

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

PETRA PUNDA

**PROCJENA KARDIOVASKULARNOG RIZIKA I ADHERENCIJE
MEDITERANSKOJ PREHRANI U PACIJENTICA S HASHIMOTOVIM
TIREOIDITISOM**

DOKTORSKA DISERTACIJA

SPLIT, 2026.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

PETRA PUNDA

**PROCJENA KARDIOVASKULARNOG RIZIKA I ADHERENCIJE
MEDITERANSKOJ PREHRANI U PACIJENTICA S HASHIMOTOVIM
TIREOIDITISOM**

DOKTORSKA DISERTACIJA

SPLIT, 2026.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za nuklearnu medicinu Kliničkog bolničkog centra u Splitu te
Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Voditelj rada:

prof. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

ZAHVALA

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Štitnjača	2
1.1.1. Embriologija i histologija štitnjače.....	2
1.1.2. Anatomija štitnjače	3
1.1.3. Fiziologija i funkcija štitnjače	4
1.1.4. Autoimune bolesti štitnjače	6
1.2. Hashimotov tireoiditis	7
1.2.1. Antigeni štitnjače prepoznatljivi za Hashimotov tireoiditis.....	10
1.2.2. Peroksidaza štitnjače (TPO).....	10
1.2.3. Tireoglobulin (Tg)	11
1.2.4. Drugi autoantigeni štitnjače	12
1.2.5. Receptor tireotropina (TSHR)	12
1.2.6. Patomehanizmi Hashimotova tireoiditisa	13
1.2.7. Klinička slika Hashimotova tireoiditisa	15
1.2.8. Dijagnoza Hashimotova tireoiditisa	16
1.2.9. Liječenje Hashimotova tireoiditisa	21
1.3. Kardiovaskularni rizik	24
1.4. Mediteranska prehrana.....	27
1.5. Biomarkeri kao indikatori endotelne funkcije	33
1.6. Katestatin.....	35
1.6.1. Katestatin i endotelna disfunkcija	36
1.6.2. Katestatin i ateroskleroza	37

1.6.3. Metabolički učinci katestatina	37
1.6.4. Katestatin kao biomarker: klinički potencijal i ograničenja	38
1.7. Krajnji produkti glikacije	38
1.7.1. Uređaj za mjerenje kožne autofluorescencije	41
2. CILJEVI RADA I HIPOTEZE	45
2.1. Glavni ciljevi istraživanja:	46
2.2. Sporedni ciljevi istraživanja:	46
2.3. Hipoteze	46
3. ISPITANICI I POSTUPCI	47
3.1. Ustroj istraživanja i ispitanici	48
3.2. Dijagnoza Hashimotova tireoiditisa	49
3.3. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza	49
3.4. Antropometrijska mjerenja, mjerenje arterijskog tlaka i određivanje krajnjih produkata uznapredovale glikacije	50
3.5. Upitnici	51
3.6. Statistička analiza i izračun veličine uzorka	52
4. REZULTATI	54
5. RASPRAVA	67
6. ZAKLJUČCI	79
7. LITERATURA	81
8. SAŽETAK	104

9. SUMMARY.....	106
10. ŽIVOTOPIS.....	108

POPIS OZNAKA I KRATICA

ADMA - asimetrični dimetilarginin

AGE - krajnji produkti uznapredovale glikacije

AITD - autoimune bolesti štitnjače

anti-TG - protutijela na tireoglobulin

anti-TPO - protutijela na tireoidnu peroksidazu

BMI - indeks tjelesne mase

CgA - kromogranin A

CORDIOPREV - ispitivanje mediteranske prehrane u sekundarnoj prevenciji kardiovaskularnih bolesti

CST - katestatin

ELISA - enzimski povezani imunosorbentni test

eNOS - endotelna sintaza dušikova oksida

FMD - vazodilatacija posredovana protokom

fT3 - slobodni trijodtironin

fT4 - slobodni tiroksin

GD - Gravesova bolest

GFD - bezglutenska prehrana

HDL - lipoprotein visoke gustoće

hsCRP - visokosenzitivni C-reaktivni protein

HT - Hashimotov tireoiditis

ICAM-1 - intercelularna adhezijska molekula 1

KV - kardiovaskularni

KVB - kardiovaskularne bolesti

LDL - lipoprotein niske gustoće

L-T4 - levotiroksin

MDSS – engl. *Mediterranean Diet Serving Score*

MUFA - mononezasićene masne kiseline

NIS - natrij-jodidni simporter

NO - dušikov oksid

NYHA - klasifikacija funkcionalnog statusa prema New York Heart Association

PREDIMED - ispitivanje mediteranske prehrane u primarnoj prevenciji kardiovaskularnih bolesti

RAGE - receptor za krajnje produkte uznapredovale glikacije

SAF - autofluorescencija kože

SCORE2 - model procjene desetogodišnjeg kardiovaskularnog rizika

Tg - tireoglobulin

TH - hormoni štitnjače

ThyPRO – engl. *Thyroid-Related Patient-Reported Outcome upitnik*

TPO - tireoidna peroksidaza

TSH - tireostimulirajući hormon

TSHR - receptor tireostimulirajućeg hormona

VCAM-1 - vaskularna stanična adhezijska molekula 1

WHR - omjer opsega struka i kukova

1. UVOD

1.1. Štitnjača

Štitnjača (lat. *glandula thyreoidea*) mala je endokrina žlijezda smještena u prednjem dijelu vrata, s ključnom ulogom u regulaciji metabolizma, rasta i razvoja organizma (1). Thomas Wharton dodijelio joj je ime štitnjača (grč. *thyreos*) zahvaljujući izgledu tiroidne hrskavice uz koju se nalazi. Štitnjača kao organ poznata je u anatomiji još od 16. stoljeća (2).

1.1.1. Embriologija i histologija štitnjače

Već od rane gestacije embrij i fetus ovise o hormonima štitnjače (TH), koji imaju ključnu ulogu u brojnim razvojnim procesima. Tijekom trudnoće majčini hormoni štitnjače prolaze kroz placentu, a fiziološka razina TH u fetusu postiže se međudjelovanjem majčine i fetalne endokrine funkcije (3). U ranoj trudnoći fetus je u potpunosti ovisan o transplacentalnom prijenosu majčinog tiroksina (T4), sve dok fetalna štitnjača ne postane funkcionalna. Transplacentalni prijenos T4 ostaje važan i tijekom drugog tromjesečja, osobito za uredan neurološki razvoj fetusa. Sinteza tireoglobulina započinje oko četvrtog tjedna gestacije. Do sedmog tjedna štitnjača poprima dvolobni morfološki izgled, dok se oko desetog tjedna, razvojem folikularnih stanica i pojavom koloida, razvija sposobnost preuzimanja i organifikacije joda. U tom razdoblju embrionalna štitnjača počinje proizvoditi male količine hormona štitnjače (4,5). Fetalna osovina hipotalamus–hipofiza–štitnjača postaje funkcionalna približno u 20. tjednu gestacije, što dovodi do povećanja endogene proizvodnje hormona štitnjače i postupnog smanjenja ovisnosti fetusa o majčinih hormonima (4). Majčini hormoni štitnjače imaju osobito važnu ulogu u ranom razvoju mozga i procesima neurogeneze, osobito u razdoblju kada fetus još ne proizvodi dovoljne količine vlastitih hormona. Čak i umjerene promjene u majčinih razinama TH mogu imati dugoročne posljedice na neurokognitivni razvoj djeteta (6, 7).

Transplacentalni prijenos hormona štitnjače reguliran je transporterima hormona štitnjače, kao što su MCT8, LAT i OATP, koji omogućuju prijelaz T4 i T3 kroz placentalnu barijeru. Fetus je osobito ovisan o ovom mehanizmu tijekom prvih približno 16 tjedana gestacije, prije nego što endogena sinteza hormona postane značajnija (8). Parenhim štitnjače razvija se iz endoderma, a primordij štitnjače nastaje u području foramena caecuma na granici prednje dvije trećine i stražnje trećine jezika. Tijekom ranog embrionalnog razvoja štitnjača migrira prema dolje, prolazeći ispred ždrijela, te do sedmog tjedna gestacije dopijeva na svoje

konačno mjesto ispred traheje. Tijekom migracije štitnjača ostaje povezana s bazom jezika tireoglosalnim kanalom, koji kasnije normalno involuira. Iz četvrte ždrijelne vreće razvija se ultimobranhijalno tijelo koje se ugrađuje u dorzalni dio štitnjače, a iz njega potječu parafolikularne, odnosno C-stanice štitnjače (5). Unatoč početku vlastite sinteze hormona, fetus i tijekom drugog tromjesečja djelomično ovisi o majčinom T4, budući da potpuna funkcionalna autonomija fetalnog endokrinog sustava nastupa tek u kasnijim fazama gestacije (4). U ranoj trudnoći hormoni štitnjače sudjeluju i u regulaciji placentalne funkcije, pri čemu njihov adekvatan prijenos pridonosi optimalnoj placentalnoj hemodinamici i povoljnom intrauterinom okruženju za razvoj fetusa (9).

Folikuli predstavljaju temeljne strukturno-funkcionalne jedinice štitnjače, a građeni su od tireocita organiziranih u jednoslojni epitel koji okružuje lumen ispunjen koloidom. Folikuli su približno sferičnog oblika, a njihov lumen ispunjen je koloidom čija je glavna sastavnica tireoglobulin, glikoprotein koji služi kao prekursor i skladišni oblik hormona štitnjače. Folikularne stanice odgovorne su za sintezu, pohranu i sekreciju hormona štitnjače, trijodtironina (T3) i tiroksina (T4). Parafolikularne C stanice smještene su u interfolikularnim područjima ili bazalno u folikularnom epitelu te sudjeluju u regulaciji homeostaze kalcija izlučivanjem kalcitonina (10). Svaki folikul okružen je visoko organiziranom stromom koja uključuje ekstracelularni matriks, kapilarnu mrežu i stromalne stanice, čime se osigurava adekvatna metabolička i funkcionalna potpora endokrinim aktivnostima žlijezde (5, 11). Izražena polarizacija tireocita, pri čemu je apikalna površina okrenuta prema koloidu, a bazolateralna prema bogato vaskulariziranoj stromi ključna je za usmjereni intracelularni transport, akumulaciju hormona u koloidu i njihovo naknadno otpuštanje u cirkulaciju (12,13). Za proučavanje biologije i patologije štitnjače koriste se različiti 2D i 3D sustavi kultura tireocita, uključujući jednoslojne, plutajuće, organoidne i matrično potpomognute. Unatoč tehnološkom napretku, ovi modeli još uvijek samo djelomično repliciraju *in vivo* trodimenzionalnu arhitekturu i funkcionalnu polarizaciju folikula štitnjače (11).

