba serumskih razina katestatina između tercila trajanja RA-a (prva tercila N=27; druga tercila N=26; treća tercila N=27).

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

Analiza jednosmjernim testom varijance (ANOVA) s *post hoc* Tukey testom radi ispitivanja razlika između skupina

[a] $P < 0.05$ *vs.* prva tercila trajanja RA

[b] $P < 0.05$ *vs*. druga tercila trajanja RA

Multiplom linearnom regresijskom analizom, prilagođenom za zbunjujuće varijable (dob, spol, ITM i HAQ zbroj), pokazano je da je razina katestatina zadržala statistički značajnu i pozitivnu korelaciju s trajanjem RA-a, sa serumskom razinom katestatina kao ovisnom varijablom (β ± SE, 0,13 ± 0,04, $P = 0{,}002$) (Tablica 9).

Tablica 9. Multipla linearna regresija nezavisnih prediktora za serumske razine katestatina.

Varijabla	**β**[†]	**SE**[‡]	**t-omjer**	***P***
Dob (godine)	0,041	0,035	1,167	0,247
Spol	1,596	1,142	1,397	0,166
ITM (kg/m^2)	0,051	0,089	0,580	0,563
DAS28 (zbroj)	0,943	0,450	2,094	0,039
HAQ (zbroj)	1,201	0,745	1,611	0,111
Trajanje RA (godine)	0,133	0,042	3,144	0,002

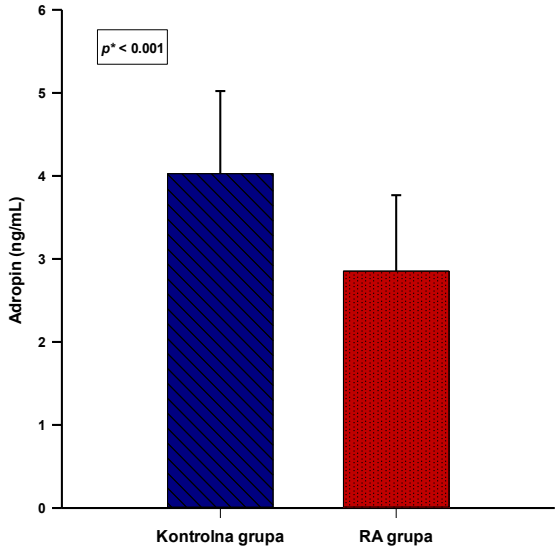
Kratice: ITM - indeks tjelesne mase; **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*; **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire*; **RA -** reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

[†] nestandardizirani regresijski koeficijent β

[‡] standardna pogreška

5.3. Razina serumskoga adropina

Ispitanici s RA-om imali su statistički značajno niže serumske razine adropina u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (2,85 ± 0,91 *vs.* 4,02 ± 0,99 ng/mL, $P < 0{,}001$) (Slika 11).



Slika 11. Usporedba serumskih razina adropina između kontrolne skupine ispitanika (N=70) i ispitanika s RA-om (N=70).

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

* t-test za nezavisne uzorke

5.3.1. Korelacije adropina s laboratorijskim i antropometrijskim parametrima

Nadalje, u skupini ispitanika s RA-om dokazana je statistički značajna negativna korelacija serumske razine adropina s ukupnim kolesterolom (r = -0,172, *P* = 0,043), vrijednošću HbA1c (r = -0,406, *P* < 0,001), glukozom natašte (r = -0,377, *P* < 0,001) i HOMA-IR (r = -0,315, *P* = 0,008) (Slika 12). Nisu pronađene značajne korelacije između serumske razine adropina i ostalih antropometrijskih, laboratorijskih i kliničkih parametara ispitanika s RA-om (Tablica 10).

Tablica 10. Korelacija između serumske razine adropina i biokemijskih, antropometrijskih i kliničkih parametara u skupini RA ispitanika (N=70).

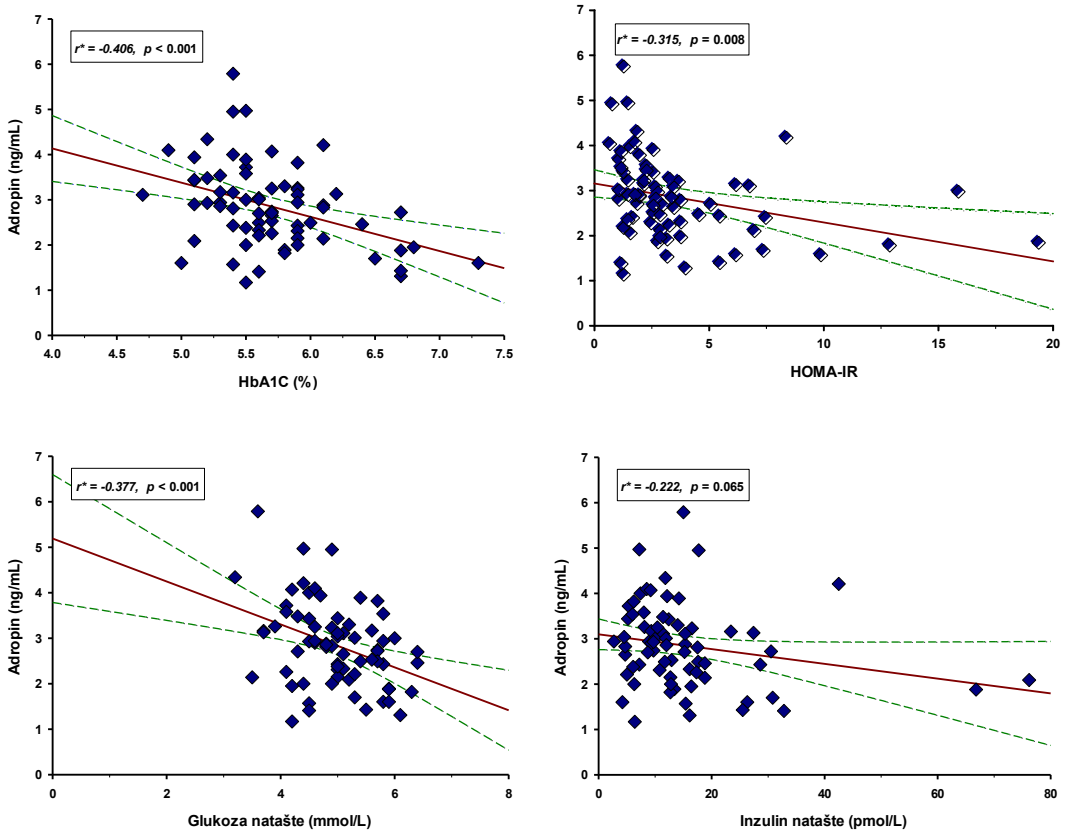
Parametar	**r***	***P***
hsCRP (mg/L)	0,103†	0,641
Triglyceridi (mmol/L)	-0,199	0,098
Ukupni kolesterol (mmol/L)	-0,172	0,043
HDL kolesterol (mmol/L)	0,045	0,597
LDL kolesterol (mmol/L)	-0,057†	0,641
Urea (mmol/L)	-0,112	0,187

Kreatinin (µmol/L)	-0,102	0,230
TSH (mIU/mL)	-0,187†	0,120
25-OH D (nmol/L)	-0,071	0,556
Dob (godine)	-0,036	0,671
ITM (kg/m^2)	0,026	0,760
SBP (mmHg)	-0,109	0,199
DBP (mmHg)	-0,038	0,659
HAQ (zbroj)	-0,155	0,201
DAS (zbroj)	0,006	0,958

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **hsCRP** - visoko osjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein*); **HDL -** lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*); **LDL -** lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*); **TSH -** tireoidni stimulirajući hormon; **25-OH D -** 25 hidroksi-vitamin D; **ITM** - indeks tjelesne mase; **SBP -** sistolički arterijski tlak (engl. *systolic blood pressure*); **DBP -** dijastolički arterijski tlak (engl. *diastolic blood pressure*); **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire*; **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*

* Pearsonov koeficijent korelacije

† Spearmanov koeficijent korelacije



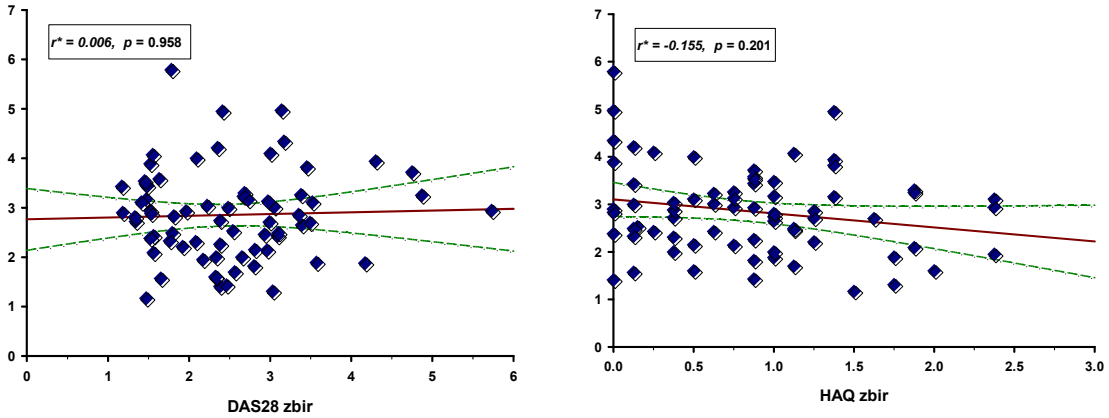
Slika 12. Korelacija između serumske razine adropina i HbA1c (A), HOMA-IR (B), glukozom natašte (C) i inzulinom natašte (D) u skupini ispitanika s RA-om (N=70).

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **HbA1c -** glikolizirani hemoglobin A1c; **HOMA-IR -** *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*

* Pearsonov koeficijent korelacije

5.3.2. Korelacija adropina s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa

U skupini ispitanika s RA-om nije pronađena statistički značajna korelacija između serumskih razina adropina i DAS28 (r = 0,006, *P* = 0,958) i HAQ zbira (r = -0,155, *P* = 0,201) (Slika 13).



Slika 13. Korelacija između serumskih razina adropina i (A) HAQ i (B) DAS28 zbroja u skupini ispitanika s RA-om (N=70).

Kratice: RA - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire;* **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*

* Spearmanov koeficijent korelacije

5.3.3. Korelacija adropina s parametrima metabolizma glukoze

Multipla linearna regresijska analiza pokazala je da su serumske razine adropina zadržale značajnu povezanost s razinama glukoze natašte (β ± SE, -0,450 ± 0,140, *P* = 0,002) i HbA1c vrijednošću (-0,528 ± 0,223, *P* = 0,021) nakon prilagodbe modela za dob, spol, ITM, DAS28 i HAQ zbir, trajanje bolesti, razinu inzulina natašte i HOMA-IR vrijednosti, s razinom serumskoga adropina kao ovisnom varijablom (Tablica 11).

Tablica 11. Multipla linearna regresija nezavisnih prediktora za serumske razine adropina.

Varijabla	β†	SE‡	t-omjer	*P*
Dob (godine)	-0,007	0,009	-0,816	0,418

Spol	-0,180	0,328	-0,550	0,584
ITM (kg/m^2)	0,046	0,024	1,892	0,063
DAS28 (zbroj)	-0,089	0,137	-0,655	0,515
HAQ (zbroj)	0,362	0,208	1,740	0,087
Trajanje RA (godine)	0,014	0,011	1,264	0,211
Glukoza natašte (mmol/L)	-0,450	0,140	-3,219	0,002
Inzulin natašte (pmol/L)	-0,002	0,009	-0,308	0,759
HOMA-IR	-0,031	0,036	-0,873	0,386
HbA1c (%)	-0,528	0,223	-2,361	0,021

Kratice: ITM - indeks tjelesne mase; **DAS28 -** *Disease Activity Score 28*; **HAQ -** *Health Assessment Questionnaire*; **RA -** reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*); **HOM-IR -** *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*; **HbA1c -** glikolizirani hemoglobin A1c

† nestandardizirani regresijski koeficijent β

‡ standardna pogreška

5.4. Utjecaj arterijske hipertenzije na serumske razine katestatina i adropina

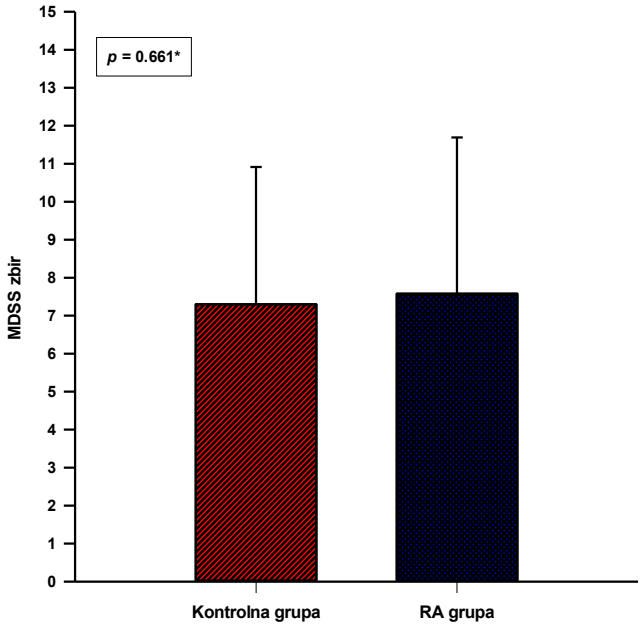
U ispitivanju serumskih razina katestatina 26, od ukupno 80 bolesnika s RA-om uključenih u istraživanje, imalo je arterijsku hipertezniju, odnosno 25, od ukupno 70 bolesnika, u ispitivanju serumskih razina adropina. Nije utvrđena statistički značajna razlika u serumskim razinama katestatina (10,93 ± 3,59 *vs*. 9,99 ± 4,02 ng/mL, $P = 0{,}313$) i adropina (2,9 ± 0,93 *vs*. 2,7 ± 0,86 ng/mL, $P = 0{,}436$) između podskupina ispitanika u odnosu na arterijsku hipertenziju. Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, a korišten je studentov t-test za neovisne uzorke.

5.5. Utjecaj biološke terapije na serumske razine katestatina i adropina

Broj ispitanika s RA-om liječenih s TNF inhibitorima u istraživanju katestatina bio je 67, naspram 13 bolesnika liječenih s ostalim nekonvecionalnim DMARD-ovima. Nije pronađena statistički značajna razlika u serumskim razinama katestatina (10,3 ± 3,8 *vs*. 11,3 ± 4,1 ng/mL, $P = 0{,}442$) između navedenih podskupina u odnosu na biološku terapiju. N=60 ispitanika s RA-om liječenih s TNF inhibitorima naspram N=10 liječenih s ostalim DMARD-ovima uključeno je u ispitivanju razina adropina. Također, nije utvrđena statistički značajna razlika u serumskim razinama adropina (2,8 ± 0,86 *vs*. 3,3 ± 1,13 ng/mL, $P = 0{,}117$) između navedenih podskupina. Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, a korišten je studentov t-test za neovisne uzorke.

5.6. Vrijednosti MDSS upitnika

Analizom ukupnoga MDSS zbira u ispitanika kontrolne skupine (N=80) i ispitanika s RA-om (N=80) nije pronađena statistički značajna razlika između skupina (7,29 ± 3,61 *vs*. 7,57 ± 4,11, *P* = 0,661) (Slika 14).



Slika 14. Usporedba MDSS zbira između kontrolne skupine ispitanika (N=80) i ispitanika s RA-om (N=80).

Kratice: MDSS - *The Mediterranean Dietary Serving Score*: **RA** - reumatoidni artritis (engl. *rheumatoid arthritis*)

* t-test za nezavisne uzorke

5.6.1. Korelacija MDSS upitnika sa serumskim razinama katestatina i adropina

U skupini ispitanika s RA-om nije utvrđena statistički značajna korelacija između MDSS zbira i serumskih razina katestatina (r = -0,059, *P* = 0,621*) i serumskih razina adropina (r = 0.012, P = 0.917*).

*Pearsonov koeficijent korelacije

5.6.2. Korelacija MDSS upitnika s kliničkim obilježjima reumatoidnoga artritisa

Statističkom analizom nije utvrđena značajna korelacija MDSS zbira s DAS28 zbrojem (r = 0,031, *P* = 0,993*), kao ni s HAQ zbrojem (r = 0,222, *P* = 0,062*) u bolesnika s RA-om.

