SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

KARLA KATIĆ, dr. med.

SERUMSKI BIOMARKERI KAO PREDIKTORI RAZVOJA DIJABETIČNE RETINOPATIJE I TERAPIJSKOG ODGOVORA DIJABETIČNOG MAKULARNOG EDEMA NA INTRAVITREALNU ANTI-VEGF TERAPIJU

Doktorski rad

Split, 2026.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

KARLA KATIĆ, dr. med.

SERUMSKI BIOMARKERI KAO PREDIKTORI RAZVOJA DIJABETIČNE RETINOPATIJE I TERAPIJSKOG ODGOVORA DIJABETIČNOG MAKULARNOG EDEMA NA INTRAVITREALNU ANTI-VEGF TERAPIJU

Doktorski rad

Split, 2026.

Ovaj doktorski rad izrađen je na Klinici za očne bolesti Kliničkog bolničkog centra Split te pri Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split i Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Kajo Bućan, dr. med.

Objavljeni članci iz disertacije:

1. Katić K, Katić J, Kumrić M, Božić J, Tandara L, Šupe Domić D, Bućan K. The Predictors of Early Treatment Effectiveness of Intravitreal Bevacizumab Application in Patients with Diabetic Macular Edema. Diagnostics (Basel). 2024 May 10;14(10):992. doi: 10.3390/diagnostics14100992. (Impact factor 3,3)
2. Katić K, Katić J, Kumrić M, Božić J, Šupe Domić D, Aranza I, Kabić Š, Barun I, Bućan K. Catestatin and Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus. Biomedicines. 2026 Mar 13;14(3):648. doi: 10.3390/biomedicines14030648. (Impact factor 3,9)

ZAHVALA

Izrada ove doktorske disertacije bila je dug i zahtjevan put, koji ne bih mogla uspješno završiti bez podrške, pomoći i ohrabrenja brojnih ljudi.

Od srca zahvaljujem svim pacijentima koji su mi poklonili svoje povjerenje i pristali biti dio ovog istraživanja.

Iskreno zahvaljujem svojem mentoru, prof. dr. sc. Kaji Bućanu, na stručnom vodstvu i dragocjenim savjetima tijekom svih faza istraživanja i pisanja disertacije.

Zahvaljujem svim kolegama koji su svojim znanjem, iskustvom, susretljivošću i nesebičnom pomoći pridonijeli provedbi istraživanja.

Posebno zahvaljujem svojim roditeljima i bratu na ljubavi, razumijevanju i podršci koju su mi pružali tijekom cijelog mog obrazovanja.

Najveće hvala mom Josipu, koji je sa mnom dijelio sve izazove ovoga puta. Tvoja strpljivost, ljubav, požrtvovnost i vjera u mene davali su mi snagu da ustrajem, osobito onda kada je bilo najteže.

Ovu disertaciju s ljubavlju posvećujem svojem suprugu i našim kćerima Niki i Katarini – mojoj najvećoj motivaciji, snazi, radosti i najčvršćem osloncu!

SADRŽAJ

1. UVOD ... 1

1.1. Šećerna bolest tipa 2 ... 2

1.2. Dijabetička retinopatija ... 3

1.2.1. Definicija i epidemiologija dijabetičke retinopatije ... 3

1.2.2. Čimbenici rizika za razvoj i progresiju dijabetičke retinopatije ... 4

1.2.3. Klasifikacija dijabetičke retinopatije ... 7

1.2.4. Patogeneza dijabetičke retinopatije ... 9

1.3. Dijabetički makularni edem ... 13

1.3.1. Definicija i epidemiologija dijabetičkog makularnog edema ... 13

1.3.2. Patogeneza dijabetičkog makularnog edema ... 14

1.3.3. Klasifikacija i dijagnostika dijabetičkog makularnog edema ... 16

1.3.4. Liječenje dijabetičkog makularnog edema ... 20

1.4. Serumski (protu)upalni biomarkeri u patofiziologiji dijabetičke retinopatije ... 23

1.5. Katestatin ... 26

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA ... 28

2.1. Ciljevi i hipoteze istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“ ... 29

2.2. Ciljevi i hipoteze istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“ ... 30

3. ISPITANICI I POSTUPCI ... 31

3.1. Istraživanje „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“ ... 32

3.1.1. Ispitanici ... 32

3.1.2. Postupci ... 33

3.1.3. Statistički postupci ... 37

3.2. Istraživanje „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“ ... 39

3.2.1. Ispitanici ... 39

3.2.2. Postupci ... 40

3.2.3. Statistički postupci ... 44

4. REZULTATI ... 45

4.1. Rezultati istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“ ... 46

4.2. Rezultati istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“ ... 60

5. RASPRAVA 65
5.1. Rasprava istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“ 66
5.2. Rasprava istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“ 70
6. ZAKLJUČAK 72
6.1. Zaključak istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“ 73
6.2. Zaključak istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“ 74
7. SAŽETAK 75
8. LAIČKI SAŽETAK 78
9. SUMMARY 80
10. LAY SUMMARY 82
11. LITERATURA 84
12. ŽIVOTOPIS 101

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACCORD (engl. *Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes study*)

ADA (engl. *American Diabetes Association*) - Američko udruženje za dijabetes

AGEs (engl. *advanced glycation end-products*) - produkti uznapredovale glikacije

AH - arterijska hipertenzija

Ang-1 - angiopoetin-1

Ang-2 - angiopoetin-2

BCVA (engl. *best corrected visual acuity*) - najbolje korigirana vidna oštrina

BMI (engl. *body mass index*) - indeks tjelesne mase

CgA (engl. *chromogranin A*) - kromogranin A

CI-DME (engl. *center-involved diabetic macular edema*) - dijabetički makularni edem koji zahvaća centralni dio makule

CME (engl. *cystoid macular edema*)- cistoidni makularni edem

CMT (engl. *central macular thickness*) - centralna debljina makule

CRP - C-reaktivni peptid

CSME (engl. *clinically significant macular edema*) - klinički signifikantni makularni edem

CST (engl. *catestatin*) - katestatin

DCCT (engl. *Diabetes Control and Complications Trial*)

DME - dijabetički makularni edem

DR - dijabetička retinopatija

DRIL (engl. *disorganization of retinal inner layers*) - dezorganizacija unutrašnjih slojeva mrežnice

eGFR (engl. *estimated glomerular filtration rate)* - procijenjena brzina glomerularne filtracije

ELM (engl. *external limiting membrane*) – vanjska granična membrana

eNOS (engl. *endothelial nitric oxide synthase*) – endotelijalna sintaza dušikovog oksida

ERM (engl. *epiretinal membrane*) - epiretinalna membrana

EZ (engl. *ellipsoid zone*) - elipsoidna zona

ETDRS (engl. *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*)

FIELD (engl. *Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes Study*)

GEE (engl. *generalized estimated equations*)

GLP-1RA (engl. *glucagon-like peptide 1 receptor agonists*) - glukagonu sličan peptid-1 receptor agonisti

GUK - glukoza u krvi

HbA1c - hemoglobin A1c

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

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

IL-1β - interleukin-1β

IRMA (engl. *intraretinal microvascular abnormalities*) - intraretinalne mikrovaskularne abnormalnosti

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

LENS (engl. *Lowering Events in Non-proliferative retinopathy in Scotland Study*)

MLR (engl. *monocyte to lymphocyte ratio*) - omjer monocita i limfocita

MV (engl. *macular volume*) - makularni volumen

NCI- DME (engl. *non-center-involved diabetic macular edema*) - dijabetički makularni edem izvan središnjeg 1 mm promjera makule

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

NLR (engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) - omjer neutrofila i limfocita

NPDR - neproliferativna dijabetička retinopatija

NVD (engl. *neovascularization of the disc*) - neovaskulati diska

NVE (engl. *neovascularization elsewhere*) - neovaskulati na mrežnici

OCT (engl. *optical coherence tomography*) - optička koherentna tomografija

OCTA (engl. *optical coherence tomography angiography*) - optička koherentna tomografija angiografija

PDR - proliferativna dijabetička retinopatija

PKC - protein-kinaza C

PLR (engl. *platelet to lymphocyte ratio*) - omjer trombocita i limfocita

PPV - pars plana vitrektomija

ROS (engl. *reactive oxygen species*) - reaktivni kisikovi spojevi

SE - sedimentacija eritrocita

SII (engl. *systemic immune-inflammation index*) - sistemski imunoupalni indeks

SLDRT (engl. *sponge-like diffuse retinal thickening)* - spužvasto difuzno zadebljanje mrežnice

SRT - subretinalna tekućina

T1DM (engl. *type 1 diabetes mellitus*) - šećerna bolest tipa 1

T2DM (engl. *type 2 diabetes mellitus*) - šećerna bolest tipa 2

TNF-α (engl. *tumor necrosis factor α*) - tumorski faktor nekroze α

UKPDS (engl. *United Kingdom Prospective Diabetes Study*)

VEGF (engl. *vascular endothelial growth factor*) - vaskularni endotelni čimbenik rasta

VLDL (engl. *very low density lipoprotein*) - lipoprotein vrlo niske gustoće

VTDR (engl. *vision-threatening diabetic retinopathy*) - vidno ugrožavajuća dijabetička retinopatija

WESDR (engl. *Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy*)

1. UVOD

1.1. Šećerna bolest tipa 2

Prema Američkom dijabetološkom društvu (engl. *American Diabetes Association*, ADA), šećerna bolest tipa 2 (engl. *type 2 diabetes mellitus*, T2DM) predstavlja heterogen poremećaj metabolizma ugljikohidrata, masti i proteina, obilježen progresivnim neautoimunim gubitkom adekvantne sekrecije inzulina iz β-stanica gušterače, najčešće u podlozi inzulinske rezistencije, što rezultira hiperglikemijom (1). Dijagnoza šećerne bolesti postavlja se na temelju sljedećih biokemijskih kriterija: hemoglobin A1c (HbA1c) ≥6,5%, glukoza u krvi (GUK) natašte ≥7,0 mmol/L, GUK 2 sata nakon oralnog preopterećenja sa 75g glukoze ≥11,1 mmol/L ili nasumična koncentracija GUK ≥11,1 mmol/L u osobe s klasičnim simptomima hiperglikemije ili hiperglikemijskom krizom (1). Patogeneza T2DM je multifaktorijalan proces koji uključuje genetsku predispoziciju, okolišne čimbenike, pretilost, sedentarni način života te kroničnu upalu (1, 2). Zbog rastuće prevalencije i znatnog opterećenja povezanog s komplikacijama T2DM predstavlja važan globalni javnozdravstveni problem (1, 3). Prema podacima istraživačke skupine Non-Communicable Diseases Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) iz 2022. godine približno 828 milijuna odraslih osoba u dobi od 18 ili više godina živjelo je sa šećernom bolešću (3), dok Svjetska zdravstvena organizacija navodi da tip 2 čini više od 95% svih slučajeva šećerne bolesti (4). Među kroničnim posljedicama šećerne bolesti razlikujemo makrovaskularne i mikrovaskularne komplikacije. Zahvaćenost velikih krvnih žila može se očitovati koronarnom i cerebrovaskularnom bolešću te perifernom arterijskom bolešću. Promjene mikrocirkulacije se manifestiraju kao dijabetička retinopatija, nefropatija i neuropatija (1, 5).

1.2. Dijabetička retinopatija

1.2.1. Definicija i epidemiologija dijabetičke retinopatije

Dijabetička retinopatija (DR) je progresivna neurovaskularna bolest mrežnice koja nastaje uslijed kronične hiperglikemije i predstavlja najčešću mikrovaskularnu komplikaciju šećerne bolesti (6). Njezin razvoj uključuje poremećaj retinalne mikrocirkulacije i neurodegenerativne promjene. Vaskularna komponenta bolesti očituje se povećanom propusnošću krvnih žila, kapilarnom neperfuzijom te, u uznapredovalom stadiju, patološkom neovaskularizacijom (6). DR predstavlja važan uzrok oštećenja vida među odraslim osobama radne dobi i po najnovijim studijama predstavlja glavni uzrok sljepoće u populaciji od 20 do 74 godine u zemljama s visokim prihodima (1, 6). U sustavnom pregledu i metaanalizi 59 populacijskih istraživanja globalna prevalencija bilo kojeg oblika DR među osobama sa šećernom bolešću procijenjena je na 22,27%, a prevalencija vidno ugrožavajuće dijabetičke retinopatije (engl. *vision-threatening diabetic retinopathy*, VTDR) na 6,17%. U 2020. godini DR je imalo 103,12 milijuna odraslih osoba, dok se procjenjuje da bi do 2045. godine taj broj mogao porasti na 160,5 milijuna (5). Očekivano povećanje broja oboljelih od DR dodatno će povećati potrebu za dostupnim programima probira i liječenja. Procjenjuje se da približno jedna trećina osoba sa šećernom bolešću razvije neki stupanj DR, dok se VTDR javlja u oko 5–10% bolesnika (7-9). Prevalencija DR u osoba s novodijagnosticiranim T2DM iznosi oko 13% (9). Prevalencija DR snažno ovisi o trajanju bolesti i stupnju metaboličke kontrole, pri čemu se učestalost i težina bolesti značajno povećavaju s duljim trajanjem šećerne bolesti (1, 6, 10).

1.2.2. Čimbenici rizika za razvoj i progresiju dijabetičke retinopatije

Na razvoj i progresiju DR utječu međusobno povezani nepromjenjivi i promjenjivi sistemski čimbenici, pridružene bolesti te pojedine terapijske intervencije. Među nepromjenjivim čimbenicima posebno se ističe trajanje dijabetesa, kao jedan od najvažnijih čimbenika rizika za razvoj DR. Ranija populacijska istraživanja pokazala su da se prevalencija i težina DR povećavaju s duljinom trajanja dijabetesa, neovisno o tome je li dijabetes dijagnosticiran prije ili nakon 30. godine života (10, 11). U suvremenim kohortama bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 (engl. *type 1 diabetes mellitus*, T1DM) zabilježena je manja učestalost težih oblika retinopatije nego u ranijim istraživanjima, što se povezuje s poboljšanom regulacijom glikemije, krvnog tlaka i drugih sistemskih čimbenika (12). Prema podatcima sažetima u aktualnim smjernicama, DR javlja se u približno 25% bolesnika s T1DM nakon pet godina, u oko 60% nakon deset godina i u približno 80% nakon petnaest godina trajanja bolesti (13). Proliferativna dijabetička retinopatija (PDR) može se razviti u do 50% bolesnika s T1DM nakon dvadeset godina, dok je u bolesnika s T2DM nakon najmanje 25 godina trajanja bolesti zabilježena u približno 25% bolesnika (13).

Kronična hiperglikemija je, uz trajanje šećerne bolesti, najvažniji promjenjivi čimbenik rizika za razvoj i progresiju DR (1). Istraživanje Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) pokazalo je da intenzivna regulacija glikemije u bolesnika s T1DM značajno smanjuje rizik nastanka i napredovanja retinopatije (14). Sličan zaštitni učinak bolje glikemijske kontrole u bolesnika s T2DM potvrđen je u istraživanju UKPDS (engl. *United Kingdom Prospective Diabetes Study*) (15). Za odrasle osobe preporučuje se ciljna vrijednost HbA1c manja od 7%, ali cilj treba individualizirati prema dobi, trajanju bolesti, komorbiditetima, riziku hipoglikemije i očekivanom trajanju života (16). Nakon nastanka DR, razina i dugotrajnost izloženosti hiperglikemiji imaju veću prognostičku vrijednost za njezino napredovanje nego samo trajanje dijabetesa (13).

Arterijska hipertenzija također je prepoznata kao rizični čimbenik koji dodatno doprinosi oštećenju retinalne mikrocirkulacije. U istraživanju UKPDS stroža regulacija krvnog tlaka bila je povezana sa smanjenjem rizika progresije DR i gubitka vidne oštrine u bolesnika s T2DM (17). Međutim, rezultati sustavnog pregleda pokazuju da je učinak snižavanja krvnog tlaka uvjerljiviji u prevenciji nastanka DR nego u usporavanju već postojeće bolesti (18). Regulacija krvnog tlaka stoga predstavlja važan dio cjelovitog liječenja bolesnika s T2DM, ali se ne može smatrati samostalnom terapijom DR.

Poremećaji metabolizma lipida također mogu pridonijeti retinalnom oštećenju. Povišene koncentracije ukupnog i LDL (engl. *low density lipoprotein*) kolesterola povezane su s većom učestalošću tvrdih eksudata u retini i povećanim rizikom oštećenja vida (19). U istraživanju FIELD (engl. *Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes Study*), primjena fenofibrata smanjila je potrebu za laserskom fotokoagulacijom zbog DR (20), dok je u istraživanju ACCORD (engl. *Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes study*) kombinacija fenofibrata i simvastatina bila povezana sa smanjenjem progresije DR u bolesnika s T2DM (21). Cochraneov sustavni pregled pokazao je da fenofibrat vjerojatno smanjuje progresiju bolesti u bolesnika s već razvijenom DR, dok su dokazi o njegovu učinku na sprječavanje njezina nastanka manje sigurni (22). U istraživanju LENS (engl. *Lowering Events in Non-proliferative retinopathy in Scotland Study*) fenofibrat je u bolesnika s ranom neproliferativnom DR doveo do relativnog smanjenja rizika progresije retinopatije ili potrebe za njezinim liječenjem za 27% u odnosu na placebo (23).

S razvojem i progresijom DR povezuju se i brojni drugi čimbenici. Trudnoća predstavlja razdoblje povećanog rizika za razvoj i progresiju DR u žena s prethodno postojećom T1DM ili T2DM, dok gestacijski dijabetes sam po sebi nije povezan s povećanim rizikom razvoja DR tijekom trudnoće (1). Rizik progresije osobito je izražen u žena koje prije začeća imaju DR, pri čemu težina retinopatije na početku trudnoće predstavlja jedan od najvažnijih prediktora njezina daljnjeg napredovanja (1). Sustavni pregled prognostičkih istraživanja pokazao je da su uznapredovali početni stupanj DR i prisutnost nefropatije, uz već ranije spomenutu višu vrijednost HbA1c te dulje trajanje šećerne bolesti, povezani s povećanim rizikom razvoja PDR (24). U istraživanju ETDRS (engl. *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*) kao prediktori visokorizičnog PDR i teškoga gubitka vida uz uznapredovali početni stupanj DR, izdvojeni su i slabija vidna oštrina, povišeni HbA1c, neuropatija i niži hematokrit (25). Istražuje se i uloga sistemske upale; više koncentracije visokosenzitivnog C-reaktivnog proteina (CRP) i pojedinih adhezijskih molekula povezane su s nekim retinalnim ishodima, osobito klinički značajnim makularnim edemom i tvrdim eksudatima, ali trenutačno nisu dio rutinske procjene rizika (26).

Posebnu kliničku važnost ima prolazno rano pogoršanje DR nakon naglog poboljšanja glikemijske kontrole. Ovaj je fenomen opisan tijekom intenzivnog liječenja inzulinom, osobito u bolesnika s dugotrajno loše reguliranom šećernom bolešću i već postojećom DR (27, 28). Rano pogoršanje ne umanjuje dugoročnu korist dobre glikemijske kontrole, ali opravdava pravodobni oftalmološki pregled i pažljivije praćenje bolesnika u kojih se očekuje veliko i brzo smanjenje vrijednosti HbA1c. Povećana učestalost pogoršanja DR zabilježena u pojedinim

istraživanjima semaglutida i drugih lijekova iz iste skupine vjerojatno je povezana s veličinom i brzinom smanjenja vrijednosti HbA1c u visokorizičnih bolesnika (29). Metaanaliza i meta-regresija kardiovaskularnih istraživanja agonista receptora glukagonu sličnog peptida 1 (engl. *glucagon-like peptide 1 receptor agonists*, GLP-1RA) su pokazale povezanost između intenziteta smanjenja HbA1c i rizika pogoršanja DR (30). Dostupni rezultati ne dokazuju izravan toksični učinak cijele skupine agonista GLP-1R na mrežnicu, nego naglašavaju potrebu za procjenom početnog stupnja retinopatije i odgovarajućim oftalmološkim praćenjem tijekom intenziviranja liječenja šećerne bolesti.

1.2.3. Klasifikacija dijabetičke retinopatije

U kliničkoj procjeni DR osobito je važna prisutnost patološke neovaskularizacije. Na temelju toga razlikuju se neproliferativna dijabetička retinopatija (NPDR), bez prisutnosti neovaskularizacija, i PDR, obilježena njihovim razvojem (13, 31, 32, 33). NPDR obuhvaća različite stupnjeve oštećenja retinalne mikrocirkulacije. Mikroaneurizme su u pravilu prvi klinički vidljiv znak, dok se s napredovanjem bolesti mogu pojaviti i intraretinalna krvarenja, tvrdi i meki eksudati, promjene kalibra i oblika retinalnih vena te intraretinalne mikrovaskularne abnormalnosti (engl. *intraretinal microvascular abnormalities*, IRMA). Istodobna okluzija kapilara povećava područja retinalne neperfuzije i ishemije. Prema međunarodnoj kliničkoj klasifikaciji razlikuju se blaga, umjerena i teška NPDR (33). Blaga NPDR podrazumijeva prisutnost mikroaneurizmi bez drugih retinalnih lezija. U umjerenom stadiju mikroaneurizmama se pridružuju druge vaskularne promjene (intraretinalne hemoragije i/ili meki eksudati, promjene vena tipa perlanja, IRMA), ali njihov opseg još ne zadovoljava kriterije teške NPDR (13, 33). Teška NPDR određuje se pravilom 4-2-1, uz uvjet da nisu prisutni znakovi proliferativne bolesti. Za postavljanje ove dijagnoze dovoljan je najmanje jedan od sljedećih nalaza: više od 20 intraretinalnih krvarenja u svakom od četiri retinalna kvadranta, izražene promjene vena tipa perlanja (engl. *venous beading*) u najmanje dva kvadranta ili jasno izražene IRMA u najmanje jednom kvadrantu. Ispunjenje kriterija upućuje na uznapredovalu retinalnu ishemiju i povećanu vjerojatnost razvoja PDR (13, 33). Pojava neovaskularizacija na papili vidnog živca (engl. *neovascularization of the disc*, NVD) ili neovaskularizacija na drugim dijelovima mrežnice (engl. *neovascularization elsewhere*, NVE) označava razvoj PDR. Zbog nedovoljno razvijene stijenke neovaskularni kompleksi podložni su propuštanju i krvarenju u preretinalni prostor ili staklovinu. Neovaskularno tkivo može biti praćeno proliferacijom vezivne komponente i nastankom fibrovaskularnih membrana. Njihova kontrakcija stvara trakciju na mrežnicu te u uznapredovalim slučajevima može prouzročiti trakcijsku ablaciju mrežnice i teško oštećenje vida (13, 34).

Sustavni probir predstavlja važnu mjeru sekundarne prevencije, čiji je cilj otkriti retinopatiju prije nastanka nepovratnog oštećenja vida te pravodobno izdvojiti bolesnike kojima je potrebno intenzivnije oftalmološko praćenje ili liječenje. Vrijeme započinjanja probira razlikuje se ovisno o tipu šećerne bolesti. U odraslih osoba s T1DM prvi oftalmološki pregled fundusa u midrijazi preporučuje se pet godina nakon postavljanja dijagnoze (1). Razlog tome je činjenica da je za razvoj klinički prepoznatljive DR nakon početka hiperglikemije u pravilu potrebno nekoliko godina (1). Nasuprot tome, osobe s T2DM trebaju obaviti prvi oftalmološki

pregled fundusa već u vrijeme postavljanja dijagnoze, budući da hiperglikemija može biti prisutna više godina prije kliničkog prepoznavanja bolesti te retinopatija može biti prisutna već pri dijagnozi šećerne bolesti (1). Nakon početnog pregleda učestalost daljnjih kontrola prilagođava se nalazu fundusa, odnosno stupnja DR, i individualnom riziku progresije (Tablica 1).

Tablica 1. Međunarodna klinička klasifikacija dijabetičke retinopatije prema stupnju težine; autorska tablica prilagođena prema literaturi (1, 13, 32, 33).

Stupanj težine DR	**Klinička obilježja**	**Praćenje**
Bez vidljive DR	Nema klinički vidljivih retinalnih promjena	Jednom godišnje
Blaga NPDR	Prisutne samo mikroaneurizme	Jednom godišnje
Umjerena NPDR	Mikroaneurizme, mikrohemoragije, tvrdi i meki eksudati, promjene vena, IRMA	6-12 mjeseci
Teška NPDR	Najmanje jedan kriterij pravila 4-2-1	2-4 mjeseca
PDR	Neovaskularizacija papile ili drugog dijela mrežnice i/ili preretinalno odnosno intravitrealno krvarenje povezano s proliferativnom bolešću	Liječenje započeti odmah, praćenje svakih 1-2 mjeseca

Popis kratica: *DR - dijabetička retinopatija; NPDR - neproliferativna dijabetička retinopatija; PDR - proliferativna dijabetička retinopatija, VTDR (engl. vision threatening diabetic retinopathy) - vidno ugrožavajuća dijabetička retinopatija. Dijabetički makularni edem (DME) može se pojaviti u bilo kojem stupnju DR i procjenjuje se odvojeno.*

1.2.4. Patogeneza dijabetičke retinopatije

Patogeneza DR ne može se objasniti djelovanjem samo jednog metaboličkog ili vaskularnog mehanizma. Bolest se razvija uz ispreplitanje međusobno ovisnih metaboličkih, vaskularnih, upalnih, glijalnih i neuronskih procesa u mrežnici (35, 36). Kronična hiperglikemija predstavlja glavni pokretač tih promjena, ali njihov intenzitet i klinička manifestacija ovise o interakciji brojnih lokalnih i sistemskih čimbenika (35, 36). Zbog istodobnog razvijanja navedenih procesa u mrežnici, DR se u novije vrijeme promatra kao bolest retinalne neurovaskularne jedinice, a ne isključivo kao mikroangiopatija (35, 36). Dugotrajno povećana koncentracija glukoze potiče stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (engl. *reactive oxygen species*, ROS) u retinalnim stanicama, osobito u mitohondrijskom respiracijskom lancu (35, 37). Prekomjerna proizvodnja ROS remeti staničnu homeostazu i potiče aktivaciju nekoliko puteva, uključujući poliolni put, nastanak uznapredovalih produkata glikacije (engl. *advanced glycation end products*, AGEs) i aktivaciju protein-kinaze C (PKC) (37). Navedeni mehanizmi nisu neovisni, nego se međusobno pojačavaju i održavaju metabolički stres čak i nakon prolaznog poboljšanja glikemije (35, 37). U poliolnom putu enzim aldoza reduktaza reducira glukozu u sorbitol uz potrošnju NADPH, nakon čega se sorbitol djelovanjem sorbitol dehidrogenaze pretvara u fruktozu (38). Pojačana aktivnost poliolnog puta mijenja ravnotežu unutarstaničnih kofaktora, smanjuje mogućnost obnavljanja reduciranog glutationa te povećava osjetljivost retinalnih stanica na oksidativno oštećenje (38). Nakupljanje sorbitola i drugih osmotski aktivnih metabolita može dodatno poremetiti staničnu homeostazu, te smanjiti antioksidativni kapacitet stanica, uzrokujući osmotski stres i dodatno ostećenje tkiva (38). AGEs su spojevi koji nastaju nizom neenzimskih reakcija između reducirajućih šećera (glukoza, fruktoza) i amino-skupina proteina, lipida ili nukleinskih kiselina (39). Njihovo nakupljanje mijenja strukturu proteina izvanstaničnog matriksa i može pridonijeti zadebljanju kapilarne bazalne membrane (35, 39). Vezanje AGEs za svoje receptore (engl. *receptor for advanced glycation end-products*, RAGE) aktivira NADPH-oksidazu i transkripcijski čimbenik NF-κB, čime se povećava stvaranje ROS i ekspresija upalnih, adhezijskih i proangiogenih molekula poput međustanične adhezijske molekule 1 (engl. *intercellular adhesion molecule-1*, ICAM-1) i vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) (39). Sustav AGE–RAGE tako povezuje hiperglikemiju s oksidativnim stresom, upalom i postupnim oštećenjem retinalnih stanica (35, 39). Hiperglikemija također povećava stvaranje diacilglicerola, koji aktivira pojedine izoforme protein-kinaze C, među kojima se u dijabetičkim

mikrovaskularnim komplikacijama ističe β izoforma (40). Aktivacija PKC-β povezana je s promjenama retinalnog protoka krvi, endotelnom disfunkcijom, povećanom vaskularnom propusnošću, leukostazom te promijenjenom ekspresijom VEGF i sastavnica izvanstaničnog matriksa (35, 40). Zajednički učinak navedenih metaboličkih puteva dovodi do trajnog oksidativnog opterećenja, poremećaja signalizacije i smanjene sposobnosti retinalnih stanica da odgovore na dodatni metabolički stres (35, 37, 40).