1.1.2. Anatomija štitnjače

Štitnjača je endokrina žlijezda odgovorna za sintezu tireoidnih hormona (TH) i kalcitonina, čime regulira metabolizam, rast te homeostazu kalcija (14). Smještena je u prednjem dijelu vrata, posteriorno od prsnoštitastog mišića (*lat. m. sternothyroideus*) i prsnopodjezičnog mišića (*lat. m. sternohyoideus*), ispod tiroidne hrskavice (*lat. cartilago*

thyroidea), te ovijena oko krikoidne hrskavice (lat. *cartilago cricoidea*) i trahealnih prstenova. Najčešće se proteže od razine C5 do Th1 kralješka (15). Štitnjača se sastoji od desnog (lat. *lobus dexter*) i lijevog režnja (lat. *lobus sinister*) koji su međusobno povezani parenhimskim mostom, istmusom (lat. *isthmus*), smještenim najčešće u razini drugog do četvrtog trahealnog prstena na prednjoj strani dušnika. Berryjev ligament (lat. *ligamentum suspensorium glandulae thyroideae*) povezuje štitnjaču s trahejom i ima važnu ulogu u njenoj fiksaciji. Pretrahealna fascija obavija štitnjaču zajedno s dušnikom i jednjakom unutar visceralnog odjeljka vrata (16). Zuckerkandlov tuberkul predstavlja posterolateralno zadebljanje režnja štitnjače i važan je kirurški orijentir zbog blizine rekurentnog laringealnog živca (lat. *nervus laryngeus recurrens*) (17). Zbog blizine živčanih struktura i velikih krvnih žila, kirurški zahvati na štitnjači zahtijevaju precizno poznavanje anatomskih odnosa (18).

Štitnjača je jedan od najbogatije vaskulariziranih organa u tijelu. Najbolje to možemo predočiti usporedivši je s drugim organima pa je tako šest puta prokrvljenija od bubrega a tri do četiri puta od mozga (19). Prvenstveno je opskrbljuju uparene gornje i donje tiroidne arterije (lat. *a. thyreoidea superior et inferior*) koje opskrbljuju gornje i donje dijelove režnjeva. Gornja tiroidna arterija se prema dolje odvaja u krikotireoidnu granu i opskrbljuje *isthmus*. Štitnjača se drenira preko gornje, srednje i donje vene štitnjače (lat. *v. thyreoidea superior, mediae et inferior*). Srednja i donja vena ulijevaju se u jugularnu venu dok inferiorna vena ulazi u subklaviju ili brahicefalnu venu (20).

Za inervaciju štitnjače zaslužan je autonomni živčani sustav. Glavna parasimpatička vlakna dolaze iz lutajućeg živca (lat. *n. vagus*). Simpatička vlakna dolaze iz trupa simpatičkih ganglija. Autonomni živčani sustav utječe na vaskularizaciju štitnjače ali ne na lučenje TH. Ove neuralne strukture reguliraju vaskularni tonus, ali nemaju izravnu ulogu u kontroli sekrecije tireoidnih hormona (21, 22).

1.1.3. Fiziologija i funkcija štitnjače

Regulacijski sustav bitan za sintezu hormona štitnjače je hipotalamus-hipofiza-štitnjača. Kao i drugi ciljni organi štitnjača je smješten na periferiji, na njegovo djelovanje utječu hormoni hipofize u smislu stimulacije ili inhibicije (23).

Tireotrofi iz prednjeg režnja hipofize proizvode tireotropin (TSH). TSH stimulira štitnjaču preko svojih receptora te aktivira signalne puteve uključujući cAMP i PKA unutar tireocita (24). Za oslobađanje TSH zadužen je hormon koji oslobađa tireotropin (TRH). TRH nastaje u hipofiziotrofnim neuronima u paraventrikularnoj jezgri hipotalamusa (25). TSH stimulira folikularne stanice štitnjače, odnosno tireocite, na sintezu i lučenje tiroksina (T4) i trijodtironina (T3), pri čemu se većina hormona izlučuje u obliku T4, približno u omjeru 9:1 u odnosu na T3 (26). Biosinteza hormona štitnjače odvija se na spoju folikularnog lumena i apikalne plazma membrane tireocita te ovisi o interakciji nekoliko ključnih komponenti: jodida (I^-), enzima tireoperoksidaze (TPO) ovisne o vodikovu peroksidu (H_2O_2) te tireoglobulina (Tg), koji djeluje kao akceptor joda.

Homeostaza joda održava se odgovarajućim unosom joda hranom ili dodacima prehrani; preporučeni dnevni unos za odraslu osobu iznosi približno 150 μg . Nakon intestinalne apsorpcije jodid dopire u štitnjaču putem natrij/jodid simportera (NIS), transportnog proteina smještenog u bazolateralnoj membrani tireocita. Jodid se potom prenosi kroz apikalnu membranu u lumen folikula, gdje se ugrađuje u tireoglobulin.

Ljudski tireoglobulin dominantan je protein štitnjače; riječ je o velikom homodimernom glikoproteinu visoke molekularne mase (≈ 660 kDa; oko 330 kDa po podjedinici) koji sadrži približno 66 tirozinskih ostataka, od kojih se dio jodira ovisno o opskrbi organizma jodom (27,28).

Biosinteza hormona štitnjače započinje aktivnim transportom jodida kroz bazolateralnu membranu tireocita posredstvom NIS transportera (24). Nakon prijenosa u lumen folikula, jodid se oksidira djelovanjem tireoperoksidaze (TPO). TPO zatim katalizira ugradnju joda u tirozinske ostatke tireoglobulina uz sudjelovanje H_2O_2 . Za stvaranje H_2O_2 odgovorne su membranski vezane NADPH-ovisne oksidaze, prvenstveno dualne oksidaze DUOX1 i DUOX2, čija se aktivnost regulira signalnim putovima poput PKA i PKC, čime se utječe na brzinu organifikacije joda (29). Sustavi DUOX zahtijevaju i faktore sazrijevanja DUOXA, a poremećaji u funkciji DUOX ili DUOXA proteina mogu biti uzrok kongenitalne hipotireoze (CH), što potvrđuje njihovu važnu ulogu u biosintezi hormona štitnjače. Budući da je H_2O_2 potencijalno toksičan metabolit, u štitnjači postoje brojni obrambeni mehanizmi koji sprječavaju oksidativno oštećenje tkiva (24).

Uz prisutnost svih faktora na spoju lumena folikula i apikalne plazma membrane tireocita započinje proces hormogeneze. Veliki glikoprotein Tg (≈ 660 kDa) kojeg sintetizira i izlučuje tireocita, služi kao matrica za jodiranje (30). Oksidirani jod se ugrađuje u tirozinske ostatke Tg stvarajući monojodtirozin (MIT) i dijodtirozin (DIT) (29). Spajanjem dva DIT-a nastaje T4, a križanjem MIT i DIT-a nastaje T3, katalizirano od TPO uz H_2O_2 kao kofaktor (29, 30). TPO i H_2O_2 kataliziraju reakciju spajanja, koja je strogo ovisna o Tg strukturi i dovodi do Tg vezanih TH. Nastali hormoni ostaju vezani za Tg unutar koloida, a njihov ulazak u tireocit odvija se endocitozom posredovanom vezikulama (mikropinocitozom ili makropinocitozom, ovisno o fiziološkim uvjetima). Nakon proteolize tireoglobulina u lizozomima oslobađaju se MIT, DIT i hormoni štitnjače, koji potom prelaze bazolateralnu membranu i ulaze u cirkulaciju (29). Periferna konverzija T4 u biološki aktivniji T3 katalizirana je enzimima dejodinazama, ponajprije tipom 2 (D2), čime se regulira lokalna koncentracija aktivnog hormona u tkivima; ovim putem nastaje približno 80 % ukupne količine T3 (31). Dejodinaze su selenoproteini koji se funkcionalno dijele na tri tipa: D1, D2 i D3. D1 i D2 kataliziraju pretvorbu T4 u aktivni T3, dok D3 inaktivira T4 i T3 pretvarajući ih u reverzni T3 (rT3) i druge neaktivne metabolite. Hormoni štitnjače u plazmi cirkuliraju uglavnom vezani za transportne proteine, ponajprije tiroksin-vezujući globulin, transtiretin i albumin, dok samo mali dio ostaje slobodan u cirkulaciji (približno 0,03 % T4 i 0,3 % T3) (26). Inhibicija NIS transportera, primjerice izloženosti perkloratu, može dovesti do promjena u razinama TSH i hormona štitnjače, što potvrđuje važnost transporta jodida u održavanju homeostaze hormona štitnjače (32).

1.1.4. Autoimune bolesti štitnjače

Imunološka tolerancija predstavlja ključan mehanizam održavanja imunološke homeostaze, a centralni proces njezina uspostavljanja odvija se u timusu tijekom selekcije T limfocita (33). Gubitak imunološke tolerancije na antigene štitnjače dovodi do razvoja autoimunih bolesti štitnjače (AITD) (34). Takav poremećaj može nastati nakon virusnih ili bakterijskih infekcija, ali i nakon izlaganja štitnjače različitim okolišnim čimbenicima i toksinima (35). Smatra se da autoimuni odgovor u štitnjači nastaje kao posljedica poremećaja mehanizama središnje i periferne imunološke tolerancije, pri čemu dolazi do preživljavanja i aktivacije autoreaktivnih T limfocita specifičnih za antigene štitnjače (34). Regulatorne T stanice predstavljaju važan mehanizam perifernog nadzora jer sudjeluju u suzbijanju

autoreaktivnih T limfocita i održavanju imunološke homeostaze (36). Limfocitna infiltracija parenhima štitnjače jedan je od karakterističnih histopatoloških nalaza u autoimunim bolestima štitnjače (37).

Dva glavna klinička oblika autoimunih bolesti štitnjače su kronični limfocitni tireoiditis (Hashimotov tireoiditis, kronični tireoiditis, limfomatozna struma) i Gravesova bolest (Morbus Basedow, difuzna toksična struma) (38). Hashimotov tireoiditis karakteriziran je progresivnim oštećenjem folikularnih stanica i postupnim razaranjem tkiva štitnjače (36). Nasuprot tome, u Gravesovoj bolesti dolazi do stimulacije TSH receptora na tireocitima, što dovodi do pojačane sinteze i lučenja hormona štitnjače te razvoja hipertireoze (39). U širi spektar autoimunih bolesti štitnjače ubrajaju se i postpartalni tireoiditis, lijekovima inducirani tireoiditis te tireoiditis povezan s poliglandularnim autoimunim sindromima (30, 35).