*Pearsonov koeficijent korelacije

6. RASPRAVA

Prvim istraživanjem, provedenim kao dijelom ove doktorske disertacije, dokazano je da bolesnici s RA-om liječeni s bDMARD-ovima ili tsDMARD-ovima imaju značajno više razine serumskog katestatina u odnosu na zdravu, kontrolnu skupinu ispitanika. Osim toga, katestatin je pozitivno korelirao s DAS28 i HAQ zbrojem, kao i s trajanjem RA-a. Prema podatcima iz dostupne literature, do sada nije provedena studija koja je ispitivala serumske razine katestatina u bolesnika s RA-om, kao ni korelaciju katestatina sa specifičnim obilježjima bolesti.

Katestatin je bioaktivni peptid uključen u patofiziologiju brojnih kroničnih bolesti, a posebno se naglašava njegovo kardioprotektivno djelovanje, regulacija arterijske hipertenzije i promicanje angiogeneze, a razgradni je produkt CgA-a (209, 227). Rezultati *in vivo* istraživanja i na eksperimentalnim modelima upućuju kako bi povišene serumske koncentracije CgA-a u bolesnika s RA-om mogle imati utjecaj u kroničnoj vaskularnoj upali, endotelnoj disfunkciji i sistemskoj simpatičkoj hiperaktivnosti (206, 216, 255). Sukladno navedenome, mjerljive serumske koncentracije CgA-a potencijalno bi se mogle koristiti u dijagnostičke i prognostičke svrhe brojnih upalnih stanja, uključujući RA (206, 246). Na temelju dosadašnjih spoznaja, u stanjima kronične sistemske upale kao što je RA, očekuju se povišene razine katestatina (217, 236, 241, 246), što je i potvrđeno provedenim istraživanjem. Ovo istraživanje ukazuje na moguću važnu ulogu katestatina u patofiziologiji RA-a. Osim što su ispitanici s RA-om imali povišene serumske razine katestatina u odnosu na zdrave ispitanike kontrolne skupine, dokazano je da je katestatin samostalni prediktor aktivnosti RA-a i funkcionalne onesposobljenosti bolesnika s RA-om.

Prema dosadašnjim saznanjima, mogući mehanizmi kojima katestatin ostvaruje navedene učinke uključuju njegovu ulogu u kaskadi signalnih transdukcijskih puteva između imunoloških i neimunoloških stanica, što prvenstveno rezultira mijenjanjem ravnoteže između pro- i protu- upalnih citokina (241). S obzirom na poznati učinak katestatina na upalu, može se zaključiti da veća aktivnost upalne bolesti stimulira pokretanje specifičnih regulatornih mehanizama koji dovode do kompenzacijske povećane sekrecije katestatina u cilju zaštite domaćina od kroničnoga upalnog procesa. Naime, eksperimentalna istraživanja provedena na mišjim modelima kolitisa i ateroskleroze pokazala su da se primjenom katestatina smanjuje nakupljanje makrofaga i monocita u upaljenim tkivima (209, 239). S obzirom na to da se u upaljenoj sinovijalnoj membrani nalazi obilje makrofaga, koji snažno potiču prekomjernu ekspresiju proupalnih citokina (324, 325), katestatin bi mogao smanjiti intenzitet upale u RA-u modifikacijom diferencijacije monocita u makrofage. Unatoč tome što točni mehanizmi kojima katestatin utječe na migraciju monocita i makrofaga još uvijek nisu u potpunosti poznati, predloženo je nekoliko mogućih načina. Jedan je od mogućih patofizioloških mehanizama

utjecaj katestatina na smanjenje ekspresije glikoproteina VCAM-1 koji ima važnu ulogu pri adheziji leukocita na endotelne stanice, odnosno početnoga dijela složenoga procesa koji pridonosi endotelnoj disfunkciji (209, 325). Posljedično, dolazi i do poremećaja prijanjanja monocita na endotelne stanice, što dodatno suprimira upalu (209, 324). Prema podatcima iz dosadašnjih istraživanja, serumske vrijednosti VCAM-1 u bolesnika s RA-om značajno su povišene u odnosu na kontrolne skupine ispitanika (325-327). Štoviše, utvrđena je pozitivna korelacija serumskih vrijednosti VCAM-1 s početkom i progresijom RA-a, kao i s endotelnom disfunkcijom u RA-u (237, 325, 326). Nadalje, nedavno provedena *in vitro* studija pokazala je na animalnome modelu kolagenom induciranoga artritisa da je aplikacija monoklonskog protutijela na VCAM-1 smanjila stupanj upale, ali ne i broj zahvaćenih zglobova. Time se potvrdila važnost VCAM-1 u kroničnoj upali u RA-u (328). Pojačana ekspresija VCAM-1 u sinoviji prvenstveno je potaknuta proupalnim citokinima, posebno s TNF-α i IL-6 (237), stoga se može zaključiti kako bi katestatin, potičući smanjeno izlučivanje proupalnih citokina, mogao smanjiti ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim stanicama i tako djelovati protektivno u razvoju ateroskleroze i endotelne disfunkcije u RA-u.

Drugi mogući mehanizam, kojim katestatin regulira upalu u RA-u, jest utjecaj na diferencijaciju aktiviranih makrofaga u sinoviji. Naime, ovisno o aktivnosti RA-a, sinovijalni makrofazi mogu imati dva različita fenotipa: M1 (klasično aktiviran) ili M2 (alternativno aktiviran) (240). U bolesnika s visokom aktivnošću bolesti dominantno je prisutan M1 fenotip koji otpušta proupalne citokine u velikim količinama uz izraženu aktivnost proupalnoga čimbenika, MARCO (329). Rezultati *in vivo* i *in vitro* istraživanja demonstrirali su da terapija katestatinom utječe na smanjenje razina proupalnih citokina (IL-6, IL-1β, TNF-α) i makrofaga, što govori u prilog njegovu protuupalnom učinku (209, 238, 239). Štoviše, katestatin, izlučen od strane makrofaga, može dodatno suprimirati upalni proces mehanizmom negativne povratne sprege (226). S obzirom na to da su svi bolesnici s RA-om uključeni u ovo istraživanje bili liječeni biološkom terapijom, nije isključena ni mogućnost sinergističkog protuupalnog učinka tih lijekova i katestatina. Nismo dobili značajnu razliku u serumskim razinama katestatina između podskupina bolesnika s RA-om liječenih s TNF inhibitorima te onih koji su liječeni ostalim biološkim lijekovima. Upravo bi ovaj podatak ukazivao da katestatin podjednako utječe na smanjenje razine različitih, gore spomenutih citokina (IL-6, IL-1β, TNF-α) u RA-u te da njegov mogući sinergistički učinak ne ovisi o vrsti terapije. Osim toga, navedeni lijekovi inhibicijom proupalnih citokina modificiraju proupalni signalni put u RA-u, što vjerojatno potiče pojačano lučenje katestatina u cilju dodatne imunosupresije. Za utvrđivanje preciznije

uloge katestatina u složenoj patofiziologiji RA-a, poželjno bi bilo provesti daljnja istraživanja s bolesnicima koji nisu liječeni biološkim, a po mogućnosti ni konvecionalnim antireumaticima.

Unatoč relativno oskudnim literaturnim podatcima, pretpostavlja se da su povišene serumske koncentracije katestatina biljeg značajnoga KV-og opterećenja koji je ujedno povećan i u RA-u (228). Kumulativni učinak tradicionalnih KV-ih rizičnih čimbenika i intrinzična obilježja RA-a pridonose nastanku KV-ih bolesti, koje su i dalje vodeći uzrok smrtnosti u bolesnika s RA-om (30–40% svih smrtnih slučajeva) (124-127, 129). U najznačajnija intrinzična obilježja RA-a povezana s KV-im oboljenjima ubrajamo trajanje bolesti, pozitivna ACPA i/ili prisustvo RF-a, povišene razine proupalnih citokina i serumska koncentracija hsCRP-a (159-164). Osnovna značajka nastanka KV-ih bolesti u RA-u preuranjena je, ubrzana ateroskleroza (135). Na eksperimentalnim apolipoprotein-deficijentnim mišjim modelima, koji su bili hranjeni prehranom s visokim udjelom kolesterola, pokazano je da je injekcija katestatina u istih miševa značajno utjecala na smanjenje aterosklerotičnih lezija aorte i aktivnost upalnih makrofaga (209). Nadalje, *in vitro* analizom, autori su utvrdili da bi katestatin mogao spriječiti aterogenezu inhibirajući upalu potaknutu endotelnim stanicama i makrofazima (209). Štoviše, primjena katestatina u animalnome modelu ishemije uda rezultirala je poboljšanjem perfuzije, povećanom stvaranju novih kapilara i smanjenjem nekroze, što potvrđuje proangiogeni učinak katestatina (236). Nadalje, iako su dosadašnje studije pokazale da ispitanici s arterijskom hipertenzijom imaju niže serumske razine katestatina u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike (226, 227), u našemu istraživanju nisu utvrđene značajne razlike u razinama katestatina između bolesnika s RA-om koji su imali arterijsku hipertenziju i onih bez arterijske hipertenzije. Navedeni rezultati ukazuju da se utjecaj RA-a na razine katestatina vjerojatno preklapa s utjecajem na arterijsku hipertenziju. Imunomodulacijsko djelovanje katestatina na diferencijaciju makrofaga i smanjenju infiltraciju proupalnih stanica u tkivima može rezultirati povišenjem njegovih serumskih razina u bolesnika s RA-om (246). Imajući na umu važnost uloge makrofaga i proupalnih citokina u RA-u (46), može se zaključiti kako kronična upala povećava serumske razine katestatina, neovisno o arterijskoj hipertenziji. S obzirom na navedene spoznaje, pretpostavka je da bi učinak katestatina na upalni proces u RA-u mogao interferirati s procesom aterogeneze i KV-im čimbenicima rizika, međutim, rezultate provedenoga istraživanja treba tumačiti s dozom opreza. U cilju boljega razumijevanja povezanosti kronične upale i ateroskleroze u bolesnika s RA-om i serumskih razina katestatina, neophodne su opsežnije, multicentrične longitudinalne studije.

Provedenim istraživanjem nije utvrđena značajna korelacija razine serumskoga katestatina s glukozom natašte, razinom serumskoga inzulina, HbA1c te vrijednosti HOMA-IR-a. Ranije spomenute studije pokazale su da katestatin inhibira glukoneogenezu, smanjenje IR-u i poboljšava toleranciju glukoze (242, 244), što potvrđuje njegovo potencijalno važno protektivno djelovanje na razvoj šećerne bolesti. Iako bolesnici s RA-om imaju povećani rizik razvoja šećerne bolesti (128, 143, 144), izgleda da katestatin nema značajniju ulogu u metaboličkim poremećajima u RA-u, međutim, za definitivnu potvrdu ovih rezultata potrebna su daljnja istraživanja.

Zaključno, ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo da bolesnici s RA-om imaju statistički značajno više serumske razine katestatina u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu. Nadalje, dokazana je pozitivna korelacija katestatina s aktivnošću i trajanjem bolesti te funkcionalnom onesposobljenošću bolesnika. Još jednom valja naglasiti da ovi rezultati ukazuju na moguću važnu ulogu katestatina u složenim patofiziološkim procesima RA-a te moguću buduću implementaciju u dijagnosticiranju, ali i prevenciji neželjenih ishoda.

Drugi dio istraživanja ove doktorske disertacije, dokazao je da ispitanici s RA-om imaju značajno nižu razinu serumskoga adropina u usporedbi sa zdravom kontrolnom skupinom ispitanika. Utvrđena je i značajna negativna korelacija između serumske razine adropina i glukoze natašte, HbA1c te vrijednosti HOMA-IR-a u ispitanika s RA-om, što potvrđuje određenu interakciju adropina i energetske homeostaze u RA-u.

Kao što je već spomenuto, u samo jednome istraživanju određivane su serumske razine adropina na malome uzorku bolesnika s RA-om i SLE-om u usporedbi sa zdravom kontrolnom skupinom. Suprotno ovim rezultatima, nisu utvrđene statistički značajne razlike serumskih razina adropina između ispitivanih skupina iako je *ENHO* ekspresija bila povećana u ispitanika s RA-om u odnosu na ostale skupine. Ovo se istraživanje od našega razlikuje po manjemu uzorku ispitanika te kriterijima isključenja. U navedenome istraživanju uspoređivane su serumske razine adropina u bolesnika s RA-om i SLE-om s istom kontrolnom skupinom, usprkos značajnoj heterogenosti među samim skupinama. Nadalje, njihovi ispitanici bili su znatno mlađi, a trajanje RA-a kraće. Oba navedena čimbenika mogu utjecati na serumske razine adropina (292).

Snižene serumske razine cirkulirajućega adropina zabilježene su u bolestima s kroničnom upalom niskoga intenziteta, kao što su ŠBT2, ateroskleroza, IBD-a te u bolesnika na hemodijalizi (261, 286, 296, 330). S obzirom na to da je RA sistemska upalna bolest, opravdano je bilo očekivati da će i bolesnici s RA-om imati niže serumske razine adropina. Rezultati provedenoga istraživanja u skladu su s navedenim očekivanjima, ali i rezultatima

prethodnih studija. Razna *in vitro* istraživanja demonstrirala su višestruke protuupalne učinke adropina, naglašavajući povezanost manjka adropina s neuravnoteženošću imunosnoga odgovora i upalnih citokina (259, 273, 274, 291). Premda navedeni podatci upućuju na moguću važnu imunomodulatornu ulogu adropina, specifični mehanizmi takvoga djelovanja još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni (274). Pojačano izlučivanje proupalnih citokina (IL-1, TNF-α, IFN-γ) od strane aktiviranih makrofaga i endotelnih stanica u RA-u, potaknuto aktivnošću iNOS-e, izravno utječe na poremećaj metabolizma NO-a (168, 274). Jedan od mogućih mehanizama protektivnoga djelovanja adropina u bolesnika s RA-om jest promicanje aktivnosti eNOS-e na endotelnim stanicama, što se smatra jednim od ključnih procesa uključenih u patofiziološke kaskadne puteve u RA-u. Ova hipoteza podržana je podatcima koji ukazuju na to da adropin, aktivirajući VEGFR2, poboljšava djelovanje eNOS-e. To dovodi do aktivacije dvaju signalnih puteva koji su uključeni u patogenezu RA-a, *PI3K-Akt* i *ERK1/2* (285). Dodatno, adropin svoje protuupalne učinke ostvaruje i ometanjem ekstravazacije i migracije leukocita, što je pod izravnim utjecajem TNF-α (297). Na temelju podataka dobivenih iz *in vitro* istraživanja provedena su istraživanja o povezanosti između adropina i raznih reumatskih bolesti (292- 295). Povišene serumske razine adropina zabilježene su u bolesnika s primarnim SjS-om, SSc-om i BD-om dok je u bolesnika s OA-om, serumska razina adropina bila niža (293-295). Štoviše, potonje istraživanje utvrdilo je negativnu korelaciju serumske razine adropina s TNF-α i upalnim stanicama u bolesnika s OA-om koljena. Ovi rezultati impliciraju moguću povezanost adropina s markerima upalnoga stanja (294). Usprkos proturječnim rezultatima navedenih istraživanja postoji velika vjerojatnost da je adropin uključen u upalne signalne puteve u sistemskim autoimunim bolestima. S obzirom na činjenicu da je TNF-α primarni proupalni citokin u RA-u, niže serumske razine adropina utvrđene u naših ispitanika mogle bi biti objašnjene u kontekstu rezultata dobivenih za OA. Međutim, važno je istaknuti kako su naši bolesnici tijekom istraživanja primali biološku terapiju koja, barem djelomično, neutralizira TNF-α, što zasigurno utječe na serumske razine adropina. Za konačnu evaluaciju dobivenih rezultata i buduću perspektivu bilo bi poželjno provesti multicentrično longitudinalno istraživanje s „terapijski-naivnim" bolesnicima.