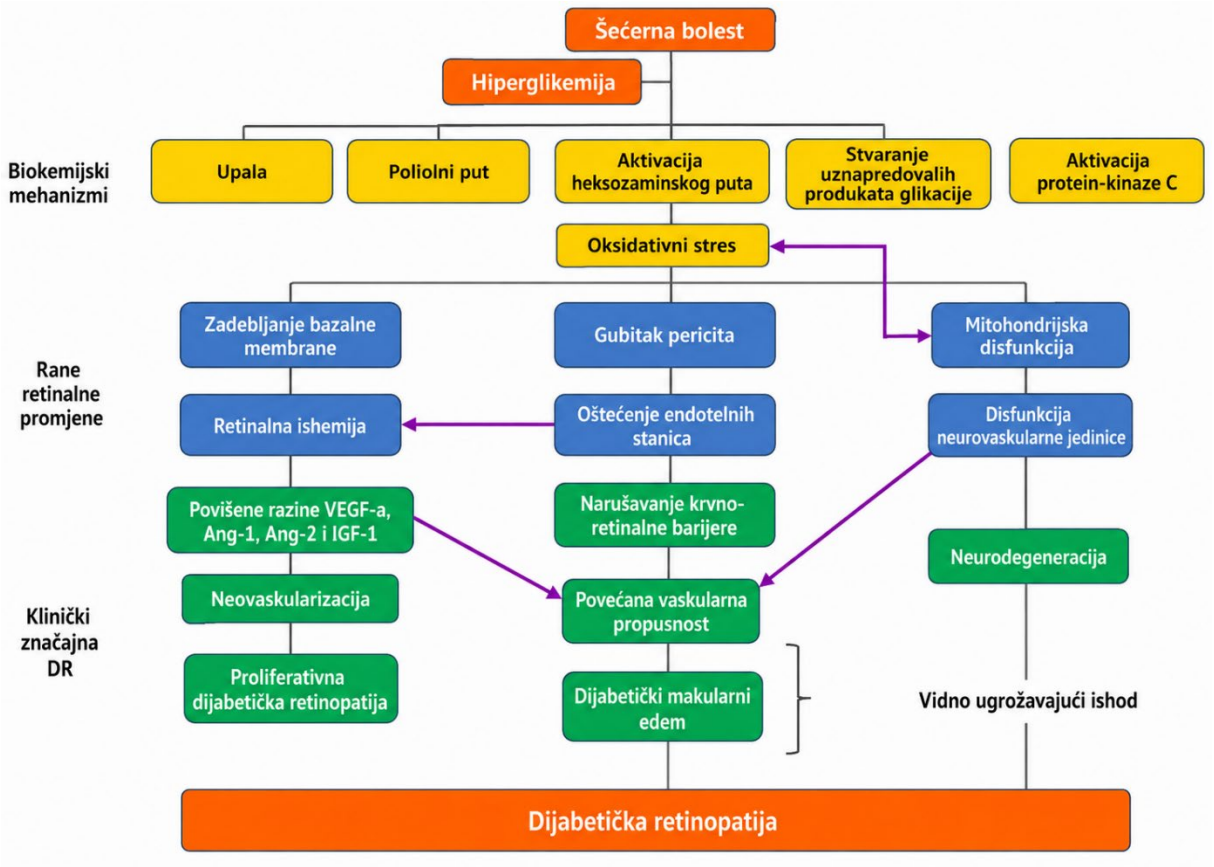
Jedna od najranijih posljedica dijabetičkog metaboličkog okruženja jest poremećaj odnosa između endotelnih stanica i pericita, koji je nužan za očuvanje stabilnosti retinalnih kapilara (35, 36). Gubitak pericita, oštećenje i apoptoza endotelnih stanica te zadebljanje bazalne membrane postupno dovode do nastanka mikroaneurizmi, acelularnih kapilara i područja kapilarne neperfuzije (35, 36). Unutrašnju krvno-retinalnu barijeru najvećim dijelom oblikuju endotelne stanice povezane čvrstim i adherentnim spojevima (engl. *tight junctions*, koje čine proteini kao što su okludin i klaudin-5), uz potporu pericita, glijalnih stanica i bazalne membrane (41). Hiperglikemija, oksidativni stres, upalni medijatori i VEGF mijenjaju ekspresiju i organizaciju proteina međustaničnih spojeva, zbog čega se povećava paracelularni prolazak tekućine i plazmatskih sastavnica u retinalno tkivo (36, 41). Narušavanje barijere uzrokuje zadebljanje i edem mrežnice, a kada promjene zahvate područje makule, mogu dovesti do razvoja DME i smanjenja vidne oštrine (36, 41). Integritet mrežnice dodatno ovisi o retinalnom pigmentnom epitelu i žilnici, koji sudjeluju u održavanju vanjske krvno-retinalne barijere i metaboličkoj potpori fotoreceptora (36, 41).

Kronična upala niskog intenziteta ima važnu ulogu u održavanju i progresiji retinalnog oštećenja (42). Metabolički i oksidativni stres aktiviraju NF-κB i druge signalne puteve, što povećava ekspresiju citokina, kemokina i adhezijskih molekula, uključujući TNF-α, IL-1β, IL-6 i ICAM-1 (42). Ti medijatori povećavaju vaskularnu propusnost, narušavaju funkciju endotela i olakšavaju privlačenje leukocita u retinalnu mikrocirkulaciju (42, 43). Leukostaza označava pojačano zadržavanje i adheziju leukocita na površini retinalnog endotela (43). Adherirani leukociti mogu suziti lumen kapilara i izravnim kontaktom, otpuštanjem proteolitičkih enzima te stvaranjem ROS pridonijeti apoptozi endotelnih stanica (43). Dijabetes istodobno aktivira i lokalne imunološke stanice odnosno retinalnu mikrogliju, koja mijenja morfologiju i također povećava proizvodnju upalnih citokina, kemokina i ROS (44). Aktivirana mikroglija, Müllerove stanice, infiltrirajući monociti i vaskularne stanice stvaraju međusobno povezan upalni odgovor koji može zahvatiti i neuralne i vaskularne sastavnice mrežnice (36, 42, 44). Na taj način upala nije samo posljedica tkivnog oštećenja, nego mehanizam koji dodatno pojačava vaskularnu propusnost, neurodegeneraciju i kapilarnu neperfuziju (36, 42, 44). Pro-

gresivni gubitak funkcionalnih kapilara smanjuje opskrbu retinalnog tkiva kisikom i dovodi do nastanka područja ishemije (35, 36). Hipoksija mijenja ravnotežu između proangiogenih i antiangiogenih čimbenika, pri čemu središnju ulogu ima VEGF (36, 45, 46). Povišene koncentracije VEGF dokazane su u očnoj vodici i staklovini bolesnika s NPDR i PDR, osobito u očima s aktivnom neovaskularizacijom (45). VEGF djelovanjem preko membranskih tirozin-kinaznih receptora, osobito VEGFR-2, povećava propusnost retinalnih krvnih žila te potiče proliferaciju, migraciju i preživljavanje endotelnih stanica (46). Stoga VEGF sudjeluje i u nastanku DME te u razvoju patološke neovaskularizacije karakteristične za PDR (36, 46). VEGF također povećava ekspresiju ICAM-1 i endotelne sintaze dušikova oksida (engl. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS), čime može dodatno potaknuti adheziju leukocita i vaskularnu disfunkciju (47). Novonastale krvne žile nemaju normalnu strukturnu organizaciju ni stabilnu potporu pericita, zbog čega su izrazito propusne i sklone krvarenju (35, 36).

Retinalna neurovaskularna jedinica obuhvaća funkcionalno povezane neurone, Müllerove stanice, astrocite, mikrogliju, endotelne stanice i pericite, koji zajednički usklađuju neuralnu aktivnost, lokalni protok krvi i integritet krvno-retinalne barijere (36). Šećerna bolest remeti komunikaciju između tih stanica, što se očituje oslabljenim vazodilatacijskim odgovorom, disregulacijom retinalnog protoka krvi, glijalnom aktivacijom i povećanom propusnošću krvno-retinalne barijere (35, 36). Stoga, vaskularno i neuralno oštećenje se ne moraju razvijati strogo uzastopno, nego mogu nastajati usporedno i međusobno se pojačavati (36, 48). Eksperimentalna istraživanja i analize ljudskih retinalnih uzoraka pokazale su da se apoptoza retinalnih neurona može pojaviti vrlo rano tijekom šećerne bolesti (48, 49). Opisani su gubitak ganglijskih i drugih stanica unutrašnje mrežnice te smanjenje debljine unutrašnjeg nuklearnog i pleksiformnog sloja (49). Klinička istraživanja primjenom optičke koherentne tomografije (engl. *optical coherence tomography*, OCT) također su pokazala selektivno stanjivanje pojedinih unutarnjih retinalnih slojeva u bolesnika s minimalnim stupnjem DR (51). Jedan od mogućih mehanizama neurodegeneracije jest poremećaj metabolizma glutamata, glavnog ekscitacijskog neurotransmitera u mrežnici (50). Müllerove stanice u fiziološkim uvjetima uklanjaju glutamat iz izvanstaničnog prostora i pretvaraju ga u glutamin, čime ograničavaju njegovu neurotoksičnost (50). U eksperimentalnim modelima šećerne bolesti nađena je smanjena sposobnost pretvaranja glutamata u glutamin, dok se koncentracija retinalnog glutamata povećava, što može potaknuti ekscitotoksično oštećenje i apoptozu ganglijskih i amakrinih stanica mrežnice (50). Oksidativni stres, smanjena neurotrofička potpora i aktivacija mikroglije dodatno pojačavaju neuralnu disfunkciju (36, 48). Rana retinalna neuropatija može se funkcionalno očitovati poremećajima elektroretinografskog odgovora, kontrastne osjetljivosti, raspozna-

vanja boja, vidnog polja i prilagodbe na tamu, ponekad prije pojave izraženih vaskularnih lezija vidljivih oftalmoskopskim pregledom (48, 52). Navedeni nalazi ne znače da neurodegeneracija u svakog bolesnika nužno prethodi mikroangiopatiji, nego podupiru koncept prema kojem su neuralno, glijalno i vaskularno oštećenje sastavni dijelovi zajedničkog patološkog procesa (35, 36, 48). Ovakav integrirani pristup shvaćanja multiplih mehanizama unutar patogeneze DR objašnjava zašto se klinički fenotip i brzina progresije bolesti mogu znatno razlikovati među bolesnicima unatoč sličnom trajanju šećerne bolesti i stupnju glikemijske kontrole (35, 36).



Slika 1. Patofiziološki procesi u dijabetičkoj retinopatiji. Autorska slika prilagođena i prevedena prema literaturi (31).

Popis kratica: *Ang-1 - angiopoetin-1; Ang-2 - angiopoetin-2; IGF-1(engl. insulin-like growth factor 1) - inzulinu sličan čimbenik rasta 1; VEGF (engl. vascular endothelial growth factor) - vaskularni endotelni čimbenik rasta.*

1.3. Dijabetički makularni edem

1.3.1. Definicija i epidemiologija dijabetičkog makularnog edema

DME označava nakupljanje izvanstanične tekućine u makularnom području kao posljedica oštećenja krvno-retinalne barijere u okviru DR (53-55). Tekućina se može nakupljati intraretinalno, osobito u unutarnjem nuklearnom, vanjskom pleksiformnom i Henleovu sloju, ali i u subretinalnom prostoru (53–55). Zbog zahvaćanja središnjeg dijela mrežnice, DME predstavlja jedan od najvažnijih uzroka smanjenja vidne funkcije povezanog sa šećernom bolešću (55, 56). Njegova pojava nije ograničena na stupanj težine DR; može se razviti tijekom neproliferativnog ili proliferativnog stupnja, premda je češći u bolesnika s uznapredovalijim stupnjem retinopatije (54–56).

Prema rezultatima globalne metaanalize, DME je prisutan u približno 6,8% osoba sa šećernom bolešću, pri čemu je njegova prevalencija povezana s trajanjem dijabetesa, razinom HbA1c i vrijednostima arterijskog krvnog tlaka (57). Longitudinalne studije dodatno pokazuju da se rizik povećava s trajanjem bolesti. U kohorti ispitanika s T1DM uključenih u Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR), 25-godišnja kumulativna incidencija makularnog edema iznosila je 29% (58). U ranijoj desetogodišnjoj analizi iste studije incidencija je iznosila 20,1% u skupini s dijabetesom nastalim u mlađoj dobi, dok je među ispitanicima s T2DM iznosila 25,4% u onih liječenih inzulinom i 13,9% u onih koji nisu primali inzulin (59).

Čimbenici povezani s razvojem DME u velikoj se mjeri podudaraju s čimbenicima rizika za nastanak i progresiju DR. Najdosljednije su potvrđene povezanosti s duljim trajanjem šećerne bolesti, nezadovoljavajućom regulacijom glikemije, povišenim arterijskim tlakom i oštećenjem bubrežne funkcije (57, 58, 61, 62). Povezanost je opisana i s poremećajima metabolizma lipida te primjenom tiazolidindiona, ali snaga tih povezanosti nije jednaka u svim istraživanim populacijama (60–62).

1.3.2. Patogeneza dijabetičkog makularnog edema

Patogeneza DME složen je proces u kojem se međusobno isprepleću metabolički, vaskularni, upalni i neuroglijalni poremećaji. Dugotrajna izloženost povišenim koncentracijama glukoze potiče stvaranje uznapredovalih produkata glikacije, povećanu proizvodnju reaktivnih kisikovih vrsta i aktivaciju više unutarstaničnih signalnih puteva. Posljedice uključuju disfunkciju retinalnih endotelnih stanica, gubitak pericita, promjene bazalne membrane i poremećaj međustaničnih veza, čime se postupno narušava integritet krvno-retinalne barijere (55, 63). Sve navedeno je prethodno detaljno opisano u poglavlju o patogenezi DR.

Krvno-retinalna barijera sastoji se od dvije cjeline: unutrašnje i vanjske krvno-retinalne barijere. Unutrašnju krvno-retinalnu barijeru čine nefenestrirane endotelne stanice retinalnih kapilara povezane čvrstim međustaničnim vezama, uz potporu pericita i glijalnih stanica (36, 41). Vanjska krvno-retinalna barijera temelji se na čvrstim vezama između stanica retinalnog pigmentnog epitela, koji istodobno, uz druge brojne funkcije, sudjeluje i u uklanjanju tekućine iz subretinalnog prostora (55, 64). Oštećenjem unutrašnje barijere povećava se prijelaz tekućine i sastavnica plazme iz retinalnih kapilara u okolno retinalno tkivo, dok disfunkcija retinalnog pigmentnog epitela smanjuje odstranjivanje tekućine prema žilnici. Zajednički učinak tih promjena dovodi do nakupljanja intraretinalne i subretinalne tekućine (54, 55, 64).

VEGF je jedan od najvažnijih medijatora povećane vaskularne propusnosti u DME. Retinalna hipoksija, oksidativni stres i upalni procesi povećavaju njegovu ekspresiju, nakon čega VEGF djelovanjem na endotelne stanice narušava organizaciju čvrstih međustaničnih veza i olakšava izlazak tekućine iz kapilara (55, 63). Iako je angiogeneza jedno od njegovih najpoznatijih djelovanja, u patogenezi DME osobito je važan njegov učinak na propusnost postojećih retinalnih krvnih žila (55, 63).

Upalna komponenta bolesti uključuje povećanu aktivnost citokina i adhezijskih molekula, među kojima se ističu TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, Ang-2 i ICAM-1 (55, 63). Povećana ekspresija ICAM-1 olakšava vezanje leukocita na površinu retinalnog endotela i nastanak leukostaze. Adherentni leukociti mogu ometati kapilarni protok te oslobađanjem reaktivnih kisikovih vrsta, proteolitičkih enzima i upalnih medijatora dodatno oštetiti endotel i povećati vaskularno propuštanje. Eksperimentalna istraživanja pokazala su da inhibicija interakcije posredovane ICAM-1 smanjuje retinalnu leukostazu i vaskularnu propusnost, što podupire ulogu tog mehanizma u oštećenju krvno-retinalne barijere (63, 65).

Povećanju retinalne vaskularne propusnosti može pridonijeti i aktivacija plazmatskog kalikrein-kininskog sustava. U staklovini bolesnika s DME pronađene su povećane koncentracije plazmatskog kalikreina, koji stvaranjem bradikinina i aktivacijom kininskih receptora može potaknuti vazodilataciju, upalu i povećano vaskularno propuštanje. Ovaj se mehanizam djelomično odvija neovisno o VEGF te može pridonositi nastanku edema u bolesnika kod kojih VEGF nije jedini dominantni patofiziološki čimbenik (66).

U patogenezi DME uključena je i disfunkcija retinalne neurovaskularne jedinice, koju čine neuroni, glijalne stanice, periciti i vaskularni endotel. Müllerove stanice u fiziološkim uvjetima održavaju ionsku ravnotežu retine, reguliraju metabolizam neurotransmitera te pružaju metaboličku i strukturnu potporu neuronima i krvnim žilama. Razvoj edema odvija se u dvije faze. U ranoj, intracelularnoj fazi najprije su zahvaćene Müllerove stanice, u kojima zbog poremećaja prijenosa vode i iona dolazi do nakupljanja tekućine intracelularno te bubrenja i apoptoze stanica. Promjene u bipolarnim, ganglijskim stanicama i fotoreceptorima ostaju reverzibilne ukoliko se metaboličko stanje pravovremeno popravi (54, 67). U kasnijoj, ekstracelularnoj fazi tekućina se nakuplja izvan stanica te se stvaraju ciste - prvo u unutarnjim slojevima retine, a potom i u vanjskim, gdje poprimaju veće i klinički vidljive dimenzije (54, 55, 67). Paralelno s tim, u vanjskom pleksiformnom sloju dolazi do taloženja lipida, odnosno stvaranja tvrdih eksudata. Izraženije oštećenje vanjske krvno-retinalne barijere omogućuje nakupljanje subretinalne tekućine i nastanak seroznog odignuća neuroretine (54, 55, 64).

DME stoga nije isključivo posljedica pasivnog propuštanja oštećenih kapilara. Njegov razvoj proizlazi iz međudjelovanja hiperglikemijom izazvane ishemije, angiogeneze i upale što međusobno potencira progresiju bolesti (54, 55, 63, 66, 67).

1.3.3. Klasifikacija i dijagnostika dijabetičkog makularnog edema

Prije uvođenja OCT procjena DME temeljila se prvenstveno na konceptu klinički značajnog makularnog edema (engl. *clinically significant macular edema*, CSME), definiranom u ETDRS istraživanju (68). Navedena definicija je izvorno oblikovana radi prepoznavanja očiju kod kojih bi fokalna ili grid laserska fotokoagulacija mogla smanjiti rizik gubitka vida. Prema ETDRS kriterijima, CSME postoji ako je ispunjen najmanje jedan od sljedećih uvjeta (68):

- zadebljanje mrežnice unutar 500 μm od središta fovee;
- tvrdi eksudati unutar 500 μm od središta fovee udruženi sa susjednim zadebljanjem mrežnice;
- zadebljanje mrežnice zahvaća površinu od najmanje jednog promjera optičkog diska, pri čemu se barem jedan dio zadebljanja nalazi unutar 1500 μm od središta fovee.

CSME je klinička dijagnoza koja se prema izvornom ETDRS protokolu postavlja biomikroskopijom makule na procjepnoj svjetiljci (68). Taj pojam i dalje ima povijesnu i istraživačku vrijednost, ali se u suvremenoj kliničkoj praksi terapijske odluke temelje na zahvaćenosti središta makule, vidnoj oštrini i nalazu OCT makule. Intravitrealni anti-VEGF lijekovi danas predstavljaju terapiju prvog izbora za većinu bolesnika s DME koji zahvaća središte makule i praćen je smanjenjem vidne oštrine, zbog čega je pojam CSME izgubio na važnosti (69).

Prema smjernicama International Council of Ophthalmology iz 2018. godine, DME se s obzirom na zahvaćenost središnjeg polja na OCT makule dijeli na dvije osnovne kategorije. DME sa zahvaćenim središtem makule (engl. *center-involved diabetic macular edema*, CI-DME) označava zadebljanje mrežnice na OCT koje obuhvaća središnje retinalno područje promjera 1 mm, dok se DME bez središnjeg zahvaćanja makule (engl. *non-center-involved diabetic macular edema*, NCI-DME) odnosi na zadebljanje smješteno izvan navedene središnje zone od 1 mm promjera (69).

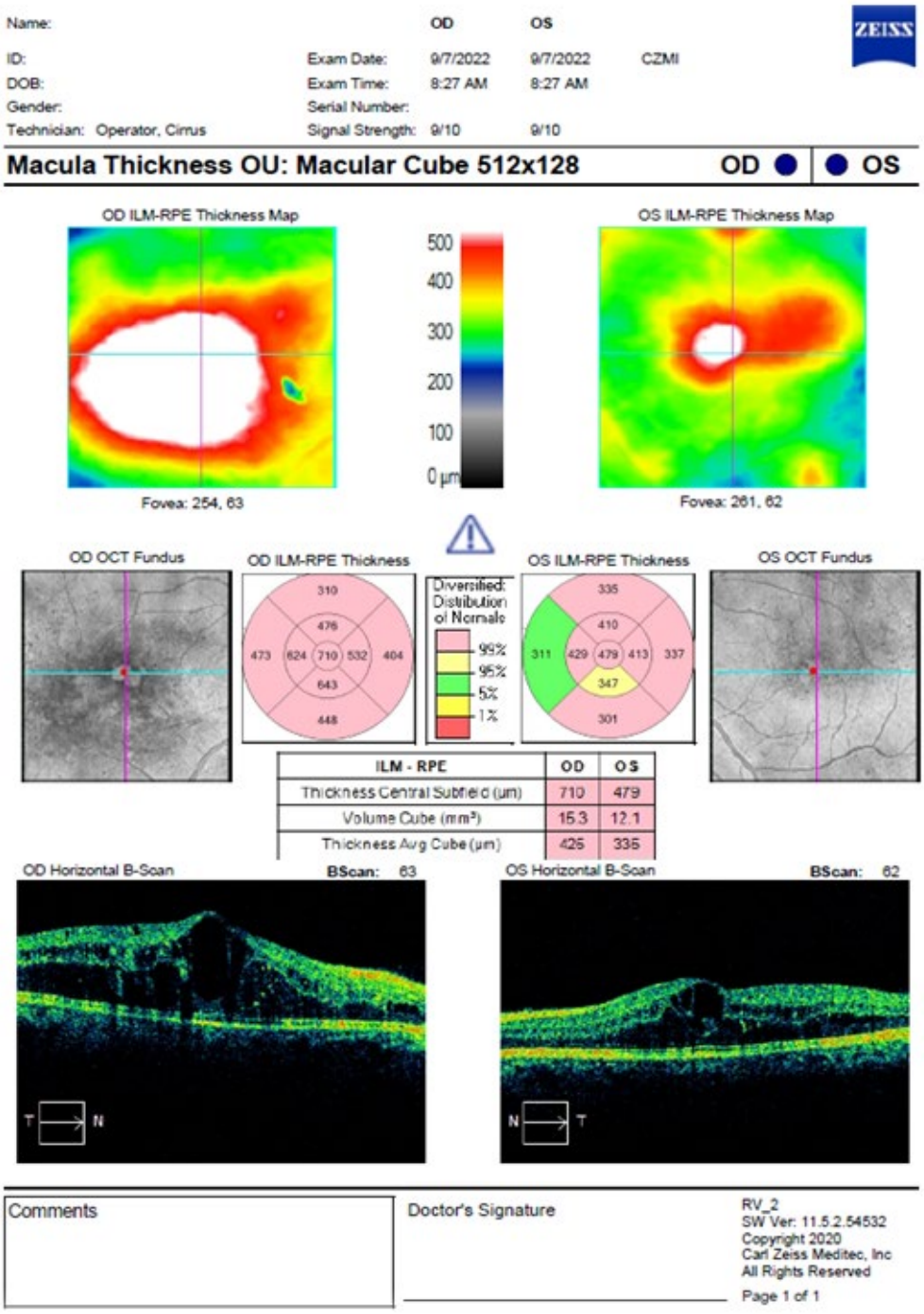
Na presječnim OCT snimkama mogu se razlikovati četiri osnovna morfološka obrasca DME (70, 71):

- difuzno, odnosno spongiformno zadebljanje mrežnice;
- cistoidne intraretinalne promjene (cistoidni makularni edem, CME);
- subretinalna tekućina (SRT), odnosno serozno odignuće neuroretine;
- miješani oblik, u kojem se istodobno pojavljuju dva ili više navedenih obrazaca.

Klinička prezentacija DME ovisi o lokalizaciji i stupnju edema. Kada je zahvaćeno središte makule, bolesnici najčešće navode postupno slabljenje centralne vidne oštrine, iskrivljenje slike i poteškoće pri čitanju. Klinička obrada uključuje određivanje najbolje korigirane vidne oštrine (engl. *best corrected visual acuity*, BCVA), biomikroskopski pregled očne pozadine u midrijazi i OCT makule.

OCT makule predstavlja neinvazivnu slikovnu metodu koja omogućuje visokorezolucijski prikaz presjeka mrežnice te objektivnu potvrdu i mjerenje retinalnog zadebljanja i nakupljanja intraretinalne ili subretinalne tekućine (69–71). Temelji se na principu niskokoherentne interferometrije, pri čemu se analizom reflektiranog svjetla iz različitih slojeva mrežnice rekonstruira njihov uzdužni presjek (69-71). U suvremenoj kliničkoj praksi, OCT je postao ključni dijagnostički alat za otkrivanje i praćenje DME zahvaljujući visokoj aksijalnoj rezoluciji (≈3–7 μm) i lakoj ponovljivosti mjerenja (72). OCT omogućuje mjerenje centralne debljine makule (engl. *central macular thickness*, CMT), razlikovanje centralnog i ne-centralnog DME, identifikaciju morfoloških obrazaca edema te praćenje odgovora na anti-VEGF terapiju (70, 71). Osim ukupne debljine mrežnice i količine tekućine, pojedine OCT značajke mogu pružiti dodatne prognostičke informacije. Disorganizacija unutarnjih slojeva mrežnice (engl. *disorganization of retinal inner layers*, DRIL) označava nemogućnost jasnog razgraničenja pojedinih unutarnjih retinalnih slojeva unutar zahvaćenog područja. Prisutnost i veći opseg DRIL povezani su s lošijom vidnom oštrinom, dok je smanjenje opsega DRIL tijekom praćenja povezano s povoljnijim funkcionalnim ishodom (73, 74). Integritet vanjske granične membrane (engl. *external limiting membrane*, ELM) i elipsoidne zone fotoreceptora (engl. *ellipsoid zone*, EZ) također je povezan s vidnom funkcijom. Prekid ili izraženija dezorganizacija ovih struktura upućuju na oštećenje fotoreceptora i povezani su sa slabijom vidnom oštrinom, dok njihovo očuvanje ili djelomična obnova prate povoljniji funkcionalni ishod liječenja (75, 76). Pri interpretaciji OCT makule potrebno je procijeniti i vitreomakularno sučelje. Epiretinalna membrana (ERM), vitreomakularna adhezija i trakcija mogu pridonijeti održavanju edema mehaničkim djelovanjem na makulu (77). Prisutnost ERM u nekim je istraživanjima bila povezana sa slabijim anatomskim odgovorom na ranibizumab, dok je razvoj abnormalnosti vitreomakularnog sučelja bio povezan s većom završnom debljinom mrežnice i lošijom vidnom oštrinom (77, 78). Utjecaj same vitreomakularne adhezije na odgovor na anti-VEGF terapiju nije potpuno jednoznačan te ovisi o vrsti i opsegu promjene vitreomakularnog kontakta (79). Spontano odvajanje stražnje staklovine u pojedinim slučajevima može biti praćeno smanjenjem ili povlačenjem edema, ali se taj nalaz ne može promatrati kao siguran pokazatelj povoljnog ishoda u svakog bolesnika (80).

OCT angiografija (OCTA) predstavlja dodatnu neinvazivnu slikovnu metodu koja registrira kretanje krvnih stanica i omogućuje prikaz retinalnih kapilarnih pleksusa bez intravenske primjene kontrastnog sredstva (81). Njome se mogu procijeniti gustoća kapilara, veličina i pravilnost fovealne avaskularne zone te područja kapilarne neperfuzije. Za razliku od fluoresceinske angiografije, OCTA ne prikazuje izravno vaskularno propuštanje. Kvantitativne OCTA značajke povezane su s težinom DR, rizikom razvoja DME i odgovorom na anti-VEGF liječenje, zbog čega mogu nadopuniti strukturni OCT u procjeni retinalne ishemije i mikrovaskularnih promjena (81, 82).



Slika 2. Prikaz optičke koherentne tomografije makula ispitanika s obostranim dijabetičkim makularnim edemom. (Izvor: vlastiti klinički materijal iz studije, snimka je anonimizirana.)