Suvremena saznanja o patogenezi autoimunih bolesti štitnjače temelje se na istraživanjima provedenima na bolesnicima, životinjskim modelima te *in vitro* eksperimentalnim sustavima (36). Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća zabilježen je porast incidencije autoimunih bolesti štitnjače, koje danas predstavljaju najčešće autoimune bolesti u populaciji i zahvaćaju približno 5 % svjetske populacije (40). Procjenjuje se da autoimune bolesti štitnjače čine oko 30 % svih autoimunih bolesti (41).

1.2. Hashimotov tireoiditis

HT ili „*sensu stricto*“ prvenstveno je nazvan (lat. *struma lymphomatoza*) oko 1912. godine. Ime mu je dodijelio Hakaru Hashimoto (42). Graham i sur. naknadno opisuju limfomatoznu strumu kao zasebno stanje te joj u čast njezinog otkrivaatelja dodjeljuju naziv Hashimotov tireoiditis (43). HT najbolje je opisati kao autoimunu bolest štitnjače. To je najčešća autoimuna bolest s prevalencijom oko 10 % u općoj populaciji. Godišnja incidencija iznosi oko 0,3-1,5/1000. Poznato je da žene razvijaju HT i do 10 puta učestalije od muškaraca, iako dugo poznat ovaj čimbenik rizika još uvijek nije u potpunosti objašnjen (36).

Postoji više teorija zašto su žene podložnije ovim oboljenjima (Tablica 1.) Iz studija provedenih na životinjama pretpostavlja se da je odgovor u spolnim steroidima. Druga alternativna objašnjenja baziraju ovu bitnu razliku na iskrivljenoj inaktivaciji X kromosoma (omjer roditelj potomak 50:50) i fetalnom mikrokimerizmu (44). Nedavno istraživanje na 490

pojedina s HT-om u kombinaciji sa četirima drugim meta-studijama ide u prilog hipotezi X kromosoma (45). Iz hipoteza o fetalnom mikrokimerizmu proizlazi da bi žene s više poroda trebale biti podložnije HT oboljenju u odnosu na žene s manjim brojem poroda (46). Dokazano je da napredovanje pariteta dovodi do povećanog rizika za pozitivnost na TPO, ali nije utvrđeno je li popraćeno i povećanjem u HT oboljenju (47). Studija provedena na 4,6 milijuna Danaca otkrila je ukupni porast autoimunih bolesti kod trudnica u usporedbi sa ženama bez djece (relativni rizik 1,04) (48). Specifična povezanost sa HT-om uočena je također kod prvorotkinja u prve 4 godine nakon poroda (relativni rizik 1,11 i interval pouzdanosti 1,00-1,24) iako nije isključeno da se radi o postporođajnom egzacerbacijskom tireoiditisu. Treba napomenuti da su dostupni podatci ograničeni te da zahtijevaju daljnja ispitivanja (49).

Tablica 1. Mogući mehanizmi i njihovi učinci iza predispozicije žene kod AITD (34).

Mehanizam	Učinak na imunološki sustav
Imunomodulatorni učinci estrogena	Estrogeni koji djeluju na specifične receptore izražene u limfocitima dovode do: 1) pojačane proizvodnje antitijela i autoantitijela od strane B stanica; 2) smanjenja T CD4 ⁺ stanica u štitnjači i pojačanja ekstratimične T-stanične limfopoeze, što rezultira poremećenom negativnom selekcijom T-stanica; 3) pojačane ekspresije perforina, IL-10 i TGFβ pomoću Treg stanica.
Iskrivljena inaktivacija X kromosoma	Selektivna ekspresija kromosoma majke i oca može dovesti do T-stanica s ograničenom ekspresijom gena kodiranih X kromosomom koji potječu od jednog roditelja, dok druge stanice i organi, primjerice štitnjača, mogu ekspimirati gene kodirane X kromosomom naslijeđenim od drugog roditelja. Posljedično, limfociti T prepoznaju peptide koje izražavaju druge stanice kao antigen.
Reaktivacija gena na utišanom X kromosomu	Ponovno funkcioniranje gena koji su inače utišani, a uključeni su u imunološku regulaciju, može dovesti do pretjerane reakcije imunološkog sustava.
Kromosomska monosomija	Gubitak jednog kromosoma u B i/ili T stanicama može dovesti do nedostatka gena koji potiskuju pretjeranu reakciju imunološkog sustava.
Fetalni mikrokimerizam	Fetalne stanice, uključujući citotoksične T stanice, migriraju u majčin organizam i potiču imunološki odgovor.

Kratice: AITD – autoimune bolesti štitnjače; CD4⁺ – pomoćnički T-limfociti; IL-10 – interleukin 10; TGF-β – transformirajući čimbenik rasta beta; Treg – regulatorne T-stanice. **Preuzeto i prilagođeno prema:** Bogusławska J, Godlewska M, Gajda E, Piekietko-Witkowska A. Cellular and molecular basis of thyroid autoimmunity. Eur Thyroid J. 2022;11:e210024.

Učestalost kroničnog limfocitnog tireoiditisa zastupljena je u svim dobnim skupinama pa je tako HT najučestaliji tireoiditis i u pedijatrijskoj dobi iako koincidencija raste s dobi a najviša je oko 50-te godine života (43).

Histološki gledano karakterizira ga infiltracija limfocita i plazma stanica u parenhim štitnjače. Poznato je nekoliko različitih fenotipova: klasični oblik, fibrozni oblik, juvenilni oblik, IgG4 tireoiditis, hashitoksikoza te bezbolni ili tihi tireoiditis.

Fibrozni oblik učestaliji je kod starijih žena u odnosu na klasični oblik (50). Prvenstveno se manifestira kao asimptomatska struma a kasnije dolazi do atrofije žlijezde i hipotireoze.

IgG4 ima manju spolnu razliku iako je ipak učestaliji u žena. Karakteristike su vršna incidencija u 50-im godinama i puno brža progresija do hipotireoze (51).

Juvenilni oblik HT-a javlja se do 18 godine, a najučestaliji je u 11 godini života. U odnosu na klasični tip HT-a ima manju spolnu razliku te nije popraćen fibrozom. Različitog je kliničkog tijeka s remisijom i recidivima te povremenom ili trajnom hipotireozom (52).

Hashitoksikozni oblik javlja se između 40-60 godine pet puta češće u žena. Razdoblje tireotoksikoze traje od 3 do 24 mjeseca nakon čega uglavnom dolazi do hipotireoze (50).

Bezbolni ili tihi tireoiditis učestaliji je u područjima s višim unosom joda a može se javiti sporadično ili postpartalno (53).

Najveća učestalost HT-a zabilježena je u bijeloj rasi dok je najmanja zabilježena u crnoj rasi i kod pojedinaca sa azijskih/pacifičkih otoka. Rizik za razvoj HT-a dokazan je u višestrukim studijama genetske osjetljivosti kod kineskih obitelji. Rad na monozigotnim blizancima pokazao je veću sličnost razvoja autoantitijela na TPO. Tehnika regresije potomka pokazala je veću sklonost da IgG4 pokazuje nasljednost ali samo kod pojedinaca s visokim razinama TPO i Tg protutijela (54). Nema dokaza da stres utječe na HT.

Prije 1950-ih godina HT je bio iznimno rijedak dok je u zadnjih tridesetak godina zabilježen značajni porast. Ovako brz porast incidencije jasan je rezultat promjena u okolišu. Poboljšanje u higijenskim navikama rezultiralo je drugačijim imunološkim odgovorom mikroba na alergije i autoimune bolesti, također treba naglasiti povećan unos joda prehranom.

Mnoge studije naglašavaju pogoršanje HT-a kod osjetljivijih pojedinaca zbog prekomjernog unosa joda (55). Uz jod, smanjeni unos selena može također pogoršati HT.

Selen je geografski varijabilan. Nažalost zabilježen je pad koncentracije od 50 % na području Europe. Nedavne Cochraneove studije pokazale su neadekvatnost trenutnih studija za procjenu koristi suplementacije selena na morfologiju štitnjače kod HT-a (56). Liječenje onkoloških bolesnika novim citokinskim lijekovima (interferon- α i inhibitori tirozin kinaze) mogu dovesti do HT-a (57). Prestanak pušenja dovodi do naglog i prolaznog porasta HT-a. Umjerena konzumacija alkohola pokazala se zaštitnom. Egzaktne imunološke podloge za ove zaštitne efekte tek treba razraditi. Infekcije kao čimbenik rizika za HT proučavaju se godinama. Dokazana je uloga virusa hepatitisa C u precipitaciji HT-a dok se trajna hipotireoza javlja u 15 % slučajeva koji su imali subakutni virusni tireoiditis (54). Nedavne prospektivne studije nisu dokazale korelaciju dugogodišnje promatrane *Yersinia* infekcije sa HT-om dok je povezanost s Gravesovom bolešću dokazana (58). Nedavno provedene dvije studije uočile su povezanost HT-a i toksina iz okoliša. Točnije, porast HT-a kod populacije koja živi u blizini petrokemijskog kompleksa i porast bolesti štitnjače (HT nije posebno izdvojen) kod pojedinaca koji su bili izloženi pesticidima (59, 60).

1.2.1. Antigeni štitnjače prepoznatljivi za Hashimotov tireoiditis

Najznačajniji antigeni štitnjače su TSHR, TPO i Tg, dok su drugi NIS i pendrin (62). Za otkrivanje HT-a klinički je najznačajnije dokazivanje autoantitijela usmjerenih protiv tih antigena, prvenstveno protutijela protiv štitnjačne peroksidaze (anti-TPO) i protutijela protiv tireoglobulina (anti-Tg ili TAT) (34).

1.2.2. Peroksidaza štitnjače (TPO)

Gen za TPO smješten je na drugom kromosomu (61). Po kemijskom sastavu to je glikozilirani homodimer sačinjen od dvije transmembranske podjedinice koje se nalaze u apikalnoj membrani tireocita.

TPO katalizira jodiranje tirozinskih ostataka u Tg i spajanje jodotirozinskih ostataka za stvaranje jodotironina vezanog za Tg. Ljudski TPO (hTPO) je integralni protein apikalne membrane tipa I od 933 aminokiseline koji sadrži veliku ekstracitoplazmatsku domenu usmjerenu prema lumenu folikula, kratku regiju koja obuhvaća membranu i citoplazmatski rep

od 61 aminokiseline. Izvanstanično područje sastoji se od 848 aminokiselina i pet potencijalnih mjesta glikozilacije (62).