Točnu ulogu *ENHO* ekspresije i adropina u upalnim reumatskim bolestima još uvijek treba precizirati. Iako su Gregersen i suradnici opisali genetsku varijantu *ENHO* ekspresije u RA-u, nije ustanovljeno utječu li pronađene modifikacije na razine serumskoga adropina u bolesnika s RA-om (54). Nadalje, Yolbas i suradnici također su utvrdili povećanu *ENHO* ekspresiju u bolesnika s RA-om koja nije bila praćena povišenim serumskim razinama adropina što može biti posljedica malog broja ispitanika (292). Jedan od najvažnijih regulatora genske

transkripcije kemokina, citokina i adhezijskih molekula jest transkripcijski NF-kB (53). Zanimljivo, povišena razina NF-kB-a pronađena je u panusu animalnih modela RA-a, ali i u bolesnika s RA-om, čime je naglašena njegovu uloga u aktivnoj upali u RA-u (52, 55, 331). Ovi bi rezultati mogli biti pokazatelj da NF-kB, djelovanjem na molekularnoj razini, dovodi do izmijenjene ekspresije *ENHO* gena i, posljedično, same serumske razine adropina. To bi mogao biti jedan od mogućih patofizioloških mehanizama putem kojega proupalni citokini (TNF-α, IL-1 i IL-6) sudjeluju u *ENHO* ekspresiji i razini serumskoga adropina u RA-u. Nedavno objavljeno istraživanje dokazalo je da je *ENHO* ekspresija posredovana proteinima podsukpine 1F nuklearnoga receptora (engl. *nuclear receptor*, NR) te *RORα* i *RORγ* gena (262). Nadalje, istraživanje provedeno na animalnim RORα-deficijentnim Stagger modelima, hranjenima prehranom s visokim udjelom masti, pokazala je povećanu ekspresiju *mRNA* za TNF-α, IL-1β i IL-6 (332, 333). *RORα* negativno regulira citokinima posredovan upalni odgovor, ometajući NF-κB signalni put (334). Veza između *RORα* i NF-κB potencijalno bi mogla biti molekularna osnova koja povezuje proupalne citokine, *ENHO* ekspresiju i razinu adropina u RA-u. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se ispitale navedene pretpostavke. Štoviše, u *AdrKO* mišjim modelima (engl. *adropin knockout mice*) manjak adropina uzrokuje povišenu ekspresiju gena koji kodiraju proupalne citokine (IL-1b, IL-6 i TNF-α) (290). Sukladno ovim *in vitro* rezultatima, moguće je da su serumske razine adropina obrnuto proporcionalne s ekspresijom navedenih gena u kroničnim upalnim bolestima (274). Navedene spoznaje impliciraju da razina proupalnih citokina utječe na serumske razine adropina, ali i na *ENHO* ekspresiju, međutim, potrebno je još *in vivo* studija kako bi se potvrdili ovi rezultati.

Nekoliko studija pokazalo je da su bolesnici s RA-om izloženi povećanomu riziku nastanka šećerne bolesti zbog nekoliko čimbenika, od kojih su najvažniji kronična upala, intolerancija glukoze i IR (128, 143, 144). Pretpostavlja se kako razvoju IR-e u RA-u uglavnom doprinosi sistemska upala inducirana proupalnim citokinima, nadasve TNF-α (143, 144). TNF-α aktivira ključne korake inzulinskoga signalnog puta, pridonoseći povećanoj IR-i u bolesnika s RA-om (143, 150). Značajno je otkriće ovoga istraživanja negativna korelacija serumskih razina adropina s glukozom natašte i HOMA-IR-om, što je u skladu s ulogom adropina u metabolizmu glukoze (257, 258). Na animalnim je modelima dokazano da je niža razina adropina u krvi povezana s pretilošću i IR-om. Nadalje, liječenje pretilih miševa egzogenim adropinom rezultiralo je poboljšanjem inzulinske osjetljivosti i metabolizma glukolipida, uz smanjenu ekspresiju lipogenih gena u jetri (257).

Adropin regulira ekspresiju nekih od ključnih adipokina kao što su: adiponektin, resistin i visfatin (263). Iako je važnost uloge adipokina u kompleksnoj patofiziologiji RA-a temeljito

proučena, njihova specifična uloga u progresiji bolesti tek treba biti procijenjena (335). Dokazano je da su resistin i visfatin povezani s kroničnom upalom i koštanom destrukcijom u RA-u (336). Budući da adropin djeluje kao regulator ekspresije resistina i visfatina, može ga se smatrati potencijalnim protuupalnim čimbenikom u RA-u. Slično ovim rezultatima, negativna korelacija između razina serumskoga adropina i razine glukoze natašte i HbA1c te vrijednosti HOMA-IR-a uočena je i u bolesnika s OSA-om, dok je negativna korelacija adropina i glukoze natašte utvrđena i u bolesnika s IBD-om. Ta negativna korelacija objašnjena je mogućom interakcijom adropina s eNOS-om i proupalnim citokinima (TNF-α i IL-6) (296, 297). Zaključno, ovo bi mogao biti mehanizam pomoću kojega adropin ometa upalu i u RA-u.

Zanimljivo, u ovome istraživanju nije utvrđena značajna korelacija razine serumskoga adropina sa zbirom aktivnosti RA-a i funkcionalne onesposobljenosti bolesnika, odnosno s DAS28 i HAQ upitnicima. Također, nije dokazana značajna povezanost između razine serumskoga adropina i trajanja RA-a, kao ni između adropina i serumskih koncentracija hsCRP-a u bolesnika s RA-om. Dosadašnje spoznaje o korelaciji adropina s indeksima akitvnosti različitih autoimunih bolesti uvelike se razlikuju, što dodatno potvrđuje složenu interakciju adropina i kronične upale. Naime, u bolesnika sa SSc-om i RA-om nije pronađena povezanost serumskih razina adropina s indeksima aktivnosti bolesti, dok je u bolesnika s primarnim SjS-om i OA-om zabilježena negativna korelacija adropina sa stupnjem oštećenja (292, 294, 295). Ove heterogene rezultate svakako treba interpretirati pažljivo, a za definitivne zaključke potrebna su daljnja istraživanja s većim uzorkom bolesnika i ujednačenim metodama. Temeljem navedenoga, ali i spomenutoga otkrića negativne korelacije serumske razine adropina s glukozom natašte, vrijednostima HbA1c i HOMA-IR, pretpostavlja se da adropin ima potencijalno važnu ulogu u razvoju metaboličkih poremećaja u RA-u.

Zaključno, ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo da bolesnici s RA-om imaju statistički značajno niže serumske razine adropina u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu, odgovarajuće dobi i spola. Štoviše, negativna korelacija adropina s parametrima metabolizma glukoze implicira da adropin ima utjecaj na metaboličku homeostazu u RA-u.

Treći dio ove disertacije odnosio se na ispitivanje prehrambenih navika u ispitanika s RA-om uključenih i u istraživanje s katestatinom, odnosno pridržavanje MD-e. Nije utvrđena statistički značajna razlika u MDSS zbiru između ispitanika s RA-om i kontrolne skupine. Međutim, u obje ispitivane skupine srednja vrijednost MDSS zbira je bila niska. Iako je srednja vrijednost MDSS zbira u obje skupine bila niska, brojčano je bila nešto veća u bolesnika s RA-om. Nadalje, nije utvrđena značajna korelacija MDSS zbira sa serumskim razinama katestatina i adropina, kao ni s rezultatima DAS28 i HAQ upitnika u oboljelih ispitanika.

MD pripada najpopularnijim dijetama, često korištenima u bolesnika s RA-om, uz vegetarijansku ili bezglutensku prehranu i gladovanje, odnosno post. Također, pokazano je da bolesnici s RA-om nerijetko konzumiraju različite dodatke prehrani, poput PUFA (299). Rezultati ove studije pokazali su kako se naša kohorta bolesnika s RA-om, procijenjeno MDSS zbirom, ne pridržava mediteranskoga načina prehrane, što se može povezati s tzv. „*vesternizacijom*“ prehrambenih navika u općoj populaciji. Naime, nedavno objavljeno istraživanje pokazalo je da je „zapadnjački“ način prehrane u pozitivnoj korelaciji s rizikom razvoja RA-a (337). Štoviše, obrazac prehrane nazvan „zapadnjačka dijeta", koji uključuje visoki unos masnoća i kolesterola, proteina, šećera i soli, kao i čestu konzumaciju prerađene i „brze hrane“, potiče razvoj, ne samo pretilosti, MS-a i KV-ih bolesti već promiče i nastanak autoimunih bolesti, posebice RA-a (338). Pretilost i MS predstavljaju zaseban rizični faktor za razoj RA-a zbog pretjeranoga nakupljanja bijeloga masnog tkiva (engl. *white adipose tissue*, WAT) i poticanja sustavne upale (142). WAT otpušta proupalne medijatore koji imaju ključnu ulogu u patofiziologiji RA-a, poput TNF-α, IL-6, leptina, resistina, i CRP-a (335, 336). Srednja vrijednost ITM-e u bolesnika s RA-om uključenih u ovo istraživanje iznosila je 25,6 ± 4,2, što je u skladu s navedenim proupalnim učinkom pretilosti na RA, čemu dodatno pridonosi nepridržavanje MD-e. Iako nije dokazana povezanost niskoga MDSS zbira s aktivnošću bolesti i funkcionalnom onesposobljenošću naših bolesnika, dobivene rezultate treba promatrati u okviru ostalih parametara, kao što su stupanj aktivnosti RA-a te primjena biološke terapije, s obzirom na to da navedeni čimbenici mogu potencijalno utjecati na korelaciju MDSS zbira i RA-a. Naime, većina ispitanika u ovome istraživanju imala je nisku do umjereno aktivnu bolest, mjerenu DAS28 upitnikom, dok su svi bolesnici bili liječeni terapijom koja neutralizira ključne proupalne citokine. Ujedno, provedenim istraživanjem, nije dokazana korelacija serumskih razina katestatina i adropina s MDDS zbirom u ispitanika s RA-om, što ukazuje na složenu multifaktorijalnu patoziologiju RA-a.

Kako je ranije navedeno, MD ima brojne pozitivne učinke u RA-u, djelujući protupalno i antioksidativno te poboljšavajući kvalitetu života osoba koje boluju od RA-a (314-318). Posebno se ističe i pozitivna povezanost MD-e i crijevne mikrobiote u RA-u zahvaljujući povećanome unosu vlakana, što je inače obilježje MD-e (310). Pretpostavlja se da konzumacija voća, povrća i mahunarki prema mediteranskom obrascu prehrane, dovodi do povećanoga stvaranja kratkolančanih masnih kiselina u crijevima, što smanjuje crijevnu permeabilnost i translokaciju bakterija, čime se prevenira aktivnost efektorskih CD8+ T limfocita, a samim time lokalni i sistemski upalni odgovor (339, 340). Nadalje, veća konzumacija vlakana usporava apsorpciju ugljikohidrata, što je u negativnoj korelaciji s prisutnošću CRP-a i aktivnošću

proupalnih citokina IL-6 i TNF-α (341). Tradicionalni dio mediteranskoga načina prehrane uključuje malu svakodnevnu konzumaciju crnog vina (310). Dosadašnja su istraživanja pokazala da crno vino ima potencijalno protektivan učinak u RA-u, stoga njegova konzumacija nije apsolutno kontraindicirana u bolesnika s RA-om, izuzev u bolesnika s alkoholnom bolešću jetre ili u onih liječenih metotreksatom ili leflunomidom. Svakako, individualan pristup bolesniku nužan je po pitanju preporuke alkoholne konzumacije. Unatoč obećavajućim podatcima o potencijalnoj korisnosti pridržavanja MD-e, EULAR preporuke za životni stil bolesnika s upalnim reumatskim bolestima iz 2021. godine još uvijek ne uključuju specifične smjernice za konzumaciju određenih namirnica (342).

Uz modifikaciju prehrambenih navika od iznimne je važnosti kontrola tjelesne težine u RA-u, s obzirom na to da je prekomjerna tjelesna težina dokazano povezana s većom aktivnošću RA-a i smanjenim učinkom terapije (343). Mediteranski način prehrane uz prilagođenu fizičku aktivnost povoljno utječe na smanjenje tjelesne težine (343, 344), stoga se smatra kako pridržavanje MD-e može pridonijeti smanjenju ITM-e u bolesnika s RA-om, što u konačnici može rezultirati poboljšanjem kvalitete života bolesnika.

Zaključno, ovim je istraživanjem prikazano nepridržavanje mediteranske prehrane u bolesnika s RA-om, što potencijalno ima negativan sveukupni učinak na aktivnost RA-a, funkcionalnost bolesnika, ali i smanjenu kvalitetu života. Da bi se dobio jasniji uvid o utjecaju mediteranskoga načina prehrane na RA, potrebne su daljnje prospektivne studije čiji bi rezultati mogli pridonijeti boljem nemedikamentoznom liječenju bolesnika.

Provedena istraživanja na kojima se temelji ova doktorska disertacija imaju nekoliko ograničenja. Kao prvo, ova su istraživanja presječna, stoga ne dozvoljavaju utvrđivanje uzročne povezanosti. Kao drugo, provedena su na relativno malom uzorku ispitanika iz samo jednoga centra. Dodatno, zbog tehničkih ograničenja, nije bilo moguće izmjeriti sve upalne parametre, što bi potencijalno moglo imati utjecaja na neke od rezultata. Nadalje, nije bilo moguće u potpunosti isključiti sve zbunjujuće čimbenike koji bi mogli interferirati s dobivenim rezultatima. Jedan je od takvih mogući učinak biološke terapije na serumske razine katestatina i adropina u ovoj skupini bolesnika s RA-om, prvenstveno zbog toga što navedena terapija djelomično neutralizira TNF-α. Drugi je mogući zbunjujući čimbenik arterijska hipertenzija koja nije bila kriterij isključenja, a potencijalno može utjecati na razine istraživanih peptida u RA-u. U cilju boljega razumijevanja povezanosti katestatina i adropina sa složenom patofiziologijom RA-a nužna su buduća opsežnija multicentrična longitudinalna istraživanja.

7. ZAKLJUČCI

1. Razina katestatina statistički je značajno viša u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
2. Razina adropina statistički je značajno niža u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika.
3. Ne postoji statistički značajna razlika u vrijednostima MDSS zbira između ispitanika s RA-om i ispitanika kontrolne skupine.
4. Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija serumskih razina katestatina s aktivnošću RA-a, mjerena DAS28 upitnikom, funkcionalnom onesposobljenošću bolesnika RA-om, odnosno s vrijednošću HAQ upitnika te s trajanjem RA-a.
5. Nije utvrđena statistički značajna povezanost razine adropina s DAS28 i HAQ upitnikom u ispitanika s RA-om.
6. Utvrđena je statistički značajna povezanost razine adropina s parametrima metabolizma glukoze u ispitanika s RA-om.
7. Nije utvrđena statistički značajna razlika u razini katestatina i adropina između podskupina bolesnika u odnosu na biološku terapiju, odnosno između onih liječenih s TNF inhibitorima i bolesnika koji su primali tsDMARD-ove i rituksimab.
8. Nije utvrđena statistički značajna povezanost razine katestatina i adropina s arterijskom hipertenzijom.
9. Nije utvrđena statistički značajna korelacija između MDSS zbira i serumskih razina katestatina i adropina u bolesnika s RA-om.
10. Nije utvrđena statistički značajna povezanost MDSS zbira s aktivnošću RA-a kao ni s funkcionalnom onesposobljenošću bolesnika s RA-om.

Porast prevalencije autoimunih kroničnih bolesti u većini razvijenih zemalja svijeta predstavlja značajni javnozdravstveni problem (1, 124). Brojne studije ukazuju na teška fizička i psihička oštećenja u tih bolesnika te kraći životni vijek i lošiju kvalitetu života (124). Suvremene smjernice za liječenje reumatskih bolesti kao i procjene uspješnosti liječenja temelje se upravo na kvaliteti i dužini života bolesnika. Zbog tih razloga te činjenice da točni patofiziološki mehanizmi ovih bolesti nisu u potpunosti razjašnjeni, dužnost je, ali i obveza obavljati dodatna istraživanja. Unatoč sve naprednijim mjerama liječenja, kao i svakodnevnim novim saznanjima, autoimune sistemske bolesti i dalje predstavljaju veliku enigmu.