1.3.4. Liječenje dijabetičkog makularnog edema

Liječenje DME temelji se na istodobnoj regulaciji sistemskih čimbenika i primjeni odgovarajuće očne terapije. Optimizacija glikemije, arterijskog tlaka i lipidnog profila važna je za smanjenje rizika nastanka i progresije retinalnih promjena (83). Uz regulaciju sistemskih čimbenika rizika, anti-VEGF lijekovi danas predstavljaju terapiju prvog izbora u liječenju DME. Izbor terapijskog pristupa ovisi o zahvaćenosti središta makule, vidnoj oštrini, morfološkim obilježjima na OCT, statusu leće, prethodnom odgovoru na liječenje i prisutnosti vitreomakularne trakcije.

U bolesnika s DME koji zahvaća središte makule i uzrokuje smanjenje vidne oštrine intravitrealna primjena inhibitora vaskularnog endotelnog čimbenika rasta, anti-VEGF lijekova, predstavlja standardnu terapiju prvog izbora (63, 69). U tu skupinu ubrajaju se ranibizumab, aflibercept, brolucizumab i faricimab (84–90). Bevacizumab se također primjenjuje u liječenju DME, ali izvan odobrene indikacije (engl. *off-label*), ponajprije zbog njegove dostupnosti i niže cijene (91–94).

Učinkovitost ranibizumaba potvrđena je u randomiziranim istraživanjima RISE i RIDE, u kojima je njegova primjena dovela do poboljšanja vidne oštrine i smanjenja debljine središnjeg dijela mrežnice (84). Pri usporedbi učinkovitosti aflibercepta, bevacizumaba i ranibizumaba u istraživanju DRCR.net Protocol T među bolesnicima s početnom vidnom oštrinom od 20/32 do 20/40 nije utvrđena klinički značajna razlika između navedenih lijekova. U očima s vidnom oštrinom 20/50 ili slabijom aflibercept je tijekom prve godine ostvario veće prosječno poboljšanje vida, dok je nakon dvije godine prednost ostala izražena u odnosu na bevacizumab, ali ne i u odnosu na ranibizumab (85, 86). Klinička istraživanja provedena su i za novije anti-VEGF lijekove i režime doziranja. Brolucizumab je u istraživanjima KESTREL i KITE pokazao anatomsku i funkcionalnu učinkovitost usporedivu s afliberceptom, pri čemu pri odabiru tog lijeka treba uzeti u obzir specifičan sigurnosni profil (87). Faricimab istodobno inhibira VEGF-A i angiopoetin-2, a istraživanja YOSEMITE i RHINE pokazala su mogućnost produljenja razmaka između pojedinih aplikacija do 16 tjedana u dijela bolesnika (88). U istraživanju PHOTON aflibercept u dozi od 8 mg, primjenjivan u produljenim vremenskim intervalima do 16 tjedana, ostvario je funkcionalne rezultate koji nisu bili lošiji od standardne doze od 2 mg primjenjivane u kraćim intervalima (89). Razvoj terapija duljeg djelovanja, lijekova s novim molekularnim ciljevima i sustava za produljeno otpuštanje lijeka usmjeren je na smanjenje terapijskog opterećenja i poboljšanje dugoročne suradljivosti bolesnika (90).

Bevacizumab je rekombinantno humanizirano monoklonsko protutijelo klase IgG1 koje veže različite izoforme VEGF-A i sprječava aktivaciju njegovih receptora na endotelnim stanicama. Time se smanjuju vaskularna propusnost, ekstravazacija tekućine i angiogena aktivnost u mrežnici. Iako nije primarno registriran kao intravitrealni lijek za DME, u oftalmološkoj se praksi često primjenjuje izvan odobrene indikacije (91). Njegova šira dostupnost i niža cijena u odnosu na druge anti-VEGF lijekove imaju važnu ulogu u donošenju terapijskih odluka, osobito u zdravstvenim sustavima s ograničenim resursima (92). U istraživanju BOLT bevacizumab je nakon 12 mjeseci ostvario bolje funkcionalne rezultate od makularne laserske fotokoagulacije (93). Nadalje, istraživanje DRCR Retina Network Protocol AC pokazalo je da strategija početnog liječenja bevacizumabom, uz prijelaz na aflibercept prema unaprijed definiranim kriterijima nedovoljnog odgovora, može tijekom dvije godine ostvariti prosječne funkcionalne rezultate usporedive s početnom primjenom aflibercepta. Ipak, znatan dio bolesnika u skupini koja je inicijalno primala bevacizumab tijekom praćenja morao je prijeći na aflibercept (94).

U bolesnika s DME koji zahvaća središte makule, ali uz očuvanu vidnu oštrinu od 20/25 ili bolju, nije uvijek potrebno odmah započeti intravitrealno liječenje. Protocol V pokazao je da pažljivo praćenje, uz uvođenje aflibercepta ako dođe do unaprijed definiranog pogoršanja vidne oštrine, tijekom dvije godine nije bilo povezano s većim rizikom gubitka vida u usporedbi s neposrednim započinjanjem terapije (95). Takav pristup zahtijeva redovite kontrole i dobru suradljivost bolesnika.

Intravitrealni kortikosteroidi predstavljaju dodatnu mogućnost liječenja u bolesnika s DME, osobito u očima s nedovoljnim odgovorom na anti-VEGF terapiju ili kada je njezina primjena ograničena. Njihov se učinak temelji na smanjenju upalne aktivnosti, stabilizaciji krvno-retinalne barijere i posljedičnom smanjenju vaskularne propusnosti. Deksametazonski implantat može dovesti do smanjenja debljine mrežnice i poboljšanja vidne oštrine, ali je njegova primjena povezana s povećanim rizikom razvoja katarakte i povišenja intraokularnog tlaka (96). Slična ograničenja opisana su i pri dugotrajnoj primjeni implantata fluocinolon-acetonida (97, 98). Zbog navedenih nuspojava kortikosteroidi se najčešće primjenjuju selektivno, pri čemu poseban oprez zahtijevaju bolesnici s glaukomom ili povišenim rizikom njegova razvoja.

Prije uvođenja anti-VEGF lijekova fokalna odnosno grid laserska fotokoagulacija predstavljala je standardno liječenje DME. Istraživanje ETDRS pokazalo je da lasersko liječenje klinički značajnog makularnog edema smanjuje rizik umjerenoga gubitka vida (99). Danas se laser najčešće razmatra kod edema koji ne zahvaća središte makule, kod jasno ogra-

ničenih žarišta propuštanja, kao dopunska terapija ili u uvjetima u kojima intravitrealno liječenje nije dostupno (100).

Uloga pars plana vitrektomije (PPV) u liječenju DME razlikuje se između trakcijskog i netrakcijskog DME. Uklanjanjem staklovine mogu se odstraniti vitreomakularne trakcijske sile i potencijalni izvori upalnih medijatora, a nakon vitrektomije opisano je i povećanje parcijalnog tlaka kisika u staklovini (101). Ranija manja istraživanja pokazala su mogućnost povlačenja edema nakon uklanjanja stražnje hijaloidne i unutarnje granične membrane (102). Međutim, sustavni pregledi nisu potvrdili dosljedno dugoročno poboljšanje vidne oštrine u svim bolesnicima s netrakcijskim DME, unatoč čestom smanjenju debljine mrežnice nakon operacije (103, 104). PPV se stoga ponajprije razmatra kada su prisutne izražena vitreomakularna trakcija, epiretinalna membrana ili druge promjene vitreomakularnog sučelja. U takvim očima operacija može smanjiti retinalno zadebljanje, ali funkcionalni ishod ostaje varijabilan (105).

Unatoč dokazanoj učinkovitosti anti-VEGF lijekova, terapijski odgovor nije jednak u svih bolesnika s DME. Perzistentno zadebljanje makule može biti prisutno i tijekom redovite primjene aflibercepta, bevacizumaba ili ranibizumaba, pri čemu dio bolesnika unatoč rezidualnoj tekućini ostvaruje funkcionalno poboljšanje (106). Jednako tako, ograničen početni anatomski odgovor na ranibizumab ne mora nužno značiti izostanak kasnije funkcionalne koristi (107). Rezultati iz svakodnevne kliničke prakse dodatno pokazuju da su broj primijenjenih injekcija i ostvareni funkcionalni rezultati često manji nego u kontroliranim kliničkim istraživanjima (108). Ovakva heterogenost terapijskog odgovora upućuje na to da ishod liječenja, osim o lokalnim morfološkim obilježjima mrežnice, može ovisiti i o složenoj interakciji sistemske upale, endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa, retinalne ishemije i angiogeneze (63). Stoga se sve veća pozornost usmjerava na pronalaženje sistemskih biomarkera koji bi mogli nadopuniti kliničku i OCT procjenu, omogućiti ranije prepoznavanje bolesnika s povećanim rizikom progresije bolesti ili nedovoljnog terapijskog odgovora te pridonijeti individualizaciji liječenja.

1.4. Serumski (protu)upalni biomarkeri u patofiziologiji dijabetičke retinopatije

Kronična upala jedan je od ključnih mehanizama patogeneze DR (6, 63). Među najčešće istraživanim pokazateljima upale nalaze se lako dostupni hematološki parametri koji se izračunavaju iz rutinske kompletne krvne slike. Do sada su se najčešće analizirali omjer neutrofila i limfocita (engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*, NLR), omjer monocita i limfocita (engl. *monocyte to lymphocyte ratio*, MLR), omjer trombocita i limfocita (engl. *platelet to lymphocyte ratio*, PLR) te sistemski imunoupalni indeks (engl. *systemic immune-inflammation index*, SII). SII se izračunava prema formuli: broj trombocita × broj neutrofila / broj limfocita. Prednosti ovih pokazatelja jesu dostupnost i niski troškovi određivanja, ali njihova interpretacija zahtijeva oprez jer nisu specifični za dijabetičku bolest mrežnice (109–111). NLR odražava odnos između neutrofilne i limfocitne komponente imunosnog odgovora. Neutrofili mogu pridonijeti oksidativnom stresu, oštećenju endotela i oslobađanju proteolitičkih enzima, dok relativno smanjen broj limfocita može biti pokazatelj poremećene regulacije imunosnog odgovora. Povišena vrijednost NLR stoga se može promatrati kao neizravni pokazatelj prevage proupalnih procesa (109). Monociti su izvor proupalnih citokina i mogu također sudjelovati u leukostazi, endotelnoj disfunkciji i oštećenju mikrocirkulacije, zbog čega MLR može pružiti informacije o monocitno posredovanoj upalnoj aktivnosti (110). Trombociti, osim svoje uloge u hemostazi, sudjeluju u aktivaciji endotela i otpuštanju upalnih i angiogenih medijatora, uključujući VEGF. PLR zato istodobno odražava promjene povezane s trombocitnom aktivacijom te vaskularnim i upalnim procesima. Za razliku od pojedinačnih omjera, SII objedinjuje neutrofilnu, trombocitnu i limfocitnu komponentu sistemskog upalnog odgovora (109–111).

Dosadašnja istraživanja pokazala su povezanost hematoloških upalnih omjera s prisutnošću DR, razvojem DME i ishodima intravitrealne anti-VEGF terapije, što upućuje na njihovu moguću prognostičku vrijednost u kliničkoj procjeni takvih bolesnika. Rezultati istraživanja upućuju na povezanost NLR i PLR s prisutnošću i težinom DR, iako nalazi nisu potpuno ujednačeni među različitim populacijama bolesnika (109, 110). Povezanost MLR i SII s različitim stadijima DR također je opisana, ali njihova dijagnostička vrijednost još nije dovoljno potvrđena u prospektivnim istraživanjima i neovisnim populacijama bolesnika (111). Yeter i suradnici istraživali su povezanost omjera monocita i HDL-kolesterola (engl. *monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio*, MHR) i NLR s prisutnošću DME te s ranim odgovorom na anti-VEGF liječenje. Njihovi rezultati upućuju na moguću prognostičku vrijednost tih pokazatelja, ali ne dokazuju njihovu samostalnu kliničku primjenjivost (112). Povezanost

serumskih biomarkera i odgovora na intravitrealnu anti-VEGF terapiju ispitivana je i u drugim istraživanjima. Početna vrijednost NLR bila je povezana s anatomskim i funkcionalnim ishodima liječenja ranibizumabom u bolesnika s DME (113). Karimi i suradnici analizirali su povezanost broja leukocita, leukocitnih omjera i mokraćne kiseline s kratkoročnim odgovorom na intravitrealni bevacizumab (114). Premda navedeni rezultati podržavaju daljnje istraživanje sistemskih upalnih pokazatelja, raspoloživi dokazi još nisu dovoljni da bi se NLR, MLR, MHR, PLR ili SII smatrali sigurnim prediktorima odgovora na anti-VEGF terapiju (112–114). Međutim, unatoč sve većem broju dokaza o ulozi sistemske upale u DME, još uvijek nije u potpunosti razjašnjeno mogu li jednostavni hematološki upalni omjeri predvidjeti rani anatomski i funkcionalni odgovor na intravitrealnu anti-VEGF terapiju, osobito na bevacizumab.

Osim navedenih serumskih biomarkera, istražuju se biomarkeri povezani s metaboličkom regulacijom, lipidnim metabolizmom i funkcijom endotela. Među njima se ističe vitamin D, topiv u mastima, koji zbog svoje steroidne strukture i načina djelovanja ima obilježja hormona (115). Organizam ga može dobiti hranom, a može ga i sam stvarati pri izlaganju kože sunčevoj svjetlosti. Pod utjecajem UVB zračenja, 7-dehidrokolesterol u koži pretvara se u previtamin D_3, iz kojeg zatim nastaje vitamin D_3. Da bi postao biološki aktivan, vitamin D_3 prolazi dvije uzastopne pretvorbe: u jetri nastaje 25-hidroksivitamin D_3 ($25(OH)D_3$), njegov glavni oblik u krvi, a u bubrezima se pretvara u 1,25-dihidroksivitamin D_3 ($1,25(OH)_2D_3$), odnosno kalcitriol (116). Osim u regulaciji metabolizma kalcija i koštane homeostaze sudjeluje u modulaciji imunosnog odgovora, oksidativnog stresa i vaskularne funkcije (117). Receptori za vitamin D prisutni su u brojnim imunološkim i vaskularnim stanicama, a nedostatak vitamina D povezuje se s pojačanom ekspresijom proupalnih medijatora, endotelnom disfunkcijom i poremećajem angiogeneze (117). Prema brojnim istraživanja, manjak vitamina D mogao bi biti povezan s povećanim rizikom razvoja DR, iako patofiziološki mehanizmi još nisu potpuno razjašnjeni. Zoppini i suradnici utvrdili su značajnu povezanost između koncentracije 25-hidroksivitamina D [25(OH)D] u serumu i učestalosti DR (118). Sličan nalaz objavili su Alcubierre i suradnici; bolesnici s uznapredovalom DR imali su niže koncentracije 25(OH)D od bolesnika bez DR (119). Velika metaanaliza također je povezala manjak vitamina D s većim rizikom od DR u osoba s T2DM (120). Ipak, nisu sve objavljene studije suglasne: Xiao i suradnici nisu potvrdili povezanost koncentracije vitamina D i razvoja DR (121). Nadalje, indijsko istraživanje Reddyja i suradnika našlo je povezanost statusa vitamina D s dijabetesom, ali ne i posebno s DR (122). Niže koncentracije vitamina D u serumu u pojedinim su istraživanjima povezivane i s prisutnošću DME. Pretpostavlja se da bi vitamin D mogao utjecati na

upalne procese i promjene krvnih žila mrežnice, no sama povezanost ne dokazuje da njegov manjak uzrokuje DME (123). Ispitivan je i dodatak vitamina D uz intravitrealnu primjenu bevacizumaba: jedno randomizirano istraživanje zabilježilo je moguće poboljšanje vidne oštrine i smanjenje debljine središnjeg dijela makule, dok drugo nije našlo statistički značajnu razliku u vidnoj oštrini između skupina (124, 125).

Poremećaji metabolizma lipida predstavljaju dodatnu moguću poveznicu između sistemskih metaboličkih promjena i oštećenja mrežnice. Apolipoprotein B (ApoB) glavna je strukturna komponenta aterogenih lipoproteinskih čestica, uključujući LDL (*engl. low density lipoprotein*) i VLDL (*engl. very low density lipoprotein*) kolesterol, pa njegova koncentracija približno odražava njihov ukupan broj. Nasuprot tome, apolipoprotein A1 (ApoA1) glavni je proteinski sastojak HDL (*engl. high density lipoprotein*) kolesterola i sudjeluje u obrnutom prijenosu kolesterola iz perifernih tkiva prema jetri. ApoA1 se povezuje i s antioksidativnim, protuupalnim i endotelnim zaštitnim učincima (126, 127). Omjer ApoB/ApoA1 zbog toga se može promatrati kao pokazatelj ravnoteže između aterogenih i zaštitnih lipoproteinskih mehanizama. Sustavni pregled istraživanja o lipidima i apolipoproteinima pokazao je da su koncentracije ApoA1 i ApoB u pojedinim populacijama snažnije povezane s prisutnošću ili težinom DR nego tradicionalni parametri lipidnog profila (128). Sasongko i suradnici također su opisali povezanost nižih koncentracija ApoA1 i viših koncentracija ApoB, odnosno nepovoljnijeg omjera ApoB/ApoA1, s DR (129). Njihova vrijednost u predviđanju odgovora DME na anti-VEGF liječenje još nije dovoljno istražena.

Dosadašnja istraživanja uglavnom su pojedinačno analizirala upalne, metaboličke ili lipidne pokazatelje. Međutim, klinička heterogenost DR i DME vjerojatno proizlazi iz međusobnog djelovanja više patofizioloških mehanizama. Upravo zato postoji potreba za integrativnim pristupom koji će povezati sistemske biomarkere upale i kliničke manifestacije bolesti, uključujući prisutnost retinopatije, stupanj mikrovaskularnog oštećenja i odgovor na liječenje. Takav pristup može pridonijeti ne samo boljem razumijevanju patogeneze bolesti nego i razvoju preciznijih modela stratifikacije bolesnika.

1.5. Katestatin

Kromogranin A (engl. *chromogranin A*, CgA) je neuroendokrini polipeptid iz obitelji granina i nalazi se u sekretornim granulama endokrinih, neuroendokrinih i neuronskih stanica (130). Osobito je zastupljen u kromafinim stanicama srži nadbubrežne žlijezde i simpatičkim neuronima, u kojima se pohranjuje zajedno s katekolaminima (131). Široka distribucija CgA u različitim staničnim populacijama, uključujući endotelne stanice, kardiomiocite, makrofage i stanice Langerhansovih otočića, dodatno upućuje na njegovu kompleksnu ulogu (132). Njegovom proteolitičkom razgradnjom nastaje više biološki aktivnih peptida, među kojima se nalaze pankreastatin, vazostatin, β-granin, parastatin i katestatin. Ti peptidi mogu imati različite učinke na autonomnu, metaboličku, kardiovaskularnu i imunološku funkciju (130, 132). Temeljem toga, CgA i njegovi razgradni produkti, kao biomarkeri mjerljivi u perifernoj cirkulaciji, imaju potencijalnu dijagnostičku i prognostičku ulogu u čitavome spektru patoloških stanja (133).

Katestatin (engl. *catestatin*, CST), kao razgradni produkt CgA, je peptid sastavljen od dvadeset jedne aminokiseline, koji utječe na autonomnu funkciju u čovjeka djelujući kao inhibitor oslobađanja katekolamina. CST djeluje kao endogeni nekompetitivni antagonist neuronskih nikotinskih acetilkolinskih receptora (engl. *nicotinic acetylcholine receptor*, nAChR). Blokira ulazak Na^+ i posljedično Ca^{2+} u stanicu, čime sprječava depolarizaciju i sekreciju katekolamina. Na taj način sudjeluje u autokrinoj negativnoj povratnoj sprezi kojom se ograničava prekomjerna aktivnost simpatoadrenalnog sustava (134–136). Iako periferno djeluje simpatoinhibitorno, u središnjem živčanom sustavu ima prokolinergični učinak te inhibira otpuštanje neuropeptida Y i ATP iz kromafinih granula (135). Osim regulacije sekrecije katekolamina, eksperimentalna istraživanja CST pripisuju učinke na endotelnu funkciju, metabolizam glukoze i lipida, upalni odgovor, angiogenezu i funkciju miokarda (136, 137). Zbog takvog raspona djelovanja CST se istražuje kao potencijalni biomarker u kardiovaskularnim bolestima, uključujući arterijsku hipertenziju, koronarnu bolest, srčano zatajenje i poremećaje srčanog ritma (138-140). U bolesnika s fibrilacijom atrija utvrđene su više serumske koncentracije CST nego u zdravih kontrolnih ispitanika, uz povezanost s pojedinim pokazateljima težine bolesti (140). Povišene koncentracije opisane su i u muškaraca s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja, stanjem obilježenim pojačanom simpatičkom aktivacijom i intermitentnom hipoksijom (141). Budući da su ta istraživanja pretežno presječna, njihovi rezultati pokazuju povezanost, ali ne dokazuju uzročnu ulogu CST niti njegovu samostalnu dijagnostičku vrijednost. Povezanost CST s pretilošću i metabolizmom glukoze također je predmet istraživanja. U

djece i adolescenata s pretilošću zabilježene su niže serumske koncentracije CST nego u kontrolnih ispitanika normalne tjelesne mase (142). U eksperimentalnim modelima pokazano je da CST može poticati sintezu glikogena, ali se ti rezultati ne mogu izravno prenijeti na osobe s T2DM bez dodatne kliničke potvrde (143). Promijenjene koncentracije serumskog CST opisivane su i u bolesnika s bubrežnim zatajenjem, upalnim bolestima crijeva te reumatskim artritisom (144–146). CST ima važnu ulogu u regulaciji metaboličkih, upalnih i vaskularnih procesa uključenih u patogenezu T2DM. CST djeluje protuupalno i inzulin- senzitivizirajuće, dok su njegove snižene razine povezane s inzulinskom rezistencijom, pojačanom glukoneogenezom i metaboličkom disregulacijom (147). Muntjewerff i suradnici su otkrili da CST pokazuje imunomodulatornu i protuupalnu ulogu kroz regulaciju kemotaksije i migracije leukocita. Pronađeno je da inhibira migraciju monocita i neutrofila prema upalnim kemokinima CCL2, CXCL2 i IL-8 te smanjuje infiltraciju makrofaga u inflamatorna tkiva u in vitro i in vivo modelima (148). U eksperimentalnom modelu pretilosti i inzulinske rezistencije u miševa primjena CST bila je povezana sa smanjenjem nakupljanja makrofaga u jetri i slabljenjem lokalnog upalnog odgovora. Istodobno su zabilježeni smanjena hepatička proizvodnja glukoze i poboljšana osjetljivost na inzulin (149). Time CST može imati ulogu u ograničavanju kroničnе upale, koja je jedno od ključnih obilježja T2DM i njezinih vaskularnih komplikacija. Autonomna disfunkcija, kronična upala, oštećenje endotela i poremećaj mikrocirkulacije zajednički su elementi T2DM i njegovih vaskularnih komplikacija. Budući da CST može djelovati na nekoliko navedenih procesa, postoji osnova za istraživanje njegove povezanosti s DR. Ipak, zasad nije utvrđeno odražavaju li promjene u serumskim razinama CST samu prisutnost T2DM ili razvoj mikrovaskularnih komplikacija poput DR. Dodatno, novija istraživanja upućuju na moguću ulogu CST u fiziologiji oka i retinalnoj neurovaskularnoj regulaciji. Eksperimentalno je pokazano da CST može potaknuti proliferaciju i migraciju endotelnih stanica i angiogenezu u ishemijskim tkivima mehanizmom ovisnim o osnovnom fibroblastnom čimbeniku rasta (engl. *basic fibroblast growth factor*, bFGF) te modulirati retinalnu neuronsku signalizaciju (150). Katestatin je također pronađen i u amakrinim stanicama mrežnice te vidnim živcima oka štakora što dodatno potvrđuje mogući značaj CST u fiziologiji oka (151).

Raspoloživi dokazi stoga pružaju opravdanu osnovu za istraživanje CST u dijabetičkoj bolesti mrežnice, ali nisu dovoljni da bi ga se smatralo potvrđenim biomarkerom DR. Ispitivanje njegovih koncentracija u zdravih osoba, bolesnika s T2DM bez retinopatije i bolesnika s T2DM i razvijenom DR može pridonijeti razjašnjenju patogeneze DR.

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

2.1. Ciljevi i hipoteze istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“

Glavni cilj istraživanja je:

1. Ispitati odnos između serumskih biomarkera iz periferne krvi, uključujući NLR, MLR, PLR, SII, vitamin D, ApoA1, ApoB i omjer ApoB/ApoA1, s ranim terapijskim odgovorom na intravitrealnu primjenu bevacizumaba u bolesnika s DME i NPDR.

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati odnos NLR, MLR, PLR, SII, razina vitamina D te ApoA1 i ApoB i njihovog omjera ApoB/ApoA1 s promjenama centralne debljine makule i vidne oštrine nakon triju intravitrealnih injekcija bevacizumaba;
2. Procijeniti prediktivnu vrijednost NLR, MLR, PLR i SII u razlikovanju bolesnika s povoljnim ranim terapijskim odgovorom od bolesnika bez povoljnog odgovora na liječenje;
3. Ispitati povezanost serumskih upalnih indeksa, vitamina D te ApoA1 i ApoB te njihovog omjera ApoB/ApoA1 sa stupnjem NPDR.

Iz navedenih ciljeva proizlaze sljedeće hipoteze:

1. Početne vrijednosti NLR, MLR, PLR i SII su negativni prediktori ranog odgovora na intravitrealnu primjenu bevacizumaba u bolesnika s DME i NPDR;
2. Ispitanici s višim početnim vrijednostima NLR, MLR, PLR i SII imaju lošiji terapijski odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba;
3. Omjer ApoB/ApoA1 bit će značajno niži u ispitanika koji imaju bolju rezoluciju DME i bolju vidnu oštrinu nakon tri intravitrealne injekcije bevacizumaba;
4. Serumska koncentracija vitamina D će biti značajno niža u ispitanika s težim stupnjem NPDR u odnosu na ispitanike s umjerenim stupnjem NPDR.
5. Veći omjer ApoB/ApoA1 imat će ispitanici s težim stupnjem NPDR u odnosu na ispitanike s umjerenim stupnjem NPDR.

2.2. Ciljevi i hipoteze istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“

Glavni cilj istraživanja je:

1. Usporediti serumske koncentracije katestatina između bolesnika s T2DM i dobno i spolno usporedivih zdravih kontrolnih ispitanika.

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Usporediti serumske razine CST unutar skupine bolesnika oboljelih od T2DM s i bez razvijene kliničke slike DR;
2. Ispitati povezanost serumskih koncentracija CST s arterijskom hipertenzijom u bolesnika oboljelih od T2DM;
3. Ispitati povezanost serumske koncentracije CST sa stupnjem težine NPDR.

Iz navedenih ciljeva proizlaze sljedeće hipoteze:

1. Serumska koncentracija katestatina bit će značajno veća kod ispitanika s T2DM u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu ispitanika;
2. Serumska koncentracija CST bit će značajno veća u ispitanika oboljelih od T2DM i DR u usporedbi s ispitanicima s T2DM, ali bez DR;
3. Serumska koncentracija CST bit će značajno veća u ispitanika s arterijskom hipertenzijom u odnosu na ispitanike bez arterijske hipertenzije;
4. Ispitanici s težim stupnjem NPDR imat će veće serumske koncentracije CST u odnosu na ispitanike s blažim stupnjem NPDR.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Istraživanje „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“

3.1.1. Ispitanici

Istraživanje je provedeno kao prospektivna opservacijska klinička studija na bolesnicima s T2DM, NPDR i DME liječenima na Klinici za očne bolesti Kliničkog bolničkog centra Split od ožujka 2022. godine do ožujka 2023. godine. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/18-01/83; Urbroj: 2181-147/01/06/M.S.-22-03) te provedeno u skladu s etičkim principima Helsinške deklaracije. Svi ispitanici su prije uključivanja u istraživanje informirani o postupcima i ciljevima istraživanja te su potpisali informirani pristanak.

Istraživanje je provedeno u suradnji Klinike za očne bolesti i Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split. Potencijalnim ispitanicima za istraživanje pristupilo se prilikom prijema na Kliniku za očne bolesti, prije primjene prve intravitrealne injekcije bevacizumaba. Nakon što je im je objašnjena svrha i ciljevi istraživanja, svi ispitanici su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje. Nakon detaljnog uzimanja anamnestičkih podataka te izvršenog oftalmološkog pregleda i dijagnostičkih postupaka, uključeni su ispitanici koji zadovoljavaju kriterije uključenja. Potom je uzorkovana venska krv radi određivanja serumskih parametara od interesa. Uzorci krvi su dostavljeni i analizirani u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split.