Anti-TPO prisutna su u oko 10 % opće populacije, dok se utvrđuju kod gotovo svih bolesnika s HT-om te u oko 75 % bolesnika s Gravesovom bolešću (63). On je glavni antigen štitnjače prema kojem su usmjereni stanični i humoralni imunološki odgovor. Većina TPOAt prisutnih u serumima bolesnika s AITD-om kao što su HT i GD usmjereni su na dvije konformacijske determinante na površini molekule nazvane imunodominantna regija A i B (34). Uglavnom su klase IgG1, IgG3, IgG4 i vrlo malo IgA. U bolesnika sa HT-om imaju sposobnost fiksacije komplemenata, destrukcije tireocita te kompetitivno inhibiraju enzimatsku aktivnost što dovodi do povećanja koncentracije oksidativnog stresa (64, 65). Aktivacija komplemenata dovodi i do subletalnog oštećenja stanice te posljedično do metaboličkog poremećaja i neprimjerenog odgovora na TSH (66). Uz to služi kao faktor rizika za buduće poremećaje štitne žlijezde kod eutiroidnih pacijenata (67).

U korelaciji sa ultrazvučnim nalazom parenhima štitnjače i limfocitnom infiltracijom je i titar Anti TPO-a (68). On je prediktor oštećenja funkcije štitnjače, povećava učestalost progresije subkliničke u manifestnu hipotireozu s 2,6 % na 4,3 % (69). Noviji sustavni pregledi naglašavaju njegovu ulogu kao mogući prediktor u oboljenju od DTC-a (70). Istraživanjima je utvrđena stabilnost obrazaca prepoznavanja anti-TPO i njegova genetska nasljednost na potomstvo (34).

1.2.3. Tireoglobulin (Tg)

Tg je glikoproteinski homodimer sastavljen od dvije podjedinice (71). On je osnova za stvaranje TH te oblik u kojem su hormoni pohranjeni u štitnjači. Nakon proteolize u citoplazmatskim lizosomima slobodni TH (T3 i T4) oslobađa se iz molekule Tg-a. Domene bogate cisteinom nalaze se u N-terminalnom djelu Tg-a. One su razmaknute veznim domenama i povezane s C-terminalnom domenom visoke homologije s kolinesterazom (34).

Iz nedavno provedene studije utvrđena je po prvi put atomska struktura Tg-a pune duljine te je identificirala pripadajuće ostatke tirozina koji su zaslužni za nastajanje hormona. Ističe se da su samo 4 od 67 ostataka tirozina u svakom monomeru hormonogeni (28).

Protutijela na Tg su uglavnom IgG1, IgG3 i IgG4 a manje IgA, dok u općoj populaciji zabilježavamo i IgM klasu. U zdravih pojedinaca prisutni su u oko 10 % populacije te se vežu za različite epitope na molekuli Tg-a što je razlika u odnosu na pojedince sa HT-om gdje se vežu za TgAt (72). Povećana koncentracija joda u Tg-u dovodi do stvaranja novih epitopa, posljedično do izmjene strukture molekule čime se potiče imunogenost. Iz tog razloga u zemljama sa povećanim pa čak i dostatnim unosom joda zabilježen je porast HT oboljenja (73). Protutijela na Tg imaju velike prostorne razlike među epitopima te nemaju sposobnost fiksacije komplementa. Anti-Tg može se naći u većoj koncentraciji kod AITD-a i u nekih klinički eutireoidnih osoba iz čega slijedi da je manje pouzdan u odnosu na Anti-TPO za procjenu disfunkcije štitnjače (34).

1.2.4. Drugi autoantigeni štitnjače

Ovdje treba izdvojiti NIS i pendrin. Njihova uloga u pokretanju i održavanju imunološkog odgovora još uvijek nije potpuno razjašnjena te je predmet brojnih literaturnih rasprava. Uvidom u dostupne podatke, kao i rezultate novijih istraživanja Eleftheriadoua i sur. može se zaključiti da bi protutijela usmjerena na NIS (NISAb) mogla imati određenu važnost u patogenezi autoimunih bolesti štitnjače (AITD) (74).

NIS je glikoprotein molekulske mase oko 90 kDa koji omogućuje aktivni prijenos jodida kroz bazolateralnu membranu tireocita. Građen je od 13 transmembranskih domena, pri čemu je N-terminalni dio orijentiran prema izvanstaničnom prostoru, dok se C-terminalni kraj nalazi u citosolu. Pretpostavlja se da se epitopi na koje se vežu protutijela protiv NIS-a (NISAb) nalaze u izvanmembranskim dijelovima proteina te se međusobno djelomično preklapaju.

U usporedbi s NIS-om, pendrin također sudjeluje u prijenosu jodida, ali je smješten na apikalnoj membrani tireocita. Međutim, protutijela usmjerena protiv pendrina pokazuju relativno malu dijagnostičku vrijednost (34).

1.2.5. Receptor tireotropina (TSHR)

Receptor za tireotropin (TSHR) ima ključnu ulogu u prijenosu signala tireotropina (TSH), regulaciji sinteze hormona štitnjače (TH) te u rastu i proliferaciji folikularnih epitelnih stanica. Nalazi se na bazolateralnoj membrani tireocita. Ovaj receptor pripada skupini receptora

spregnutih s G-proteinom, a građen je od izvanstanične domene bogate leucinom (LRD) koja je preko tzv. zglobne regije (HinR) povezana s transmembranskim dijelom receptora (75).

Prekursorski polipeptidni lanac TSHR-a prolazi intramolekularno cijepanje u području HinR-a tijekom posttranslacijske obrade. Kao rezultat tog procesa nastaju dvije funkcionalno povezane podjedinice: izvanstanična, izrazito glikozilirana A-podjedinica te B-podjedinica koja obuhvaća transmembranski i intracelularni dio receptora (76). Ove su podjedinice međusobno stabilizirane disulfidnim mostovima (34).

Tablica 2. Karakteristike antigena štitnjače (34).

Svojstvo	Tg	TSHR	TPO	NIS
Molekulska masa	Homodimer, ~330 kDa	Dimer/oligomer, ~90 kDa	Homodimer, ~107 kDa	Dimer/oligomer, ~90 kDa
Lokalizacija u tireocitu	Folikularni lumen	Bazolateralna membrana	Apikalna membrana	Bazolateralna membrana
Funkcija	Sekvestracija joda i sinteza tiroksina (TH)	Glavni stimulator rasta, diferencijacije i funkcije stanica štitnjače	Kataliza spajanja hormonogenih tirozina u Tg	Aktivni transport joda u stanice

Kratice: kDa – kilodalton; NIS – natrij-jodidni simporter; Tg – tireoglobulin; TH – hormoni štitnjače; TPO – tireoidna peroksidaza; TSHR – receptor tireostimulirajućeg hormona. **Preuzeto i prilagođeno prema:** Bogusławska J, Godlewska M, Gajda E, Piekiełko-Witkowska A. Cellular and molecular basis of thyroid autoimmunity. Eur Thyroid J. 2022;11:e210024.

1.2.6. Patomehanizmi Hashimotova tireoiditisa

Autoimuna patogeneza Hashimotova tireoiditisa (HT) temelji se na međudjelovanju okolišnih čimbenika i genetske predispozicije (54). U genetske čimbenike uključeni su brojni geni povezani s regulacijom imunološkog odgovora, poput CTLA-4, HLA i PTPN22, kao i obrasci inaktivacije X-kromosoma koji mogu pridonijeti neravnoteži između mehanizama imunološke autotolerancije koje održavaju T i B limfociti (34, 54). Genetska predispozicija dodatno se može epigenetski modificirati procesima kao što su metilacija DNA, modifikacije histona te djelovanjem nekodirajućih RNA kroz mehanizme RNA interferencije.

Patofiziološki gledano, HT je obilježen imunološki posredovanim oštećenjem štitnjače, pri čemu ključnu ulogu imaju autoreaktivne T-stanice. Histološki nalaz karakterizira limfoplazmocitna infiltracija parenhima štitnjače, stvaranje limfnih folikula, fibroza i postupna

atrofija žljezdanog tkiva. Biokemijski, u nekih bolesnika mogu se naći protutijela usmjerena protiv TSH receptora (TSHR) koja djeluju kao antagonisti i blokiraju djelovanje TSH, što može pridonijeti razvoju hipotireoze.

Središnji mehanizam razvoja bolesti predstavlja gubitak imunološke tolerancije na autoantigene štitnjače. U tom procesu važnu ulogu ima periferna imunološka tolerancija, pri čemu je patološki imunološki odgovor lokaliziran u tkivu štitnjače. Nakupljanje antigen-prezentirajućih stanica (APC) koje eksprimiraju molekule glavnog sustava histokompatibilnosti klase II (MHC II) predstavlja važan korak u razvoju autoimunih bolesti štitnjače (AITD). Infiltracija tkiva dendritičnim stanicama i makrofagima može biti potaknuta upalnim procesima, koji se mogu javiti kao posljedica izlaganja virusnim ili bakterijskim infekcijama te različitim okolišnim čimbenicima.

Folikularne stanice štitnjače u bolesnika s AITD-om mogu abnormalno eksprimirati molekule MHC klase II inducirane interferonom- γ (IFN- γ), čime dobivaju sposobnost prezentacije autoantigena i dodatno potiču aktivaciju T-limfocita (34). U uznapređovalom stadiju tireoiditisa štitnjača je infiltrirana različitim imunološkim stanicama, uključujući B limfocite, citotoksične T limfocite (Tc) i CD4⁺ T stanice, pri čemu B stanice mogu činiti i do 50 % infiltrata. Interakcija s antigen-prezentirajućim stanicama dovodi do aktivacije CD4⁺ T limfocita koji se diferenciraju u različite podskupine T-pomagačkih stanica, uključujući Th1, Th2 i Th17 stanice, kao i regulatorne T stanice (Treg). U HT-u ove populacije T stanica sudjeluju u razaranju tkiva štitnjače putem citokina i citotoksičnih mehanizama (72).

Virusne infekcije također mogu sudjelovati u pokretanju autoimunog odgovora. Stanični imunološki odgovor na virusnu infekciju uključuje interferone tipa I, poput IFN- α , koji mogu uzrokovati promjene u ekspresiji gena i modulirati imunološki odgovor. U osoba s genetskom predispozicijom takvi mehanizmi mogu potaknuti razvoj patološke autoimune reakcije. Posebno je opisana povezanost između kronične infekcije virusom hepatitisa C (HCV) i autoimunih bolesti štitnjače (54).