Znanstveni je doprinos ove disertacije u tome što nudi uvid u indirektne pokazatelje KV-ih i metaboličkih poremećaja u bolesnika s RA-om. Upravo su ti poremećaji u RA-u vodeći uzrok smrtnosti, ali i smanjene kvalitete života. Nadalje, ovom se studijom, po prvi puta, pokazala povezanost dvaju vrlo važnih bioaktivnih peptida s patofiziologijom najčešće kronične upalne reumatske bolesti. Za naglasiti je kako su svi rezultati uspoređivani s usklađenom kontrolnom skupinom. Ovim se istraživanjem potvrdila potreba za otkrivanjem novih mjerljivih biomarkera u cilju, ne samo boljega razumijevanja patofiziologije RA-a već i bolje procjene aktivnosti bolesti i rizika za razvoj komorbiditeta i narušene funkcionalnosti bolesnika. Time se otvara i mogućnost novih terapijskih pristupa koji bi mogli promijeniti tijek RA-a. Navedene bi spoznaje trebale postati primjenjive u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Dodatno, provedenim je istraživanjem ukazano na važnost poboljšanja prehrambenih navika bolesnika s RA-om, što potvrđuje neiscrpnu potrebu za budućim istraživanjima čiji rezultati mogu postati temeljem implementacije prehrane u smjernice liječenja RA-a.

Zaključno, provedenim se istraživanjem otvara prostor za daljnje, multicentrične studije s većim uzorkom ispitanika koje bi još podrobnije mogle ispitati ulogu katestatina i adropina u RA-u, odnosno njihovu povezanost s kliničkim i laboratorijskim parametrima. Te bi se nove spoznaje mogle koristiti u dijagnosticiranju, kao i prevenciji neželjenih ishoda u kroničnim reumatskim bolestima.

8. LITERATURA

1. Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: A systematic review. Semin Arthritis Rheum. 2006;36:182–8.
2. Lundkvist J, Kastäng F, Kobelt G. The burden of rheumatoid arthritis and access to treatment: health burden and costs. Eur J Health Econ. 2008;2:49-60.
3. Murray CL, Mathers CD, Stein C. The Global Burden of Disease 2000 project: aims, methods and data sources. WHO global programme on evidence for health policy discussion paper. J Dental Res. 2001;1:4–36.
4. Cross M, Smith E, Hoy D, Carmona L, Wolfe F, Vos T, i sur. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. Ann Rheum Dis. 2014;73:1316-22.
5. Gabay C, Nissen MJ, van Laar JM. Rheumatoid arthritis: Patogenesis and clinical features. In: Bijlsma JWJ, Hachulla E, editors. EULAR Textbook on Rheumatic Diseases. 2nd ed. London: BMJ Publishing Group Ltd; 2015. p. 229–64.
6. Scherer HU, Häupl T, Burmester GR. The etiology of rheumatoid arthritis. J Autoimmun. 2020;110:102400.
7. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. Lancet. 2016;388:2023-38.
8. Gabriel SE, Michaud K. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases. Arthritis Res Ther. 2009;11:229.
9. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. Arthritis Res. 2002;4:265-72.
10. Almutairi K, Nossent J, Preen D, Keen H, Inderjeeth C. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. Rheumatol Int. 2021;41:863-77.
11. Myasoedova E, Davis J, Matteson EL, Crowson CS. Is the epidemiology of rheumatoid arthritis changing? Results from a population-based incidence study, 1985-2014. Ann Rheum Dis. 2020;79:440-4.
12. Hunter TM, Boytsov NN, Zhang X, Schroeder K, Michaud K, Araujo AB. Prevalence of rheumatoid arthritis in the United States adult population in healthcare claims databases, 2004-2014. Rheumatol Int. 2017;37:1551-7.
13. Eriksson JK, Neovius M, Ernestam S, Lindblad S, Simard JF, Askling J. Incidence of rheumatoid arthritis in Sweden: a nationwide population-based assessment of incidence, its determinants, and treatment penetration. Arthritis Care Res (Hoboken). 2013;65:870-8.

14. Shapira Y, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Geoepidemiology of autoimmune rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2010;6:468-76.
15. Callahan LF. Social epidemiology and rheumatic disease. Curr Opin Rheumatol. 2003;15:110-5.
16. Crowson CS, Matteson EL, Myasoedova E, Michet CJ, Ernste FC, Warrington KJ, i sur. The lifetime risk of adult-onset rheumatoid arthritis and other inflammatory autoimmune rheumatic diseases. Arthritis Rheum. 2011;63:633-9.
17. Jørgensen KT, Pedersen BV, Jacobsen S, Biggar RJ, Frisch M. National cohort study of reproductive risk factors for rheumatoid arthritis in Denmark: a role for hyperemesis, gestational hypertension and pre-eclampsia? Ann Rheum Dis. 2010;69:358-63.
18. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Pedersen BV, Wiik A, Wohlfahrt J, i sur. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. Arthritis Res Ther. 2006;8:133.
19. Sokolove J. Rheumatoid Arthritis Pathogenesis and Pathophysiology. In: Fischer A, Lee JS, editors. Lung Disease in Rheumatoid Arthritis. 1st ed., Cham; Springer International Publishing; 2018. p. 19-30.
20. Deane KD, Norris JM, Holers VM. Preclinical rheumatoid arthritis: identification, evaluation, and future directions for investigation. Rheum Dis Clin N Am. 2010;36:213-41.
21. Klareskog L, Padyukov L, Lorentzen J, Alfredsson L. Mechanisms of disease: genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis. Nat Clin Pract Rheumatol. 2006;2:425–33.
22. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, Freudenberg J, Lee HS, Jia X, i sur. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. Nat Genet. 2012;44:291-6.
23. Eyre S, Hinks A, Bowes J, Flynn E, Martin P, Wilson AG, i sur. Overlapping genetic susceptibility variants between three autoimmune disorders: rheumatoid arthritis, type 1 diabetes and coeliac disease. Arthritis Res Ther. 2010;12:R175.
24. Viatte S, Barton A. Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. Semin Immunopathol. 2017;39:395-408.
25. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, i sur. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. Arthritis Rheum 2000;43:30-7.

26. Klareskog L, Malmström V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Semin Immunol. 2011;23:92-8.
27. Arleevskaya MI, Kravtsova OA, Lemerle J, Renaudineau Y, Tsibulkin AP. How Rheumatoid Arthritis Can Result from Provocation of the Immune System by Microorganisms and Viruses. Front Microbiol. 2016;7:1296.
28. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, i sur. Peptidylarginine deiminase from Porphyromonas gingivalis citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2010;62:2662-72.
29. Scher JU, Ubeda C, Equinda M, Khanin R, Buischi Y, Viale A, i sur. Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2012;64:3083-94.
30. Honda K, Littman DR. The microbiome in infectious disease and inflammation. Annu Rev Immunol. 2012;30:759-95.
31. Lenz TL, Deutsch AJ, Han B, Hu X, Okada Y, Eyre S, i sur. Widespread non-additive and interaction effects within HLA loci modulate the risk of autoimmune diseases. Nat Genet. 2015;47:1085-90.
32. Kyburz D, Karouzakis E, Ospelt C. Epigenetic changes: the missing link. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2014;28:577-87.
33. Ciccacci C, Conigliaro P, Perricone C, Rufini S, Triggianese P, Politi C, i sur. Polymorphisms in STAT-4, IL-10, PSORS1C1, PTPN2 and MIR146A genes are associated differently with prognostic factors in Italian patients affected by rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol. 2016;186:157-63.
34. Majka DS, Deane KD, Parrish LA, Lazar AA, Baron AE, Walker CW, i sur. Duration of preclinical rheumatoid arthritis-related autoantibody positivity increases in subjects with older age at time of disease diagnosis. Ann Rheum Dis. 2008;67:801–7.
35. Plenge RM, Bridges SL Jr. Personalized medicine in rheumatoid arthritis: miles to go before we sleep. Arthritis Rheum. 2011;63:590-3.
36. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, i sur. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anticyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. Ann Internal Med. 2007;146:797-808.
37. Bizzaro N, Bartoloni E, Morozzi G, Manganelli S, Riccieri V, Sabatini P, i sur. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer predicts time to rheumatoid arthritis onset in

patients with undifferentiated arthritis: results from a 2-year prospective study. Arthritis Res Ther. 2013;15:R16.

38. Malmström V, Catrina AI, Klareskog L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: from triggering to targeting. Nat Rev Immunol. 2017;17:60.

39. Sutton B, Corper A, Bonagura V, Taussig M. The structure and origin of rheumatoid factors. Immunol Today. 2000;21:177-83.

40. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review. JAMA. 2018;320:1360-72.

41. Sokolove J, Johnson DS, Lahey LJ, Wagner CA, Cheng D, Thiele GM, i sur. Rheumatoid factor as a potentiator of anti-citrullinated protein antibody-mediated inflammationin rheumatoid arthritis. Arthritis Rheumatol. 2014;66:813-21.

42. Nielen MM, van Schaardenburg, Reesink WH, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MG, i sur. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. Arthritis Rheum. 2004;50:380-6.

43. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, i sur. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. J Clin Invest. 2012;122:1791-802.

44. Bohler C, Radner H, Smolen JS, Aletaha D. Serological changes in the course of traditional and biological disease modifying therapy of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2013;72:241-4.

45. Sokolova MV, Schett G, Steffen U. Autoantibodies in Rheumatoid Arthritis: Historical Background and Novel Findings. Clin Rev Allergy Immunol. 2022;63:138-51.

46. Ding Q, Hu W, Wang R, Yang Q, Zhu M, Li M, i sur. Signaling pathways in rheumatoid arthritis: implications for targeted therapy. Signal Transduct Target Ther. 2023;8:68.

47. Smolen JS, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. Nat Rev Drug Discov. 2003;2:473-88.

48. Stuhlmüller B, Mans K, Tandon N, Bonin MO, Smiljanovic B, Sörensen TA, i sur. Genomic stratification by expression of HLA-DRB4 alleles identifies differential innate and adaptive immune transcriptional patterns - A strategy to detect predictors of methotrexate response in early rheumatoid arthritis. Clin Immunol. 2016;171:50-61.

49. Itoh T, Matsuda H, Tanioka M, Kuwabara K, Itohara S, Suzuki R. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis. The J Immunol. 2002;169:2643-7.
50. Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A, Gizinski A, Yalavarthi S, Knight JS, i sur. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. Sci Transl Med. 2013;5:178ra40.
51. Siegel RJ, Singh AK, Panipinto PM, Shaikh FS, Vinh J, Han SU, i sur. Extracellular sulfatase-2 is overexpressed in rheumatoid arthritis and mediates the TNF-α-induced inflammatory activation of synovial fibroblasts. Cell Mol Immunol. 2022;19:1185-95.
52. Miagkov AV, Kovalenko DV, Brown CE, Didsbury JR, Cogswell JP, Stimpson SA, i sur. NF-kappaB activation provides the potential link between inflammation and hyperplasia in the arthritic joint. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:13859-64.
53. Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T, i sur. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2000;43:259-69.
54. Gregersen PK, Amos CI, Lee AT, Lu Y, Remmers EF, Kastner DL, i sur. REL, encoding a member of the NF-kappaB family of transcription factors, is a newly defined risk locus for rheumatoid arthritis. Nat Genet. 2009;41:820-3.
55. Marok R, Winyard PG, Coumbe A, Kus ML, Gaffney K, Blades S, i sur. Activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB in human inflamed synovial tissue. Arthritis Rheum. 1996;39:583-91.
56. Schatz A, Trankle C, Yassen A, Chipko C, Rajab M, Abouzaki N, i sur. Resolution of pericardial constriction with Anakinra in a patient with effusive-constrictive pericarditis secondary to rheumatoid arthritis. Int J Cardiol. 2016;223:215-6.
57. Srirangan S, Choy EH. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2010;2:247-56.
58. Sato K, Takayanagi H. Osteoclasts, rheumatoid arthritis, and osteoimmunology. Curr Opin Rheumatol. 2006;18:419-26.
59. Klein K, Ospelt C, Gay S. Epigenetic contributions in the development of rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2012;14:227.
60. Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LG, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, i sur. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of

rheumatoid arthritis: report from theStudy Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. Ann Rheum Dis. 2012;71:638-41.

61. Gulati M, Farah Z, Mouyis M. Clinical features of rheumatoid arthritis. Medicine. 2018;46:211-5.

62. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. Lancet. 2010. 25;376:1094-108.

63. van den Bosch WB, Mangnus L, Reijnierse M, Huizinga TW, van der Helm-van Mil AH. The diagnostic accuracy of the squeeze test to identify arthritis: a cross-sectional cohort study. Ann Rheum Dis. 2015;74:1886-9.

64. Linn-Rasker S, der van, Breedveld F, Huizinga T. Arthritis of the large joints – in particular, the knee - at first presentation is predictive for a high level of radiological destruction of the small joints in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2006;66:646–50.

65. Littlejohn EA, Monrad SU. Early Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. Prim Care. 2018;45:237-55.

66. Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matteson EL. Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2002;29:62-7.

67. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD, Tanasescu R. Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. Maedica (Bucur). 2010;5:286-91.

68. Kishore S, Maher L, Vikas M. Rheumatoid vasculitis: a diminishing yet devastating menace. Curr Rheumatol Rep. 2017;19:39.

69. Gerli R, Bartoloni Bocci E, Sherer Y, Vaudo G, Moscatelli S, Shoenfeld Y. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies with subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2008;67:724-5.

70. Cafaro G, Alunno A, Valentini V, Leone MC, Marcucci E, Bartoloni E, i sur. The onset site of rheumatoid arthritis: the joints or the lung? Reumatismo. 2016;68:167-75.

71. Marcucci E, Bartoloni E, Alunno A, Leone MC, Cafaro G, Luccioli F, i sur. Extra-articular rheumatoid arthritis. Reumatismo. 2018;70:212-24.

72. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, i sur. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. PLoS One. 2012;7:e33133.

73. Rozin AP, Hoffman R, Hayek T, Balbir-Gurman A. Felty's syndrome without rheumatoid arthritis? Clin Rheumatol. 2013;32:70e4.
74. Duarte AC, Porter JC, Leandro MJ. The lung in a cohort of rheumatoid arthritis patients-an overview of different types of involvement and treatment. Rheumatology (Oxford). 2019;58:2031.
75. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, i sur. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. Arthritis Rheum. 2006;54:38.
76. Kim EJ, Collard HR, King TE. Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: the relevance of histopathologic and radiographic pattern. Chest. 2009;136:1397e405.
77. Almaliotis D, Zakalka M, Gerofotis A, Chatzicharalampous K, Efstathiou M, Daniilidis M, i sur. Ocular manifestations in rheumatoid arthritis. Open J Ophthalmol. 2016;6:170-5.
78. Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Font J. The overlap of Sjögren's syndrome with other systemic autoimmune diseases. Arthritis Rheum. 2007;36:246-55.
79. Antero DC, Parra AG, Miyazaki FH, Gehlen M, Skare TL. Secondary Sjögren's syndrome and disease activity of rheumatoid arthritis. Rev Assoc Med Bras. 2011;57:319-22.
80. He J, Ding Y, Feng M, Guo J, Sun X, Zhao J, i sur. Characteristics of Sjögren's syndrome in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2013;52:1084-9.
81. Nyhäll-Wåhlin BM, Turesson C, Jacobsson LT, Nilsson JÅ, Forslind K, Albertsson K, i sur. The presence of rheumatoid nodules at early rheumatoid arthritis diagnosis is a sign of extra-articular disease and predicts radiographic progression of joint destruction over 5 years. Scand J Rheumatol. 2011;40:81-7.
82. Kaneko S, Yamashita H, Sugimori Y, Takahashi Y, Kaneko H, Kano T, i sur. Rheumatoid arthritis-associated aortitis: a case report and literature review. Springerplus. 2014;3:509.
83. Genta MS, Genta RM, Gabay C. Systemic rheumatoid vasculitis: a review. Semin Arthritis Rheum. 2006;36:88-98.
84. Chua-Aguilera CJ, Möller B, Yawalkar N. Skin manifestations of rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis, and spon-dyloarthritides. Clin Rev Allergy Immunol. 2017;53:371- 93.