U istraživanje je uključeno 78 bolesnika starijih od 18 godina koji boluju od T2DM, NPDR i DME i koji su liječeni intravitrealnim injekcijama bevacizumaba na Klinici za očne bolesti, KBC Split. Kriteriji uključenja bili su: dob ≥ 18 godina, dijagnosticirana T2DM, prisutna NPDR, prisutan DME potvrđen OCT makule, indicirano liječenje intravitrealnim injekcijama bevacizumaba. Iz istraživanja su isključeni ispitanici s: PDR, epiretinalnom membranom (ERM) ili vitreoretinalnom trakcijom, vitrealnim zamućenjima ili kataraktom koja onemogućuje adekvatan pregled fundusa, ranijom vitreoretinalnom kirurgijom ili laserskom fotokoagulacijom, operacijom oka unutar posljednjih šest mjeseci, akutnim upalnim bolestima oka (konjunktivitis, blefaritis, uveitis), glaukomom, prisutnošću silikonskog ulja u oku, sistoličkim krvnim tlakom > 180 mmHg ili dijastoličkim tlakom > 110 mmHg, nedavnim tromboembolijskim događajima (unutar posljednja tri mjeseca), primjenom sistemskih kortikosteroida ili nadomjesne terapije vitaminom D, primjenom intraokularne anti-VEGF terapije ili periokularnih/intravitrealnih steroida unutar posljednja tri mjeseca.

3.1.2. Postupci

Svi ispitanici prošli su detaljan klinički i oftalmološki pregled koji je uključivao:

- uzimanje anamneze i demografskih podataka;
- mjerenje tjelesne mase, visine i izračun BMI;
- mjerenje arterijskog krvnog tlaka;
- određivanje BCVA pomoću Snellenove tablice;
- biomikroskopski pregled prednjeg segmenta oka;
- mjerenje intraokularnog tlaka;
- pregled očne pozadine nakon farmakološke dilatacije zjenica tropikamidom i fenilefrinom koristeći nekontaktnu leću jakosti 90D;
- optičku koherentnu tomografiju makule za procjenu centralne debljine makule (engl. *central macular thickness*- CMT) i volumena makule (engl. *macular volume*- MV).

Stupanj DR određen je prema međunarodnoj kliničkoj ljestvici International Clinical Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale (85). Prisutnost DME te centralna debljina makule procjenila se pomoću uređaja CIRRUS® 6000 OCT (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany).

Uzorci periferne venske krvi prikupljeni su u jutarnjim satima natašte nakon 8–12 sati gladovanja prije primjene prve intravitrealne injekcije bevacizumaba. U Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku analizirani su se sljedeći parametri:

- kompletna i diferencijalna krvna slika (iz koje su izračunati NLR, MLR, PLR);
- SII izračunat prema formuli: SII = neutrofili × trombociti / limfociti;
- glukoza u krvi (GUK), hemoglobin A1c (HbA1c), CRP, sedimentacija (SE), procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. estimated glomerular filtration rate, eGFR), urea, kreatinin, elektroliti;
- lipidni profil;
- vitamin D;
- apoA1 i apoB.

Dio uzoraka analiziran je neposredno nakon uzorkovanja, dok je dio centrifugiran tijekom 20 minuta pri 2000 okretaja u minuti i temperaturi od 4 °C. Nakon centrifugiranja izdvojeni su alikvoti seruma koji su do analize bili pohranjivani u zamrzivaču na −80 °C. Hematološki parametri su određeni na analizatoru ADVIA 2120i (Siemens AG, Erlangen, Njemačka). CRP je određen imunoturbidimetrijskom metodom na analizatoru Architect

c16200. Ukupni kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol i trigliceridi obrađeni su standardnim biokemijskim metodama na analizatoru Abbott Architect c16200 (Abbott, Chicago, SAD). Serumske koncentracije apolipoproteina A1 i B određene su koristeći reagense za analizu APOAT (ACN 168) i APOBT (ACN 151) (Roche diagnostics GmbH) na analizatoru Cobas C501 prema uputstvima proizvođača. Nabava kompleta reagensa za laboratorijsko određivanje apolipoproteina A1 i apolipoproteina B financirana je sredstvima doktorskog studija TRIBE (*Translational Research in Biomedicine*) Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Svi ispitanici primili su tri uzastopne intravitrealne injekcije bevacizumaba (Avastin®, Genentech, SAD) u dozi od 1,25 mg/0,05 mL u mjesečnim intervalima. Terapijski odgovor procijenjen je četiri tjedna nakon posljednje intravitrealne injekcije bevacizumaba na temelju promjene centralne debljine makule na OCT te promjene BCVA.

Terapijski uspjeh definiran je kao smanjenje centralne debljine makule za najmanje 10% na optičkoj koherentnoj tomografiji i poboljšanje BCVA za jedan ili više redaka po Snellenovoj tablici, procijenjeno četiri tjedna nakon posljednje intravitrealne aplikacije bevacizumaba.

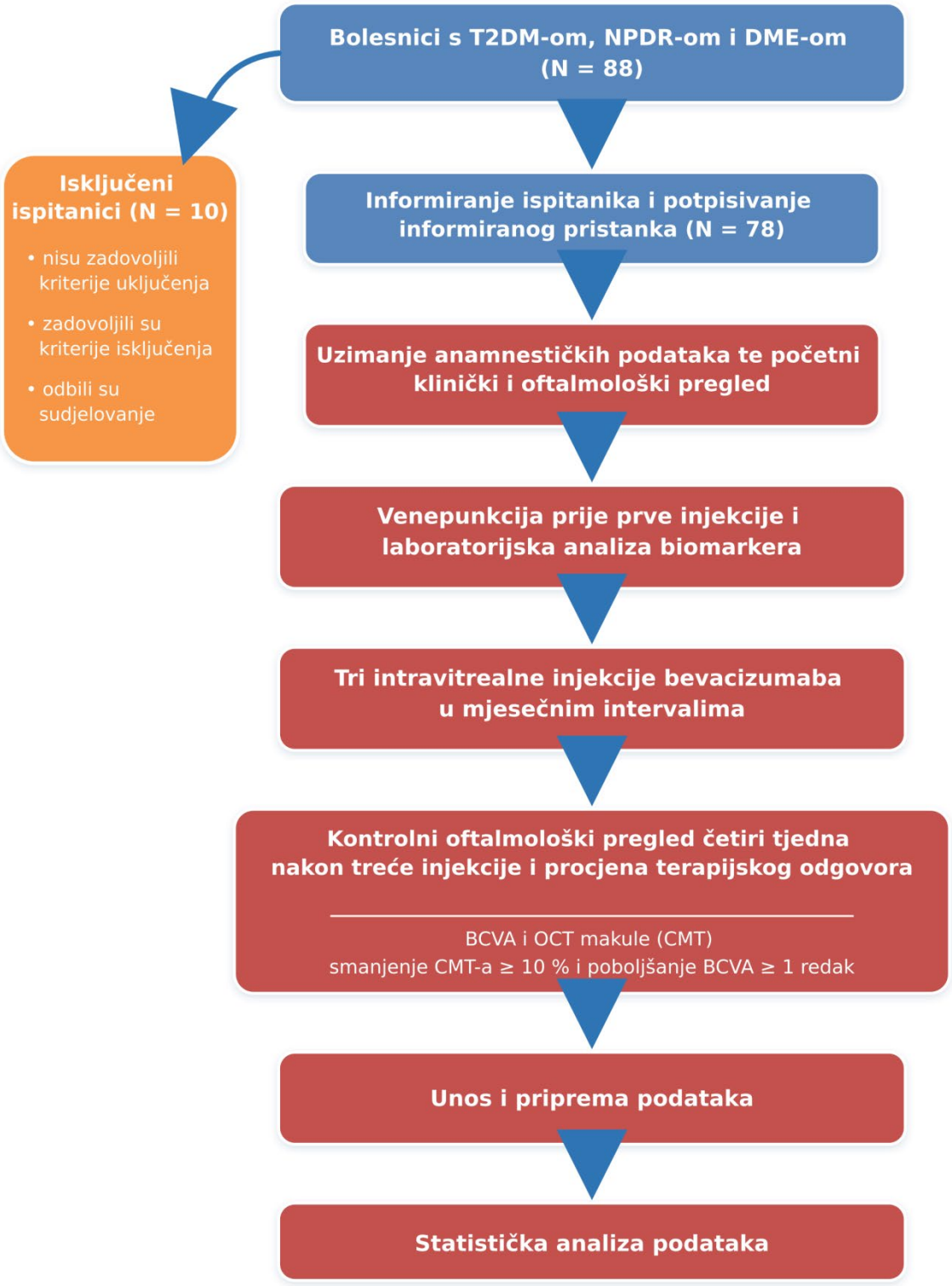
U bolesnika s obostranim DME u osnovnu analizu je uključeno oko koje je pokazalo bolji terapijski odgovor**.** U dodatnu analizu uključene su sve oči koje su zadovoljavale kriterije uključivanja, primile tri mjesečne intravitrealne injekcije bevacizumaba te imale dostupno početno i završno mjerenje. U toj je analizi oko predstavljalo jedinicu analize, dok je bolesnik definiran kao klaster radi uzimanja u obzir povezanosti između očiju istoga bolesnika. Podaci prikupljeni tijekom svakog posjeta bilježeni su u zaseban istraživački obrazac i pohranjeni u pseudonimiziranom obliku, uz dodjeljivanje jedinstvene identifikacijske oznake svakom ispitaniku. Digitalni podatci čuvani su na internom računalu uz sigurnosnu kopiju na vanjskom tvrdom disku. Podatci neće biti javno dostupni jer će se dio skupa podataka koristiti za daljnja istraživanja.

Dijagram tijeka istraživanja

Istraživanje se provodilo prema sljedećem hodogramu:

1. identifikacija i uključivanje ispitanika;
2. informiranje ispitanika i potpisivanje informiranog pristanka;
3. uzimanje anamneze, uz klinički i oftalmološki pregled;
4. potvrđivanje prisutnosti DME i određivanje težine NPDR;
5. uzimanje uzoraka krvi i laboratorijska analiza biomarkera;

6. primjena triju intravitrealnih injekcija bevacizumaba;
7. kontrolni pregled i procjena terapijskog odgovora;
8. statistička analiza podataka.



Slika 3. Dijagram tijeka istraživanja.

3.1.3. Statistički postupci

Statistička analiza provedena je korištenjem programa MedCalc Statistical Software verzija 20.113 (MedCalc Software BV, Ostend, Belgium), GraphPad Prism verzija 9.4.1 za Windows (GraphPad, La Jolla, CA, USA) i IBM SPSS Statistics, verzija 30 (IBM Corp., Armonk, NY, SAD). Kategorijske varijable prikazane su kao apsolutne frekvencije i postotci, dok su kontinuirane varijable prikazane kao srednja vrijednost i standardna devijacija ili medijan i interkvartilni raspon, ovisno o distribuciji podataka. Normalnost distribucije podataka procijenila se Shapiro-Wilkovim testom. Za usporedbu kontinuiranih varijabli između dviju skupina korišten je Studentov t-test ili Mann-Whitney U test, dok je za usporedbu više skupina korišten ANOVA ili Kruskal-Wallis test. Povezanost između koncentracija biomarkera i kliničkih parametara procjenjena je Spearmanovom korelacijskom analizom. Neovisni prediktori dijabetične retinopatije i terapijskog odgovora procjenjivani su multivarijabilnom regresijskom analizom. Prediktivna vrijednost biomarkera za odgovor na anti-VEGF terapiju procijenjena je ROC analizom. Multivarijabilna logistička regresijska analiza primijenjena je kako bi se ispitalo jesu li NLR, MLR, PLR i SII neovisno povezani s terapijskim odgovorom nakon prilagodbe za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i koncentraciju C-reaktivnog proteina. Svaki upalni biomarker analiziran je u zasebnom multivarijabilnom modelu. Rezultati logističke regresijske analize prikazani su omjerima izgleda, pripadajućim 95 %-tnim intervalima pouzdanosti i p-vrijednostima. Multivarijabilna linearna regresijska analiza primijenjena je za procjenu neovisne povezanosti pojedinih biomarkera s promjenom središnje debljine makule nakon liječenja. Rezultati su prikazani regresijskim koeficijentima, pripadajućim 95 %-tnim intervalima pouzdanosti i p-vrijednostima. Multikolinearnost je procijenjena faktorom inflacije varijance.

Naposljetku je provedena dodatna analiza primjenom linearnih miješanih modela, u koju su uključeni podatci svih dostupnih očiju, kako bi se u obzir uzela uparena struktura podataka, odnosno činjenica da su za neke ispitanike dostupni podaci za oba oka. Na taj je način uzeta u obzir korelacija između očiju istog bolesnika u 27 ispitanika s bilateralnim DME. Postotak promjene CMT i BCVA korišteni su kao zavisne varijable, a modeli su prilagođeni za dob, spol, duljinu trajanja bolesti i CRP. Modeli su procijenjeni metodom ograničene maksimalne vjerodostojnosti (REML), uz kovarijacijsku strukturu složene simetrije i Satterthwaiteovu aproksimaciju stupnjeva slobode. Povezanost upalnih pokazatelja s ukupnim terapijskim odgovorom (promjena CMT i BCVA) analizirana je primjenom generaliziranih procjenskih jednadžbi (engl. *generalized estimating equations*, GEE). Početno je bio ispitan logistički

mješoviti model sa slučajnim odsječkom za bolesnika, ali zbog upitne pouzdanosti procjene za daljnju analizu je korišten složeniji GEE. Primijenjeni su binomna distribucija, logit poveznica, radna korelacijska struktura s jednakim korelacijama i robustne standardne pogreške. Izrađena su četiri zasebna modela, svaki s jednakim upalnim pokazateljem- NLR, PLR, MLR i SII- te zajednički model sa sva četiri pokazatelja. Svi modeli sadržavali su odsječak i bili prilagođeni za dob, spol, trajanje dijabetesa i CRP. Prikazani su regresijski koeficijenti (β), robustne standardne pogreške (SE) i p-vrijednosti Waldovih testova, a omjeri izgleda (OR) dobiveni su eksponenciranjem koeficijenata. Razina statističke značajnosti postavljena je na $p<0,05$.

U istraživanje je uključeno ukupno 78 ispitanika. Takva veličina uzorka smatrala se primjerenom za analizu povezanosti ispitivanih biomarkera s prisutnošću bolesti i terapijskim odgovorom te je usporediva s prethodno objavljenim istraživanjima sličnog dizajna. Naknadna procjena pokazala da je takva veličina uzorka dostatna za detekciju srednje veličine učinka uz razinu statističke značajnosti od 0,05 i snagu od 80%.

3.2. Istraživanje „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“

3.2.1. Ispitanici

Istraživanje je provedeno kao presječno istraživanje s unaprijed definiranim skupinama. Istraživanje je provedeno na Klinici za očne bolesti Kliničkog bolničkog centra Split u suradnji sa Zavodom za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku te Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu u razdoblju od kolovoza 2023. godine do kolovoza 2024. godine. Protokol istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split (odobrenje klasa: 500-03/18-01/83; urudžbeni broj: 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-06). Prije uključivanja u istraživanje svi ispitanici potpisali su pisani informirani pristanak. Istraživanje je provedeno u skladu s etičkim načelima medicinskih istraživanja definiranim Helsinškom deklaracijom.

U ovo istraživanje uključeno je ukupno 150 ispitanika; 91 bolesnik sa šećernom bolešću tipa 2 te 59 zdravih kontrolnih ispitanika. Među bolesnicima s T2DM, 63 bolesnika imala su NPDR, dok u 28 bolesnika nisu utvrđeni klinički znakovi DR. Bolesnici s T2DM konsekutivno su uključivani među bolesnicima pregledanima u oftalmološkoj ambulanti tijekom razdoblja istraživanja. Prije uključivanja procijenjeno je zadovoljavaju li unaprijed definirane kriterije uključivanja i isključivanja. Zdravi kontrolni ispitanici također su uključivani među ispitanicima pregledanima u oftalmološkoj ambulanti. Pri njihovu odabiru primijenjeni su isti kriteriji isključivanja kao i u skupinama bolesnika s T2DM. Svi ispitanici dobrovoljno su potpisali pisani informirani pristanak te su prije uključivanja bili upoznati s ciljevima i postupcima istraživanja. Svi ispitanici bili su stariji od 18 godina, imali indeks tjelesne mase manji od 35 kg/m² te su najmanje tri mjeseca prije uključivanja uzimali stabilnu medikamentoznu terapiju. Kriteriji isključivanja bili su akutna sistemska ili očna infekcija odnosno upala, aktivna kardiovaskularna bolest, kronična bubrežna ili jetrena bolest, maligne bolesti, primjena lijekova za koje je poznato da utječu na koncentraciju katestatina (primjerice kortikosteroidi), zamućenja staklovine ili klinički značajna katarakta koja onemogućuje pregled očne pozadine, PDR, prethodna vitreoretinalna kirurgija ili laserska fotokoagulacija te operacija oka unutar prethodnih šest mjeseci.

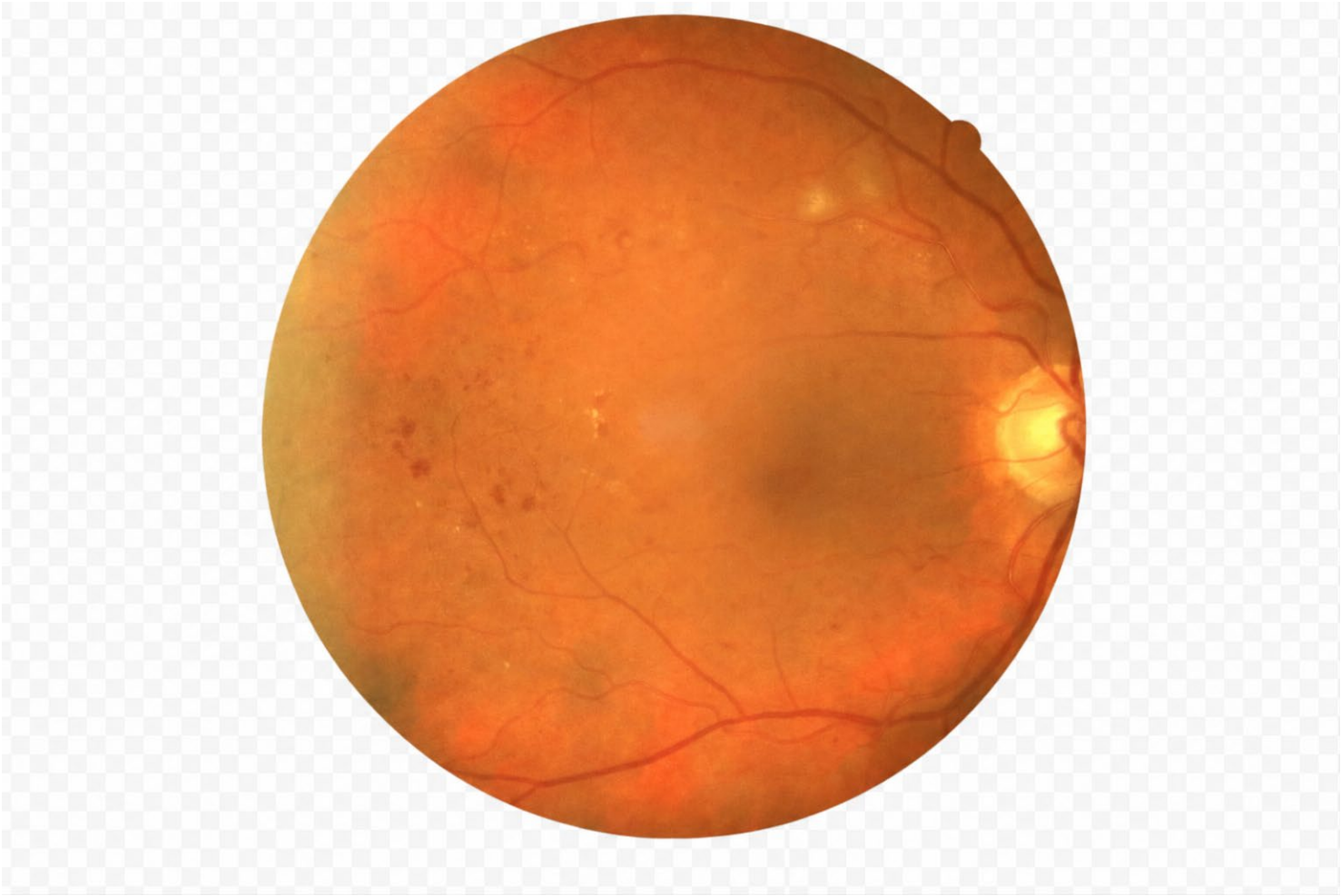
Dijagnoza T2DM je postavljena prema kriterijima Američkog dijabetološkog društva (engl. *American diabetes association*, ADA) (152). Dijagnoza T2DM je potvrđena ako je bio zadovoljen barem jedan od sljedećih kriterija: HbA1c ≥ 6,5%, glukoza natašte ≥ 7,0 mmol/L ili aktualna primjena oralnih antidijabetika i/ili inzulinske terapije neovisno o trenutačnim la-

boratorijskim vrijednostima. Arterijska hipertenzija definirana je prema kriterijima Europskog kardiološkog društva (engl. *European Society of Cardiology*, ESC) i Europskog društva za hipertenziju (engl. *European Society of Hypertension,* ESH) kao sistolički arterijski tlak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolički tlak ≥ 90 mmHg mjeren u mirovanju (153). Također, svi ispitanici koji su koristili antihipertenzivnu terapiju smatrani su hipertoničarima neovisno o aktualnim vrijednostima arterijskog tlaka.

3.2.2. Postupci

Kod svih ispitanika provedena je detaljna anamneza i oftalmološki pregled. Pregledana je i dostupna medicinska dokumentacija radi prikupljanja relevantnih kliničkih podataka. Tjelesna masa i visina određeni su pomoću kalibrirane medicinske vage s integriranim stadiometrom (Seca, Birmingham, UK), a BMI je izračunat kao omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima. Krvni tlak je mjeren standardnim tlakomjerom Riester Big Ben (Rudolf Riester GmbH, Jungingen, Germany). Mjerenje je provedeno nakon što je ispitanik najmanje deset minuta mirovao u sjedećem položaju, a za analizu je korištena srednja vrijednost dvaju uzastopnih mjerenja.

U svih ispitanika učinjen je kompletan oftalmološki pregled koji je uključivao određivanje BCVA pomoću Snellenove tablice, pregled prednjeg segmenta oka, mjerenje intraokularnog tlaka, pregled očne pozadine, fundus fotografiju pomoću Canon digitalne retinalne kamere CX-1® te OCT makule. OCT snimanje provedeno je uređajem CIRRUS® 6000 OCT (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). U skupini bolesnika bez DR pri oftalmološkom pregledu nisu pronađeni klinički znakovi DR. Kod bolesnika s DR težina bolesti procijenjena je prema međunarodnoj klasifikaciji International Clinical Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema Disease Severity Scale (33).



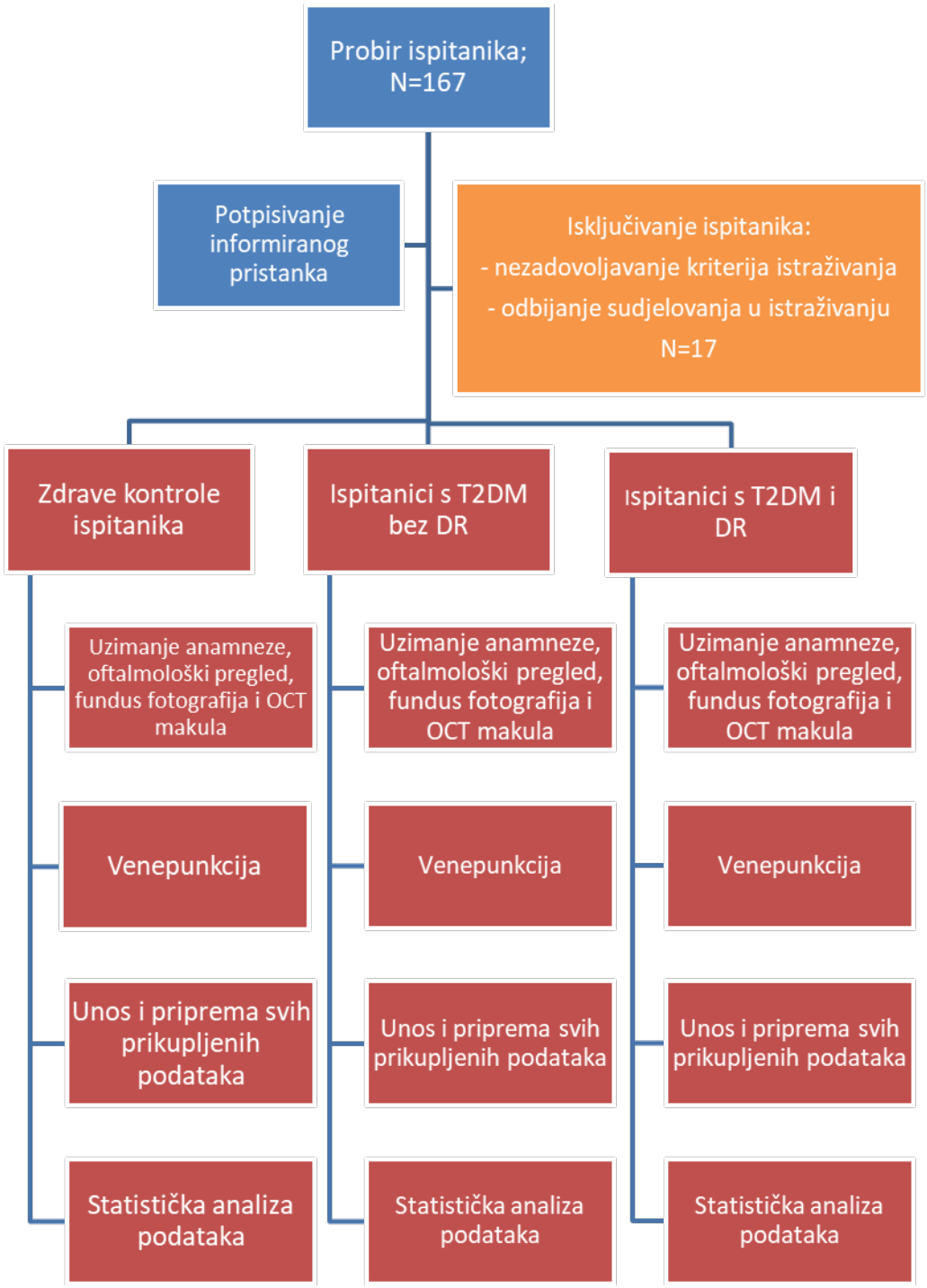
Slika 4. Primjer fundus fotografije bolesnika s NPDR snimljene Canon digitalnom retinalnom kamerom CX-1®

Uzorci venske krvi uzimani su u jutarnjim satima nakon noćnog gladovanja u trajanju od 8 do 12 sati. Serum je odvojen centrifugiranjem i pohranjen na −80°C do trenutka analize. Koncentracije katestatina određene su komercijalnim ELISA testom (EK-053-27CE, EIA kit, Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, SAD) prema uputama proizvođača na automatskom biokemijskom analizatoru (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, SAD) u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku. Prema tehničkim specifikacijama testa, osjetljivost metode za katestatin iznosila je 0,05 ng/mL, uz linearni raspon detekcije od 0,05 do 0,92 ng/mL i ukupni mjerni raspon od 0 do 100 ng/mL. Intraanalitički koeficijent varijacije bio je manji od 10%, dok je ukupna varijabilnost metode bila manja od 15%. Laboratorijsko osoblje bilo je zaslijepljeno za kliničku pripadnost ispitanika. Rutinski biokemijski parametri određivani su standardnim automatiziranim laboratorijskim metodama.

Dijagram tijeka istraživanja

Istraživanje se provodilo prema sljedećem hodogramu:

1. identifikacija i uključivanje ispitanika;
2. potpis informiranog pristanka;
3. uzimanje anamneze, klinički i oftalmološki pregled;
4. podjela ispitanika u 3 skupine:
    a) zdravi kontrolni ispitanici;
    b) bolesnici s T2DM bez DR;
    c) bolesnici s T2DM i DR;
5. snimanje fundus fotografije i OCT makule;
6. venepunkcija i prikupljanje bioloških uzoraka za laboratorijske analize;
7. statistička analiza podataka.



Slika 5. Dijagram tijeka istraživanja.