Neravnoteža između različitih populacija T-limfocita također ima važnu ulogu u patogenezi bolesti. Aktivacija Th17 stanica uz istodobno smanjenje funkcije regulatornih T stanica (Treg) smatra se jednim od ključnih mehanizama koji pridonose gubitku imunološke tolerancije u autoimunim bolestima. Procjenjuje se da genetski čimbenici sudjeluju u približno

60 % ukupnog rizika za razvoj Hashimotova tireoiditisa, dok HLA rizični aleli predstavljaju jednu od najvažnijih genetskih poveznica između Hashimotova tireoiditisa i Gravesove bolesti (72, 77).

1.2.7. Klinička slika Hashimotova tireoiditisa

Manifestacija simptoma može biti lokalna i sistemska te je usko povezana s hipotireozom. Lokalni simptomi nastaju zbog kompresije anatomskih struktura vrata i uključuju disfoniju, koja može biti posljedica pritiska na laringealni živac, dispneju zbog pritiska na traheju te disfagiju kao posljedicu kompresije jednjaka. Sistemski simptomi su češći i posljedica su hipotireoze koja se često javlja kod HT-a. Ona zahvaća gotovo sve organske sustave s određenom varijabilnošću, a često joj prethode subkliničke manifestacije (78).

Poznato je da nedostatak hormona štitnjače u perifernim tkivima posljedično dovodi do hipotireoze. Subklinička hipotireoza prisutna je u približno 10 % slučajeva, a obilježena je blago povišenim vrijednostima TSH uz uredne vrijednosti hormona štitnjače (71). Manifestna hipotireoza, nasuprot tome, rjeđa je, a godišnja incidencija u Europi kreće se od 0,2 do 5,3 %. Ako se ne liječi, subklinička hipotireoza može prijeći u manifestnu hipotireozu uz godišnju incidenciju do 6 % (79).

Manifestacije u perifernim tkivima zahvaćaju gotovo sve organske sustave. Gastrointestinalni sustav pokazuje smanjenu peristaltiku, što može uzrokovati zatvor ili ileus. Kolecista može biti hipotonična, što pogoduje stvaranju žučnih kamenaca. Zbog nakupljanja hijaluronske kiseline koža je hladna, žućkasta, zadebljana i suha zbog atrofije znojnice.

Kardiovaskularni sustav pokazuje znakove bradikardije te smanjene amplitude srčanih valova na EKG-u. Dolazi i do smanjenog minutnog volumena srca zbog smanjene kontraktilnosti ventrikula i povećanog perifernog vaskularnog otpora. U perikardijalnoj vreći može doći do povećane koncentracije mukopolisaharida i posljedično do perikardijalnog izljeva. Zbog prisutnosti hiperlipidemije i kristala kolesterola nakon aspiracije tekućina može imati izgled koloidnog zlata. Hiperlipidemija pospješuje razvoj ili progresiju ishemijske bolesti srca. Miksedem glasnice može uzrokovati promuklost (80).

U težim oblicima neliječene hipotireoze može doći do nakupljanja glikozaminoglikana u intersticiju i razvoja miksedemskih promjena mekih tkiva. Takve promjene mogu zahvatiti

kožu, potkožno tkivo, jezik, glasnice i strukture gornjih dišnih putova, što se klinički može očitovati promuklošću, makroglosijom, opstruktivnim smetnjama disanja ili hipoventilacijom, osobito u izraženoj hipotireozu i miksedemskoj komi. U mišićno-koštanom sustavu hipotireoza se može očitovati hipotireoidnom miopatijom, smanjenom kontraktilnošću, mišićnom slabošću, bolovima, grčevima i usporenom relaksacijom dubokih tetivnih refleksa (78, 81).

Dolazi i do smanjene bubrežne sinteze eritropoetina pa su manifestacije u hematopoetskom sustavu vidljive kao normocitna anemija, mikrocitna anemija zbog smanjene apsorpcije željeza te megaloblastična anemija zbog povezanog autoimunog gastritisa koji dovodi do nedostatka vitamina B₁₂. Mokraćni sustav karakterizira smanjenje glomerularne filtracije, smanjeno izlučivanje slobodne vode te nastanak hiponatrijemije (78, 82).

Učinci na središnji živčani sustav očituju se umorom, depresijom, smanjenom koncentracijom i gubitkom pamćenja. Najteža manifestacija duboke hipotireoze jest miksedemska koma (83).

Među kliničkim varijantama HT-a opisuju se bezbolni tireoiditis, bolni tireoiditis, postpartalni tireoiditis i Hashimotova encefalopatija (50). Bezbolni tireoiditis karakterizira odsutnost boli u području vrata, dok je njegovo glavno obilježje prolazna faza hipotireoze koja se vraća u eutireozu (84). Bolni tireoiditis prati akutna i izražena bol u jednom režnju ili cijeloj štitnjači. To je rijetka varijanta HT-a koja pogađa uglavnom žene u odnosu na muškarce u omjeru 10–11:1 (85). Postpartalni tireoiditis javlja se približno šest mjeseci nakon poroda i klinički je sličan bezbolnom tireoiditisu. Ovu vrstu tireoiditisa također prati prolazan tijekom autoimunog poremećaja (86).

Hashimotova encefalopatija jedna je od kliničkih varijanti HT-a povezanih s encefalopatijom koja je prvi put opisana 1966. godine. Najčešći simptomi uključuju subakutne kognitivne poremećaje, promjene ponašanja i epileptičke napadaje. Klinički obično dobro reagira na terapiju kortikosteroidima, a u patogenezi se spominje povezanost s autoantigenom alfa-enolazom (87).

1.2.8. Dijagnoza Hashimotova tireoiditisa

Pregled štitnjače obuhvaća klinički pregled, određivanje seroloških biljega autoimunosti štitnjače te ultrazvučni pregled žlijezde. Klinički pregled započinje uzimanjem detaljne

anamneze koja uključuje podatke o prethodnim bolestima, trenutačnoj terapiji, obiteljskoj anamnezi bolesti štitnjače te prisutnosti subjektivnih tegoba poput osjećaja pritiska u vratu, bolnosti ili poteškoća pri gutanju (88).

Nakon anamneze slijedi fizikalni pregled štitnjače, koji uključuje inspekciju i palpaciju vrata. Palpacija se najčešće izvodi tako da liječnik stoji iza pacijenta u sjedećem položaju te palpira područje štitnjače prstima obiju ruku. Tijekom palpacije pacijenta se zamoli da proguta, budući da se štitnjača pri aktu gutanja pomiče prema gore zajedno s trahejom, što omogućuje bolju procjenu njezina položaja i pokretljivosti (89).

Palpacijom se procjenjuju veličina i oblik štitnjače, njezina konzistencija (mekana, čvrsta ili tvrda), osjetljivost na palpaciju te pokretljivost žlijezde. Također je moguće uočiti prisutnost nodularnih promjena unutar štitnjače ili u području vrata, kao i eventualno povećane limfne čvorove. Ovi klinički nalazi predstavljaju važan početni korak u procjeni bolesti štitnjače i određivanju potrebe za daljnjom dijagnostičkom obradom.

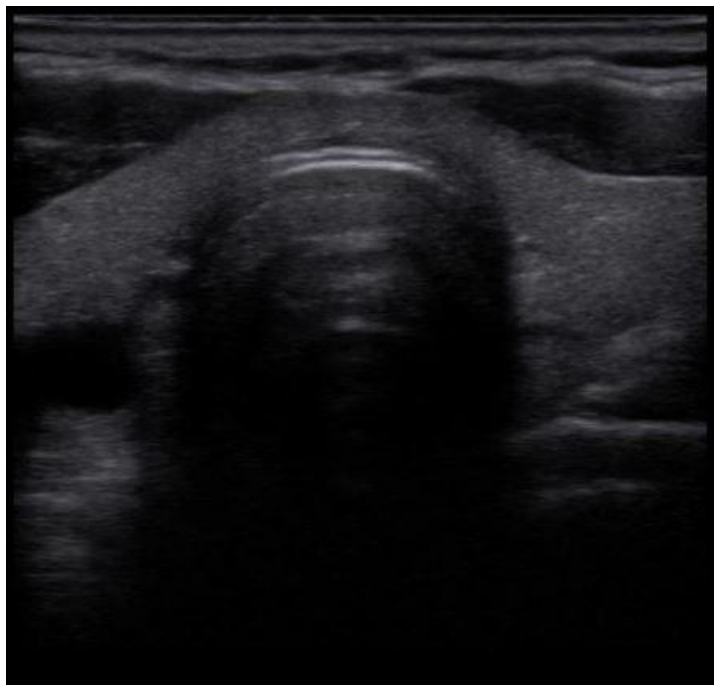
Drugi parametar koji analiziramo prilikom postavljanja dijagnoze su serološke koncentracije TSH i antitijela štitnjače (tgAT i anti-TPO). TSH nam govori o funkciji same štitnjače. Anti-TPO je prisutan u oko 95 % pacijenata sa HT-om te se smatra njegovim glavnim indikatorom iako je rijedak kod zdravih kontrola. Prediktivnu ulogu ima i kod postporođajnog tireoiditisa budući da trudnice koje su pozitivne na anti-TPO na početku trudnoće imaju veći rizik za razvoj hipotireoze u prvoj godini nakon poroda kao i povećan rizik za dugotrajno oštećenje štitnjače. Titar anti-TPO dobro korelira s brojem reaktivnih limfocita koji infiltriraju štitnjaču i stupnjem sonografske hipoechogenosti. TgAT prisutan je u 60-80 % oboljelih te je manje pouzdan i manje specifičan za postavljanje dijagnoze jer je prisutan u većem broju zdravih kontrola (50).

Iako se ova antitijela zajedno razmatraju prilikom postavljanja dijagnoze i fluktuiraju zajedno nakon terapijske intervencije međusobno slabo koreliraju. Gledajući kohortu od 145 sudionika s novodijagnosticiranim HT-om zamijećeno je da antitijela imaju značajnu i pozitivnu korelaciju ($p < 0,001$) ali nisku r-vrijednost kvadrata (0,11) (90). Što sugerira da tgAT mogu biti produkt početnog imunološkog odgovora dok su anti-TPO rezultat kasnijeg imunološkog odgovora (91). U skladu s ovom hipotezom tgAT bi trebao biti prisuta na početku bolesti i prethoditi stvaranje anti-TPO kako je uočeno u mišjim modelima kod spontanog autoimunog

tireoiditisa (92). Problematika je što su počeci autoimune bolesti kod ljudi rijetko uočljivi. Na primjer kod HT-a većina pacijenata kad dobije dijagnozu već je imala bolest najmanje sedam godina (93).