85. Ashchyan HJ, Nelson CA, Stephen S, James WD, Micheletti RG, Rosenbach M. Neutrophilic dermatoses: Pyoderma gangrenosum and other bowel- and arthritis-associated neutrophilic dermatoses. J Am Acad Dermatol. 2018;79:1009-22.
86. Makol A, Crowson CS, Wetter DA, Sokumbi O, Matteson EL, Warrington KJ. Vasculitis associated with rheumatoid arthritis: a case-control study. Rheumatology (Oxford). 2014;53:890-9.
87. Xue Y, Cohen JM, Wright NA, Merola JF. Skin Signs of Rheumatoid Arthritis and its Therapy-Induced Cutaneous Side Effects. Am J Clin Dermatol. 2016;17:147-62.
88. Agarwal V, Singh R, Wiclaf, Chauhan S, Tahlan A, Ahuja CK, i sur. A clinical, electrophysiological, and pathological study of neuropathy in rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2008;27:841-4.
89. Younes M, Belghali S, Kriâa S, Zrour S, Bejia I, Touzi M, i sur. Compared imaging of the rheumatoid cervical spine: prevalence study and associated factors. Joint Bone Spine. 2009;76:361-8.
90. Ramos-Remus C, Duran-Barragan S, Ortiz JDC. Beyond the joints: neurological involvement in rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2012;31:1-12.
91. Benyamin RM, Vallejo R, Kramer J, Rafeyan R. Corticosteroid induced psychosis in the pain management setting. Pain Physician. 2008;11:917-20.
92. Joaquim AF, Appenzeller S. Neuropsychiatric manifestations in rheumatoid arthritis. Autoimmun Rev. 2015;14:1116-22.
93. Nurmohamed MT, Heslinga M, Kitas GD. Cardiovascular comorbidity in rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2015;11:693-704.
94. Ruscitti P, Cipriani P, Liakouli V, Iacono D, Pantano I, Margiotta DPE, i sur. Subclinical and clinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis: results from the 3-year, multicentre, prospective, observational GIRRCS (Gruppo Italiano di Ricerca in Reumatologia Clinica e Sperimentale) study. Arthritis Res Ther. 2019;21:204.
95. Snyder MJ, Bepko J, White M. Acute pericarditis: diagnosis and management. Am Fam Physician. 2014;89:553-60.
96. Schwemmer S, Beer P, Schölmerich J, Fleck M, Straub RH. Cardiovascular and pupillary autonomic nervous dysfunction in patients with rheumatoid arthritis - a cross-sectional and longitudinal study. Clin Exp Rheumatol. 2006;24:683-9.
97. Kröner PT, Tolaymat OA, Bowman AW, Abril A, Lacy BE. Gastrointestinal Manifestations of Rheumatological Diseases. Am J Gastroenterol. 2019;114:1441-54.

98. Malnick S, Melzer E, Sokolowski N, Basevitz A. The involvement of the liver in systemic diseases. J Clin Gastroenterol. 2008;42:69-80.
99. Ohira H, Abe K, Takahashi A. Involvement of the liver in rheumatic diseases. Clin J Gastroenterol. 2012;5:9–14.
100. Koivuniemi R, Paimela L, Suomalainen R, Tornroth T, Leirisalo-Repo M. Amyloidosis is frequently undetected in patients with rheumatoid arthritis. Amyloid. 2008;15:262-8.
101. Khan AZ, Escofet X, Roberts KM, Salman AR. Spontaneous splenic rupture--a rare complication of amyloidosis. Swiss Surg. 2003;9:92-4.
102. Mittal T, Rathi M. Rheumatological diseases and kidneys: a nephrologist's perspective. Int J Rheum Dis. 2014;17:834-44.
103. Ponticelli C, Doria A, Moroni G. Renal disorders in rheumatologic diseases: the spectrum is changing (part 2. Arthridides). J Nephrol. 2021;34:1081-90.
104. Durando M, Tiu H, Kim JS. Sulfasalazine-Induced Crystalluria Causing Severe Acute Kidney Injury. Am J Kidney Dis. 2017;70:869-73.
105. Smitten AL, Simon TA, Hochberg MC, Suissa S. A meta-analysis of the incidence of malignancy in adult patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2008;10:R45.
106. Baecklund E, Iliadou A, Askling J, Ekbom A, Backlin C, Granath F, i sur. Association of chronic inflammation, not its treatment, with increased lymphoma risk in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006;54:692-701.
107. Hellgren K, Smedby KE, Feltelius N, Baecklund E, Askling J. Do rheumatoid arthritis and lymphoma share risk factors?: a comparison of lymphoma and cancer risks before and after diagnosis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2010;62:1252-8.
108. Cañete JD, Hernández MV, Sanmartí R. Safety profile of biological therapies for treating rheumatoid arthritis. Expert Opin Biol Ther. 2017;17:1089-103.
109. Xie W, Xiao S, Huang Y, Sun X, Gao D, Ji L, i sur. A meta-analysis of biologic therapies on risk of new or recurrent cancer in patients with rheumatoid arthritis and a prior malignancy. Rheumatology (Oxford). 2020;59:930-9.
110. Raaschou P, Simard JF, Holmqvist M, Askling J; ARTIS Study Group. Rheumatoid arthritis, anti-tumour necrosis factor therapy, and risk of malignant melanoma: nationwide population based prospective cohort study from Sweden. BMJ. 2013;346:f1939.

111. Cappelli LC, Shah AA. The relationships between cancer and autoimmune rheumatic diseases. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2020;34:101472.
112. Atzeni F, Masala IF, di Franco M, Sarzi-Puttini P. Infections in rheumatoid arthritis. Curr Opin Rheumatol. 2017;29:323e30.
113. Starkebaum G. Chronic neutropenia associated with autoimmune disease. Semin Hematol. 2002;39:1217.
114. Koetz K, Bryl E, Spickschen K, O'Fallon WM, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97:92038.
115. Hohensinner PJ, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomere dysfunction, autoimmunity and aging. Aging Dis. 2011;2:52437.
116. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. Arthritis Rheum. 2002;46:2287-93.
117. Perry LM, Winthrop KL, Curtis JR. Vaccinations for rheumatoid arthritis. Curr Rheumatol Rep. 2014;16:431.
118. Shim JH, Stavre Z, Gravallese EM. Bone Loss in Rheumatoid Arthritis: Basic Mechanisms and Clinical Implications. Calcif Tissue Int. 2018;102:533-46.
119. Jung SM, Kim KW, Yang CW, Park SH, Ju JH. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis. J Immunol Res. 2014;2014:263625.
120. Bergstra SA, Sepriano A, Kerschbaumer A, van der Heijde D, Caporali R, Edwards CJ, i sur. Efficacy, duration of use and safety of glucocorticoids: a systematic literature review informing the 2022 update of the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2023;82:81-94.
121. Hauser B, Riches PL, Wilson JF, Horne AE, Ralston SH. Prevalence and clinical prediction of osteoporosis in a contemporary cohort of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2014;53:1759-66.
122. Buckley L, Guyatt G, Fink HA, Cannon M, Grossman J, Hansen KE, i sur. 2017 American College of Rheumatology Guideline for the Prevention and Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. Arthritis Rheumatol. 2017;69:1521-37.
123. López-Mejías R, Castañeda S, González-Juanatey C, Corrales A, Ferraz-Amaro I, Genre F, i sur. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: The relevance of clinical, genetic and serological markers. Autoimmun Rev. 2016;15:1013-30.

124. van den Hoek J, Boshuizen HC, Roorda LD, Tijhuis GJ, Nurmohamed MT, van den Bos GA, i sur. Mortality in patients with rheumatoid arthritis: a 15-year prospective cohort study. Rheumatol Int. 2017;37:487-93.
125. England BR, Sayles H, Michaud K, Caplan L, Davis LA, Cannon GW, i sur. Cause-specific mortality in male US veterans with rheumatoid arthritis: veterans with RA and cause-specific mortality. Arthritis Care Res. 2016;68:36–45.
126. Nakajima A, Inoue E, Tanaka E, Singh G, Sato E, Hoshi D, i sur. Mortality and cause of death in Japanese patients with rheumatoid arthritis based on a large observational cohort. IORRA Scand J Rheumatol. 2010;39:360–7.
127. Sokka T, Abelson B, Pincus T. Mortality in rheumatoid arthritis: 2008 update. Clin Exp Rheumatol. 2008;26:35–61.
128. del Rincón I, Freeman GL, Haas RW, O'Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. Arthritis Rheum. 2005;52:3413-23.
129. DeMizio DJ, Geraldino-Pardilla LB. Autoimmunity and Inflammation Link to Cardiovascular Disease Risk in Rheumatoid Arthritis. Rheumatol Ther. 2020;7:19-33.
130. Baghdadi LR, Woodman RJ, Shanahan EM, Mangoni AA. The impact of traditional cardiovascular risk factors on cardiovascular outcomes in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2015;10:e0117952.
131. Crepaldi G, Scirè CA, Carrara G, Sakellariou G, Caporali R, Hmamouchi I, i sur. Cardiovascular Comorbidities Relate More than Others with Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. PLoS One. 2016;11:e0146991.
132. Solomon DH, Kremer J, Curtis JR, Hochberg MC, Reed G, Tsao P, i sur. Explaining the cardiovascular risk associated with rheumatoid arthritis: traditional risk factors versus markers of rheumatoid arthritis severity. Ann Rheum Dis. 2010;69:1920-5.
133. Solomon DH, Reed GW, Kremer JM, Curtis JR, Farkouh ME, Harrold LR, i sur. Disease activity in rheumatoid arthritis and the risk of cardiovascular events. Arthritis Rheumatol. 2015;67:1449-55.
134. Arts EEA, Popa CD, Den Broeder AA, Donders R, Sandoo A, Toms T, i sur. Prediction of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: performance of original and adapted SCORE algorithms. Ann Rheum Dis. 2016;75:674–80.
135. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Mechanisms of premature atherosclerosis in rheumatoid arthritis and lupus. Annu Rev Med. 2013;64:249-63.

136. Crowson CS, Matteson EL, Roger VL, Therneau TM, Gabriel SE. Usefulness of risk scores to estimate the risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. Am J Cardiol. 2012;110:420–4.
137. Hurd ER. Extraarticular manifestations of rheumatoid arthritis. Semin Arthritis Rheum. 1979;8:151-76.
138. Aviña-Zubieta JA, Choi HK, Sadatsafavi M, Etminan M, Esdaile JM, Lacaille D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. Arthritis Rheum. 2008;59:1690-7.
139. Bacani AK, Gabriel SE, Crowson CS, Heit JA, Matteson EL. Noncardiac vascular disease in rheumatoid arthritis: increase in venous thromboembolic events? Arthritis Rheum. 2012;64:53-61.
140. Mantel Ä, Holmqvist M, Jernberg T, Wållberg-Jonsson S, Askling J. Rheumatoid arthritis is associated with a more severe presentation of acute coronary syndrome and worse short-term outcome. Eur Heart J. 2015;36:3413-22.
141. Midtbø H, Semb AG, Matre K, Kvien TK, Gerdts E. Disease activity is associated with reduced left ventricular systolic myocardial function in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2017;76:371-6.
142. Chung CP, Oeser A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T, Shintani A, i sur. Prevalence of the metabolic syndrome is increased in rheumatoid arthritis and is associated with coronary atherosclerosis. Atherosclerosis. 2008;196:756-63.
143. Danve AS, Kulkarni S. Do Tumor Necrosis Factor (TNF) Inhibitors Improve the Glycemic Control in Patients with Rheumatoid Arthritis and Concomitant Diabetes Mellitus? Am J Ther. 2017;24:347-50.
144. Solomon DH, Love TJ, Canning C, Schneeweiss S. Risk of diabetes among patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and psoriasis. Ann Rheum Dis. 2010;69:2114-7.
145. Shi Y, Hu FB. The global implications of diabetes and cancer. Lancet. 2014;383:1947-8.
146. Dubreuil M, Rho YH, Man A, Zhu Y, Zhang Y, Love TJ, i sur. Diabetes incidence in psoriatic arthritis, psoriasis and rheumatoid arthritis: a UK population-based cohort study. Rheumatology (Oxford). 2014;53:346-52.
147. Nicolau J, Lequerré T, Bacquet H, Vittecoq O. Rheumatoid arthritis, insulin resistance, and diabetes. Joint Bone Spine. 2017;84:411-6.

148. Dieudé P, Teixeira VH, Pierlot C, Cornélis F, Petit-Teixeira E; ECRAF. Testing for linkage and association with rheumatoid arthritis a ptpn22 promoter polymorphism reported to be associated and linked with type 1 diabetes in the Caucasian population. Ann Rheum Dis. 2008;67:900-1.

149. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA. 2001;286:327-34.

150. Tam LS, Tomlinson B, Chu TT, Li TK, Li EK. Impact of TNF inhibition on insulin resistance and lipids levels in patients with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2007;26:1495-8.

151. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, i sur. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2010;56:1113-32.

152. Chung CP, Oeser A, Solus JF, Gebretsadik T, Shintani A, Avalos I, i sur. Inflammation-associated insulin resistance: differential effects in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus define potential mechanisms. Arthritis Rheum. 2008;58:2105-12.

153. Mirjafari H, Farragher TM, Verstappen SM, Yates A, Bunn D, Marshall T, i sur. Seropositivity is associated with insulin resistance in patients with early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register (NOAR): an observational study. Arthritis Res Ther. 2011;13:R159.

154. Dessein PH, Joffe BI. Insulin resistance and impaired beta cell function in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006;54:2765-75.

155. Shahin D, Eltoraby E, Mesbah A, Houssen M. Insulin resistance in early untreated rheumatoid arthritis patients. Clin Biochem. 2010;43:661-5.

156. Després JP, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, i sur. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. N Engl J Med. 1996;334:952-7.

157. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. Nat Rev Immunol. 2011;11:98-107.

158. Zuliani G, Morieri ML, Volpato S, Maggio M, Cherubini A, Francesconi D, i sur. Insulin resistance and systemic inflammation, but not metabolic syndrome phenotype, predict 9 years mortality in older adults. Atherosclerosis. 2014;235:538-45.

159. Agca R, Heslinga SC, Rollefstad S, Heslinga M, McInnes IB, Peters MJ, i sur. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. Ann Rheum Dis. 2017;76:17-28.
160. Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Asanuma Y, Sokka T, i sur. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2009;61:1580-5.
161. Marder W, Khalatbari S, Myles JD, Hench R, Yalavarthi S, Lustig S, i sur. Interleukin 17 as a novel predictor of vascular function in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2011;70:1550-5.
162. Hot A, Lenief V, Miossec P. Combination of IL-17 and TNFα induces a pro-inflammatory, pro-coagulant and pro-thrombotic phenotype in human endothelial cells. Ann Rheum Dis. 2012;71:768-76.
163. Tomasson G, Aspelund T, Jonsson T, Valdimarsson H, Felson DT, Gudnason V. Effect of rheumatoid factor on mortality and coronary heart disease. Ann Rheum Dis. 2010;69:1649-54.
164. Hjeltnes G, Hollan I, Førre Ø, Wiik A, Mikkelsen K, Agewall S. Anti-CCP and RF IgM: predictors of impaired endothelial function in rheumatoid arthritis patients. Scand J Rheumatol. 2011;40:422-7.
165. Bartoloni E, Shoenfeld Y, Gerli R. Inflammatory and autoimmune mechanisms in the induction of atherosclerotic damage in systemic rheumatic diseases: two faces of the same coin. Arthritis Care Res (Hoboken). 2011;63:178-83.
166. López-Longo FJ, Oliver-Miñarro D, de la Torre I, González-Díaz de Rábago E, Sánchez-Ramón S, Rodríguez-Mahou M, i sur. Association between anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and ischemic heart disease in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2009;61:419-24.
167. Geraldino-Pardilla L, Russo C, Sokolove J, Robinson WH, Zartoshti A, Van Eyk J, i sur. Association of anti-citrullinated protein or peptide antibodies with left ventricular structure and function in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2017;56:534–40.
168. Zielonka J, Sikora A, Joseph J, Kalyanaraman B. Peroxynitrite is the major species formed from different flux ratios of co-generated nitric oxide and superoxide: direct reaction with boronate-based fluorescent probe. J Biol Chem. 2010;285:14210-6.

169. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. Circulation 2002;105:1135–43.
170. Cugno M, Ingegnoli F, Gualtierotti R, Fantini F. Potential effect of anti-tumour necrosis factor-alpha treatment on reducing the cardiovascular risk related to rheumatoid arthritis. Curr Vasc Pharmacol. 2010;8:285-92.
171. Galarraga B, Khan F, Kumar P, Pullar T, Belch JJ. C-reactive protein: the underlying cause of microvascular dysfunction in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2008;47:1780-4.
172. Semb AG, Rollefstad S, Provan SA, Kvien TK, Stranden E, Olsen IC, i sur. Carotid plaque characteristics and disease activity in rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2013;40:359-68.
173. Panoulas VF, Douglas KM, Milionis HJ, Stavropoulos-Kalinglou A, Nightingale P, Kita MD, i sur. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2007;46:1477-82.
174. Sparks JA. Rheumatoid Arthritis. Ann Intern Med. 2019;170:ITC1-ITC16.
175. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, i sur. Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010;62:2569-81.
176. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, i sur. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1988;31:315-24.
177. Radner H, Neogi T, Smolen JS, Aletaha D. Performance of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: a systematic literature review. Ann Rheum Dis. 2014;73:114-23.
178. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immunol Today. 1994;15:74-80.
179. van Leeuwen MA, van der Heijde DM, van Rijswijk MH, Houtman PM, van Riel PL, van de Putte LB, i sur. Interrelationship of outcome measures and process variables in early rheumatoid arthritis. A comparison of radiologic damage, physical disability, joint counts, and acute phase reactants. J Rheumatol. 1994;21:425-9.
180. Sokka T, Pincus T. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, or rheumatoid factor are normal at presentation in 35%-45% of patients with rheumatoid arthritis seen between 1980 and 2004: analyses from Finland and the United States. J Rheumatol. 2009;361387-90.

181. Sudoł-Szopińska I, Cwikła JB. Current imaging techniques in rheumatology: MRI, scintigraphy and PET. Pol J Radiol. 2013;78:48-56.
182. Drosos AA, Pelechas E, Voulgari PV. Conventional radiography of the hands and wrists in rheumatoid arthritis. What a rheumatologist should know and how to interpret the radiological findings. Rheumatol Int. 2019;39:1331-41.
183. Sommer OJ, Kladosek A, Weiler V, Czembirek H, Boeck M, Stiskal M. Rheumatoid arthritis: a practical guide to state-of-the-art imaging, image interpretation, and clinical implications. Radiographics. 2005;25:381-98.
184. van der Heijde D. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. J Rheumatol. 2000;27:261-3.
185. Filippucci E, Cipolletta E, Mashadi Mirza R, Carotti M, Giovagnoni A, Salaffi F, i sur. Ultrasound imaging in rheumatoid arthritis. Radiol Med. 2019;124:1087-100.
186. Lillegraven S, Bøyesen P, Hammer HB, Østergaard M, Uhlig T, Sesseng S, i sur. Tenosynovitis of the extensor carpi ulnaris tendon predicts erosive progression in early rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2011;70:2049-50.
187. Tsubaki F, Kurata S, Nagata S, Fujimoto K, Abe T. Clinical spectrum and diagnostic pitfalls of multiple abnormal uptakes on bone scintigraphy. Jpn J Radiol. 2016;34:771-8.
188. Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. Lancet. 2017;389:2338-48.
189. Sokka T, Kautiainen H, Möttönen T, Hannonen P. Work disability in rheumatoid arthritis 10 years after the diagnosis. J Rheumatol. 1999;26:1681-5.
190. Smolen JS, Landewé RBM, Bergstra SA, Kerschbaumer A, Sepriano A, Aletaha D, i sur. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update. Ann Rheum Dis. 2023;82:3-18.
191. Fraenkel L, Bathon JM, England BR, St Clair EW, Arayssi T, Carandang K, i sur. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. Arthritis Care Res (Hoboken). 2021;73:924-39.
192. Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. Cells. 2020;9:880.
193. Smolen JS, van der Heijde D, Machold KP, Aletaha D, Landewé R. Proposal for a new nomenclature of disease-modifying antirheumatic drugs. Ann Rheum Dis. 2014;73:3-5.

194. Borchers AT, Keen CL, Cheema GS, Gershwin ME. The use of methotrexate in rheumatoid arthritis. Semin Arthritis Rheum. 2004;34:465-83.
195. Binder NB, Puchner A, Niederreiter B, Hayer S, Leiss H, Blüml S, i sur. Tumor necrosis factor-inhibiting therapy preferentially targets bone destruction but not synovial inflammation in a tumor necrosis factor-driven model of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2013;65:608-17.
196. Rutherford AI, Patarata E, Subesinghe S, Hyrich KL, Galloway JB. Opportunistic infections in rheumatoid arthritis patients exposed to biologic therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis. Rheumatology (Oxford). 2018;57:997-1001.
197. Putrik P, Ramiro S, Kvien TK, Sokka T, Pavlova M, Uhlig T, i sur. Inequities in access to biologic and synthetic DMARDs across 46 European countries. Ann Rheum Dis. 2014;73:198-206.
198. Smolen JS, Breedveld FC, Burmester GR, Bykerk V, Dougados M, Emery P, i sur. Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force. Ann Rheum Dis. 2016;75:3-15.
199. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin a fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. J Clin Invest. 1997;100:1623-33.
200. Banks P, Helle K. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. Biochem J. 1965;97:40C-41C.
201. Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue MH, Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. Cell Mol Life Sci. 2007;64:2863-86.
202. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. N Engl J Med. 2003;348:1134-49.
203. Murray SS, Deaven LL, Burton DW, O'Connor DI, Mellon PL, Deftos LJ. The gene for human chromogranin A (CgA) is located on chromosome 14. Biochem Biophys Res Commun. 1987;142:141-6.
204. Troger J, Theurl M, Kirchmair R, Pasqua T, Tota B, Angelone T, i sur. Granin-derived peptides. Prog Neurobiol. 2017;154:37-61.
205. Bandyopadhyay GK, Vu CU, Gentile S, Lee H, Biswas N, Chi NW, i sur. Catestatin (chromogranin A(352-372)) and novel effects on mobilization of fat from adipose

tissue through regulation of adrenergic and leptin signaling. J Biol Chem. 2012;287:23141-51.

206. Ferrero E, Scabini S, Magni E, Foglieni C, Belloni D, Colombo B, i sur. Chromogranin A protects vessels against tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage. FASEB J. 2004;18:554-6.

207. Pieroni M, Corti A, Tota B, Curnis F, Angelone T, Colombo B, i sur. Myocardial production of chromogranin A in human heart: a new regulatory peptide of cardiac function. Eur Heart J. 2007;28:1117-27.

208. Radek KA, Lopez-Garcia B, Hupe M, Niesman IR, Elias PM, Taupenot L, i sur. The neuroendocrine peptide catestatin is a cutaneous antimicrobial and induced in the skin after injury. J Invest Dermatol. 2008;128:1525-34.

209. Kojima M, Ozawa N, Mori Y, Takahashi Y, Watanabe-Kominato K, Shirai R, i sur. Catestatin Prevents Macrophage-Driven Atherosclerosis but Not Arterial Injury-Induced Neointimal Hyperplasia. Thromb Haemost. 2018;118:182-94.

210. Gayen JR, Saberi M, Schenk S, Biswas N, Vaingankar SM, Cheung WW, i sur. A novel pathway of insulin sensitivity in chromogranin A null mice: a crucial role for pancreastatin in glucose homeostasis. J Biol Chem. 2009;284:28498-509.

211. O'Connor DT, Deftos LJ. Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms. N Engl J Med. 1986;314:1145-51.

212. Gregorc V, Spreafico A, Floriani I, Colombo B, Ludovini V, Pistola L, i sur. Prognostic value of circulating chromogranin A and soluble tumor necrosis factor receptors in advanced nonsmall cell lung cancer. Cancer. 2007;110:845-53.

213. Røsjø H, Masson S, Latini R, Flyvbjerg A, Milani V, La Rovere MT, i sur. Prognostic value of chromogranin A in chronic heart failure: data from the GISSI-Heart Failure trial. Eur J Heart Fail. 2010;12:549-56.

214. Tramonti G, Ferdeghini M, Annichiarico C, Norpoth M, Donadio C, Bianchi R, i sur. Relationship between renal function and blood level of chromogranin A. Ren Fail. 2001;23:449-57.

215. Giampaolo B, Angelica M, Antonio S. Chromogranin 'A' in normal subjects, essential hypertensives and adrenalectomized patients. Clin Endocrinol (Oxf). 2002;57:41-50.

216. Capellino S, Lowin T, Angele P, Falk W, Grifka J, Straub RH. Increased chromogranin A levels indicate sympathetic hyperactivity in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2008;35:91-9.

217. Di Comite G, Previtali P, Rossi CM, Dell'Antonio G, Rovere-Querini P, Praderio L, i sur. High blood levels of chromogranin A in giant cell arteritis identify patients refractory to corticosteroid treatment. Ann Rheum Dis. 2009;68:293-5.
218. Zissimopoulos A, Vradelis S, Konialis M, Chadolias D, Bampali A, Constantinidis T, i sur. Chromogranin A as a biomarker of disease activity and biologic therapy in inflammatory bowel disease: a prospective observational study. Scand J Gastroenterol. 2014;49:942-9.
219. Corti A, Marcucci F, Bachetti T. Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers. Pflugers Arch. 2018;470:199-210.
220. Mahata SK, Mahata M, Fung MM, O'Connor DT. Catestatin: a multifunctional peptide from chromogranin A. Regul Pept. 2010;162:33-43.
221. Gaede AH, Pilowsky PM. Catestatin, a chromogranin A-derived peptide, is sympathoinhibitory and attenuates sympathetic barosensitivity and the chemoreflex in rat CVLM. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2012;302:365-72.
222. Mahapatra NR, Mahata M, Mahata SK, O'Connor DT. The chromogranin A fragment catestatin: specificity, potency and mechanism to inhibit exocytotic secretion of multiple catecholamine storage vesicle co-transmitters. J Hypertens. 2006;24:895-904.
223. Angelone T, Quintieri AM, Brar BK, Limchaiyawat PT, Tota B, Mahata SK, i sur. The antihypertensive chromogranin a peptide catestatin acts as a novel endocrine/paracrine modulator of cardiac inotropism and lusitropism. Endocrinology. 2008;149:4780-93.
224. Mahapatra NR, O'Connor DT, Vaingankar SM, Hikim AP, Mahata M, Ray S, i sur. Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog. J Clin Invest. 2005;115:1942-52.
225. Borovac JA, Glavas D, Susilovic Grabovac Z, Supe Domic D, D'Amario D, Bozic J. Catestatin in Acutely Decompensated Heart Failure Patients: Insights from the CATSTAT-HF Study. J Clin Med. 2019;8:1132.
226. Ying W, Tang K, Avolio E, Schilling JM, Pasqua T, Liu MA, i sur. Immunosuppression of Macrophages Underlies the Cardioprotective Effects of CST (Catestatin). Hypertension. 2021;77:1670-82.
227. Mahapatra NR. Catestatin is a novel endogenous peptide that regulates cardiac function and blood pressure. Cardiovasc Res. 2008;80:330-8.
228. Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M, i sur. Catestatin as a Biomarker of Cardiovascular Diseases: A Clinical Perspective. Biomedicines. 2021;9:1757.

229. Mahata SK, Kiranmayi M, Mahapatra NR. Catestatin: A Master Regulator of Cardiovascular Functions. Curr Med Chem. 2018;25:1352-74.
230. Krüger PG, Mahata SK, Helle KB. Catestatin (CgA344-364) stimulates rat mast cell release of histamine in a manner comparable to mastoparan and other cationic charged neuropeptides. Regul Pept. 2003;114:29-35.
231. Kiranmayi M, Chirasani VR, Allu PK, Subramanian L, Martelli EE, Sahu BS, i sur. Catestatin Gly364Ser Variant Alters Systemic Blood Pressure and the Risk for Hypertension in Human Populations via Endothelial Nitric Oxide Pathway. Hypertension. 2016;68:334-47.
232. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Ramella R, Mahata SK, Tota B, i sur. A novel catestatin-induced antiadrenergic mechanism triggered by the endothelial PI3K-eNOS pathway in the myocardium. Cardiovasc Res. 2011;91:617-24.
233. Rao F, Wen G, Gayen JR, Das M, Vaingankar SM, Rana BK, i sur. Catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (chromogranin A(352-372)): naturally occurring amino acid variant Gly364Ser causes profound changes in human autonomic activity and alters risk for hypertension. Circulation. 2007;115:2271-81.
234. Wolf MP, Hunziker P. Atherosclerosis: Insights into Vascular Pathobiology and Outlook to Novel Treatments. J Cardiovasc Transl Res. 2020;13:744-57.
235. Watanabe T. The Emerging Roles of Chromogranins and Derived Polypeptides in Atherosclerosis, Diabetes, and Coronary Heart Disease. Int J Mol Sci. 2021;22:6118.
236. Theurl M, Schgoer W, Albrecht K, Jeschke J, Egger M, Beer AG, i sur. The neuropeptide catestatin acts as a novel angiogenic cytokine via a basic fibroblast growth factor-dependent mechanism. Circ Res. 2010;107:1326-35.
237. Kong DH, Kim YK, Kim MR, Jang JH, Lee S. Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. Int J Mol Sci. 2018;19:1057.
238. Rabbi MF, Eissa N, Munyaka PM, Kermarrec L, Elgazzar O, Khafipour E, i sur. Reactivation of Intestinal Inflammation Is Suppressed by Catestatin in a Murine Model of Colitis via M1 Macrophages and Not the Gut Microbiota. Front Immunol. 2017;8:985.
239. Rabbi MF, Labis B, Metz-Boutigue MH, Bernstein CN, Ghia JE. Catestatin decreases macrophage function in two mouse models of experimental colitis. Biochem Pharmacol. 2014;89:386-98.

240. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. Trends Immunol. 2002;23:549-55.

241. Egger M, Beer AG, Theurl M, Schgoer W, Hotter B, Tatarczyk T, i sur. Monocyte migration: a novel effect and signaling pathways of catestatin. Eur J Pharmacol. 2008;598:104-11.

242. Ying W, Mahata S, Bandyopadhyay GK, Zhou Z, Wollam J, Vu J, i sur. Catestatin Inhibits Obesity-Induced Macrophage Infiltration and Inflammation in the Liver and Suppresses Hepatic Glucose Production, Leading to Improved Insulin Sensitivity. Diabetes. 2018;67:841-8.

243. Durakoğlugil ME, Ayaz T, Kocaman SA, Kırbaş A, Durakoğlugil T, Erdoğan T, i sur. The relationship of plasma catestatin concentrations with metabolic and vascular parameters in untreated hypertensive patients: Influence on high-density lipoprotein cholesterol. Anatol J Cardiol. 2015;15:577-85.

244. Bandyopadhyay G, Tang K, Webster NJG, van den Bogaart G, Mahata SK. Catestatin induces glycogenesis by stimulating the phosphoinositide 3-kinase-AKT pathway. Acta Physiol (Oxf). 2022;235:e13775.

245. Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwara N, Saito H, Ikeda S, i sur. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. Immunology. 2011;132:527-39.

246. Muntjewerff EM, Dunkel G, Nicolasen MJT, Mahata SK, van den Bogaart G. Catestatin as a Target for Treatment of Inflammatory Diseases. Front Immunol. 2018;9:2199.

247. Deng Z, Xu C. Role of the neuroendocrine antimicrobial peptide catestatin in innate immunity and pain. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2017;49:967-72.

248. Borovac JA, Dogas Z, Supe-Domic D, Galic T, Bozic J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. Sleep Breath. 2019;23:473-81.

249. Simunovic M, Supe-Domic D, Karin Z, Degoricija M, Paradzik M, Bozic J, i sur. Serum catestatin concentrations are decreased in obese children and adolescents. Pediatr Diabetes. 2019;20:549-55.