3.2.3. Statistički postupci

Statistička analiza provedena je uporabom programa SPSS verzije 20 (IBM Corp.). Shapiro–Wilkovim testom utvrđeno je statistički značajno odstupanje većine varijabli od normalne distribucije. Sukladno tome, numeričke varijable prikazane su kao medijan i interkvartilni raspon (IQR), dok su kategorijske varijable prikazane kao apsolutne i relativne frekvencije. Za usporedbu numeričkih varijabli između dviju skupina korišten je Mann–Whitney U test. Multipla linearna regresijska analiza korištena je za određivanje neovisnih prediktora koncentracije katestatina. Rezultati regresijske analize prikazani su kao nestandardizirani regresijski koeficijenti (β) uz 95%-tne intervale pouzdanosti. Svi statistički testovi bili su dvosmjerni, a statistička značajnost definirana je vrijednošću $p < 0,05$. Procjena veličine uzorka provedena je na temelju rezultata pilot-istraživanja koje je uključivalo 10 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 i 10 zdravih kontrolnih ispitanika. Primarni ishod istraživanja bila je serumska koncentracija katestatina. Usporedbom srednjih vrijednosti katestatina između skupina, uz pretpostavljenu dvosmjernu pogrešku tipa I od 0,05 i ciljanu snagu istraživanja od 80%, izračunata je minimalna potrebna veličina uzorka za detekciju klinički značajne razlike između ispitivanih skupina.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“

U istraživanje je uključeno ukupno 78 bolesnika s T2DM, NPDR i DME. Prosječna dob ispitanika iznosila je 67,2 ± 8,6 godina, a 36 (46%) ispitanika bile su žene. Prosječno trajanje T2DM iznosilo je 17,4 ± 10,1 godinu. AH je bila prisutna u 59 (75,6%), a kronično zatajenje bubrega u 18 (23,1%) ispitanika. Ženski spol i AH bili su značajno češći u skupini ispitanika bez terapijskog uspjeha u usporedbi sa skupinom ispitanika koji su dobro odgovorili na intravitrealnu terapiju (p=0,044 i p=0,006) (Tablica 2). Nije utvrđena statistički značajna razlika između skupina u dobi, trajanju T2DM, BMI, eGFR, lipidnom profilu, glikemijskoj regulaciji izraženoj vrijednošću HbA1c niti primjeni antidijabetičke terapije, što se može vidjeti iz Tablice 2. Terapijski uspjeh nakon triju intravitrealnih injekcija bevacizumaba postignut je u 40 (51,3%) bolesnika, dok 38 (48,7%) bolesnika nije zadovoljilo unaprijed definirane kriterije terapijskog uspjeha.

Tablica 2. Bazalne karakteristike ispitivanih skupina podijeljenih na temelju terapijskog odgovora na intravitrealnu terapiju bevacizumabom.

Varijable	Svi ispitanici (*N*=78)	Skupina ispitanika s terapijskim uspjehom (N=40)	Skupina ispitanika bez terapijskog uspjeha (*N*=38)	*p*-vrijednost
Dob	67,2 ± 8,6	67,4 ± 7,4	67,0 ± 9,8	0,848 *
Žene, N (%)	36 (46)	14 (35)	22 (58)	**0,044** †
Pušenje, N (%)	20 (26)	12 (30)	8 (21)	0,369 †
Trajanje T2DM (godine)	17,4 ± 10,1	17,6 ± 10,1	17,1 ± 10,2	0,847 *
Arterijska hipertenzija, N (%)	59 (75,6)	25 (62,5)	34 (89,5)	**0,006** †
Kronično bubrežno zatajenje, N (%)	18 (23,1)	9 (22,5)	9 (23,7)	0,902 †
eGFR (mL/min/1.73 m^2)	67,9 ± 23,4	67,7 ± 23,3	68,1 ± 23,7	0,941 *
BMI (kg/m^2)	26,9 (25,5–29,4)	26,3 (25,0–29,2)	27,6 (25,9–29,8)	0,143 ‡
HbA1c (%)	7,5 (6,6–8,4)	7,6 (6,6–8,6)	7,4 (6,4–8,0)	0,345 ‡
HDL kolesterol (mmol/L)	1,3 (1,1–1,6)	1,3 (1,0–1,5)	1,4 (1,1–1,6)	0,609 ‡
LDL kolesterol (mmol/L)	2,4 (1,6–3,1)	2,3 (1,5–2,9)	2,5 (1,8–3,2)	0,522 ‡
Apo A1 (g/L)	1,49 ± 0,28	1,47 ± 0,27	1,50 ± 0,29	0,609 *
Apo B (g/L)	0,93 ± 0,25	0,93 ± 0,25	0,94 ± 0,25	0,769 *
Apo B/Apo A1	0,62 (0,50–0,74)	0,62 (0,51–0,72)	0,62 (0,48–0,74)	1,000 ‡
Neutrofili (×10^9/L)	4,6 ± 1,2	4,2 ± 0,9	4,9 ± 1,3	**0,006** *
Limfociti (×10^9/L)	2,1 ± 0,6	2,2 ± 0,5	1,9 ± 0,6	**0,031** *
Monociti (×10^9/L)	0,49 ± 0,14	0,48 ± 0,11	0,51 ± 0,17	0,466 *
Trombociti (×10^9/L)	229 (186–259)	226 (175–267)	235 (193–258)	0,628 ‡
NLR	1,96 ± 0,67	2,03 ± 0,70	2,80 ± 1,08	**<0,001** *
MLR	0,22 ± 0,06	0,23 ± 0,06	0,28 ± 0,10	**0,011** *
PLR	103,6 ± 37,1	107,4 ± 37,3	135,8 ± 58,0	**0,013** *
SII	423,9 ± 163,9	445,3 ± 166,3	675,3 ± 334,0	**<0,001** *
Monociti/Apo A1 omjer	0,35 (0,26–0,42)	0,33 (0,26–0,41)	0,34 (0,26–0,42)	0,873 ‡
HDL kolesterol/Apo B omjer	1,4 (1,1–1,9)	1,4 (1,1–1,9)	1,4 (1,1–1,9)	0,893 ‡
Vitamin D (nmol/L)	49,3 (38,8–67,5)	46,4 (27,9–63,4)	52,1 (41,4–70,6)	0,225 ‡
Terapija, N (%)				
Statini	49 (62,8)	26 (65,0)	23 (60,5)	0,685 †
Peroralni hipoglikemici	65 (83,3)	32 (80,0)	33 (86,8)	0,421 †
Inzulin	41 (52,6)	20 (50,0)	21 (55,3)	0,644 †
GLP-1RA	9 (11,5)	4 (10,0)	5 (13,2)	0,665 †

**Studentov t-test. †Hi-kvadrat test. ‡Mann–Whitneyjev U test. Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, medijan (interkvartilni raspon, IQR) ili broj (%).*

***Popis kratica:** eGFR (engl. estimated glomerular filtration rate)- procijenjena glomerularna filtracija; BMI (engl. body mass indeks)- indeks tjelesne mase; HbA1c -hemoglobin A1c; HDL (engl. high density lipoprotein) kolesterol- kolesterol visoke gustoće; LDL (engl. low density*

lipoprotein) kolesterol- kolesterol niske gustoće; Apo A1- apolipoprotein A1; Apo B- apolipoprotein B; Apo B/Apo A1- omjer apolipoproteina B i apolipoproteina A1; NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno-limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (engl. systemic immune-inflammation index)- sistemski imunoupalni indeks; Monociti/apo A1 omjer- omjer monocita i apolipoproteina A1; HDL kolesterol/ApoB- omjer kolesterola visoke gustoće i apolipoproteina B; GLP-1RA (engl. glucagone like peptide 1 receptor agonist)- agonisti receptora glukagonu sličnog peptida 1. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Vrijednosti upalnih indeksa NLR (2,03 ± 0,70 naspram 2,80 ± 1,08; p<0,001), MLR (0,23 ± 0,06 naspram 0,28 ± 0,10; p=0,011), PLR (107,4 ± 37,3 naspram 135,8 ± 58,0; p=0,013) i SII (445,3 ± 166,3 naspram 675,3 ± 334,0; p<0,001) značajno su se razlikovale između skupina ispitanika s i bez terapijskog uspjeha. Osim razlika u navedenim upalnim indeksima, iz Tablice 3. je vidljivo da su se skupine ispitanika značajno razlikovale i prema početnoj CMT (p=0,032), BCVA (p=0,020) te broju prethodnih anti-VEGF injekcija (p=0,038). Ispitanici s terapijskim uspjehom imali su lošiju početnu BCVA. Početna CMT bila je značajno veća u ispitanika s boljim odgovorom na anti-VEGF terapiju. Ista skupina ispitanika prethodno je primila statički značajno manji broj anti-VEGF injekcija u odnosu na ispitanike bez terapijskog uspjeha, 2 (0–4) prema 3 (0–6; *p*=0,038). Između skupina nisu utvrđene značajne razlike u pseudofakiji, morfološkom tipu DME ni stupnju NPDR.

Tablica 3. Oftalmološke karakteristike ispitivanih skupina.

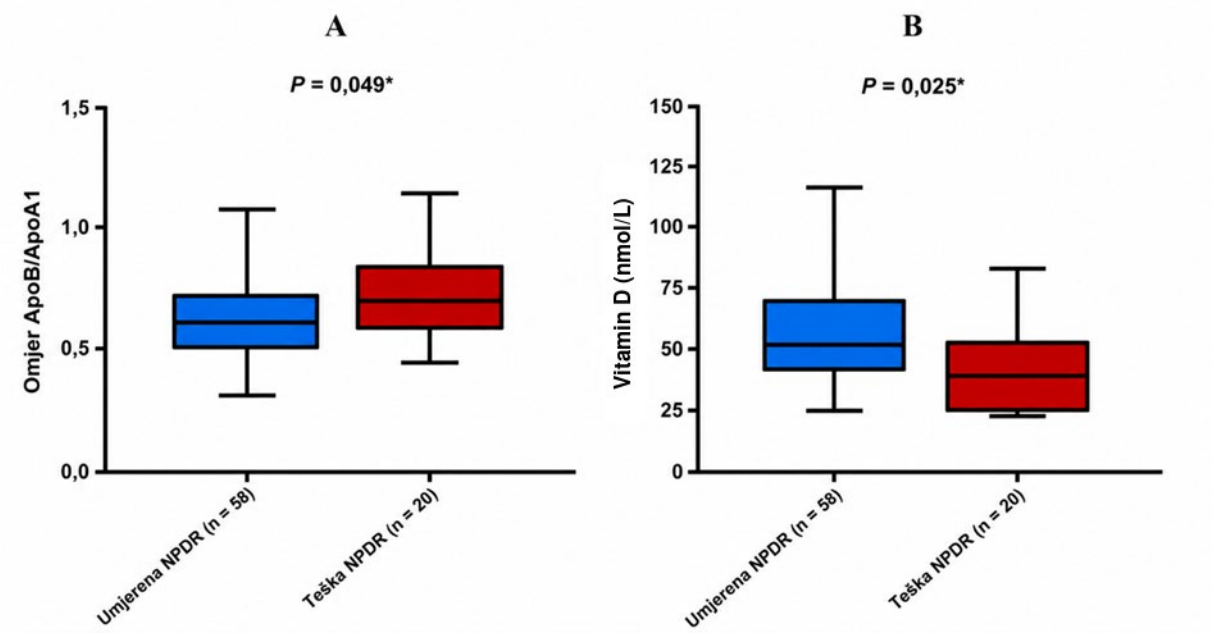
Varijable	Svi ispitanici (N=78)	Skupina ispitanika s terapijskim uspjehom (N=40)	Skupina ispitanika bez terapijskog uspjeha (N=38)	p-vrijednost
Početna BCVA (logMAR)	0,40 (0,30–1,00)	0,56 (0,35–1,30)	0,35 (0,22-0,70)	**0,020**‡
Konačna BCVA (logMAR)	0,35 (0,20–0,70)	0,35 (0,18–0,65)	0,33 (0,22–0,70)	0,409‡
ΔBCVA (logMAR)	−0,09 (−0,18 - 0,00)	−0,18 (−0,48 - −0,10)	0,00 (−0,06 - 0,00)	**<0,001**‡
Početna CMT (μm)	421 (352–481)	460 (370–504)	409 (350–448)	**0,032**‡
Konačna CMT (μm)	372 (303–430)	344 (291–391)	404 (334–450)	**0,006**‡
ΔCMT (μm)	−44 (−88 - −14)	−88 (−137 - −65)	−12 (−23 - 7)	**<0,001**‡
Pseudofakija, N (%)	18 (23,1)	8 (20,0)	10 (26,3)	0,511†
Tip makularnog edema, N (%)				
CME	41 (52,6)	23 (57,5)	18 (47,4)	0,549†
SLDRT	34 (43,6)	15 (37,5)	19 (50,0)	
SRF	3 (3,8)	2 (5,0)	1 (2,6)	
Broj prethodnih antiVEGF injekcija	3 (0–5)	2 (0–4)	3 (0–6)	**0,038**‡
Stadij DR, N (%)				
Umjerena NPDR	58 (74,4)	33 (82,5)	25 (65,8)	0,093†
Teška NPDR	20 (25,6)	7 (17,5)	13 (34,2)	

† Hi-kvadrat test. ‡ Mann–Whitney U test. Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, medijan (interkvartilni raspon, IQR) ili broj (%). Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *Početna BCVA (engl. best corrected visual acuity)- početna najbolje korigirana vidna oštrina; konačna BCVA- konačna najbolje korigirana vidna oštrina; ΔBCVA- promjena najbolje korigirane vidne oštrine između završnog i početnog mjerenja; početna CMT (engl. central macular thickness)- početna centralna debljina makule; konačna CMT- konačna centralna debljina makule; ΔCMT- promjena centralne debljine makule između završnog i početnog mjerenja; CME- cistoidni makularni edem; SLDRT (engl. sponge-like diffuse retinal thickening)- spužvasto difuzno zadebljanje retine; SRF (engl. subretinal fluid)- subretinalna tekućina; umjerena NPDR- umjerena neproliferativna dijabetička retinopatija; teška NPDR- teška neproliferativna dijabetička retinopatija.*

Serumske koncentracije ApoA1 i ApoB te omjer ApoB/ApoA1 nisu se značajno razlikovali između skupina ispitanika s i bez terapijskog uspjeha. Medijan omjera ApoB/ApoA1 iznosio je 0,62 (0,51–0,72) u skupini ispitanika s terapijskim uspjehom u odnosu na 0,62 (0,48–0,74) u skupini ispitanika bez terapijskog uspjeha (p=1,000). Nije utvrđena ni značajna razlika između skupina u koncentraciji serumskog vitamina D.

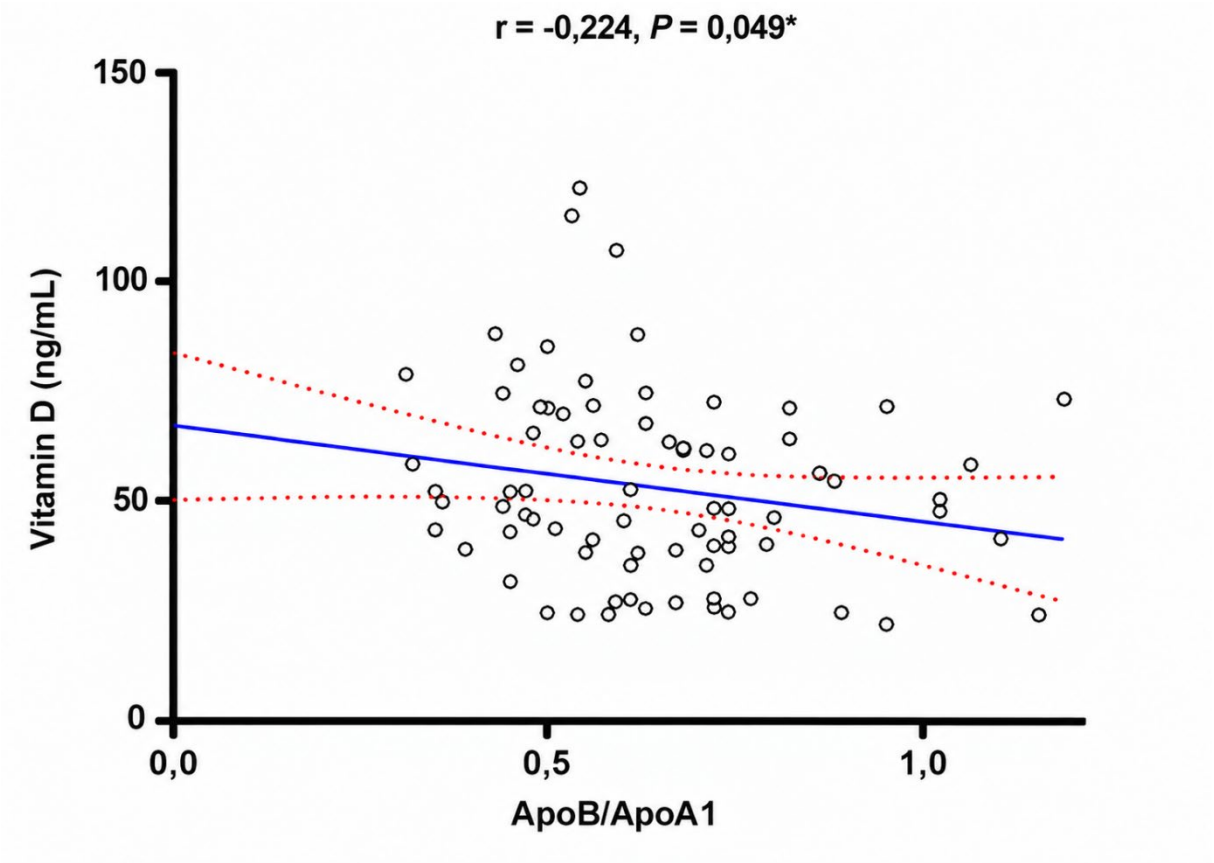
Ispitanici s teškim stupnjem NPDR imali su značajno viši omjer ApoB/ApoA1 u usporedbi s ispitanicima s umjerenim stupnjem NPDR; 0,70 (0,57–0,87) naspram 0,61 (0,49–0,72; p=0,049) (Slika 6A). Nadalje, ispitanici s teškim stupnjem NPDR imali su značajno niže serumske koncentracije vitamina D u usporedbi s ispitanicima s umjerenim stupnjem NPDR (40,05 (25,95–55,30) nmol/L naspram 52,45 (43,10–70,60) nmol/L; p=0,025) (Slika 6B). Sukladno tome, utvrđena je slaba negativna korelacija između serumske koncentracije vitamina D i omjera ApoB/ApoA1 (r=−0,224; p=0,049) (Slika 7). Razlike u različitim ispitivanim varijablama između pojedinih stupnjeva težine NPDR prikazane su u Tablici 4. Nije pronađena statistički značajna razlika u vrijednostima NLR, MLR, PLR i SII s obzirom na težinu NPDR.



Slika 6. (A) Usporedba omjera apolipoproteina B i A1 između različitih stupnjeva težine NPDR. (B) Usporedba serumskih vrijednosti vitamina D između različitih stupnjeva težine NPDR.

*Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon). *Mann–Whitney U test.*

Popis kratica: *Omjer ApoB/ApoA1- omjer apolipoproteina B i apolipoproteina A1; umjerena NPDR- umjerena neproliferativna dijabetička retinopatija; teška NPDR- teška neproliferativna dijabetička retinopatija.*



Slika 7. Korelacija između serumskih vrijednosti vitamina D i omjera ApoB/ApoA1.

**Spearmanov koeficijent korelacije.*

Popis kratica: *ApoB/ApoA1- omjer apolipoproteina B i A1.*

Ispitanici s teškim stupnjem NPDR imali su i značajno niži omjer HDL-kolesterola i ApoB u odnosu na ispitanike s umjerenim stupnjem NPDR; 1,10 (0,89–1,60) naspram 1,54 (1,17–1,98; *p*=0,012). Vrijednosti NLR, MLR, PLR i SII, kao ni omjer monocita i ApoA1, nisu se statistički značajno razlikovali između ispitanika s umjerenim i teškim NPDR (Tablica 4).

Tablica 4. Razlike u ispitivanim varijablama između pojedinih stupnjeva težine NPDR.

Varijable	Stupanj težine NPDR		p-vrijednost*
	Umjerena NPDR	Teška NPDR	
HDL kolesterol/ApoB	1,54 (1,17-1,98)	1,10 (0,89-1,60)	**0,012**
Monociti/ApoA1	0,32 (0,25-0,39)	0,36 (0,27-0,43)	0,243
NLR	2,45 ± 1,05	2,26 ± 0,73	0,465
MLR	0,25 ± 0,09	0,27 ± 0,10	0,334
PLR	124,1 ± 47,5	112,9 ± 58,0	0,396
SII	579,7 ± 290,8	492,5 ± 262,1	0,240

**Mann–Whitney U test.*

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon), ovisno o distribuciji podataka.

Popis kratica: *NPDR- neproliferativna dijabetička retinopatija; ApoB/ApoA1- omjer apolipoproteina B i apolipoproteina A1; HDL (engl. high density lipoprotein) kolesterol/apoB- omjer kolesterola visoke gustoće i apolipoproteina B; Monociti/ApoA1- omjer monocita i apolipoproteina A1; NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno-limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (engl. systemic imunne inflamation index)- sistemski imuno-upalni indeks.*

Multivarijatne linearne regresijske analize pokazale su da su više vrijednosti NLR, PLR, MLR i SII povezane s manjim smanjenjem CMT nakon intravitrealne primjene bevacizumaba, neovisno o dobi, spolu, trajanju šećerne bolesti i koncentraciji CRP (Tablica 5).

Tablica 5. Univarijatni i multivarijatni linearni regresijski modeli za odabrane biomarkere kao prediktore promjene CMT nakon intravitrealne terapije bevacizumabom.

Varijable	Univarijatni regresijski model		Multivarijatni regresijski model	
	r-korelacijski koeficijent	p-vrijednost	β ± SE	p-vrijednost
NLR	0,48	**<0,001**	7,58 ± 1,59	**<0,001**
MLR	0,49	**<0,001**	98,4 ± 17,9	**<0,001**
PLR	0,35	**0,002**	0,11 ± 0,03	**0,002**
SII	0,47	**<0,001**	0,03 ± 0,01	**<0,001**

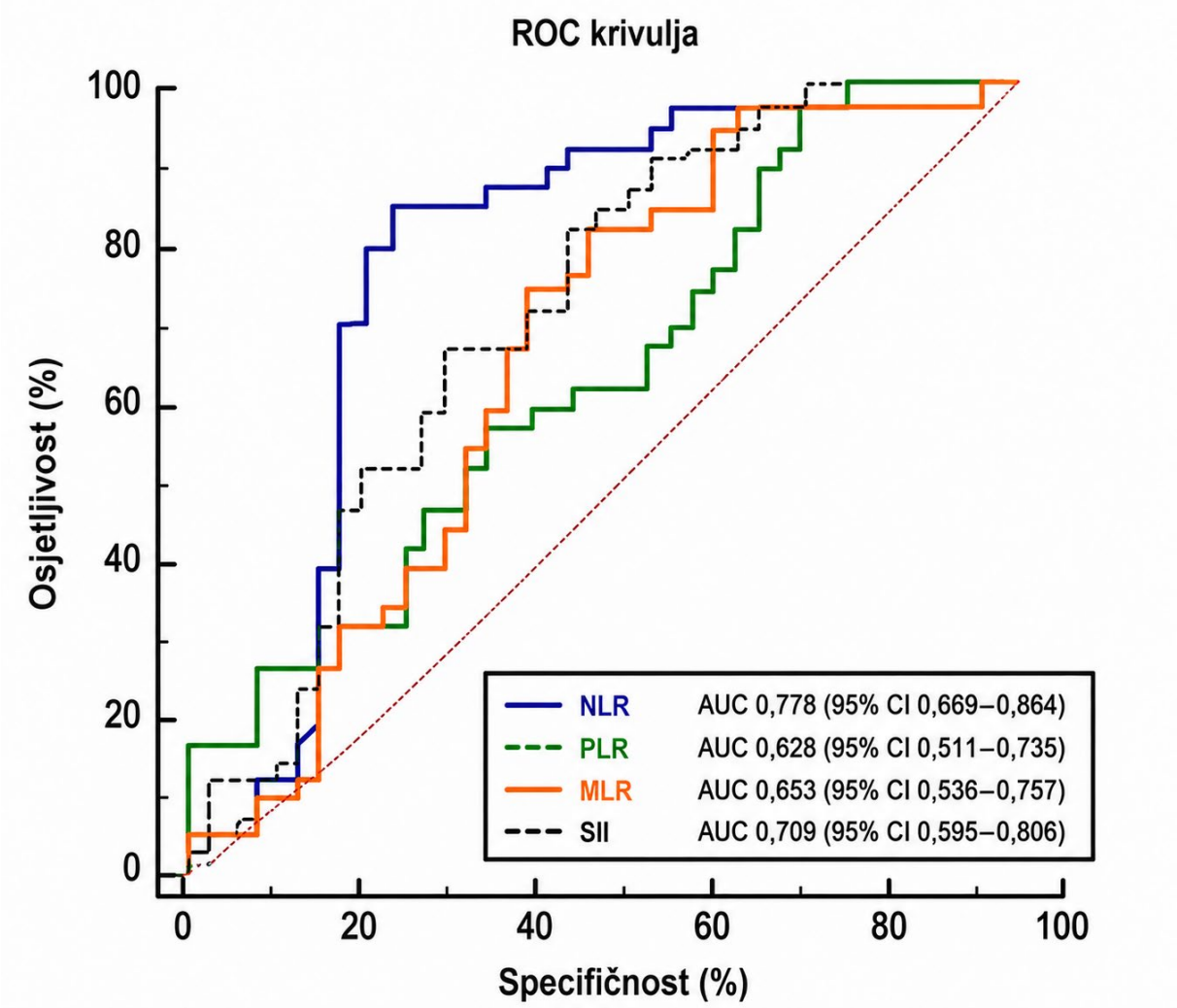
Sve multivarijatne linearne regresijske analize provedene su zasebno za svaki analizirani omjer (NLR, MLR, PLR i SII) te su prilagođene kovarijantama dobi, spola, C-reaktivnog proteina i trajanja bolesti. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *CMT (engl. central macular thickness)- centralna debljina makule; NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno- limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (systemic imunne inflamation index)- sistemski imuno-upalni indeks; β- standardizirani beta koeficijent; SE (engl. standard error)- standardna pogreška.*

Analizom ROC (*engl. receiver operating characteristics*) krivulja otkriveno je da su NLR, PLR, MLR i SII značajni prediktori odgovora na terapiju bevacizumabom u bolesnika s NPDR i DME (Slika 8). Među analiziranim pokazateljima, NLR je pokazao najveću površinu ispod ROC krivulje (AUC 0,778; 95% CI 0,669–0,864; p<0,001), što upućuje na njegovu najveću diskriminacijsku sposobnost u predviđanju odgovora na intravitrealnu terapiju bevacizumabom.

Nadalje, multivarijatnom logističkom regresijskom analizom potvrđeno je da svi navedeni indeksi ostaju statistički značajni i nakon prilagodbe za dob, spol, trajanje bolesti i koncentraciju C-reaktivnog proteina (Tablica 6).

Korelacije između promjene CMT i odabranih biomarkera prikazane su u Tablici 7. Signifikantna negativna korelacija je utvrđena za početni CMT (r=-0,310; p=0,001) i početnu BCVA (r=-0,224; p=0,031).



Slika 8. ROC analiza prediktora odgovora na intravitrealnu terapiju bevacizumabom u bolesnika s DME.

Popis kratica: *ROC (engl. receiver operating characteristics); NPDR- neproliferativna dijabetička retinopatija; NLR (engl. neutrophil- lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte- lymphocyte ratio)- monocitno- limfocitni omjer; PLR (engl. platelet-lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (systemic imunne inflamation index)- sistemski imuno-upalni indeks; AUC (engl. area under the curve)- površina ispod krivulje; CI (engl. confidence interval)- interval pouzdanosti.*

U odvojenim multivarijatnim logističkim regresijskim modelima, prilagođenima za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i CRP, više vrijednosti svih četiriju upalnih indeksa bile su povezane s manjom vjerojatnošću terapijskog uspjeha (Tablica 7).

Tablica 6. Multivarijatni logistički regresijski model za odabrane biomarkere kao prediktore terapijskog odgovora na intravitrealnu terapiju bevacizumabom.

Varijable	**Multivarijatni model**	
	OR (95% CI)	**p-vrijednost**
NLR	0,297 (0,138-0,642)	**0,002**
MLR	0,001 (0,001-0,240)	**0,017**
PLR	0,987 (0,977-0,998)	**0,018**
SII	0,996 (0,994-0,999)	**0,002**

Sve multivarijatne logističke regresijske analize provedene su zasebno za svaki analizirani omjer (NLR, MLR, PLR i SII) te su prilagođene kovarijantama dobi, spola, koncentracije C-reaktivnog proteina i trajanja bolesti. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno- limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (systemic imunne inflamation index)- sistemski imuno-upalni indeks; OR (engl. odds ratio)- omjer izgleda; CI (engl. confidence interval) - interval pouzdanosti.*

Tablica 7. Korelacija između promjene CMT nakon intravitrealne terapije bevacizumabom i odabranih biomarkera.