Treći parametar pri dijagnostici bolest štitnjače je ultrazvuk. Za ultrazvučni pregled koristi se linearna sonda duljine 4-5 cm i frekvencije od 7,5-12MHz u klasičnom B-načinu prikaza. Ultrazvučnim pregledom prikazuje se morfologija štitnjače. Posebno analiziramo lijevi i desni režanj te istmus, mjerimo volumen svakog dijela u mililitrima. Dobivene vrijednosti zbrojimo i množimo sa težinskim čimbenikom za štitnjaču ($1,1 \text{ g/cm}^3$) i dobivamo težinu u gramima ($m_s(\text{g}) = V_s(\text{cm}^3) \times 1,1 \text{ g/cm}^3$) uz pretpostavku da su volumeni režnjeva elipsoide a volumen istmusa kvadrat.

Normalna štitnjača teška je od 10-20 grama. Vrijednosti manje od 10 grama ukazuju da se radi o smanjenoj štitnjači a vrijednosti veće od 20 grama odgovaraju nalazu uvećane štitnjače. Normalna štitnjača je glatkih kontura, homogenog izgleda, izoehogena zbog veličine i koloidnog sadržaja folikula koji raspršuju ultrazvučne valove pri čemu je parenhim viših ehogenosti od okolnih mišićnih struktura (Slika 1. i Slika 2.) (94).

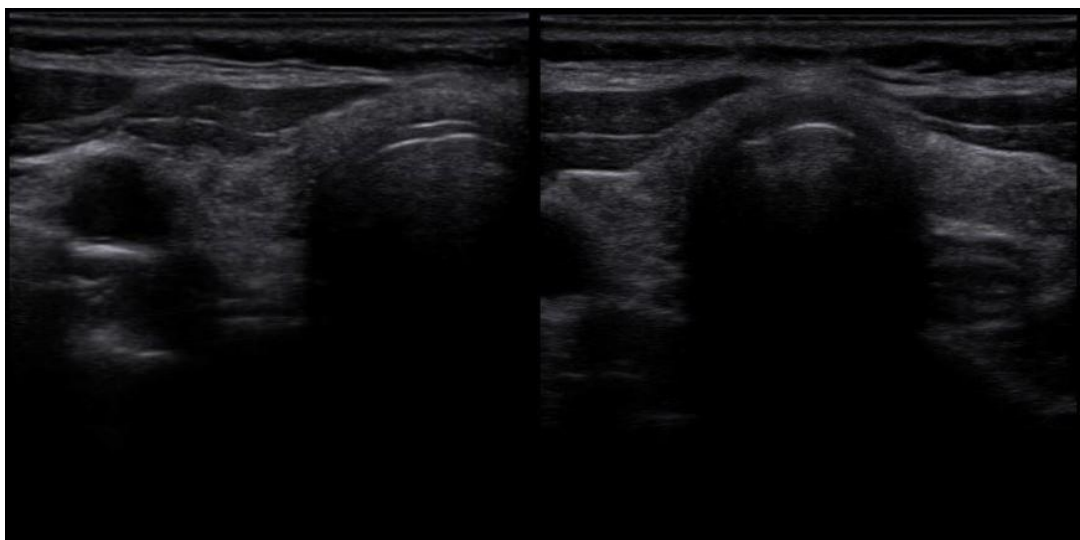


Slika 1. Štitnjača primjerene veličine, homogene ehostrukture, uz vidljivu koloidnu cistu desnog reznja. IZVOR: autor



Slika 2. Štitnjača primjerene veličine, uredne ehogenosti parenhima uz vidljiv izoehogeni nodus desnog režnja. IZVOR: autor.

Kod HT-a folikuli štitnjače se uništavaju i zamjenjuju malim limfocitima tako da se ehogenost parenhima značajno smanjuje (Slika 3.) (50). Druge specifične značajke štitnjače kod HT-a uključuju heterogenost, hipervaskularnost te prisutnost hipoehogenog mikronodula s ehogenim rubom (95). Postoje jedinstvene značajke u različitim varijantama HT-a. IgG4 tireoiditis karakterizira izražena hipoehogenost a fibrozna varijanta praćena je nepravilnošću i nodularnošću radi primjetnog taloženja kolagenskih vlakana. Važnost ultrazvuka štitnjače sve je veća kao i pokušaji za što točnijom analizom vidljivih segmenata (51).



Slika 3. Štitnjača primjerene veličine, inhomogene heterogene strukture koja odgovara kroničnom tireoiditisu uz vidljiv heterogeni nodus lijevog režnja. Desno anehogena promjena koja će odgovarati koloidnoj cisti. IZVOR: autor

Kombinacije sa *color dopplerom* s ciljem boljeg uvida u vaskularnost štitnjače kao i vaskularnost samih nodula te elastografije radi procjene stupnja fibroze u parenhimu u svrhu što preciznije evaluacije njihove patogenosti sve je izraženija (96). *Color doppler* iznimno je važan kod tireotoksikoze jer se na temelju PSV-a u aferentnim arterijama može razlikovati od Gravesove hipertireoze. Kod žarišnih promjena analiza dopplerom može odlučiti o daljnjoj terapiji (97).

Citološka punkcija ne provodi se rutinski, nego je indicirana kod čvorova štitnjače koji prema ultrazvučnim obilježjima pokazuju povećan rizik malignosti. Najvažnija sumnjiva obilježja uključuju izrazitu hipoechogenost, nepravilne ili lobulirane rubove, mikrokalcifikacije, oblik čvora viši nego širi u transverzalnom presjeku te znakove ekstratireoidnog širenja. Prisutnost suspektnih cervikalnih limfnih čvorova dodatno povećava sumnju na malignitet i zahtijeva ciljanu dijagnostičku obradu. Vaskularizacija se može opisati kao dopunski ultrazvučni nalaz, ali se ne smatra samostalnim visokorizičnim kriterijem za malignost (50).

Scintigrafija štitnjače nije rutinska metoda za postavljanje dijagnoze Hashimotova tireoiditisa. U dijagnostičkoj obradi bolesnika s HT-om osnovu čine klinička procjena, određivanje TSH-a, perifernih hormona štitnjače i protutijela na tireoidne antigene, uz ultrazvučnu procjenu morfologije žlijezde. Scintigrafija s Tc-99m pertehnetatom ili I-123 može

imati dopunsku ulogu u specifičnim kliničkim situacijama, ponajprije kod sniženog TSH-a i sumnje na funkcionalno autonomni čvor, u diferencijalnoj dijagnostici tireotoksikoze te pri procjeni funkcionalnosti nodularnih promjena. U bolesnika s čvorovima štitnjače odluka o citološkoj punkciji primarno se temelji na ultrazvučnim obilježjima čvora i sustavima stratifikacije rizika, dok scintigrafija može pomoći u razlikovanju funkcionalno aktivnih od neaktivnih nodusa. Stoga se u kontekstu Hashimotova tireoiditisa scintigrafija treba promatrati kao selektivna dopunska metoda, a ne kao standardni dio dijagnostičkog postupka. (97).

1.2.9. Liječenje Hashimotova tireoiditisa

Glavna stavka kod liječenja HT-a je kontrola hipotireoze. Kao što je prethodno navedeno kod velike većine u trenutku postavljanja dijagnoze kad pacijent primijeti simptome HT-a bolest je već bila prisutna 6 do 8 godina. U pojedinim istraživanjima ispitivan je učinak selena, vitamina D i bezglutenske prehrane na autoimune markere i funkciju štitnjače u bolesnika s HT-om, no dokazi su heterogeni i ne podupiru rutinsku primjenu ovih intervencija s ciljem odgode hormonske nadomjesne terapije kod svih bolesnika (98, 99).

Kada dođe do hipotireoze zlatni standard je svakodnevna peroralna primjena sintetičkog oblika levo-tiroksina (L-T4) (100). Najčešće se uzima ujutro natašte (30-60 min. prije prvog obroka) ili navečer par sati nakon obroka. Prema pravilu doza za odraslu osobu iznosi 1,6-1,8 mcg po kilogramu tjelesne mase. Parametar za kontrolu učinka terapije a time i prepisane doze je koncentracija TSH u krvi. Prva kontrola je nakon 4 do 6 tjedana od uključivanja terapije ili promjene doze i/ili promjene proizvođača lijeka. Kod ustaljenih terapija kontrola je dovoljna jednom godišnje. Neke od prednosti ove terapije su učinkovitost, jednostavnost primjene, ekonomičnost i dostupnost. Supstitucijska terapija je cjeloživotna da bi se postigla normalna koncentracija TSH. Treba naglasiti da je ovo liječenje simptomatsko te nema utjecaj na patogenezu HT-a. Kendell ga je prvi izolirao 1915. godine a komercijalnu upotrebu ostvaruje 1930-ih godina (50). Poluživot L-T4 je 7 dana pa pruža stabilnu razinu T3 u krvi. Apsorpcija se odvija u tankom crijevu, procjenjuje se da se apsorbira 70-80 % od ukupne doze. Poremećaji gastrointestinalnog sustava smanjuju učinak primijenjene doze. Osim toga treba pripaziti pri primjeni inhibitora protonske pumpe, željeza i kalcija te ih treba koristiti 4 sata nakon terapije L-T4 iako su danas prisutne terapije L-T4 s poboljšanom apsorpcijom. Povoljan učinak ove terapije zabilježen je u smanjenju oksidativnog stresa koji nastaje kao posljedica upale kod autoimunih procesa HT-a. Novije studije upućuju da je primjena L-T4 u obliku tekućine ili

mekih gel kapsula puno korisnija u pacijenata s malapsorpcijom jer pruža bolju kontrolu TSH i time bolju apsorpciju. Također, studije su provedene na trudnicama, novorođenčadi i dojenčadi gdje je također dokazana veća dobrobit u tekućoj primjeni L-T4 u odnosu na tablete radi bolje bioekvivalencije (78). Treba naglasiti da su novije studije ustanovile da blago povećanje koncentracije TSH kod starije populacije ne utječe na bitne životne aspekte kao što su kvaliteta života, spoznaja pa čak ni na kardiovaskularni sustav. Stariji ljudi imaju manju potrebu za TH pa bi trebalo prihvatiti veći TSH prag za ovu populaciju te imati ovo na umu prije uključivanja nadomjesne hormonske terapije (101).