250. Li Y, Zhou L, Li Y, Zhang J, Guo B, Meng G, i sur. Identification of autoreactive CD8+ T cell responses targeting chromogranin A in humanized NOD mice and type 1 diabetes patients. Clin Immunol. 2015;159:63-71.
251. Kogawa EM, Grisi DC, Falcão DP, Amorim IA, Rezende TM, da Silva IC, i sur. Salivary function impairment in type 2 Diabetes patients associated with concentration and genetic polymorphisms of chromogranin A. Clin Oral Investig. 2016;20:2083-95.
252. Luketin M, Mizdrak M, Boric-Skaro D, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, i sur. Plasma Catestatin Levels and Advanced Glycation End Products in Patients on Hemodialysis. Biomolecules. 2021;11:456.
253. 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 Disease. J Clin Med. 2020;9:628.
254. di Comite G, Marinosci A, Di Matteo P, Manfredi A, Rovere-Querini P, Baldissera E, i sur. Neuroendocrine modulation induced by selective blockade of TNF-alpha in rheumatoid arthritis. Ann N Y Acad Sci. 2006;1069:428-37.
255. Di Comite G, Rossi CM, Marinosci A, Lolmede K, Baldissera E, Aiello P, i sur. Circulating chromogranin A reveals extra-articular involvement in patients with rheumatoid arthritis and curbs TNF-alpha-elicited endothelial activation. J Leukoc Biol. 2009;85:81-7.
256. 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.
257. Kumar KG, Trevaskis JL, Lam DD, Sutton GM, Koza RA, Chouljenko VN, i sur. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. Cell Metab. 2008;8:468-81.
258. 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.
259. Butler AA, Tam CS, Stanhope KL, Wolfe BM, Ali MR, O'Keeffe M, i sur. Low circulating adropin concentrations with obesity and aging correlate with risk factors for metabolic disease and increase after gastric bypass surgery in humans. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97:3783-91.

260. Yosaee S, Khodadost M, Esteghamati A, Speakman JR, Shidfar F, Nazari MN, i sur. Metabolic Syndrome Patients Have Lower Levels of Adropin When Compared With Healthy Overweight/Obese and Lean Subjects. Am J Mens Health. 2017;11:426-34.
261. 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.
262. Ghoshal S, Stevens JR, Billon C, Girardet C, Sitaula S, Leon AS, i sur. Adropin: An endocrine link between the biological clock and cholesterol homeostasis. Mol Metab. 2018;8:51-64.
263. Jasaszwili M, Pruszyńska-Oszmałek E, Wojciechowicz T, Strowski MZ, Nowak KW, Skrzypski M. Adropin Slightly Modulates Lipolysis, Lipogenesis and Expression of Adipokines but Not Glucose Uptake in Rodent Adipocytes. Genes (Basel). 2021;12:914.
264. 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.
265. Stein LM, Yosten GL, 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.
266. Rao A, Herr DR. G protein-coupled receptor GPR19 regulates E-cadherin expression and invasion of breast cancer cells. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 2017;1864:1318-27.
267. Thapa D, Stoner MW, Zhang M, Xie B, Manning JR, Guimaraes D, i sur. Adropin regulates pyruvate dehydrogenase in cardiac cells via a novel GPCR-MAPK-PDK4 signaling pathway. Redox Biol. 2018;18:25-32.
268. Foster SR, Hauser AS, Vedel L, Strachan RT, Huang XP, Gavin AC, i sur. Discovery of Human Signaling Systems: Pairing Peptides to G Protein-Coupled Receptors. Cell. 2019;179:895-908.
269. Wong CM, Wang Y, Lee JT, Huang Z, Wu D, Xu A, i sur. Adropin is a brain membrane-bound protein regulating physical activity via the NB-3/Notch signaling pathway in mice. J Biol Chem. 2014;289:25976-86.
270. Yang C, DeMars KM, Candelario-Jalil E. Age-Dependent Decrease in Adropin is Associated with Reduced Levels of Endothelial Nitric Oxide Synthase and Increased Oxidative Stress in the Rat Brain. Aging Dis. 2018;9:322-30.

271. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. Endocrinology. 2003;144:3765-73.
272. Sharma AM, Staels B. Review: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and adipose tissue--understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92:386-95.
273. Akcılar 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.
274. 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;2020:3947806.
275. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, i sur. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. Nat Med. 2009;15:930-9.
276. Gao S, McMillan RP, Jacas J, Zhu Q, Li X, Kumar GK, i sur. Regulation of substrate oxidation preferences in muscle by the peptide hormone adropin. Diabetes. 2014;63:3242-52.
277. Chen S, Zeng K, Liu QC, Guo Z, Zhang S, Chen XR, i sur. Adropin deficiency worsens HFD-induced metabolic defects. Cell Death Dis. 2017;8:e3008.
278. Polkowska A, Pasierowska IE, Pasławska M, Pawluczuk E, Bossowski A. Assessment of Serum Concentrations of Adropin, Afamin, and Neudesin in Children with Type 1 Diabetes. Biomed Res Int. 2019;2019:6128410.
279. Li S, Sun J, Hu W, Liu Y, Lin D, Duan H, i sur. The association of serum and vitreous adropin concentrations with diabetic retinopathy. Ann Clin Biochem. 2019;56:253-8.
280. Hu W, Chen L. Association of Serum Adropin Concentrations with Diabetic Nephropathy. Mediators Inflamm. 2016;2016:6038261.
281. Beigi A, Shirzad N, Nikpour F, Nasli Esfahani E, Emamgholipour S, Bandarian F. Association between serum adropin levels and gestational diabetes mellitus; a case-control study. Gynecol Endocrinol. 2015;31:939-41.
282. Hosseini A, Shanaki M, Emamgholipour S, Nakhjavani M, Razi F, Golmohammadi T. Elevated serum levels of adropin in patients with type 2 diabetes mellitus and its association with insulin resistance. J. Biol. Today's World. 2016;5:44–9.

283. Topuz M, Celik A, Aslantas T, Demir AK, Aydin S, Aydin S. Plasma adropin levels predict endothelial dysfunction like flow-mediated dilatation in patients with type 2 diabetes mellitus. J Investig Med. 2013;61:1161-4.
284. Tičinović Kurir T, Miličević T, Novak A, Vilović M, Božić J. Adropin—potential link in cardiovascular protection for obese male type 2 diabetes mellitus patients treated with liraglutide. Acta Clin Croat. 2020;59:344-50.
285. 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.
286. 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.
287. Demircelik B, Cakmak M, Nazli Y, Gurel OM, Akkaya N, Cetin M, i sur. Adropin: a new marker for predicting late saphenous vein graft disease after coronary artery bypass grafting. Clin Invest Med. 2014;37:338-44.
288. Gu X, Li H, Zhu X, Gu H, Chen J, Wang L, i sur. Inverse Correlation Between Plasma Adropin and ET-1 Levels in Essential Hypertension: A Cross-Sectional Study. Medicine (Baltimore). 2015;94:e1712.
289. Çelik HT, Akkaya N, Erdamar H, Gok S, Kazanci F, Demircelik B, i sur. The Effects of Valsartan and Amlodipine on the Levels of Irisin, Adropin, and Perilipin. Clin Lab. 2015;61:1889-95.
290. Sayın O, Tokgöz Y, Arslan N. Investigation of adropin and leptin levels in pediatric obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. J Pediatr Endocrinol Metab. 2014;27:479-84.
291. Gao F, Fang J, Chen F, Wang C, Chen S, Zhang S, i sur. Enho Mutations Causing Low Adropin: A Possible Pathomechanism of MPO-ANCA Associated Lung Injury. EBioMedicine. 2016;9:324-35.
292. Yolbas S, Kara M, Kalayci M, Yildirim A, Gundogdu B, Aydin S, i sur. ENHO gene expression and serum adropin level in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Adv Clin Exp Med. 2018;27:1637-41.
293. Yolbas S, Kara M, Yilmaz M, Aydin S, Koca SS. Serum adropin level and ENHO gene expression in systemic sclerosis. Clin Rheumatol. 2016;35:1535-40.
294. Gundogdu G, Gundogdu K. A novel biomarker in patients with knee osteoarthritis: adropin. Clin Rheumatol. 2018;37:2179-86.

295. Danolić MJ, Perković D, Petrić M, Barišić I, Gugo K, Božić J. Adropin Serum Levels in Patients with Primary Sjögren's Syndrome. Biomolecules. 2021;11:1296.
296. 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.
297. 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.
298. Mastronuzzi T, Grattagliano I. Nutrition as a Health Determinant in Elderly Patients. Curr Med Chem. 2019;26:3652-61.
299. Philippou E, Petersson SD, Rodomar C, Nikiphorou E. Rheumatoid arthritis and dietary interventions: systematic review of clinical trials. Nutr Rev. 2021;79:410-28.
300. Philippou E, Nikiphorou E. Are we really what we eat? Nutrition and its role in the onset of rheumatoid arthritis. Autoimmun Rev. 2018;17:1074-7.
301. Daien C, Czernichow S, Letarouilly JG, Nguyen Y, Sanchez P, Sigaux J, i sur. Dietary recommendations of the French Society for Rheumatology for patients with chronic inflammatory rheumatic diseases. Joint Bone Spine. 2022;89:105319.
302. Raad T, George E, Griffin A, Larkin L, Fraser A, Kennedy N, i sur. A randomised controlled trial of a Mediterranean Dietary Intervention for Adults with Rheumatoid Arthritis (MEDRA): Study protocol. Contemp Clin Trials Commun. 2022;28:100919.
303. Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, i sur. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. Br J Nutr. 2013;109:1-34.
304. He J, Wang Y, Feng M, Zhang X, Jin YB, Li X, i sur. Dietary intake and risk of rheumatoid arthritis-a cross section multicenter study. Clin Rheumatol. 2016;35:2901-08.
305. Di Giuseppe D, Wallin A, Bottai M, Askling J, Wolk A. Long-term intake of dietary long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and risk of rheumatoid arthritis: a prospective cohort study of women. Ann Rheum Dis. 2014;73:1949-53.
306. Pedersen M, Stripp C, Klarlund M, Olsen SF, Tjønneland AM, Frisch M. Diet and risk of rheumatoid arthritis in a prospective cohort. J Rheumatol. 2005;32:1249-52.

307. Rosell M, Wesley AM, Rydin K, Klareskog L, Alfredsson L; EIRA study group. Dietary fish and fish oil and the risk of rheumatoid arthritis. Epidemiology. 2009;20:896-901.

308. Chandrashekara S, Patted A. Role of vitamin D supplementation in improving disease activity in rheumatoid arthritis: An exploratory study. Int J Rheum Dis. 2017;20:825-31.

309. Salgado E, Bes-Rastrollo M, de Irala J, Carmona L, Gómez-Reino JJ. High Sodium Intake Is Associated With Self-Reported Rheumatoid Arthritis: A Cross Sectional and Case Control Analysis Within the SUN Cohort. Medicine (Baltimore). 2015;94:e0924.

310. Trichopoulou A, Martínez-González MA, Tong TY, Forouhi NG, Khandelwal S, Prabhakaran D, i sur. Definitions and potential health benefits of the Mediterranean diet: views from experts around the world. BMC Med. 201424;12:112.

311. Dinu M, Pagliai G, Casini A, Sofi F. Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. Eur J Clin Nutr. 2018;72:30-43.

312. Clement-Carbonell V, Ferrer-Cascales R, Zaragoza-Martí A, Ruiz-Robledillo N, Fernández-Alcántara M, Cabañero-Martínez MJ. Effects of lifestyles and the Mediterranean diet on elderly people's quality of life according to gender. Psych. Stud. 2018;39:225–47.

313. Ferrer-Cascales R, Albaladejo-Blázquez N, Ruiz-Robledillo N, Rubio-Aparicio M, Laguna-Pérez A, Zaragoza-Martí A. Low Adherence to the Mediterranean Diet in Isolated Adolescents: The Mediation Effects of Stress. Nutrients. 2018;10:1894.

314. Gioia C, Lucchino B, Tarsitano MG, Iannuccelli C, Di Franco M. Dietary Habits and Nutrition in Rheumatoid Arthritis: Can Diet Influence Disease Development and Clinical Manifestations? Nutrients. 2020;12:1456.

315. Forsyth C, Kouvari M, D'Cunha NM, Georgousopoulou EN, Panagiotakos DB, Mellor DD, i sur. The effects of the Mediterranean diet on rheumatoid arthritis prevention and treatment: a systematic review of human prospective studies. Rheumatol Int. 2018;38:737-47.

316. Johansson K, Askling J, Alfredsson L, Di Giuseppe D; EIRA study group. Mediterranean diet and risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. Arthritis Res Ther. 2018;20:175.

317. McKellar G, Morrison E, McEntegart A, Hampson R, Tierney A, Mackle G, i sur. A pilot study of a Mediterranean-type diet intervention in female patients with

rheumatoid arthritis living in areas of social deprivation in Glasgow. Ann Rheum Dis. 2007;66:1239-43.

318. Sköldstam L, Hagfors L, Johansson G. An experimental study of a Mediterranean diet intervention for patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2003;62:208-14.

319. Hu Y, Costenbader KH, Gao X, Hu FB, Karlson EW, Lu B. Mediterranean diet and incidence of rheumatoid arthritis in women. Arthritis Care Res (Hoboken). 2015;67:597-606.

320. Sundström B, Johansson I, Rantapää-Dahlqvist S. Diet and alcohol as risk factors for rheumatoid arthritis: a nested case-control study. Rheumatol Int. 2015;35:533-9.

321. Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Rivas A, Lorenzo-Tovar ML, Tur JA, Olea-Serrano F. Proposal of a Mediterranean Diet Serving Score. PLoS One. 2015;10:e0128594.

322. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, i sur. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. Ann Rheum Dis. 2009;68:954-60.

323. Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. Arthritis Rheum. 1980;23:137-45.

324. Edlinger C, Lichtenauer M, Wernly B, Pistulli R, Paar V, Prodinger C, i sur. Disease-specific characteristics of vascular cell adhesion molecule-1 levels in patients with peripheral artery disease. Heart Vessels. 2019;34:976-83.

325. Salem HR, Zahran ES. Vascular cell adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis patients: Relation to disease activity, oxidative stress, and systemic inflammation. Saudi Med J. 2021;42:620-8.

326. Södergren A, Karp K, Bengtsson C, Möller B, Rantapää-Dahlqvist S, Wållberg-Jonsson S. Biomarkers associated with cardiovascular disease in patients with early rheumatoid arthritis. PLoS One. 2019;14:e0220531.

327. Wang L, Ding Y, Guo X, Zhao Q. Role and mechanism of vascular cell adhesion molecule-1 in the development of rheumatoid arthritis. Exp Ther Med. 2015;10:1229-33.

328. Denys A, Clavel G, Lemeiter D, Schischmanoff O, Boissier MC, Semerano L. Aortic VCAM-1: an early marker of vascular inflammation in collagen-induced arthritis. J Cell Mol Med. 2016;20:855-63.

329. Seta N, Granfors K, Sahly H, Kuipers JG, Song YW, Baeten D, i sur. Expression of host defense scavenger receptors in spondylarthropathy. Arthritis Rheum. 2001;44:931-9.
330. Boric-Skaro D, Mizdrak M, Luketin M, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, i sur. Serum Adropin Levels in Patients on Hemodialysis. Life (Basel). 2021;11:337.
331. Handel ML, McMorrow LB, Gravallese EM. Nuclear factor-kappa B in rheumatoid synovium. Localization of p50 and p65. Arthritis Rheum. 1995 Dec;38(12):1762-70.
332. Mamontova A, Séguret-Macé S, Esposito B, Chaniale C, Bouly M, Delhaye-Bouchaud N, i sur. Severe atherosclerosis and hypoalphalipoproteinemia in the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor RORalpha. Circulation. 1998;98:2738-43.
333. Kopmels B, Mariani J, Delhaye-Bouchaud N, Audibert F, Fradelizi D, Wollman EE. Evidence for a hyperexcitability state of staggerer mutant mice macrophages. J Neurochem. 1992;58:192-9.
334. Delerive P, Monté D, Dubois G, Trottein F, Fruchart-Najib J, Mariani J, i sur. The orphan nuclear receptor ROR alpha is a negative regulator of the inflammatory response. EMBO Rep. 2001;2:42-8.
335. Fatel ECS, Rosa FT, Simão ANC, Dichi I. Adipokines in rheumatoid arthritis. Adv Rheumatol. 2018;58:25.
336. Abella V, Scotece M, Conde J, López V, Lazzaro V, Pino J, i sur. Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. J Immunol Res. 2014;2014:343746.
337. Nezamoleslami S, Ghiasvand R, Feizi A, Salesi M, Pourmasoumi M. The relationship between dietary patterns and rheumatoid arthritis: a case-control study. Nutr Metab (Lond). 2020;17:75.
338. Manzel A, Muller DN, Hafler DA, Erdman SE, Linker RA, Kleinewietfeld M. Role of "Western diet" in inflammatory autoimmune diseases. Curr Allergy Asthma Rep. 2014;14:404.
339. Mitsou EK, Kakali A, Antonopoulou S, Mountzouris KC, Yannakoulia M, Panagiotakos DB, i sur. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. Br J Nutr. 2017;117:1645-55.
340. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Storia A, Laghi L, i sur. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. Gut. 2016;65:1812-21.