Varijable	r-koeficijent korelacije*	p-vrijednost
Početna BCVA	-0,224	**0,031**
Početni CMT	-0,310	**0,001**
Trajanje T2DM	0,072	0,530
Početni HbA1c	-0,080	0,489
Vitamin D	0,105	0,288
ApoB/ApoA1	0,052	0,586
HDL/ApoB	-0,083	0,466
Monociti/ApoA1	0,173	0,130

** Spearmanov koeficijent korelacije. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.*

Popis kratica: *BCVA (engl. best corrected visual acuity)- najbolje korigirana vidna oštrina; CMT (engl. central macular thickness)- centralna debljina makule; T2DM (engl. type 2 diabetes mellitus)- šećerna bolest tipa 2; HbA1c- hemoglobin A1c; ApoB/ApoA1- omjer apolipoproteina B i apolipoproteina A1; HDL (engl. high density lipoprotein)/apoB- omjer kolesterola visoke gustoće i apolipoproteina B; Monociti/ApoA1- omjer monocita i apolipoproteina A1.*

Dodatnom analizom, u koju su uključeni podaci svih 105 očiju (od 78 ispitanika njih 27 je imalo bilateralne DME), kompozitni terapijski odgovor zabilježen je u 38 očiju (36,2%). U univarijatnim linearnim mješovitim modelima više vrijednosti NLR, PLR, MLR i SII bile su statistički značajno povezane s postotnom promjenom CMT i BCVA ($p \leq 0,001$). Nakon prilagodbe modela za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i CRP, samo je MLR ostao statistički značajno povezan s postotnom promjenom CMT ($\beta=62,45 \pm 19,87$; $p=0,002$). Povezanost SII s promjenom CMT bila je granične statističke značajnosti ($\beta=0,02 \pm 0,01$; $p=0,063$), dok NLR i PLR nisu bili značajno povezani s ovim ishodom (Tablica 8).

Tablica 8. Linearni univarijatni mješoviti modeli povezanosti ispitivanih biomarkera s promjenom CMT i BCVA nakon intravitrealne terapije bevacizumabom, uz uključivanje svih dostupnih očiju.

Varijable	CMT		BCVA	
	β ± SE	p-vrijednost	β ± SE	p-vrijednost
NLR	8,55 ± 1,47	**<0,001**	16,49 ± 3,73	**<0,001**
PLR	0,13 ± 0,03	**<0,001**	0,26 ± 0,08	**0,001**
MLR	95,57 ± 16,63	**<0,001**	172,2 ± 42,29	**<0,001**
SII	0,03 ± 0,01	**<0,001**	0,05 ± 0,01	**<0,001**

Svaki upalni indeks analiziran je u zasebnom linearnom mješovitom modelu, uz uključivanje slučajnog učinka ispitanika radi uzimanja u obzir povezanosti očiju istoga bolesnika. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno- limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio) - trombocitno- limfocitni omjer; SII (engl. systemic immune-inflammation index)- sistemski imunoupalni indeks; β – nestandardizirani regresijski koeficijent; SE (engl. standard error) – standardna pogreška.*

U multivarijatnim linearnim miješovitim modelima nijedan od četiriju upalnih indeksa nije bio statistički značajno povezan s postotnom promjenom BCVA, iako je za MLR zabilježen trend povezanosti (β=89,78 ± 52,80; p=0,094) (Tablica 9).

Tablica 9. Linearni multivarijatni mješoviti modeli povezanosti ispitivanih biomarkera s promjenom CMT i BCVA nakon intravitrealne terapije bevacizumabom, uz uključivanje svih dostupnih očiju.

Varijable	CMT		BCVA	
	β ± SE	p-vrijednost	β ± SE	p-vrijednost
NLR	2,17 ± 2,46	0,382	8,97 ± 6,61	0,180
PLR	-0,07 ± 0,06	0,214	0,06 ± 0,15	0,677
MLR	62,45 ± 19,87	**0,002**	89,78 ± 52,8	0,094
SII	0,02 ± 0,01	0,063	0,001 ± 0,03	0,932

U modele je uključen slučajni učinak ispitanika radi uzimanja u obzir povezanosti između očiju istoga bolesnika. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *CMT (engl. central macular thickness) – središnja debljina makule; BCVA (engl. best corrected visual acuity) – najbolje korigirana vidna oštrina; NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)- neutrofilno- limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)- monocitno- limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)- trombocitno- limfocitni omjer; SII (systemic imunne-inflamation index)- sistemski imuno-upalni indeks; β – nestandardizirani regresijski koeficijent; SE (engl. standard error) – standardna pogreška.*

U zasebnim GEE modelima, prilagođenima za dob, spol, trajanje dijabetesa i CRP, više vrijednosti NLR, PLR, MLR i SII bile su povezane s manjim izgledima dobrog terapijskog odgovora (p<0,001, p=0,043, p=0,001, p=0,001) (Tablica 10). Porast NLR za jednu jedinicu je bio povezan s približno 80% manjim izgledima dobrog terapijskog odgovora (OR=0,20; 95% CI 0,09-0,43). U multivarijatnom modelu NLR je zadržao negativnu povezanost s terapijskim odgovorom (OR=0,20; 95% CI 0,05-0,75; p=0,017), dok PLR, MLR i SII nisu bili statistički značajni nakon međusobne prilagodbe (p=0,120, p=0,244, p=0,511). Model s NLR imao je najniže vrijednosti informacijskih kriterija među ispitivanim modelima (QIC=113,681; QIC=114,643), a uključivanje svih pokazatelja nije poboljšalo te kriterije (QIC=115,316; QIC=117,686). Nalazi podupiru konzistentnu povezanost viših vrijednosti NLR s manjim izgledima dobrog terapijskog odgovora u ovom uzorku.

Tablica 10. Univarijatni i multivarijatni GEE modeli povezanosti upalnih indeksa s kompozitnim terapijskim odgovorom nakon intravitrealne terapije bevacizumabom.

Varijable	Univarijatni		Multivarijatni	
	β ± SE	**p-vrijednost**	**β ± SE**	**p-vrijednost**
NLR	-1,62 ± 0,39	**<0,001**	-1,60 ± 0,67	**0,017**
PLR	-0,01 ± 0,004	**0,043**	0,02 ± 0,01	0,120
MLR	-10,47 ± 3,19	**0,001**	-5,65 ± 4,86	0,244
SII	-0,003 ± 0,0009	**0,001**	-0,001 ± 0,002	0,511

Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *GEE (engl. generalized estimating equations) – generalizirane procjenjivačke jednadžbe; NLR (engl. neutrophil to lymphocyte ratio)– neutrofilno-limfocitni omjer; MLR (engl. monocyte to lymphocyte ratio)– monocitno-limfocitni omjer; PLR (engl. platelet to lymphocyte ratio)– trombocitno-limfocitni omjer; SII (engl. systemic immune-inflammation index)– sistemski imunoupalni indeks; β – regresijski koeficijent; SE (engl. standard error)– standardna pogreška.*

4.2. Rezultati istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“

U istraživanje je uključeno ukupno 150 ispitanika, od čega 91 bolesnik sa T2DM (28 dijabetičara bez znakova DR i 63 dijabetičara s NPDR) i 59 zdravih kontrolnih ispitanika. Osnovna obilježja ispitanika prikazana su u Tablici 11.

Tablica 11. Osnovne karakteristike ispitivanih skupina.

Svi ispitanici			
Varijable	**Zdrave kontrole (N=59)**	**Ispitanici s T2DM (N=91)**	**p-vrijednost**
Muškarci, N (%)	33 (56)	56 (61)	0,521†
Dob (godine)	65 (60-70)	69 (61-74)	0,008‡
BMI (kg/m^2)	27 (25-30)	28 (26-30)	0,284‡
AH, N (%)	38 (64)	70 (77)	0,152†
Ispitanici s T2DM			
Varijable	**Ispitanici bez DR (N=28)**	**Ispitanici s DR (N=63)**	**p-vrijednost**
Muškarci, N (%)	24 (85)	32 (50)	0,437†
Dob (godine)	71 (65-77)	68 (59-73)	0,047‡
BMI (kg/m^2)	29 (27-31)	27 (25-30)	**0,025**‡
AH, N (%)	22 (79)	51 (81)	0,651†
Trajanje T2DM (godine)	10 (5-18)	17 (10-25)	**0,002**‡
HbA1c (%)	7 (6-8)	7 (7-8)	0,172‡
eGFR (ml/min/1.73m^2)	82 (70-93)	75 (56-86)	**0,030**‡
BCVA DO (Snellen)	0,9 (0,5-1,0)	0,4 (0,1-0,5)	**<0,001**‡
BCVA LO (Snellen)	0,8 (0,4-0,9)	0,4 (0,3-0,5)	**<0,001**‡
CMT DO (μm)	259 (242-283)	413 (351-486)	**<0,001**‡
CMT LO (μm)	259 (239-280)	439 (370-479)	**<0,001**‡

†Hi-kvadrat test. ‡Mann–Whitneyjev U test. Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, medijan (interkvartilni raspon, IQR) ili broj (%). Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *T2DM (engl. type 2 diabetes mellitus)- šećerna bolest tipa 2; BMI (engl. body mass index)- indeks tjelesne mase; AH- arterijska hipertenzija; DR- dijabetička retinopatija; HbA1c- hemoglobin A1c; eGFR (engl. estimated glomerular filtration rate)- procijenjena brzina glomerularne filtracije; BCVA (engl. best corrected visual acuity)- najbolje korigirana vidna oštrina; CMT (engl. central macular thickness)- centralna debljina makule; DO- desno oko; LO- lijevo oko.*

Pri usporedbi serumskih koncentracija CST između bolesnika s T2DM i zdravih kontrolnih ispitanika nije utvrđena statistički značajna razlika. Zdravi kontrolni ispitanici imali su medijan koncentracije CST od 16 ng/mL (IQR 8-23), dok je u bolesnika s T2DM medijan iznosio 14 ng/mL (IQR 8-26) (p=0,693) (Tablica 12).

Ispitanici s T2DM bez DR imali su medijan koncentracije CST od 10 ng/mL (IQR 7–25), dok su ispitanici s DR imali značajno više vrijednosti od 14 ng/mL (IQR 10–26; p=0,034) (Tablica 12).

Tablica 12. Vrijednosti katestatina po ispitivanim skupinama.

Skupina	N	CST (ng/ml)	p-vrijednost
Svi ispitanici			
Zdrave kontrole	59	16 (8-23)	0,693‡
Ispitanici s T2DM	91	14 (8-26)	
Kontrolna skupina- usporedba prema AH			
Bez AH	21	6 (3-8)	**<0,001‡**
S AH	38	20 (16-28)	
Ispitanici s T2DM- usporedba prema DR			
Bez DR	28	10 (7-25)	**0,034‡**
S DR	63	14 (10-26)	

‡Mann–Whitneyjev U test. Podaci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon, IQR). Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *AH- arterijska hipertenzija; T2DM (engl. type 2 diabetes mellitus)- šećerna bolest tipa 2; DR- dijabetička retinopatija.*

Zdravi kontrolni ispitanici bez AH imali su najniže koncentracije CST, s medijanom od 6 ng/mL (IQR 3–8) (Tablica 12), dok su ispitanici s T2DM bez AH imali značajno više koncentracije CST, koje su iznosile 11 ng/mL (IQR 7–19; p= 0,004) (Tablica 13).

Tablica 13. Vrijednosti katestatina prema prisutnosti arterijske hipertenzije i šećerne bolesti tipa 2.

Skupina	N	CST (ng/ml)	p-vrijednost
Svi ispitanici- usporedba prema AH			
Bez AH	42	8 (5-14)	**<0,001‡**
S AH	108	18 (10-28)	
Ispitanici bez AH- usporedba prema T2DM			
Bez T2DM	21	6 (3-8)	**0,004‡**
S T2DM	21	11 (7-19)	

‡Mann–Whitneyjev U test. Vrijednosti su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon, IQR). Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

Popis kratica: *CST- katestatin; AH- arterijska hipertenzija; T2DM (type 2 diabetes mellitus)- šećerna bolest tipa 2*

U multivarijatnom linearnom regresijskom modelu primijenjenom na cjelokupnu populaciju ispitanika, AH identificirana je kao najjači neovisni prediktor serumskih koncentracija CST. Nakon prilagodbe za T2DM, spol, dob i BMI, AH je bila pozitivno povezana sa značajno višim koncentracijama CST (β=0,562; p<0,001), što odgovara približno trostruko višim vrijednostima u odnosu na normotenzivne ispitanike (Tablica 13). T2DM također je bila neovisni prediktor viših koncentracija CST (β=0,385; p<0,001), iako je njezin učinak bio slabiji od učinka AH.

Važno je istaknuti da je interakcijski član T2DM × AH bio statistički značajan i negativan (β=−0,512; p<0,001), što upućuje na to da je učinak AH na koncentraciju CST značajno oslabljen unutar skupine ispitanika s T2DM (Tablica 14). Drugim riječima, iako AH snažno povećava koncentracije CST u općoj populaciji, taj je učinak manje izražen u ispitanika s T2DM, što pokazuje da zajednički učinci T2DM i AH nisu aditivni. Ovaj nalaz u skladu je s deskriptivnim analizama koje su pokazale nerazmjerno visoke koncentracije CST u hiperten-

zivnih ispitanika bez šećerne bolesti. Model je pokazao dobru sposobnost objašnjavanja varijabilnosti podataka (prilagođeni R^2=0,301), a među uključenim prediktorima nije utvrđena značajna kolinearnost.

Tablica 14. Multivarijatna linearna regresijska analiza.

Varijable	Standardizirana β	p-vrijednost*
Svi ispitanici		
T2DM	0,385	**<0,001**
AH	0,562	**<0,001**
Spol	-0,094	0,085
Dob	0,007	0,080
BMI	0,008	0,185
T2DM × AH	-0,512	**<0,001**
Ispitanici s T2DM		
AH	0,060	0,581
Spol	-0,085	0,448
Dob	0,148	0,249
BMI	0,200	0,069
DR	0,251	**0,028**
HbA1c	0,062	0,558
LDL kolesterol	-0,162	0,118
eGFR	-0,183	0,122

Povezanost ispitivanih čimbenika s ishodnom varijablom analizirana je višestrukom linearnom regresijom. Rezultati su prikazani kao standardizirani regresijski koeficijenti (β) i pripadajuće p-vrijednosti. Podebljane su statistički značajne p-vrijednosti.

** Statistička značajnost multivarijatnog regresijskog modela.*

Popis kratica: *T2DM (engl. type 2 diabetes mellitus)- šećerna bolest tipa 2; AH- arterijska hipertenzija; BMI (engl. body mass index)- indeks tjelesne mase; T2DM (engl. type 2 diabetes mellitus) × AH- interakcija šećerne bolesti tipa 2 i arterijske hipertenzije; DR- dijabetička retinopatija; HbA1c- hemoglobin A1c; LDL (engl. low density lipoprotein) kolesterol- kolesterol niske gustoće; eGFR (engl. estimated glomerular filtration rate)- procijenjena brzina glomerularne filtracije.*

U multivarijatnom linearnom regresijskom modelu ograničenom na ispitanike s T2DM, kao prediktori su uključeni AH, spol, dob, BMI, HbA1c, LDL kolesterol, eGFR te prisutnost DR. Nakon potpune prilagodbe modela, DR pokazala se jedinim neovisnim prediktorom serumskih koncentracija CST (β=0,251; p=0,028) (Tablica 14).

Koncentracije CST nisu pokazale statistički značajnu razliku između pojedinih stadija NPDR (p=0,106). Medijani koncentracija bili su numerički viši u težim stupnjevima NPDR, ali navedena razlika nije dosegnula statističku značajnost.

5. RASPRAVA

5.1. Rasprava istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“

Unatoč značajnom napretku postignutom primjenom intravitrealne anti-VEGF terapije, odgovor na navedenu terapiju među bolesnicima s DME izrazito je heterogen. Dio bolesnika postiže brzo i izraženo anatomsko i funkcionalno poboljšanje, dok je u drugih terapijski odgovor nepotpun ili izostaje. Prepoznavanje jednostavnih i lako dostupnih biomarkera koji bi mogli biti povezani s odgovorom na intravitrealnu anti-VEGF terapiju stoga bi moglo imati kliničko značenje. U ovom prospektivnom istraživanju početne vrijednosti hematoloških upalnih indeksa NLR, MLR, PLR i SII bile su statistički značajno niže u ispitanika koji su nakon triju intravitrealnih injekcija bevacizumaba ostvarili definirani terapijski uspjeh nego u onih koji ga nisu ostvarili. U zasebnim logističkim modelima, nakon prilagodbe za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i koncentraciju CRP, više vrijednosti svakog od četiriju indeksa bile su povezane s manjim izgledima ostvarivanja terapiskog uspjeha. Nasuprot tome, nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentracijama vitamina D i apolipoproteina te omjeru ApoB/ApoA1 između skupina s definiranim terapijskim uspjehom i bez njega. Niže koncentracije vitamina D i viši omjer ApoB/ApoA1 bili su povezani s težim stupnjem NPDR.

Povezanost hematoloških upalnih indeksa s terapijskim ishodom može se razmatrati u okviru složene patogeneze DME. Povećana vaskularna propusnost i nakupljanje tekućine u mrežnici nastaju međudjelovanjem metaboličkih, vaskularnih, upalnih i neuroglijalnih procesa, pri čemu VEGF ima važnu, ali ne isključivu ulogu (35, 36, 54–56). Brojna istraživanja pokazala su da se u staklovini i serumu bolesnika s DME nalaze povišene koncentracije različitih proupalnih citokina, uključujući IL-6, IL-8, TNF-α, MCP-1 i ICAM-1 (42, 45, 46, 54, 55). Stoga, povezanost hematoloških upalnih indeksa s terapijskim odgovorom može biti u skladu s doprinosom sistemske upale dijabetičkoj bolesti mrežnice. Međutim, bez istodobnog određivanja intraokularnih upalnih medijatora nije moguće utvrditi u kojoj mjeri ti indeksi odražavaju lokalnu retinalnu upalu. Prethodna istraživanja i metaanalize povezivale su hematološke upalne indekse s prisutnošću i težinom DR (109-111). Naši rezultati su u skladu s prethodnim istraživanjima koja su također proučavala povezanost hematoloških upalnih pokazatelja s odgovorom DME na anti-VEGF terapiju. Yalınbaş Yeter i suradnici utvrdili su moguću vrijednost NLR i omjera monocita i HDL-kolesterola u predviđanju DME i ranog odgovora na anti-VEGF terapiju (112). Hu i suradnici pokazali su povezanost početnog NLR s ishodom liječenja ranibizumabom (113), dok su Karimi i

suradnici potvrditi povezanost broja leukocita, leukocitnih omjera i kliničkog ishoda nakon primjene bevacizumaba (114). Novije istraživanje Gu i suradnika je također povezalo više vrijednosti istraživanih upalnih indeksa s nepovoljnijim terapijskim odgovorom nakon liječenja DME trima uzastopnim intravitrealnim injekcijama ranibizumaba (154). Dodatna analiza podataka svih 105 očiju, uz uvažavanje povezanosti dvaju očiju istog bolesnika, pružila je precizniji uvid u kompozitni odgovor. U zasebnim prilagođenim GEE modelima više vrijednosti NLR, PLR, MLR i SII bile su povezane s manjim izgledima terapijskog uspjeha. Porast NLR za jednu jedinicu bio je povezan s približno 80 % manjim izgledima terapijskog uspjeha (OR = 0,20; 95 % CI 0,09–0,43). U zajedničkom modelu, u koji su istodobno uključena sva četiri indeksa, NLR je zadržao statistički značajnu povezanost s terapijskim odgovorom, dok PLR, MLR i SII nisu. Ovaj nalaz izdvaja NLR kao pokazatelj koji je u analiziranom uzorku najdosljednije povezan s kompozitnim terapijskim odgovorom. NLR je imao i najveću površinu ispod ROC krivulje među ispitivanim indeksima (AUC = 0,778; 95 % CI 0,669–0,864), što upućuje na umjerenu diskriminacijsku sposobnost u ovom uzorku. Taj rezultat podupire njegovu moguću prognostičku vrijednost, ali sam po sebi nije dovoljan za korištenje u smislu samostalnog kliničkog testa. Međutim, u kombinaciji s kliničkim statusom, početnom BCVA i CMT uvelike može pridonijeti određivanju terapijskog odgovora na anti-VEGF terapiju.

U zasebnim multivarijabilnim linearnim modelima koji su uključivali jedno odabrano oko po ispitaniku više vrijednosti svih četiriju indeksa bile su povezane s manjim smanjenjem CMT, uz prilagodbu za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i CRP. Međutim, u prilagođenim mješovitim modelima koji su obuhvatili svih 105 očiju samo je MLR bio statistički značajno povezan s postotnom promjenom CMT-a. Za postotnu promjenu BCVA nije utvrđena statistički značajna povezanost ni s jednim od četiriju indeksa. Rezultati stoga ne podupiru jednako njihovu povezanost sa svim sastavnicama terapijskog odgovora te upućuju na važnost zasebnog razmatranja kompozitnog, anatomskog i funkcionalnog ishoda.

Analiza oftalmoloških pokazatelja pokazala je da su ispitanici koji su odgovorili terapijskim uspjehom imali veću početnu CMT i lošiju početnu BCVA. Veća početna CMT bila je povezana s izraženijim smanjenjem CMT nakon liječenja, a značajna povezanost utvrđena je i između početne BCVA i promjene CMT. Ovakvi rezultati mogu se objasniti većim potencijalom za anatomsko poboljšanje u ispitanika s izraženijim početnim edemom. Sličan utjecaj početnog CMT i vidne oštrine na veličinu promjene tijekom anti-VEGF liječenja opisan je u istraživanju Protocol T (155). Nadalje, ispitanici koji su prethodno primili veći broj anti-VEGF injekcija pokazivali su slabiji odgovor, što može upućivati na razvoj

kroničnih strukturnih promjena mrežnice ili smanjenu osjetljivost na liječenje (106-108). Zbog opservacijskog dizajna nije moguće zaključiti da je veći broj injekcija uzrokovao slabiji odgovor niti pouzdano govoriti o razvoju tahifilaksije bez dodatnih podataka. Vjerojatnije je da broj prethodnih injekcija djelomično označava težinu, trajanje i refraktornost DME. Nasuprot tome, tip makularnog edema i pseudofakija nisu bili povezani s terapijskim odgovorom.

Bolesnici s teškim stupnjem NPDR imali su viši omjer ApoB/ApoA1, niži omjer HDL-kolesterol/ApoB i niže koncentracije vitamina D od bolesnika s umjerenim stupnjem NPDR. Nalazi za apolipoproteine u skladu su s istraživanjem Sasongko i suradnika, koji su opisali povezanost apolipoproteina i omjera ApoB/ApoA1 s prisutnošću i težinom DR (129). Sustavna pregledna istraživanja lipida i apolipoproteina također podupiru njihovu moguću vrijednost u procjeni DR, uz razlike među istraživanim populacijama (128). Povezanost nižih koncentracija vitamina D s DR opisana je u prethodnim istraživanjima, premda nalazi nisu potpuno ujednačeni (118–122). U ovom istraživanju povezanost tih pokazatelja sa stupnjem bolesti nije bila praćena statistički potvrđenom povezanošću s ranim kompozitnim terapijskim uspjehom. Za razliku od vitamina D i lipidnih pokazatelja, upalni indeksi NLR, MLR, PLR i SII nisu se značajno razlikovali prema težini NPDR. Njihova povezanost s odgovorom na liječenje bevacizumabom ne znači da su ujedno razlikovali umjereni od teškog NPDR u ovom uzorku.

U ovom istraživanju arterijska hipertenzija bila je značajno češća među bolesnicima koji nisu odgovorili na liječenje bevacizumabom. Dugotrajna arterijska hipertenzija dovodi do povećanog hidrostatskog tlaka u retinalnim kapilarama, remodeliranja vaskularne stijenke, endotelne disfunkcije i poremećaja autoregulacije retinalne cirkulacije. Istodobno se povećava ekspresija adhezijskih molekula i proupalnih citokina, što dodatno narušava integritet krvno-retinalne barijere (17, 18, 35, 41, 42, 63). Dokazi o njezinoj povezanosti s anatomskim odgovorom DME na anti-VEGF terapiju su ograničeni. Naši nalazi dodatno podupiru važnost optimalne regulacije arterijskog tlaka kao sastavnog dijela liječenja bolesnika s DME, a ne samo prevencije razvoja retinopatije.

Zanimljiv je i nalaz da je u skupini bez terapijskog odgovora bio veći udio žena. Iako spol nije dokazan prediktor odgovora na anti-VEGF terapiju, pojedina istraživanja ukazuju na moguće spolne razlike u imunološkom odgovoru, razini sistemske upale i funkciji vaskularnog endotela, čak u korist ženskog spola, što je u suprotnosti s našim nalazima (156). Međutim, zbog relativno malog uzorka i neujednačene distribucije ispitanika, ovaj rezultat

treba interpretirati s oprezom. Vjerojatnije je da odražava specifičnosti ispitivane populacije nego univerzalnu biološku razliku između spolova.

. Potrebno je uzeti u obzir ograničenja ovog istraživanja, uključujući relativno mali broj ispitanika, provedbu u jednom centru, jednokratno mjerenje biomarkera te kratko razdoblje praćenja. Odabir oka s boljim terapijskim odgovorom u osnovnoj analizi mogao je pogodovati povoljnijim ishodima i utjecati na procijenjene povezanosti biomarkera s odgovorom na liječenje.

Rezultati upućuju na potencijalnu vrijednost hematoloških upalnih indeksa u istraživanju ranog terapijskog odgovora na bevacizumab. Budući da su NLR, MLR, PLR i SII dostupni iz rutinske kompletne krvne slike, njihovo određivanje ne zahtijeva dodatne troškove ni složene laboratorijske metode. Uključivanje ovih biomarkera u početnu procjenu bolesnika moglo bi pripomoći u identifikaciji osoba s povećanim rizikom slabijeg odgovora na bevacizumab te pridonijeti individualizaciji terapijskog pristupa. Ipak, opažene povezanosti još ne opravdavaju primjenu tih pokazatelja kao samostalnih kriterija za izbor ili promjenu terapije. Potrebna su veća multicentrična istraživanja s duljim praćenjem, odgovarajućom prilagodbom za početna klinička obilježja i validacijom prediktivnih modela. Posebno treba ispitati pružaju li ti indeksi dodatnu prognostičku informaciju povrh kliničkog i OCT nalaza te može li njihova primjena poboljšati donošenje terapijskih odluka.

5.2. Rasprava istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“

Glavni nalazi istraživanja pokazali su da se koncentracije katestatina nisu značajno razlikovale između ispitanika s T2DM i kontrolnih ispitanika, dok su ispitanici s DR imali značajno više koncentracije CST u odnosu na ispitanike bez znakova DR. Nadalje, multivarijatna regresijska analiza pokazala je da je DR jedini neovisni prediktor serumskih koncentracija CST unutar skupine ispitanika s T2DM.

Jedan od najzanimljivijih nalaza ovog istraživanja jest izostanak značajne razlike u koncentracijama CST između ispitanika s T2DM i kontrolnih ispitanika. Ovakav rezultat upućuje na to da sama prisutnost T2DM nije dovoljna za promjenu serumskih koncentracija CST. Budući da CST sudjeluje u regulaciji oslobađanja katekolamina i simpatičko-adrenalne aktivnosti, moguće je pretpostaviti da autonomna disfunkcija povezana s dugotrajnim T2DM može modificirati njegove cirkulirajuće koncentracije (124-129). Međutim, pokazatelji autonomne neuropatije nisu procjenjivani u ovom istraživanju, pa navedeni mehanizam ostaje hipotetski. Također, poznato je da šećerna bolest i AH dijele brojne patofiziološke mehanizme, uključujući oksidativni stres, kroničnu upalu niskog stupnja i endotelnu disfunkciju, koji mogu dodatno modificirati CST koncentracije (126, 128, 129).

S druge strane, značajno više koncentracije CST u ispitanika s DR upućuju na moguću povezanost ovog peptida s mikrovaskularnim komplikacijama šećerne bolesti. DR obilježena je progresivnim oštećenjem retinalne mikrocirkulacije, povećanom vaskularnom propusnošću, ishemijom i aktivacijom neurovaskularnih i angiogenih signalnih putova (35, 36). Eksperimentalna istraživanja pokazala su da CST djeluje na endotelne stanice i može potaknuti angiogenezu putem mehanizma ovisnog o bFGF, dok su njegove povišene vrijednosti dokazane i u ishemičnim strukturama oka (140, 141). Stoga je moguće da povišene koncentracije CST predstavljaju kompenzacijski odgovor organizma na retinalnu ishemiju i neurovaskularnu disfunkciju.

U modelu koji je obuhvatio sve ispitanike utvrđena je statistički značajna interakcija između T2DM i AH, što pokazuje da povezanost AH s koncentracijom CST nije jednaka u ispitanika s T2DM i bez njega. Važno je istaknuti da je interakcijski član T2DM × AH bio statistički značajan i negativan ($\beta = -0{,}512$; $p < 0{,}001$), što označava da je učinak AH na koncentraciju CST značajno oslabljen unutar skupine ispitanika s T2DM. Drugim riječima, iako je AH povezana s višim koncentracijama CST u općoj populaciji, taj je učinak manje izražen u ispitanika s T2DM, što pokazuje da zajednički učinci T2DM i AH nisu aditivni. Ovaj nalaz u

skladu je s deskriptivnim analizama koje su pokazale nerazmjerno visoke koncentracije CST u hipertenzivnih ispitanika bez šećerne bolesti. U modelu ograničenom na ispitanike s T2DM, AH više nije bila značajno povezana s koncentracijom CST. Prisutnost DR bila je jedina varijabla statistički značajno povezana s koncentracijom CST u tom modelu, pri čemu su ispitanici s DR imali više koncentracije CST. Ovaj nalaz upućuje na moguću povezanost CST s mikrovaskularnim i neurovaskularnim opterećenjem u T2DM. Koncentracije CST nisu se statistički značajno razlikovale između pojedinih stupnjeva težine NPDR. Iako su medijani bili numerički viši u težim stupnjevima bolesti, nije dosegnuta statistička značajnost ($p = 0,106$).