Terapija trijodtironinom ili liotironinom (LT3) najčešće se daje u kombinaciji s terapijom LT4. LT3 ima kratko vrijeme poluživota u cirkulaciji, brzo se apsorbira i postiže vršnu koncentraciju T3 za 2 do 4 sata što bi značilo da zahtijeva primjenu više puta u danu što je čini nepraktičnom. Iz navedenih razloga terapija LT3 nije primarni način liječenja hipotireoze ali se može ordinirati uz L-T4 ukoliko monoterapija L-T4 ne postiže kliničko poboljšanje unatoč optimalnim koncentracijama TSH u krvi. Nastavak ove terapije ne preporučuje se ukoliko ne dolazi do poboljšanja u prvim tjednima primjene (78).

Glukokortikoidi mogu regulirati tiroiditis i dovesti do akutnog poboljšanja funkcije štitnjače iako rizik dugotrajnog korištenja i previsoke doze nadmašuje korist. Kratkotrajna upotreba prednizolona može pokazati dugoročnu korist u IgG4 varijanti HT-a (102). U akutnoj medicinskoj praksi glukokortikoidi se primjenjuju za brzo suzbijanje intenzivnih upalnih i imunoloških procesa te za stabilizaciju pacijenata u hitnim stanjima kada je potrebna brza kontrola sistemskih reakcija, poput teških alergijskih reakcija, anafilaktičkog šoka ili egzacerbacija astme. U području endokrinologije posebnu pažnju zahtijevaju situacije povezane sa štitnjačom, osobito tireotoksična kriza, poznata i kao tireoidna oluja (engl. *thyroid storm*). U ovom životno ugrožavajućem stanju steroidna terapija predstavlja standardni dio hitne terapije jer glukokortikoidi, poput intravenskog hidrokortizona ili deksametazona, smanjuju perifernu konverziju T4 u aktivniji T3 i pomažu u prevenciji ili liječenju relativne adrenalne insuficijencije izazvane hipermetabolizmom prekomjernih hormona štitnjače. Ove intervencije značajno doprinose stabilizaciji pacijenata i poboljšanju ishoda liječenja u akutnoj fazi bolesti (103).

Kod pacijenata s aktivnom i umjereno do teškom Gravesovom orbitopatijom, koja predstavlja autoimuni inflamatorni proces oka povezan s hipertireozom, višestruke

endokrinološke smjernice preporučuju visoke doze intravenskog glukokortikoida kao terapiju prve linije. Ova terapija učinkovito smanjuje upalu orbitalnog tkiva, ublažava simptome poput egzoftalmusa i diplopije te značajno poboljšava funkciju oka i kvalitetu života oboljelih (104).

Još jedna akutna situacija u kojoj se glukokortikoidi primjenjuju u kontekstu štitnjače jest amiodaronom inducirana tireotoksikoza tipa 2, oblik destruktivnog tiroiditisa uzrokovanog direktnim toksičnim učinkom amiodarona na tireocite. U takvim slučajevima kortikosteroidi smanjuju upalnu destrukciju tkiva štitnjače, potiču bržu biokemijsku kontrolu tireotoksikoze i doprinose simptomatskom poboljšanju bolesnika (105).

Primjena glukokortikoida u ovim hitnim endokrinološkim stanjima zahtijeva pažljivo praćenje zbog mogućih nuspojava, uključujući poremećaje glukoze u krvi i imunosupresiju. Ipak, u spomenutim akutnim indikacijama prednosti njihove kratkotrajne i kontrolirane primjene osobito u kombinaciji s drugim terapijskim modalitetima često nadmašuju potencijalne rizike posebno kada je cilj brzo stabilizirati metaboličko i hemodinamsko stanje pacijenta (103).

Povijesni značaj predstavljaju sasušena tkiva životinja (DTE) kao mogućnost u liječenju hipotireoze (106). Prepreke u ovom pristupu su nepročišćenost preparata, lošija kontrola koncentracije hormona u serumu te nefiziološki omjer T4:T3 koji sadrži znatno veći udio T3 u usporedbi s prirodnim humanim izlučivanjem, što može uzrokovati neželjenu suprafiziološku trijodtironinsku izloženost (100).

Kirurški zahvati su opcija ukoliko dođe do kompresije vratnih struktura ili ukoliko je prisutan maligno alterirani nodul. Točno je i da operacija u bolesnika s HT-om može biti tehnički zahtjevnija zbog adhezija i upale u odnosu na druge autoimune bolesti. Jedna od najznačajnijih posljedica je postoperativno krvarenje s nastankom hematoma, koji u rijetkim slučajevima može ugroziti dišne putove i zahtijevati hitnu kiruršku reviziju. Može doći i do infekcija rane te nastanka seroma (107, 108). Veća komplikacija podrazumijeva ozljedu rekurentnog laringealnog živca (lat. *n. laryngeus recurrens*), a valja istaknuti i mogućnost oštećenja vanjske grane gornjeg laringealnog živca (lat. *ramus externus n. laryngei superioris*) što se može očitovati suptilnim promjenama glasa, osobito smanjenjem sposobnosti postizanja visokih tonova (109). U određenim slučajevima mogu se razviti i respiratorne tegobe, poput edema dišnih putova ili traheomalacije naročito u bolesnika s dugotrajno povećanom štitnjačom

(107). Nakon totalne tireoidektomije dolazi do trajne hipotireoze koja zahtijeva doživotnu hormonsku nadomjesnu terapiju, a kod pojedinih bolesnika može doći i do stvaranja izraženijeg ožiljka (110). Unatoč navedenom, većina komplikacija je prolazna i rijetka osobito kada se zahvat izvodi u iskusnim kirurškim centrima uz odgovarajuće praćenje bolesnika (107, 109).

1.3. Kardiovaskularni rizik

Kardiovaskularne bolesti (KVB) vodeći su uzrok smrtnosti u svijetu te su odgovorne za približno 32 % svih smrtnih slučajeva globalno, što odgovara gotovo 20 milijuna smrti godišnje (111). Od sredine 20. stoljeća multifaktorijalna priroda KVB-a potvrđena je u brojnim epidemiološkim istraživanjima, među kojima se posebno ističe Framinghamska studija koja je pokazala da je značajan udio kardiovaskularnog rizika povezan s jasno prepoznatljivim čimbenicima rizika i obrascima ponašanja (112). Unatoč napretku u farmakološkom i intervencijskom liječenju, opterećenje kardiovaskularnim bolestima i dalje je izrazito veliko, osobito u zemljama s niskim i srednjim dohotkom u kojima se bilježi više od tri četvrtine ukupne smrtnosti od KVB-a (111, 112). Suvremeni pristup procjeni kardiovaskularnog rizika temelji se na procjeni ukupnog rizika koji proizlazi iz složenih interakcija genetskih, metaboličkih, okolišnih i bihevioralnih čimbenika (113).

Među bihevioralne i okolišne čimbenike rizika ubrajaju se nezdrava prehrana, tjelesna neaktivnost, pušenje, štetna konzumacija alkohola i onečišćenje zraka, dok društveni i psihosocijalni čimbenici uključuju anksioznost, poremećaje spavanja, psihološki stres i siromaštvo. Važnu ulogu imaju i komorbiditeti, poput šećerne bolesti, arterijske hipertenzije, dislipidemije, pretilosti ili prekomjerne tjelesne mase, kronične bubrežne bolesti te kronične upale i infekcije.

Dodatno, kardiovaskularni rizik određen je i nepromjenjivim čimbenicima, uključujući genetsku predispoziciju, pozitivnu obiteljsku anamnezu, etničku pripadnost, spol i dob. Djelovanjem navedenih čimbenika dolazi do aktivacije brojnih patofizioloških mehanizama koji u konačnici dovode do endotelne disfunkcije te razvoja bolesti krvnih žila i srca (114).

Pušenje je jedan od dvaju najvažnijih čimbenika rizika za kardiovaskularne bolesti, premda većina ranijih podataka o štetnosti duhana potječe iz razvijenih zapadnih zemalja. Studija INTERHEART i druga istraživanja proširila su te spoznaje i na zemlje u razvoju te

pokazala da su različiti oblici uporabe duhana, uključujući cigarete, lule, bidi-proizvode i bezdimni duhan, povezani sa štetnim učincima na kardiovaskularno zdravlje. Globalna potrošnja cigareta kontinuirano je rasla tijekom 20. stoljeća. Danas se potrošnja u nekim zemljama s visokim dohotkom stabilizira ili smanjuje, dok u zemljama s niskim i srednjim dohotkom i dalje ostaje visoka ili raste. Štetni učinci uporabe duhana na kardiovaskularne bolesti, maligne bolesti i ukupnu smrtnost najopsežnije su dokumentirani za pušenje cigareta, osobito u zapadnim populacijama (115).

Podaci WHO-a i novija međunarodna istraživanja potvrđuju da se teret uporabe duhana i dalje u najvećoj mjeri premješta prema zemljama s niskim i srednjim dohotkom. Duhan ne pruža nikakvu fiziološku ni terapijsku korist korisnicima. Procjenjuje se da u svijetu postoji približno 1,3 milijarde korisnika duhanskih proizvoda, od kojih većina, oko 80 %, živi u zemljama sa srednjim i niskim dohotkom. Sukladno tomu, smrtnost povezana s uporabom duhana izrazito je visoka; procjenjuje se da je tijekom 20. stoljeća od bolesti povezanih s duhanom umrlo oko 100 milijuna ljudi, a uz nastavak sadašnjih trendova taj bi broj tijekom 21. stoljeća mogao dosegnuti i jednu milijardu (116).

Nezdrave životne navike, uključujući pušenje, tjelesnu neaktivnost i nezdravu prehranu, odgovorne su za više od 50 % ukupnog kardiovaskularnog rizika. Prestanak pušenja povezan je sa smanjenjem rizika infarkta miokarda za 30–50 % unutar pet godina od prestanka pušenja (117). Genetski čimbenici dodatno moduliraju individualni rizik, no povoljan životni stil može značajno smanjiti rizik čak i kod osoba s visokim genetskim opterećenjem (118).

Arterijska hipertenzija najvažniji je pojedinačni modificirajući čimbenik kardiovaskularnog rizika te je odgovorna za približno 10,4 milijuna smrti godišnje (119). Meta-analize randomiziranih kliničkih ispitivanja pokazale su da sniženje sistoličkog arterijskog tlaka za 10 mmHg rezultira smanjenjem rizika od velikih kardiovaskularnih događaja za oko 20 %. Od toga koronarne bolesti srca za 17 %, moždanog udara za 27 %, te ukupne smrtnosti za 10–15 % (119–121).

Dislipidemija, osobito povišene koncentracije LDL-kolesterola, ima kauzalnu ulogu u razvoju aterosklerotske kardiovaskularne bolesti, što je potvrđeno genetičkim studijama, Mendelovom randomizacijom i velikim randomiziranim ispitivanjima (122–124). Sniženje

LDL-kolesterola za 1 mmol/L povezano je sa smanjenjem rizika velikih kardiovaskularnih događaja za približno 22 %, neovisno o vrsti terapije kojom se sniženje postiže (123, 124).