341. Ma Y, Hébert JR, Li W, Bertone-Johnson ER, Olendzki B, Pagoto SL, i sur. Association between dietary fiber and markers of systemic inflammation in the Women's Health Initiative Observational Study. Nutrition. 2008;24:941-9.
342. Gwinnutt JM, Wieczorek M, Balanescu A, Bischoff-Ferrari HA, Boonen A, Cavalli G, i sur. 2021 EULAR recommendations regarding lifestyle behaviours and work participation to prevent progression of rheumatic and musculoskeletal diseases. Ann Rheum Dis. 2023;82:48-56.
343. Liu Y, Hazlewood GS, Kaplan GG, Eksteen B, Barnabe C. Impact of Obesity on Remission and Disease Activity in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Arthritis Care Res (Hoboken). 2017;69:157-65.
344. Mancini JG, Filion KB, Atallah R, Eisenberg MJ. Systematic Review of the Mediterranean Diet for Long-Term Weight Loss. Am J Med. 2016;129:407-15.e4.

9. SAŽETAK

Uvod: Katestatin je biokativni peptid uključen u patofiziologiju brojnih upalnih bolesti. Adropin je sekretorni protein koji prvenstveno modulira metaboličku homeostazu i funkciju endotela. Postoji sve više dokaza koji upućuju na povezanost adropina s različitim upalnim stanjima. No, kontrolirani su podatci o njegovoj razini i mogućoj povezanosti s metaboličkim procesima u reumatoidnom artritisu (RA) nedostatni. Unatoč nedvojbenoj uključenosti katestatina u upalne procese nema studija koje su istraživale povezanost njegove razine s RA-om. Poznato je da se mediteranski način prehrane smatra optimalnim za bolesnike s RA-om zbog blagotvornoga učinka na zglobove i kardiometaboličke poremećaje te protuupalnoga učinka.

Ciljevi istraživanja: Ciljevi su ove studije bili utvrditi postoji li razlika u serumskim razinama katestatina i adropina te MDSS zbira u ispitanika s RA-om u odnosu na zdrave ispitanike kontrolne skupine odgovarajuće dobi i spola. Nadalje, istraživana je povezanost serumskih razina katestatina i adropina s pokazateljima kronične upale, aktivnošću i trajanjem RA-a, funkcionalnom onesposobljenošću bolesnika, parametrima metabolizma glukoze te ostalim kliničkim, biokemijskim i laboratorijskim značajkama. Dodatni je cilj nam bio utvrditi povezanost MDSS zbira sa serumskim razinama katestatina i adropina, kao i s aktivnošću RA-a i funkcionalnošću ispitanika s RA-om.

Ispitanici i metode: U ovo presječno istraživanje ukupno je bilo uključeno 160 ispitanika, odnosno 80 ispitanika s RA-om i 80 odgovarajućih ispitanika kontrolne skupine za studiju s katestatinom te 70 bolesnika s RA-om i 70 zdravih ispitanika podudarnih dobnih i spolnih značajki za studiju s adropinom. Bolesnicima uključenim u istraživanje s katestatinom dodatno je bio izračunat MDSS zbir. Svim ispitanicima s RA-om određeni su DAS28 i HAQ zbir. Svim je sudionicima u istraživanju, uz uzimanje anamnestičkih podataka, obavljen i detaljan fizikalni pregled, antropometrijska mjerenja te uzorkovanje krvi za laboratorijsku analizu. Serumske razine katestatina i adropina određene su ELISA metodom, dok su ostali laboratorijski parametri određivani standardnim laboratorijskim procedurama. Istraživanje je provedeno u Zavodu za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju Kliničkog bolničkog centra Split u periodu od 30. listopada 2020. do 30. lipnja 2021. godine.

Rezultati: Serumska razina katestatina bila je značajno viša u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika (10,53 ± 3,90 *vs*. 5,24 ± 2,37 ng/mL, $P < 0,001$). Nadalje, u skupini ispitanika s RA-om utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija između katestatina i dobi ($r = 0,418$, $P < 0,001$) te DAS28 ($r = 0,469$, $P < 0,001$) i HAQ zbira ($r = 0,483$, $P < 0,001$)). Također, pokazana je značajna korelacija između serumske razine katestatina i

trajanja RA-a (r = 0,583, P < 0,001). Multiplom linearnom regresijskom analizom, prilagođenom za zbunjujuće varijable (dob, spol, ITM i HAQ zbroj), pokazano je da je razina katestatina zadržala statistički značajnu i pozitivnu korelaciju s trajanjem RA-a (β ± SE, 0,13 ± 0,04, P = 0,002) i DAS28 zbirom (0,94 ± 0,45, P = 0,039), sa serumskom razinom katestatina kao ovisnom varijablom. Serumska razina adropina bila je značajno niža u bolesnika s RA-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika (2,85 ± 0,91 *vs*. 4,02 ± 0,99 ng/mL, P < 0,001). U skupini bolesnika s RA-om, serumske razine adropina bile su u značajnoj negativnoj korelaciji s ukupnim kolesterolom (r = -0,172, P = 0,043), HbA1c (r = -0,406, P < 0,001), glukozom natašte (r = -0,377, P < 0,001) i HOMA-IR (r = -0,315, P = 0,008). Multipla linearna regresijska analiza, nakon prilagodbe zbunjujućih čimbenika, pokazala je da su serumske razine adropina zadržale značajnu povezanost s razinama glukoze natašte (β ± SE, -0,450 ± 0,140, P = 0,002) i vrijednošću HbA1c (-0,528 ± 0,223, P = 0,021). Nije pronađena statistički značajna razlika između ukupnoga MDSS zbira između 80 bolesnika s RA-om i kontrolne skupine ispitanika (7,57 ± 4,11 *vs*. 7,29 ± 3,61, P = 0,661). Također, u skupini bolesnika s RA-om nije utvrđena značajna korelacija MDSS zbira sa serumskim razinama katestatina (r = -0,059, P = 0, 621) i adropina (r = 0,012, P = 0,917), kao ni s DAS28 (r = 0,031, P = 0,993) i HAQ zbrojem (r = 0,222, P = 0,062).

Zaključak: Rezultati dobiveni ovim istraživanjima impliciraju moguću povezanost katestatina sa složenom patofiziologijom RA-a i aktivnošću bolesti te potencijalni utjecaj adropina na metaboličku homeostazu u RA-u. Nadalje, pokazano je kako nepridržavanje mediteranske prehrane može imati negativan sveukupni učinak na aktivnost RA-a, funkcionalnost bolesnika, ali i smanjenu kvalitetu života. Za konačnu evaluaciju i integraciju dobivenih rezultata potrebne su daljnje veće multicentrične longitudinalne studije praćenja.

10. SUMMARY

Background: Catestatin (CST) is an important peptide that influences various inflammatory diseases. Adropin is a secretory protein that mainly modulates metabolic homeostasis and endothelial function. There is growing evidence supporting association of adropin with various inflammatory diseases. However, controlled data of possible connection among serum adropin levels and metabolic processes in rheumatoid arthritis (RA) are insufficient. Regardless the incontestable involvement of CST in inflammatory disorders, there have been no published studies that explored the association of serum CST levels with RA. The Mediterranean diet (MD) is considered optimal for patients with RA due to its beneficial effect on joints and cardiometabolic disorders and anti-inflammatory effect.

Aims of the study: The aims of this study were to determine difference in serum CST and adropin levels, as well as difference in MDSS score between patients with RA and healthy control subjects matched by age and sex. Furthermore, we assessed the relationship between serum CST and adropin levels and chronic inflammation, duration and activity of RA, functional disability of patients with RA and parameters of glucose metabolism, as well as other clinical, biochemical and anthropometric parameters. An additional goal was to determine the association of the MDSS score with CST and adropin levels and RA activity and functionality of RA patients.

Participants and Methods: A total of 160 subjects were included in this cross-sectional study. Study of serum CST levels was conducted on 80 patients with RA and 80 healthy control subjects matched by age and sex. 70 RA patients and 70 healthy controls, matched by age and sex, were included in the study of serum adropin levels. Additionally, the MDSS score was determined to participants involved in the study of serum CST levels. Measurement of disease activity, using DAS28 and functional disability, using HAQ, were measured only in the patient group. Detailed medical history, a physical examination, anthropometric measurements and laboratory analysis of all the participants were obtained and performed. Serum CST and adropin levels were determined by ELISA, while other biochemical analyses were performed using standard laboratory procedures. The study was conducted at the Department of Rheumatology, Allergology and Clinical Immunology, University Hospital of Split, over a period from October 30, 2020 to June 30, 2021.

Results: Serum CST levels were significantly higher in RA patients than in the control group (10.53 ± 3.90 *vs*. 5.24 ± 2.37 ng/mL, $P < 0.001$). In RA patients, there was a statistically

significant correlation between CST and patient age (r = 0.418, $P < 0.001$) and both DAS28 (r = 0.469, $P < 0.001$) and HAQ scores (r = 0.483, $P < 0.001$). There was a statistically significant correlation between serum CST levels and RA duration (r = 0.583, $P < 0.001$). Multiple linear regression analysis showed that serum CST levels retained a significant association with RA duration (β ± SE, 0.13 ± 0.04, $P = 0.002$) and DAS28 score (0.94 ± 0.45, $P = 0.039$) after model adjustment for age, body mass index (BMI) and HAQ score, with serum CST levels as a dependent variable. Serum adropin levels were significantly lower in RA patients than in the control group (2.85 ± 0,91 *vs*. 4.02 ± 0.99 ng/mL, $P < 0.001$). In the RA group, serum adropin levels had a significant negative correlation with total cholesterol (r = -0.172, $P = 0.043$), HbA1c (r = -0.406, $P < 0.001$), fasting glucose (r = -0.377, $P < 0.001$) and HOMA-IR (r = -0.315, $P = 0.008$). Multiple linear regression analysis showed that serum adropin levels retained a significant association with levels of fasting glucose (β ± SE, -0.450 ± 0.140, $P = 0.002$) and HbA1c (-0.528 ± 0.223, $P = 0.021$) after model adjustments. There were no statistically significant difference in MDSS score between the RA group and the control group (7.57 ± 4.11 *vs*.7.29 ± 3.61, $P = 0.661$). We did not find a significant correlation of MDSS score with serum CST (r = -0.059, $P = 0.621$) and adropin levels (r = 0.012, $P = 0.917$) and neither with DAS28 (r = 0.031, $P = 0.993$) and HAQ score (r = 0.222, $P = 0.062$).

Conclusions: These findings imply that CST is possibly associated with RA complex pathophysiology and disease activity, while adropin could have an impact on metabolic homeostasis in RA. Furthermore, it was shown that non-adherence to the MD can have a negative overall impact on RA activity, patient functionality, and reduced quality of life. Future larger multicentric longitudinal follow-up studies are necessary in order to establish and integrate our results.

11. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODATCI:

Ime i prezime: Petra Šimac

Datum i mjesto rođenja: 8. prosinca 1988. godine, Split, Hrvatska

Adresa stanovanja: Put Firula 47, 21 000 Split, Hrvatska

Nacionalnost: Hrvatica

Kontakt: +385 99 621 5 222

E-adresa: petra_simac@hotmail.com

RADNO ISKUSTVO

06. travnja 2022. godine - danas specijalistica Reumatologije, Zavod za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Split

od 25. travnja 2016. do 05. travnja 2022. godine specijalizantica Reumatologije pri Zavodu za reumatologiju, alergologiju i kliničku imunologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Split

od 17. lipnja 2014. do 25. travnja 2016. godine liječnica u Timu 1 Zavoda za hitnu medicinu S-D županije, Ispostava Vrgorac

od 18. studenoga 2013. do 17. travnja 2013. godine: Pripravnički staž u Splitu, pripravnik Zavoda za hitnu medicinsku pomoć Splitsko-dalmatinske županije

od 01. listopada 2013. do 18. studenoga 2013. godine: volonterski rad pri Katedri za medicinsku mikrobiologiju i parazitologiju (demonstrator na vježbama)

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:

2016. godine - danas studentica Doktorskog studija - Klinička medicina utemeljena na dokazima

29. travnja 2014. godine: položila državni ispit

15. srpnja 2013. godine: diplomirala na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu na temu: „Bodovni sustav Pedijatrijski indeks smrtnosti u bolesnika liječenih u Jedinici intenzivnog liječenja djece: presječna studija“ pod mentorstvom prof. dr. sc. Julija Meštrovića, dr. med.

2007. - 2013. godine: redovita studentica Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij Medicina, smjer doktor medicine

2003. - 2007. godine: učenica Prve gimnazije Split

1995. - 2003. godine: učenica Osnovne škole „Pojišan“

NASTAVNA AKTIVNOST

2018. godine - Vanjska suradnica pri Katedri za kliničke vještone, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

STRANI JEZICI

Engleski jezik (napredno, B2 razina), talijanski jezik (osnovno, B1 razina)

POZNAVANJE RAČUNALA

dobro poznavanje svih potrebnih programa i aplikacija

EDUKACIJE I POSEBNA POSTIGNUĆA

9. ožujka 2023. finalist „*International Medis Awards for Medical Research in the field of Rheumatology*“

30. rujna 2017. godine položen 4. tečaj Ultrazvuka mišićno-koštanog sustava, osnovna razina (*4th MUSCULOSKELETAL SONOGRAPHY COURSE FOR RHEUMATOLOGISTS - BASIC LEVEL*) u organizaciji Europskog udruženja za reumatologiju (*The European Alliance of Associations for Rheumatology*, EULAR)

23. studenoga 2014. godine položen tečaj naprednog održavanja života (ALS) - Certifikat ERC

PROFESIONALNA ČLANSTVA

2017. godine - danas članica Europske sekcije mladih reumatologa (*The European Alliance of Associations for Rheumatology*, *EULAR - Emeunet*)

2017. godine - danas članica Upravnog odbora Sekcije mladih reumatologa Hrvatskog reumatološkog društva (HRD)

2016. godine - danas članica Hrvatskog reumatološkog društva (HRD)

2016. godine - danas članica Hrvatskog liječničkog zbora (HLZ)

2016. godine - danas članica Hrvatske liječničke komore (HLK)

PUBLIKACIJE

1. Kokic V, Kokic S, Krnic M, Petric M, Liberati AM, **Simac P,** i sur. Prediabetes awareness among Southeastern European physicians. J Diabetes Investig. 2017;9:544–8.

2. Marasović Krstulović D, **Šimac P**. Komorbiditeti u psorijatičnom artritisu. Reumatizam. 2017;64:37–42.

3. Simeon G, Perković D, Laktašić Žerjavić N, Glasnović M, Grubisic F, Gudelj Gračanin A, Kolak Ž, Kolar Mitrović H, Morović-Vergles J, Perić P, **Šimac P**, Žagar I, Doko I. AB0423 Changes in disease activity, pain, global health and physical function after switching from oral to subcutaneous methotrexate: results of the six-month observational prospective study in croatia. Ann Rheum Dis. 2019;78:1674.

3. Perkovic D, **Simac P**, Katic J. IgA vasculitis during secukinumab therapy. Clin Rheumatol. 2021;40:2071-3.

4. Markovic D, Lukenda J, Kokic V, **Simac P**, Zivkovic PM, Prkacin I, i sur. A ten-year comparative study of cardiovascular disease publications, health and socioeconomic indicators between European countries. Signa Vitae. 2021;17:95-102.

5. Marasović Krstulović D, **Šimac P**, Perković P, Martinović Kaliterna D. Intestinal vasculitis as a manifestation of different systemic autoimmune diseases treated at the Split University Hospital Centre during a 10-year period. Reumatizam. 2021;68:32-44.

6. **Simac P**, Perkovic D, Bozic I, Bilopavlovic N, Martinovic D, Bozic J. Serum Adropin Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis. Life (Basel). 2022;12:169.

7. **Simac P**, Perkovic D, Bozic I, Matijas M, Gugo K, Martinovic D, i sur. Serum catestatin levels in patients with rheumatoid arthritis. Sci Rep. 2022;12:3812.