Osim prisutnosti DR, na serumske koncentracije CST mogla je utjecati i prisutnost dijabetičke nefropatije. U našem istraživanju ispitanici s DR imali su značajno niži eGFR od bolesnika bez DR, što otvara mogućnost da je dio razlike u koncentraciji CST povezan sa širim mikrovaskularnim opterećenjem i mogućom dijabetičkom nefropatijom. Prethodno istraživanje pokazalo je izrazito povišene koncentracije CST u bolesnika s terminalnim bubrežnim zatajenjem liječenih hemodijalizom (134). U modelu ograničenom na bolesnike s T2DM, eGFR nije bio statistički značajno povezan s CST, dok je DR ostala jedina neovisno povezana varijabla.

Dobiveni rezultati upućuju na moguću istraživačku vrijednost CST kao cirkulirajućeg pokazatelja mikrovaskularnog i neurovaskularnog opterećenja u bolesnika s T2DM. Prije razmatranja kliničke primjene potrebno je potvrditi nalaze u većim populacijama, ispitati dijagnostičku vrijednost CST primjenom ROC analize te provesti longitudinalna istraživanja s ponovljenim mjerenjima. Njegova primjena mogla bi doprinijeti ranijem prepoznavanju bolesnika s povećanim rizikom razvoja DR te potencijalno omogućiti bolje praćenje progresije bolesti.

Istraživanje ima nekoliko ograničenja. Provedeno je u jednom centru, uključivalo je relativno malen broj ispitanika, osobito u skupini bez DR i s pojedinim stupnjevima NPDR, te je obuhvatilo isključivo ispitanike bijele rase. Zbog presječnog dizajna nije moguće utvrditi vremenski ni uzročno- posljedični odnos između koncentracije CST i nastanka DR.

6. ZAKLJUČAK

6.1. Zaključak istraživanja „Utjecaj serumskih biomarkera na rani odgovor DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba“

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da su više početne vrijednosti hematoloških upalnih indeksa NLR, MLR, PLR i SII bile povezane s manjim izgledima ostvarivanja definiranog ranog terapijskog uspjeha u bolesnika s DME i NPDR, procijenjenog četiri tjedna nakon treće intravitrealne injekcije bevacizumaba. Povezanosti su utvrđene u zasebnim modelima nakon prilagodbe za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i CRP. Povezanost upalnih indeksa s terapijskim odgovorom odnosila se na ostvarivanje kompozitnog kriterija koji obuhvaća istodobno anatomsko i funkcionalno poboljšanje. U zasebnim prilagođenim analizama svih očiju samo je MLR bio statistički značajno povezan s promjenom CMT, dok nijedan analizirani upalni indeks nije bio statistički značajno povezan s promjenom BCVA. U zajedničkom GEE modelu svih očiju, koji je uključivao sva četiri indeksa, statistički značajnu povezanost zadržao je samo NLR. NLR je imao i najveću opaženu vrijednost AUC među analiziranim indeksima. Dobiveni rezultati dodatno potvrđuju važnu ulogu sistemske upale u patofiziologiji DME te upućuju na mogućnost primjene jednostavnih hematoloških pokazatelja u procjeni očekivanog terapijskog odgovora. Međutim, na vrijednosti ovih omjera mogu utjecati akutne i kronične infekcije, autoimunosne i hematološke bolesti, bubrežna disfunkcija, pušenje, pretilost te primjena pojedinih lijekova. Osim toga, rezultati se mogu razlikovati ovisno o obilježjima promatrane populacije, stupnju metaboličke kontrole, stupnju retinopatije i vremenu uzimanja uzorka. Zbog navedenih ograničenja hematološke pokazatelje potrebno je tumačiti zajedno s kliničkim, metaboličkim i oftalmološkim nalazima, a ne kao zamjenu za standardne dijagnostičke postupke.

Istraživanje je također utvrdilo da su ispitanici s teškim stupnjem NPDR imali niže koncentracije vitamina D i viši omjer ApoB/ApoA1 od ispitanika s umjerenim stupnjem NPDR. Međutim, ti se pokazatelji nisu statistički značajno razlikovali između ispitanika koji su ostvarili definirani rani terapijski uspjeh i onih koji ga nisu ostvarili. Rezultati stoga upućuju na njihovu povezanost s težinom NPDR, ali ne potvrđuju njihovu vrijednost u predviđanju kratkoročnog terapijskog uspjeha nakon intravitrealne primjene bevacizumaba.

6.2. Zaključak istraživanja „Serumske razine katestatina u zdravih kontrola te u bolesnika s T2DM s i bez kliničke slike DR“

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da serumske koncentracije CST nisu bile povezane sa samom prisutnošću T2DM već s razvojem DR. Bolesnici s DR imali su značajno više koncentracije CST u odnosu na bolesnike bez znakova retinopatije, što upućuje na moguću povezanost CST s razvojem dijabetičke mikrovaskularne bolesti.

Multivarijatna regresijska analiza pokazala je da je u ukupnoj populaciji AH bila najsnažniji neovisni prediktor serumskih koncentracija CST, dok je unutar skupine bolesnika sa T2DM, DR bila jedini neovisni čimbenik povezan s razinama CST. Ovi rezultati sugeriraju da se regulacija CST mijenja tijekom razvoja šećerne bolesti te da njegova koncentracija u dijabetičnoj populaciji prvenstveno odražava prisutnost mikrovaskularnog i neurovaskularnog oštećenja, a ne hemodinamski učinak AH.

Iako nije potvrđena statistički značajna razlika koncentracija CST između pojedinih stupnjeva težine NPDR, uočena je tendencija porasta njegovih vrijednosti s napredovanjem bolesti, što može upućivati na potencijalnu povezanost CST s progresijom retinalnog oštećenja, no za potvrdu ove pretpostavke potrebna su istraživanja na većem broju ispitanika i s longitudinalnim praćenjem.

Dobiveni rezultati podupiru hipotezu da CST predstavlja biomarker koji odražava mikrovaskularni i neurovaskularni stres, a ne metabolički status bolesnika. S obzirom na njegova poznata protuupalna, vazoprotektivna i angiogena svojstva, povećane koncentracije CST u bolesnika s DR mogu predstavljati kompenzacijski odgovor organizma na retinalnu ishemiju, endotelnu disfunkciju i poremećaj neurovaskularne jedinice.

Iako zbog presječnog dizajna istraživanja nije moguće utvrditi uzročno- posljedičnu povezanost između CST i razvoja DR, ovo istraživanje predstavlja prvi dokaz da su povišene serumske koncentracije CST povezane s prisutnošću DR. Dobiveni rezultati otvaraju mogućnost primjene CST kao potencijalnog biomarkera za mikrovaskularne komplikacije šećerne bolesti te predstavljaju osnovu za buduća prospektivna multicentrična istraživanja koja će procijeniti njegovu prognostičku vrijednost u ranom otkrivanju, procjeni rizika progresije i praćenju DR.

7. SAŽETAK

Uvod: Dijabetička retinopatija (DR) i dijabetički makularni edem (DME) među vodećim su uzrocima oštećenja vida u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 (T2DM). Sistemska upala, poremećaji lipidnog metabolizma i nedostatak vitamina D mogu biti povezani s razvojem i progresijom DR te odgovorom DME na liječenje. Katestatin (CST) je biološki aktivan peptid nastao cijepanjem kromogranina A koji bi, zbog učinaka na vaskularni tonus, upalu, oksidacijski stres i endotelnu funkciju, mogao biti jedan od čimbenika uključenih u razvoj DR.

Cilj: Cilj istraživanja bio je ispitati povezanost serumskih biomarkera s prisutnošću i težinom DR te procijeniti njihovu vrijednost u predviđanju ranog odgovora DME na intravitrealnu primjenu bevacizumaba. Dodatni cilj bio je ispitati povezanost serumskih koncentracija CST s prisutnošću T2DM i DR.

Ispitanici i postupci: Provedena su dva klinička istraživanja. U prospektivno opservacijsko istraživanje uključeno je 78 ispitanika s T2DM, neproliferativnom dijabetičkom retinopatijom (NPDR) i DME. Ispitanici su primili tri uzastopne mjesečne intravitrealne injekcije bevacizumaba. Terapijski odgovor procijenjen je četiri tjedna nakon posljednje injekcije, a definiran je smanjenjem središnje debljine makule (CMT) za najmanje 10 % uz istodobno poboljšanje najbolje korigirane vidne oštrine (BCVA) za najmanje jedan redak na Snellenovoj tablici. Analizirani su neutrofilno-limfocitni omjer (NLR), monocitno-limfocitni omjer (MLR), trombocitno-limfocitni omjer (PLR), sistemski imunoupalni indeks (SII), koncentracija vitamina D i omjer ApoB/ApoA1. U drugo presječno istraživanje uključeno je 150 ispitanika: 91 ispitanik s T2DM i 59 kontrolnih ispitanika. Među ispitanicima s T2DM njih 63 imalo je DR, a 28 nije imalo znakove DR. Serumske koncentracije CST određene su ELISA metodom.

Rezultati: Ispitanici koji su ostvarili terapijski uspjeh na intravitrealnu primjenu bevacizumaba imali su značajno niže vrijednosti NLR, MLR, PLR i SII. Više vrijednosti svih četiriju indeksa bile su povezane s manjim izgledima za terapijski uspjeh u zasebnim modelima prilagođenima za dob, spol, trajanje šećerne bolesti i CRP. U zajedničkom modelu svih četiriju indeksa samo je NLR zadržao statističku značajnost, a imao je i najveću opaženu površinu ispod ROC krivulje (AUC = 0,778). U prilagođenim analizama svih očiju samo je MLR bio statistički značajno povezan s promjenom CMT, dok nijedan upalni indeks nije bio statistički značajno povezan s promjenom BCVA. Bolesnici s teškim stupnjem NPDR imali su viši omjer ApoB/ApoA1 i niže koncentracije vitamina D od bolesnika s umjerenim stupnjem NPDR. Koncentracije CST nisu se značajno razlikovale između bolesnika s T2DM i kontrolnih ispitanika, ali su bile značajno više u bolesnika s DR nego u bolesnika bez DR.

Arterijska hipertenzija bila je najsnažniji neovisni prediktor viših koncentracija CST u ukupnoj populaciji, dok je u skupini bolesnika s T2DM DR bio jedini neovisni čimbenik povezan s koncentracijom CST. Uočen je porast koncentracije CST s težinom NPDR, ali razlike između pojedinih stadija nisu bile statistički značajne.

Zaključak: Sistemski upalni biomarkeri mogu pridonijeti predviđanju ranog odgovora DME na bevacizumab, dok su niže koncentracije vitamina D i viši omjer ApoB/ApoA1 povezani s težim stupnjem NPDR. Povišene koncentracije CST povezane su s prisutnošću DR, ali ne i sa samom prisutnošću T2DM. Rezultati upućuju na moguću ulogu sistemske upale, lipidnog metabolizma i neurovaskularnog stresa u patofiziologiji dijabetičke bolesti mrežnice.

8. LAIČKI SAŽETAK

Uvod: Šećerna bolest može oštetiti sitne krvne žile mrežnice i dovesti do dijabetičke retinopatije i dijabetičkoga makularnog edema. Kod makularnog edema tekućina se nakuplja u središnjem dijelu mrežnice, što može oslabiti vid. Cilj istraživanja bio je utvrditi mogu li jednostavne krvne pretrage pomoći u procjeni težine bolesti i predviđanju uspješnosti liječenja bevacizumabom. Ispitan je i katestatin, peptid uključen u regulaciju krvnih žila, upale i oksidacijskog stresa, kao mogući pokazatelj razvoja dijabetičke retinopatije.

Materijali i metode: U prvom istraživanju sudjelovalo je 78 bolesnika s dijabetičkom retinopatijom i makularnim edemom. Primili su tri injekcije bevacizumaba u oko u mjesečnim razmacima. Učinkovitost liječenja procijenjena je mjerenjem debljine mrežnice i vidne oštrine, a u krvi su određeni upalni omjeri, vitamin D i apolipoproteini. U drugom istraživanju sudjelovalo je 150 ispitanika: 91 bolesnik sa šećernom bolešću tipa 2 i 59 zdravih kontrolnih ispitanika. Među bolesnicima sa šećernom bolešću, njih 63 imalo je dijabetičku retinopatiju, a 28 nije. Svim ispitanicima izmjerena je koncentracija katestatina u krvi.

Rezultati: Bolesnici koji su povoljno odgovorili na bevacizumab imali su niže vrijednosti pokazatelja upale. Teži oblik dijabetičke retinopatije bio je povezan s nižom koncentracijom vitamina D i višim omjerom apolipoproteina B i A1 Koncentracija katestatina nije se razlikovala između svih bolesnika sa šećernom bolešću i kontrolnih ispitanika, ali je bila viša u bolesnika koji su razvili dijabetičku retinopatiju.

Zaključci: Jednostavne krvne pretrage mogle bi pomoći u procjeni težine dijabetičke bolesti mrežnice i ranog odgovora na liječenje. Katestatin bi mogao biti pokazatelj oštećenja krvnih žila mrežnice, ali su za potvrdu njegove kliničke vrijednosti potrebna daljnja istraživanja.

9. SUMMARY

Introduction: Diabetic retinopathy (DR) and diabetic macular edema (DME) are among the leading causes of visual impairment in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). Systemic inflammation, altered lipid metabolism, vitamin D deficiency, and changes in neuroendocrine regulation may contribute to the development and progression of DR and influence the response of DME to treatment.

Aim: This research aimed to investigate the association of serum biomarkers with the presence and severity of DR and to assess their value in predicting the early response of DME to intravitreal bevacizumab. An additional aim was to examine the association of serum catestatin (CST) concentrations with the presence of T2DM and DR.

Methods: Two clinical studies were conducted. The prospective observational study included 78 patients with T2DM, nonproliferative diabetic retinopathy (NPDR), and DME. All participants received three consecutive monthly intravitreal bevacizumab injections. Treatment response was evaluated four weeks after the final injection and was defined as a reduction in central macular thickness (CMT) of at least 10% accompanied by an improvement in best-corrected visual acuity (BCVA) of at least one line on the Snellen chart. The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), monocyte-to-lymphocyte ratio (MLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), systemic immune-inflammation index (SII), serum vitamin D concentration, and ApoB/ApoA1 ratio were analyzed. The cross-sectional study included 150 participants: 91 patients with T2DM and 59 controls without T2DM. Among the patients with T2DM, 63 had DR and 28 had no signs of DR. Serum CST concentrations were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: Patients with a favorable response to bevacizumab had significantly lower NLR, MLR, PLR, and SII values than patients without an adequate treatment response. NLR demonstrated the highest discriminatory ability for predicting treatment response, while all investigated inflammatory biomarkers remained independent predictors of CMT reduction after adjustment for age, sex, disease duration, and C-reactive protein concentration. Patients with severe NPDR had higher ApoB/ApoA1 ratios and lower vitamin D concentrations than patients with moderate NPDR. Serum CST concentrations did not differ significantly between patients with T2DM and healthy controls but were significantly higher in patients with DR than in those without DR. Arterial hypertension was the strongest independent predictor of higher CST concentrations in the overall population, whereas DR was the only independent factor associated with CST concentrations among patients with T2DM. CST concentrations tended

to increase with NPDR severity, although the differences among individual stages were not statistically significant.

Conclusion: Systemic inflammatory biomarkers may contribute to predicting the early response of DME to bevacizumab, while lower vitamin D concentrations and a higher ApoB/ApoA1 ratio are associated with more severe NPDR. Elevated CST concentrations are associated with the presence of DR but not with T2DM itself. These findings support the involvement of systemic inflammation, lipid metabolism, and neurovascular stress in the pathophysiology of diabetic retinal disease.

10. LAY SUMMARY

Objectives: Diabetes can damage the small blood vessels in the retina and lead to diabetic retinopathy and diabetic macular edema. In macular edema, fluid accumulates in the central part of the retina, which may reduce vision. This research aimed to determine whether simple blood tests could help assess disease severity and predict the success of bevacizumab treatment. Catestatin, a peptide involved in the regulation of blood vessels, inflammation, and oxidative stress, was also investigated as a possible indicator of diabetic retinopathy.

Methods: The first study included 78 patients with diabetic retinopathy and macular edema. They received three bevacizumab injections into the eye at monthly intervals. Treatment success was assessed by measuring retinal thickness and visual acuity. Inflammatory markers, vitamin D, and apolipoproteins were also measured in the blood. The second study included 150 participants: 91 patients with type 2 diabetes and 59 healthy individuals. Among the patients with diabetes, 63 had diabetic retinopathy and 28 did not. Blood catestatin concentrations were measured in all participants.

Results: Patients who responded favorably to bevacizumab had lower levels of inflammatory markers. More severe diabetic retinopathy was associated with lower vitamin D concentrations and a higher apolipoprotein B to apolipoprotein A1 ratio. Catestatin concentrations did not differ between all patients with diabetes and healthy individuals but were higher in patients who had developed diabetic retinopathy.

Conclusions: Simple blood tests may help assess the severity of diabetic retinal disease and predict an early response to treatment. Catestatin may be an indicator of damage to the retinal blood vessels, although further research is needed to confirm its clinical value.

11. LITERATURA

1. American Diabetes Association Professional Practice Committee for Diabetes*. 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2026. Diabetes Care. 2026 Jan 1;49 (Supplement_1):S27-S49. doi: 10.2337/dc26-S002.
2. Młynarska E, Czarnik W, Dzieża N, Jędraszak W, Majchrowicz G, Prusinowski F, Stabrawa M, Rysz J, Franczyk B. Type 2 Diabetes Mellitus: New Pathogenetic Mechanisms, Treatment and the Most Important Complications. Int J Mol Sci. 2025 Jan 27;26(3):1094. doi: 10.3390/ijms26031094.
3. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. Lancet. 2024 Nov 23;404(10467):2077-93. doi: 10.1016/S0140-6736(24)02317-1.
4. World Health Organization. Diabetes [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2024 Nov 14 [pristupljeno 26. kolovoza 2026.]. Dostupno na: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes
5. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, Bikbov MM, Wang YX, Tang Y, Lu Y, Wong IY, Ting DSW, Tan GSW, Jonas JB, Sabanayagam C, Wong TY, Cheng CY. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. Ophthalmology. 2021 Nov;128(11):1580-1591. doi: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027.
6. Seo H, Park SJ, Song M. Diabetic retinopathy (DR): mechanisms, current therapies, and emerging strategies. Cells. 2025 Mar 4;14(5):376. doi: 10.3390/cells14050376.
7. Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC, Haffner SM, Klein R, Moss SE, Taylor HR, Hamman RF; Eye Diseases Prevalence Research Group. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. Arch Ophthalmol. 2004 Apr;122(4):552-63. doi: 10.1001/archopht.122.4.552.
8. Zhang X, Saaddine JB, Chou CF, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, Gregg EW, Albright AL, Klein BE, Klein R. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. JAMA. 2010 Aug 11;304(6):649-56. doi: 10.1001/jama.2010.1111.
9. Lundeen EA, Burke-Conte Z, Rein DB, Wittenborn JS, Saaddine J, Lee AY, Flaxman AD. Prevalence of Diabetic Retinopathy in the US in 2021. JAMA Ophthalmol. 2023 Aug 1;141(8):747-754. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2023.2289.
10. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at

diagnosis is less than 30 years. Arch Ophthalmol. 1984;102(4):520–6. doi: 10.1001/archopht.1984.01040030398010.

11. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. Arch Ophthalmol. 1984;102(4):527–32. doi: 10.1001/archopht.1984.01040030405011.
12. LeCaire TJ, Palta M, Klein R, Klein BEK, Cruickshanks KJ. Assessing progress in retinopathy outcomes in type 1 diabetes: comparing findings from the Wisconsin Diabetes Registry Study and the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. Diabetes Care. 2013;36(3):631–7. doi: 10.2337/dc12-0863.
13. Lim JI, Kim SJ, Bailey ST, Kovach JL, Vemulakonda GA, Ying GS, et al. Diabetic Retinopathy Preferred Practice Pattern®. Ophthalmology. 2025;132(4)–P162. doi: 10.1016/j.ophtha.2024.12.020.
14. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329(14):977–86. doi: 10.1056/NEJM199309303291401.
15. UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes: UKPDS 33. Lancet. 1998;352(9131):837–53. doi: 10.1016/S0140-6736(98)07019-6.
16. American Diabetes Association Professional Practice Committee for Diabetes. 6. Glycemic goals, hypoglycemia, and hyperglycemic crises: Standards of Care in Diabetes—2026. Diabetes Care. 2026;49(Suppl 1)–S149. doi: 10.2337/dc26-S006.
17. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. BMJ. 1998;317(7160):703–13. doi: 10.1136/bmj.317.7160.703.
18. Do DV, Han G, Abariga SA, Sleilati G, Vedula SS, Hawkins BS. Blood pressure control for diabetic retinopathy. Cochrane Database Syst Rev. 2023;3(3). doi: 10.1002/14651858.CD006127.pub3.
19. Chew EY, Klein ML, Ferris FL 3rd, Remaley NA, Murphy RP, Chantry K, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report 22. Arch Ophthalmol. 1996;114(9):1079–84. doi: 10.1001/archopht.1996.01100140281004.

20. Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, O'Day J, Davis TME, Moffitt MS, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy: FIELD study. Lancet. 2007;370(9600):1687–97. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61607-9.
21. ACCORD Study Group; ACCORD Eye Study Group. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. N Engl J Med. 2010;363(3):233–44. doi: 10.1056/NEJMoa1001288.
22. Kataoka SY, Lois N, Kawano S, Kataoka Y, Inoue K, Watanabe N. Fenofibrate for diabetic retinopathy. Cochrane Database Syst Rev. 2023;6(6). doi: 10.1002/14651858.CD013318.pub2.
23. Preiss D, Logue J, Sammons E, Zayed M, Emberson J, Wade R, et al. Effect of fenofibrate on progression of diabetic retinopathy. NEJM Evid. 2024;3(8). doi: 10.1056/EVIDoa2400179.
24. Perais J, Agarwal R, Evans JR, Loveman E, Colquitt JL, Owens D, et al. Prognostic factors for the development and progression of proliferative diabetic retinopathy in people with diabetic retinopathy. Cochrane Database Syst Rev. 2023;2(2). doi: 10.1002/14651858.CD013775.pub2.
25. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY, et al. Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report number 18. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998;39(2):233–52.
26. Muni RH, Kohly RP, Lee EQ, Manson JE, Semba RD, Schaumberg DA. Prospective study of inflammatory biomarkers and risk of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. JAMA Ophthalmol. 2013;131(4):514–21. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.2299.
27. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. Arch Ophthalmol. 1998;116(7):874–86. doi: 10.1001/archopht.116.7.874.
28. Akil H, Burgess J, Nevitt S, Harding SP, Alam U, Burgess P. Early worsening of retinopathy in type 1 and type 2 diabetes after rapid improvement in glycaemic control: a systematic review. Diabetes Ther. 2022;13(1):1–23. doi: 10.1007/s13300-021-01190-z.
29. Vilsbøll T, Bain SC, Leiter LA, Lingvay I, Matthews D, Simó R, et al. Semaglutide, reduction in HbA1c and the risk of diabetic retinopathy. Diabetes Obes Metab. 2018;20(4):889–97. doi: 10.1111/dom.13172.

30. Bethel MA, Diaz R, Castellana N, Bhattacharya I, Gerstein HC, Lakshmanan MC. HbA1c change and diabetic retinopathy during GLP-1 receptor agonist cardiovascular outcome trials: a meta-analysis and meta-regression. Diabetes Care. 2021;44(1):290–6. doi: 10.2337/dc20-1815.

31. Morya AK, Ramesh PV, Nishant P, Kaur K, Gurnani B, Heda A, et al. Diabetic retinopathy: a review on its pathophysiology and novel treatment modalities. World J Methodol. 2024;14(4):95881. doi: 10.5662/wjm.v14.i4.95881.
32. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms: ETDRS report number 11. Ophthalmology. 1991;98(5 Suppl):807–22.
33. Wilkinson CP, Ferris FL 3rd, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. Ophthalmology. 2003;110(9):1677–82. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00475-5.
34. Liu Z, Han J, Li X. Integrative management of high-risk proliferative diabetic retinopathy: precision diagnostics via ultra-widefield imaging and therapeutic strategies. Diabetes Metab Syndr Obes. 2025;18:3813–32. doi: 10.2147/DMSO.S535338.
35. Stitt AW, Curtis TM, Chen M, Medina RJ, McKay GJ, Jenkins A, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. Prog Retin Eye Res. 2016;51:156–186. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.08.001.
36. Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies. JCI Insight. 2017;2(14). doi: 10.1172/jci.insight.93751.
37. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. Nature. 2000;404(6779):787–790. doi: 10.1038/35008121.
38. Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. Exp Diabetes Res. 2007;2007:61038. doi: 10.1155/2007/61038.
39. Yamagishi S, Matsui T. Advanced glycation end products (AGEs), oxidative stress and diabetic retinopathy. Curr Pharm Biotechnol. 2011;12(3):362–368. doi: 10.2174/138920111794480534.
40. Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. Circ Res. 2010;106(8):1319–1331. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.217117.

41. Klaassen I, Van Noorden CJF, Schlingemann RO. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. Prog Retin Eye Res. 2013;34:19–48. doi: 10.1016/j.preteyeres.2013.02.001.
42. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano MR, Costagliola C. Diabetic retinopathy: vascular and inflammatory disease. J Diabetes Res. 2015;2015:582060. doi: 10.1155/2015/582060.
43. Joussen AM, Murata T, Tsujikawa A, Kirchhof B, Bursell SE, Adamis AP. Leukocyte-mediated endothelial cell injury and death in the diabetic retina. Am J Pathol. 2001;158(1):147–152. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63952-1.
44. Ibrahim AS, El-Remessy AB, Matragoon S, Zhang W, Patel Y, Khan S, et al. Retinal microglial activation and inflammation induced by Amadori-glycated albumin in a rat model of diabetes. Diabetes. 2011;60(4):1122–1133. doi: 10.2337/db10-1160.
45. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Engl J Med. 1994;331(22):1480–1487. doi: 10.1056/NEJM199412013312203.
46. Simó R, Sundstrom JM, Antonetti DA. Ocular anti-VEGF therapy for diabetic retinopathy: the role of VEGF in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Diabetes Care. 2014;37(4):893–899. doi: 10.2337/dc13-2002.
47. Joussen AM, Poulaki V, Qin W, Kirchhof B, Mitsiades N, Wiegand SJ, et al. Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo. Am J Pathol. 2002;160(2):501–509. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64869-9.
48. Simó R, Hernández C; European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy. Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications. Br J Ophthalmol. 2012;96(10):1285–1290. doi: 10.1136/bjophthalmol-2012-302005.
49. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes: early onset and effect of insulin. J Clin Invest. 1998;102(4):783–791. doi: 10.1172/JCI2425.
50. Lieth E, Barber AJ, Xu B, Dice C, Ratz MJ, Tanase D, et al. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy. Diabetes. 1998;47(5):815–820. doi: 10.2337/diabetes.47.5.815.

51. van Dijk HW, Kok PHB, Garvin M, Sonka M, DeVries JH, Michels RPJ, et al. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50(7):3404–3409. doi: 10.1167/iovs.08-3143.
52. de Moraes G, Layton CJ. Therapeutic targeting of diabetic retinal neuropathy as a strategy in preventing diabetic retinopathy. Clin Exp Ophthalmol. 2016;44(9):838–852. doi: 10.1111/ceo.12795.
53. Browning DJ, Stewart MW, Lee C. Diabetic macular edema: Evidence-based management. Indian J Ophthalmol. 2018 Dec;66(12):1736-1750. doi: 10.4103/ijo.IJO_1240_18.
54. Romero-Aroca P, Baget-Bernaldiz M, Pareja-Rios A, Lopez-Galvez M, Navarro-Gil R, Verges R. Diabetic macular edema pathophysiology: vasogenic versus inflammatory. J Diabetes Res. 2016;2016:2156273. doi: 10.1155/2016/2156273.
55. Zhang J, Zhang J, Zhang C, Zhang J, Gu L, Luo D, et al. Diabetic macular edema: current understanding, molecular mechanisms and therapeutic implications. Cells. 2022;11(21):3362. doi: 10.3390/cells11213362.
56. Ng DSC, Ruamviboonsuk P, Apte RS, Bajimaya S, Chan CKM, Chang A, et al. International consensuses and controversies on causes, diagnosis and management of diabetic macular edema (DME). Prog Retin Eye Res. 2025;109:101406. doi: 10.1016/j.preteyeres.2025.101406.
57. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. Diabetes Care. 2012;35(3):556–64. doi: 10.2337/dc11-1909.
58. Klein R, Knudtson MD, Lee KE, Gangnon R, Klein BEK. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XXIII: the twenty-five-year incidence of macular edema in persons with type 1 diabetes. Ophthalmology. 2009;116(3):497–503. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.10.016.
59. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XV: the long-term incidence of macular edema. Ophthalmology. 1995;102(1):7–16. doi: 10.1016/S0161-6420(95)31052-4.
60. Fong DS, Contreras R. Glitazone use associated with diabetic macular edema. Am J Ophthalmol. 2009;147(4):583–6.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2008.10.016.

61. Wang L, Jin L, Wang W, Gong X, Li Y, Li W, et al. Association of renal function with diabetic retinopathy and macular oedema among Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. Eye (Lond). 2023;37(8):1538–44. doi: 10.1038/s41433-022-02173-5.
62. Lin KY, Hsih WH, Lin YB, Wen CY, Chang TJ. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. J Diabetes Investig. 2021;12(8):1322–5. doi: 10.1111/jdi.13480.
63. Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. Int J Mol Sci. 2018;19(6):1816. doi: 10.3390/ijms19061816.
64. Xu HZ, Le YZ. Significance of outer blood-retina barrier breakdown in diabetes and ischemia. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(5):2160–4. doi: 10.1167/iovs.10-6518.
65. Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE, Rohan R, Murata T, Clermont AC, et al. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999;96(19):10836–41. doi: 10.1073/pnas.96.19.10836.
66. Kita T, Clermont AC, Murugesan N, Zhou Q, Fujisawa K, Ishibashi T, et al. Plasma kallikrein-kinin system as a VEGF-independent mediator of diabetic macular edema. Diabetes. 2015;64(10):3588–99. doi: 10.2337/db15-0317.
67. Lai D, Wu Y, Shao C, Qiu Q. The role of Müller cells in diabetic macular edema. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2023;64(10):8. doi: 10.1167/iovs.64.10.8.
68. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Treatment techniques and clinical guidelines for photocoagulation of diabetic macular edema: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 2. Ophthalmology. 1987;94(7):761–74. doi: 10.1016/S0161-6420(87)33527-4.
69. Wong TY, Sun J, Kawasaki R, Ruamviboonsuk P, Gupta N, Lansingh VC, et al. Guidelines on diabetic eye care: the International Council of Ophthalmology recommendations for screening, follow-up, referral, and treatment based on resource settings. Ophthalmology. 2018;125(10):1608–22. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.04.007.
70. Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of diabetic macular edema with optical coherence tomography. Am J Ophthalmol. 1999;127(6):688–93. doi: 10.1016/S0002-9394(99)00033-1.
71. Chung YR, Kim YH, Ha SJ, Byeon HE, Cho CH, Kim JH, et al. Role of inflammation in classification of diabetic macular edema by optical coherence tomography. J Diabetes Res. 2019;2019:8164250. doi: 10.1155/2019/8164250.

72. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. Science. 1991;254(5035):1178–81. doi: 10.1126/science.1957169.
73. Sun JK, Lin MM, Lammer J, Prager S, Sarangi R, Silva PS, et al. Disorganization of the retinal inner layers as a predictor of visual acuity in eyes with center-involved diabetic macular edema. JAMA Ophthalmol. 2014;132(11):1309–16. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.2350.
74. Radwan SH, Soliman AZ, Tokarev J, Zhang L, van Kuijk FJ, Koozekanani DD. Association of disorganization of retinal inner layers with vision after resolution of center-involved diabetic macular edema. JAMA Ophthalmol. 2015;133(7):820–5. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.0972.
75. Maheshwary AS, Oster SF, Yuson RMS, Cheng L, Mojana F, Freeman WR. The association between percent disruption of the photoreceptor inner segment–outer segment junction and visual acuity in diabetic macular edema. Am J Ophthalmol. 2010;150(1):63–7.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2010.01.039.
76. Shin HJ, Lee SH, Chung H, Kim HC. Association between photoreceptor integrity and visual outcome in diabetic macular edema. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2012;250(1):61–70. doi: 10.1007/s00417-011-1774-x.
77. Ercalik NY, Imamoglu S, Kumral ET, Yenerel NM, Bardak H, Bardak Y. Influence of the epiretinal membrane on ranibizumab therapy outcomes in patients with diabetic macular edema. Arq Bras Oftalmol. 2016;79(6):373–5. doi: 10.5935/0004-2749.20160106.
78. Chang CK, Cheng CK, Bai CH, Peng CH, Hu CC. Development of vitreomacular interface abnormality in patients with diabetic macular edema. Taiwan J Ophthalmol. 2012;2(3):93–8. doi: 10.1016/j.tjo.2012.05.001.
79. Sadiq MA, Soliman MK, Sarwar S, Agarwal A, Hanout M, Demirel S, et al. Effect of vitreomacular adhesion on treatment outcomes in the Ranibizumab for Edema of the Macula in Diabetes (READ-3) study. Ophthalmology. 2016;123(2):324–9. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.09.032.
80. Hikichi T, Fujio N, Akiba J, Azuma Y, Takahashi M, Yoshida A. Association between the short-term natural history of diabetic macular edema and the vitreomacular relationship in type II diabetes mellitus. Ophthalmology. 1997;104(3):473–8. doi: 10.1016/S0161-6420(97)30289-9.
81. Sun Z, Tang F, Wong R, Lok J, Szeto SKH, Chan JCK, et al. OCT angiography metrics predict progression of diabetic retinopathy and development of diabetic macular edema: a

prospective study. Ophthalmology. 2019;126(12):1675–84. doi: 10.1016/j.ophtha.2019.06.016.

82. Lee J, Moon BG, Cho AR, Yoon YH. Optical coherence tomography angiography of diabetic macular edema and its association with anti-VEGF treatment response. Ophthalmology. 2016;123(11):2368–75. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.07.010.
83. Tripathy K, Sharma YR, Karthikeya R, Chawla R, Gogia V, Singh SK, et al. Recent advances in management of diabetic macular edema. Curr Diabetes Rev. 2015;11(2):79–97. doi: 10.2174/1573399811999150324120640.
84. Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. Ophthalmology. 2012;119(4):789–801. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.12.039.
85. Wells JA, Glassman AR, Ayala AR, Jampol LM, Aiello LP, Antoszyk AN, et al. Aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for diabetic macular edema. N Engl J Med. 2015;372(13):1193–203. doi: 10.1056/NEJMoa1414264.
86. Wells JA, Glassman AR, Ayala AR, Jampol LM, Bressler NM, Bressler SB, et al. Aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for diabetic macular edema: two-year results from a comparative effectiveness randomized clinical trial. Ophthalmology. 2016;123(6):1351–9. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.02.022.
87. Brown DM, Emanuelli A, Bandello F, Barranco JJE, Figueira J, Souied E, et al. KESTREL and KITE: 52-week results from two phase III pivotal trials of brolucizumab for diabetic macular edema. Am J Ophthalmol. 2022;238:157–72. doi: 10.1016/j.ajo.2022.01.004.
88. Wykoff CC, Abreu F, Adamis AP, Basu K, Eichenbaum DA, Haskova Z, et al. Efficacy, durability, and safety of intravitreal faricimab with extended dosing up to every 16 weeks in patients with diabetic macular oedema (YOSEMITE and RHINE): two randomised, double-masked, phase 3 trials. Lancet. 2022;399(10326):741–55. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00018-6.
89. Brown DM, Boyer DS, Do DV, Wykoff CC, Sakamoto T, Win P, et al. Intravitreal aflibercept 8 mg in diabetic macular oedema (PHOTON): 48-week results from a randomised, double-masked, non-inferiority, phase 2/3 trial. Lancet. 2024;403(10432):1153–63. doi: 10.1016/S0140-6736(23)02577-1.
90. Yan A, Jones C, Demirel S, Chhablani J. Diabetic macular edema: upcoming therapies. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2025;263(2):249–58. doi: 10.1007/s00417-024-06595-7.

91. Gunther JB, Altaweel MM. Bevacizumab (Avastin) for the treatment of ocular disease. Surv Ophthalmol. 2009;54(3):372–400. doi: 10.1016/j.survophthal.2009.02.004.
92. Ross EL, Hutton DW, Stein JD, Bressler NM, Jampol LM, Glassman AR. Cost-effectiveness of aflibercept, bevacizumab, and ranibizumab for diabetic macular edema treatment. JAMA Ophthalmol. 2016;134(8):888–96. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.1669.
93. Michaelides M, Kaines A, Hamilton RD, Fraser-Bell S, Rajendram R, Quhill F, et al. A prospective randomized trial of intravitreal bevacizumab or laser therapy in the management of diabetic macular edema (BOLT study): 12-month data: report 2. Ophthalmology. 2010;117(6):1078–86.e2. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.03.045.
94. Jhaveri CD, Glassman AR, Ferris FL 3rd, Liu D, Maguire MG, Allen JB, et al. Aflibercept monotherapy or bevacizumab first for diabetic macular edema. N Engl J Med. 2022;387(8):692–703. doi: 10.1056/NEJMoa2204225.
95. Baker CW, Glassman AR, Beaulieu WT, Antoszyk AN, Browning DJ, Chalam KV, et al. Effect of initial management with aflibercept vs laser photocoagulation vs observation on vision loss among patients with diabetic macular edema involving the center of the macula and good visual acuity. JAMA. 2019;321(19):1880–94. doi: 10.1001/jama.2019.5790.
96. Boyer DS, Yoon YH, Belfort R Jr, Bandello F, Maturi RK, Augustin AJ, et al. Three-year, randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with diabetic macular edema. Ophthalmology. 2014;121(10):1904–14. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.04.024.
97. Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A, Chen S, Boyer D, Ruiz-Moreno J, et al. Sustained delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts provide benefit for at least 3 years in patients with diabetic macular edema. Ophthalmology. 2012;119(10):2125–32. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.04.030.
98. Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A, Ciulla T, Boyer D, Holz FG, et al. Long-term benefit of sustained-delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts for diabetic macular edema. Ophthalmology. 2011;118(4):626–35.e2. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.12.028.
99. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation for diabetic macular edema: ETDRS report number 1. Arch Ophthalmol. 1985;103(12):1796–806. doi: 10.1001/archopht.1985.01050120030015.
100. Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, Bressler NM, Bressler SB, Edwards AR, et al. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone

plus prompt laser for diabetic macular edema. Ophthalmology. 2010;117(6):1064–77.e35. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.02.031.

101. Simpson ARH, Dowell NG, Jackson TL, Tofts PS, Hughes EH. Measuring the effect of pars plana vitrectomy on vitreous oxygenation using magnetic resonance imaging. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013;54(3):2028–34. doi: 10.1167/iovs.12-11258.

102. Gandorfer A, Messmer EM, Ulbig MW, Kampik A. Resolution of diabetic macular edema after surgical removal of the posterior hyaloid and the internal limiting membrane. Retina. 2000;20(2):126–33.

103. Nakajima T, Roggia MF, Noda Y, Ueta T. Effect of internal limiting membrane peeling during vitrectomy for diabetic macular edema: systematic review and meta-analysis. Retina. 2015;35(9):1719–25. doi: 10.1097/IAE.0000000000000622.

104. Jackson TL, Nicod E, Angelis A, Grimaccia F, Pringle E, Kanavos P. Pars plana vitrectomy for diabetic macular edema: a systematic review, meta-analysis, and synthesis of safety literature. Retina. 2017;37(5):886–95. doi: 10.1097/IAE.0000000000001280.

105. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network Writing Committee, Haller JA, Qin H, Apte RS, Beck RW, Bressler NM, et al. Vitrectomy outcomes in eyes with diabetic macular edema and vitreomacular traction. Ophthalmology. 2010;117(6):1087–93.e3. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.10.040.

106. Bressler NM, Beaulieu WT, Glassman AR, Blinder KJ, Bressler SB, Jampol LM, et al. Persistent macular thickening following intravitreous aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for central-involved diabetic macular edema with vision impairment. JAMA Ophthalmol. 2018;136(3):257–69. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.6565.

107. Pieramici DJ, Wang PW, Ding B, Gune S. Visual and anatomic outcomes in patients with diabetic macular edema with limited initial anatomic response to ranibizumab in RIDE and RISE. Ophthalmology. 2016;123(6):1345–50. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.02.007.

108. Blinder KJ, Dugel PU, Chen S, Jumper JM, Walt JG, Hollander DA, et al. Anti-VEGF treatment of diabetic macular edema in clinical practice: effectiveness and patterns of use (ECHO Study Report 1). Clin Ophthalmol. 2017;11:393–401. doi: 10.2147/OPTH.S128509.

109. Luo WJ, Zhang WF. The relationship of blood cell-associated inflammatory indices and diabetic retinopathy: a meta-analysis and systematic review. Int J Ophthalmol. 2019;12(2):312–23. doi: 10.18240/ijo.2019.02.20.

110. Wang JR, Chen Z, Yang K, Yang HJ, Tao WY, Li YP, et al. Association between neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and diabetic retinopathy among diabetic patients without a related family history. Diabetol Metab Syndr. 2020;12:55. doi: 10.1186/s13098-020-00562-y.

111. Deng R, Zhu S, Fan B, Chen X, Lv H, Dai Y. Exploring the correlations between six serological inflammatory markers and different stages of type 2 diabetic retinopathy. Sci Rep. 2025;15(1):1567. doi: 10.1038/s41598-025-85164-2.

112. Yalinbas Yeter D, Eroglu S, Sariakcali B, Bozali E, Vural Ozec A, Erdogan H. The usefulness of monocyte-to-high density lipoprotein and neutrophil-to-lymphocyte ratio in diabetic macular edema prediction and early anti-VEGF treatment response. Ocul Immunol Inflamm. 2022;30(4):901–6. doi: 10.1080/09273948.2020.1849739.

113. Hu Y, Cheng Y, Xu X, Yang B, Mei F, Zhou Q, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts prognosis in patients with diabetic macular edema treated with ranibizumab. BMC Ophthalmol. 2019;19:194. doi: 10.1186/s12886-019-1200-4.

114. Karimi S, Arabi A, Shahraki T, Safi S. Association of white blood cell counts, leukocyte ratios, and serum uric acid with clinical outcome of intravitreal bevacizumab in diabetic macular edema. Korean J Ophthalmol. 2022;36(3):244–52. doi: 10.3341/kjo.2021.0041.

115. Wilson LR, Tripkovic L, Hart KH, Lanham-New SA. Vitamin D deficiency as a public health issue: using vitamin D2 or vitamin D3 in future fortification strategies. Proc Nutr Soc. 2017 Aug;76(3):392-399. doi: 10.1017/S0029665117000349.

116. Lips P. Vitamin D physiology. Prog Biophys Mol Biol. 2006 Sep;92(1):4-8. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.016.

117. Tecilazich F, Formenti AM, Giustina A. Role of vitamin D in diabetic retinopathy: pathophysiological and clinical aspects. Rev Endocr Metab Disord. 2021;22(4):715–27. doi: 10.1007/s11154-020-09575-4.

118. Zoppini G, Galletti A, Targher G, Brangani C, Pichiri I, Trombetta M, et al. Lower levels of 25-hydroxyvitamin D3 are associated with a higher prevalence of microvascular complications in patients with type 2 diabetes. BMJ Open Diabetes Res Care. 2015 Apr 24;3(1):e000058. doi: 10.1136/bmjdrc-2014-000058.

119. Alcubierre N, Valls J, Rubinat E, Cao G, Esquerda A, Traveset A, et al. Vitamin D Deficiency Is Associated with the Presence and Severity of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus. J Diabetes Res. 2015;2015:374178. doi: 10.1155/2015/374178.

120. Luo BA, Gao F, Qin LL. The Association between Vitamin D Deficiency and Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis of Observational Studies. Nutrients. 2017 Mar 20;9(3):307. doi: 10.3390/nu9030307.

121. Xiao Y, Wei L, Xiong X, Yang M, Sun L. Association Between Vitamin D Status and Diabetic Complications in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study in Hunan China. Front Endocrinol (Lausanne). 2020 Sep 16;11:564738. doi: 10.3389/fendo.2020.564738.

122. Reddy GB, Sivaprasad M, Shalini T, Satyanarayana A, Seshacharyulu M, Balakrishna N, et al. Plasma vitamin D status in patients with type 2 diabetes with and without retinopathy. Nutrition. 2015 Jul-Aug;31(7-8):959-63. doi: 10.1016/j.nut.2015.01.012.

123. Seyyar SA, Tokuc EO, Tıskaoğlu NS, Karabaş VL, Güngör K. Do serum vitamin D levels correlate with Macular Edema or with Diabetic Retinopathy? Eur J Ophthalmol. 2022 Nov;32(6):3592-3598. doi: 10.1177/11206721221076701.

124. Fekri S, Soheilian M, Roozdar S, Abtahi SH, Nouri H. The effect of vitamin D supplementation on the outcome of treatment with bevacizumab in diabetic macular edema: a randomized clinical trial. Int Ophthalmol. 2022 Nov;42(11):3345-3356. doi: 10.1007/s10792-022-02333-2.

125. Karimi S, Movafaghi V, Arabi A, Shahraki T, Safi S. Effects of Oral Vitamin D Supplement Therapy on Clinical Outcomes of Intravitreal Bevacizumab in Diabetic Macular Edema. J Ophthalmic Vis Res. 2021 Jan 20;16(1):34-41. doi: 10.18502/jovr.v16i1.8249.

126. Xu X, Song Z, Mao B, Xu G. Apolipoprotein A1-related proteins and reverse cholesterol transport in antiatherosclerosis therapy: recent progress and future perspectives. Cardiovasc Ther. 2022;2022:4610834. doi: 10.1155/2022/4610834.

127. Yun YM. Apolipoprotein B, non-HDL cholesterol, and LDL cholesterol as markers for atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. Ann Lab Med. 2023;43(3):221–2. doi: 10.3343/alm.2023.43.3.221.

128. Soedarman S, Kurnia KH, Prasetya ADB, Sasongko MB. Cholesterols, apolipoproteins, and their associations with the presence and severity of diabetic retinopathy: a systematic review. Vision (Basel). 2022;6(4):77. doi: 10.3390/vision6040077.

129. Sasongko MB, Wong TY, Kawasaki R, Jenkins A, Shaw J, Wang JJ, et al. Serum apolipoprotein AI and B are stronger biomarkers of diabetic retinopathy than traditional lipids. Diabetes Care. 2011;34(2):474–9. doi: 10.2337/dc10-0793.

130. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. N Engl J Med. 2003;348(12):1134–49. doi: 10.1056/NEJMra021405.

131. Banks P, Helle K, Mayor D. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. Biochem J. 1965;97(3):40C–41C. doi: 10.1042/bj0970040c.

132. Taylor CV, Taupenot L, Mahata SK, Mahata M, Wu H, Yasothornsrikul S, et al. Formation of the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin from chromogranin A: determination of proteolytic cleavage sites in hormone storage granules. J Biol Chem. 2000;275(30):22905–15. doi: 10.1074/jbc.M001232200.

133. Corti A, Marcucci F, Bachetti T. Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers. Pflugers Arch. 2018;470(1):199–210. doi: 10.1007/s00424-017-2030-y.

134. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, et al. Novel autocrine feedback control of catecholamine release: a discrete chromogranin A fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. J Clin Invest. 1997;100(6):1623–33. doi: 10.1172/JCI119686.

135. 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(5):895–904. doi: 10.1097/01.hjh.0000222760.99852.e0.

136. Mahata SK, Mahata M, Fung MM, O'Connor DT. Catestatin: a multifunctional peptide from chromogranin A. Regul Pept. 2010;162(1–3):33–43. doi: 10.1016/j.regpep.2010.01.006.

137. Bourebaba Y, Mularczyk M, Marycz K, Bourebaba L. Catestatin peptide of chromogranin A as a potential new target for several risk factors management in the course of metabolic syndrome. Biomed Pharmacother. 2021;134:111113. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111113.

138. Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M, et al. Catestatin as a biomarker of cardiovascular diseases: a clinical perspective. Biomedicines. 2021;9(12):1757. doi: 10.3390/biomedicines9121757.

139. Kulpa J, Paduch J, Szczepanik M, Gorący-Rosik A, Rosik J, Tchórz M, et al. Catestatin in cardiovascular diseases. Int J Mol Sci. 2025;26(6):2417. doi: 10.3390/ijms26062417.

140. Katic J, Jurisic Z, Kumric M, Borovac JA, Anic A, Breskovic T, et al. Serum catestatin concentrations are increased in patients with atrial fibrillation. J Cardiovasc Dev Dis. 2023;10(2):85. doi: 10.3390/jcdd10020085.

141. 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(2):473–81. doi: 10.1007/s11325-018-1703-x.

142. Simunovic M, Supe-Domic D, Karin Z, Degoricija M, Paradzik M, Bozic J, et al. Serum catestatin concentrations are decreased in obese children and adolescents. Pediatr Diabetes. 2019;20(5):549–55. doi: 10.1111/pedi.12825.

143. 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(1). doi: 10.1111/apha.13775.

144. Luketin M, Mizdrak M, Boric-Skaro D, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, et al. Plasma catestatin levels and advanced glycation end products in patients on hemodialysis. Biomolecules. 2021;11(3):456. doi: 10.3390/biom11030456.

145. Zivkovic PM, Matetic A, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D, et al. Serum catestatin levels and arterial stiffness parameters are increased in patients with inflammatory bowel disease. J Clin Med. 2020;9(3):628. doi: 10.3390/jcm9030628.

146. Simac P, Perkovic D, Bozic I, Matijas M, Gugo K, Martinovic D, et al. Serum catestatin levels in patients with rheumatoid arthritis. Sci Rep. 2022;12(1):3812. doi: 10.1038/s41598-022-07735-x.

147. Christoffersson G, Muntjewerff EM. The role of chromogranin A cleavage products in onset of type 1 and 2 diabetes. Front Clin Diabetes Healthc. 2026;7:1812936. doi: 10.3389/fcdhc.2026.1812936.

148. Muntjewerff EM, Parv K, Mahata SK, van Riessen NK, Phillipson M, Christoffersson G, et al. The anti-inflammatory peptide catestatin blocks chemotaxis. J Leukoc Biol. 2022;112(2):273–8. doi: 10.1002/JLB.3CRA1220-790RR.

149. Ying W, Mahata S, Bandyopadhyay GK, Zhou Z, Wollam J, Vu J, et al. Catestatin inhibits obesity-induced macrophage infiltration and inflammation in the liver and suppresses hepatic glucose production, leading to improved insulin sensitivity. Diabetes. 2018;67(5):841–8. doi: 10.2337/db17-0788.

150. Theurl M, Schgoer W, Albrecht K, Jeschke J, Egger M, Beer AGE, et al. The neuropeptide catestatin acts as a novel angiogenic cytokine via a basic fibroblast growth

factor-dependent mechanism. Circ Res. 2010;107(11):1326–35. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.219493.

151. Gramlich OW, Lorenz K, Grus FH, Kriechbaum M, Ehrlich D, Humpel C, et al. Catestatin-like immunoreactivity in the rat eye. Neuropeptides. 2014;48(1):7–13. doi: 10.1016/j.npep.2013.11.003.

152. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2025. Diabetes Care. 2025 Jan 1;48(1 Suppl 1):S27-S49. doi: 10.2337/dc25-S002.

153. McEvoy JW, McCarthy CP, Bruno RM, Brouwers S, Canavan MD, Ceconi C, et al. ESC Scientific Document Group. 2024 ESC Guidelines for the management of elevated blood pressure and hypertension. Eur Heart J. 2024 Oct 7;45(38):3912-4018. doi: 10.1093/eurheartj/ehae178. Erratum in: Eur Heart J. 2025 Apr 7;46(14):1300. doi: 10.1093/eurheartj/ehaf031. Erratum in: Eur Heart J. 2025 Dec 1;46(45):4949. doi: 10.1093/eurheartj/ehaf659.

154. Gu W, Wang M, Li Z, Xu T. The association between peripheral blood inflammatory markers and anti-VEGF treatment response in patients with type 2 diabetic macular edema. Front Med (Lausanne). 2025 Oct 16;12:1653753. doi: 10.3389/fmed.2025.1653753.

155. Bressler SB, Odia I, Maguire MG, Dhoot DS, Glassman AR, Jampol LM, et al.; Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Factors Associated With Visual Acuity and Central Subfield Thickness Changes When Treating Diabetic Macular Edema With Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy: An Exploratory Analysis of the Protocol T Randomized Clinical Trial. JAMA Ophthalmol. 2019 Apr 1;137(4):382-389. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.6786. Erratum in: JAMA Ophthalmol. 2022 Oct 1;140(10):1030. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2022.3558.

156. Bezzina AD, Carbonaro F. Factors Predicting Treatment Response in Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Naïve Diabetic Macular Edema Patients Treated with Intravitreal Bevacizumab. J Ocul Pharmacol Ther. 2019 Dec;35(10):551-557. doi: 10.1089/jop.2018.0112.

12. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Karla Katić (rođ. Gudelj)

Datum i mjesto rođenja: 25.07.1990., Split

Adresa: Papandopulova 3, 21000 Split

E-mail: kkatic@kbsplit.hr

Državljanstvo: hrvatsko

OBRAZOVANJE

1997. - 2005. Osnovna škola Trstenik, Split

2005. - 2009. IV. opća gimnazija „Marko Marulić“, Split

2009. - 2015. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer doktor medicine

2019. - danas Doktorski studij „Translacijska istraživanja u biomedicini (TRIBE)“, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

RADNO ISKUSTVO

2015. - 2016. Pripravnički staž za doktore medicine, Klinički bolnički centar Split

2016. godine Doktor medicine u Timu 1 HM Zavoda za hitnu medicinu Splitsko dalmatinske županije,

2017. – 2024. Specijalizacija iz oftalmologije i optometrije, Klinički bolnički centar Split

NAGRADE

2016. godine Rektorova nagrada za postignuća u akademskoj godini 2014./2015.

ZNANSTVENA AKTIVNOST

PUBLIKACIJE

1. Katić K, Katić J, Kumrić M, Božić J, Šupe Domić D, Aranza I, et al. Catestatin and Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus. Biomedicines. 2026; 14(3):648. https://doi.org/10.3390/biomedicines14030648

2. Krešo A, Perišić N, Katić K, Rančić A, Znaor L. Comparison of intraocular pressure measurements with and without fluorescein using Goldmann applanation tonometry. Indian J Ophthalmol. 2026 Jan 1;74(1):93-97. doi: 10.4103/IJO.IJO_676_25.

3. Katić K, Katić J, Kumrić M, Božić J, Tandara L, Šupe Domić D, et al. The Predictors of Early Treatment Effectiveness of Intravitreal Bevacizumab Application in Patients with Dia-

betic Macular Edema. Diagnostics (Basel). 2024 May 10;14(10):992. doi: 10.3390/diagnostics14100992.
4. Katić J, Katić A, Katić K, Duplančić D, Lozo M. CONCURRENT DEEP VEIN THROMBOSIS AND PULMONARY EMBOLISM ASSOCIATED WITH HYPERTHYROIDISM: A CASE REPORT. Acta Clin Croat. 2021 Jun;60(2):314-316. doi: 10.20471/acc.2021.60.02.20.
5. Pogorelić Z, Katić J, Gudelj K, Mrklić I, Vilović K, Perko Z. Unusual cause of acute abdomen in a child--torsion of greater omentum: report of two cases. Scott Med J. 2015 Aug;60(3):e1-4. doi: 10.1177/0036933015581129.
6. Pogorelić Z, Gudelj K, Budimir D, Todorić J, Jukić M, Furlan D, et al. Comparison of dextranomer/hyaluronic acid based bulking agents in the treatment of vesicoureteral reflux in children: Deflux versus Vurdex. Can J Urol. 2016 Jun;23(3):8312-7.

EDUKACIJE

2018. godine Tečaj "Zeiss cataract basic course", Antwerpen

Travanj 2022. godine Tečaj "Dijagnostička primjena ultrazvuka u oftalmologiji", Klinika za očne bolesti KBC Split, Medicinski fakultet Sveučilišta u Split, Sekcija za ultrazvuk HOOD

Listopad 2024. godine Edukacija u Moorfields Eye Hospital, London, UK iz područja medical retine i uveitisa

Srpanj 2025. godine Tečaj "Cataract course", Alcon Experience Center, Barcelona

Prosinac 2025. godine Dobitnica SOE stipendije

Srpanj 2026. godine Tečaj „Bootcamp in Uveitis", Tuebingen, Njemačka

KLINIČKE STUDIJE

2022.- 2025. godine Aktivno sudjelovanje kao klinički podispitivač u međunarodnoj kliničkoj studiji OPTHEA u ispitivanju nove intravitrealne terapije u liječenju neovaskularne forme senilne makularne degeneracije

ČLANSTVA

Hrvatsko oftalmološko i optometrijsko društvo

Hrvatski liječnički zbor

Eureopean Society of Retina Specialists (EURETINA)

VJEŠTINE I AKTIVNOSTI

2013.- 2015. godine Demonstrator na Katedri za mikrobiologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Poznavanje stranih jezika: aktivno služenje engleskim i njemačkim jezikom

Vozačka dozvola B kategorije