Šećerna bolest tipa 2 povezana je s dvostruko većim rizikom kardiovaskularne smrtnosti, dok bolesnici sa šećernom bolešću tipa 1 imaju značajno povećan rizik od prerane aterosklerotske bolesti (125, 126). Patofiziološki mehanizmi uključuju inzulinsku rezistenciju, kroničnu hiperglikemiju, endotelnu disfunkciju i niskogradijentnu upalu (127). U posljednjem desetljeću, inhibitori SGLT2 i agonisti GLP-1 receptora pokazali su smanjenje velikih kardiovaskularnih događaja za 12–26 % te hospitalizacija zbog srčanog zatajenja za 30–35 %, neovisno o glikemijskoj kontroli (127–130).

Kronična upala ima ključnu ulogu u svim fazama aterosklerotskog procesa, od inicijacije do rupture plaka (131, 132). Randomizirana klinička ispitivanja pokazala su da ciljano smanjenje upalne aktivnosti, bez promjene lipidnog profila, može dovesti do smanjenja velikih kardiovaskularnih događaja za približno 15 %, čime je potvrđena neovisna uloga upale u aterosklerozi (131).

Procjena ukupnog kardiovaskularnog rizika temelj je suvremene preventivne kardiologije. Europski SCORE 2 modeli omogućuju procjenu desetogodišnjeg rizika fatalnih i nefatalnih kardiovaskularnih događaja uzimajući u obzir dob, spol, pušenje, arterijski tlak i lipidni status (113, 133). Primjena ovih modela omogućuje precizniju stratifikaciju bolesnika i individualizirani terapijski pristup, osobito u osoba srednjeg rizika (134).

Kardiovaskularni rizik rezultat je složene interakcije brojnih modificirajućih i nemodificirajućih čimbenika, uključujući životne navike, metaboličke poremećaje, genetsku predispoziciju i upalne procese (113). Epidemiološki i klinički dokazi jasno pokazuju da kontrola ključnih čimbenika rizika, poput arterijske hipertenzije, dislipidemije, šećerne bolesti i pušenja, može značajno smanjiti učestalost velikih kardiovaskularnih događaja. Suvremeni pristup prevenciji stoga se temelji na procjeni ukupnog kardiovaskularnog rizika te individualiziranom terapijskom pristupu koji uključuje promjene životnog stila i prema potrebi dugotrajnu farmakološku terapiju. Sustavna identifikacija i adekvatno liječenje čimbenika rizika ostaju ključni elementi strategije smanjenja globalnog tereta kardiovaskularnih bolesti (113, 125).

1.4. Mediteranska prehrana

Mediteranska prehrana predstavlja tradicionalni prehrambeni obrazac karakterističan za zemlje mediteranskoga bazena, koji je u suvremenoj medicinskoj literaturi prepoznat kao jedan od najdosljednije istraživanih i znanstveno potvrđenih modela zdrave prehrane, osobito u kontekstu primarne i sekundarne prevencije kardiovaskularnih i metaboličkih bolesti.

Prvu definiciju mediteranske prehrane predstavio je Ancel Keys opisujući je kao prehranu tipičnu za stanovnike Grčke i južne Italije 1960-ih. Tada ju je opisao kao prehranu s niskim udjelom zasićenih masnih kiselina i bogatu maslinovim uljem. Kao rezultat znanstvenih istraživanja provedenih tijekom godina definicija mediteranske prehrane modificirana je. Mediteranska prehrana je učinkovita zbog sinergije različitih bioaktivnih spojeva, osobito polifenola (hidroksitirozol, oleuropein, resveratrol, kvercetin, katehini), mononezasićenih masnih kiselina (MUFA), omega-3 masne kiseline (EPA i DHA) tokoferoli (vitamin E), askorbinska kiselina (vitamin C), karotenoida (likopen, β karoten, lutein), organosumporni spojevi (alicin, sulforafan) te ostali bioaktivni spojevi (fitosteroli i dijetalna vlakna) (135).

Masnoće koje dominiraju u mediteranskoj prehrani uključuju mononezasićene masne kiseline (MUFA), osobito oleinsku kiselinu iz ekstra djevičanskog maslinovog ulja (70 do 80 %). Oleinska kiselina poboljšava lipidni profil tako što dovodi do smanjenja LDL-kolesterola bez istodobnog sniženja HDL-kolesterola, kao i do smanjenja oksidativne modifikacije LDL-čestica, što ima izravan učinak na smanjenje aterogenoga potencijala lipoproteina (135,136). Nadalje, MUFA sudjeluju u regulaciji ekspresije gena uključenih u upalne i metaboličke signalne putove, uključujući aktivaciju peroksizom-proliferatorom aktiviranih receptora (PPAR), što rezultira poboljšanjem inzulinske osjetljivosti i povoljnim učinkom na cjelokupnu metaboličku homeostazu (137, 138). Machowetz i sur. ističu da konzumacija maslinovog ulja u količini od 25 ml dnevno smanjuje oksidaciju DNA mjereno 24-satnim izlučivanjem 8oxodG mokraćom, neovisno o sadržaju fenola te da mononezasićene masne kiseline mogu biti odgovorne za antioksidativna svojstva maslinovog ulja (139). Antioksidativna svojstva maslinovog ulja mogu biti posljedica prisutnosti polifenola. Oni imaju sposobnost smanjenja broja reaktivnih atoma kisika i neutraliziranja potencijalno kancerogenih metabolita (140). Uočeno je da primjena ekstrakta polifenola maslinovog ulja može spriječiti ili ublažiti oksidativni stres kod upalnih bolesti crijeva (141).

Polifenoli su strukturno raznolika skupina sekundarnih biljnih spojeva koji imaju važnu ulogu u biološkim učincima mediteranske prehrane. Iako su se tradicionalno smatrali primarno antioksidansima, danas je jasno da se njihovo djelovanje u organizmu ponajprije temelji na regulaciji signalnih puteva osobito NF- κ B i Nrf2, čime utječu na upalne procese i endogene antioksidativne mehanizme. Polifenolni spojevi, koji su široko zastupljeni u maslinovu ulju, povrću, voću i orašastim plodovima, uključuju raznoliku skupinu fenolnih alkohola, flavonoida i fenolnih kiselina pokazuju izražena antioksidativna i protuupalna svojstva (142). Njihov biološki učinak uvelike ovisi o bioraspoloživosti i metabolizmu, pri čemu ključnu ulogu ima crijevna mikrobiota koja ih pretvara u bioaktivne metabolite (143). Metaboliti polifenola nastali djelovanjem crijeвне mikroflore mogu se apsorbirati u većoj mjeri i stoga pokazuju jaču antioksidativnu aktivnost od svojih prethodnika. Primjer je urolitin A (UroA) -metabolit koji proizvodi mikroflora debelog crijeva nakon konzumiranja proizvoda koji sadrže spomenutu kiselinu. To sugerira da stanje crijeвне mikroflore može odrediti antioksidativna svojstva polifenola (144). Unatoč brojnim dokazima o povoljnim učincima, istraživanja su opterećena metodološkim ograničenjima, uključujući razlike između *in vitro* i *in vivo* rezultata te ograničenu primjenjivost mjerenja ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Stoga se polifenoli ne promatraju kao izolirani čimbenici, već kao dio složenog prehranbenog matriksa u kojem djeluju sinergijski s drugim sastavnicama hrane (145).

Karotenoidi također mogu biti odgovorni za antioksidativna svojstva mediteranske prehrane. Rezultati epidemioloških studija pokazuju da prehrana bogata karotenoidima smanjuje rizik od razvoja bolesti čija patofiziologija može biti povezana s oksidativnim stresom (146). U raspravama o učinkovitosti prehrane u smanjenju oksidativnog stresa, naglašava se da je njezina prednost u odnosu na dodatke prehrani sinergizam različitih antioksidansa. Tako karotenoidi zajedno s vitaminom E potiču antioksidativni učinak vitamina C.

Svakodnevno ispijanje 500 mL soka od brusnice povećava antioksidativni kapacitet plazme, što je možda zbog visokog sadržaja vitamina C. To je vitamin koji je važan element mediteranske prehrane ne samo zbog svojih antioksidativnih svojstava nego i zbog sposobnost regeneracije vitamina E iz njegovog oblika slobodnih radikala (147).

Vitamin E je važan lipofilni antioksidans koji se nalaze u hrani. Njegov zaštitni učinak prvenstveno se sastoji u sprječavanju oksidativnog oštećenja lipida i stabilizaciji staničnih

membrana ali treba imati na umu da prevelik unos vitamina E može imati negativne učinke na zdravlje.

Tokoferoli, osobito alfa-tokoferol, prisutni u maslinovu ulju i orašastim plodovima, djeluju kao ključni lipofilni antioksidansi koji štite stanične membrane od oksidativnoga oštećenja te dodatno doprinose ukupnom antioksidativnom kapacitetu prehrane (142, 148).

Male količine selena možemo naći u biljnoj hrani kao na primjer orašasti plodovi, brokula, češnjak proizvodi od žitarica. Studije na štakorima pokazale su da selen iz brokule može smanjiti učestalost aberantnih kripti u tijeku kolorektalnog karcinoma, a također je zapažena smanjena učestalost tumora dojke (149).

Mediterranska prehrana smatra se prehranom s visokim ukupnim antioksidativnim kapacitetom (TAC). Definicija antioksidativnog kapaciteta naglašava važnost mediteranske prehrane kao izvora egzogenih antioksidansa. Sve se više govori da njezino djelovanje može biti rezultat ne samo pozitivnog učinka na metabolizam lipida, već i njezinih antioksidativnih svojstava (150). U kontekstu procjene ukupnog antioksidacijskog kapaciteta prehrane, važno je uzeti u obzir doprinos pojedinih skupina namirnica. Ukupni unos antioksidansa ne ovisi isključivo o nutritivnoj vrijednosti pojedine namirnice već i o učestalosti te količini konzumacije. Tako je u španjolskoj mediteranskoj prehrani utvrđeno da askorbinska kiselina čini dominantan udio ukupnog antioksidacijskog kapaciteta (72,6 %), pri čemu najveći doprinos dolazi iz pića (kava i vino). Voće i povrće sudjeluju sa 17,3 % a znatno manje orašastih plodova (9 %) i maslinovog ulja (0,4 %). Ovakvi rezultati ukazuju na to da ukupni antioksidacijski kapacitet prehrane odražava složenu interakciju između sastava hrane i prehrambenih navika, što potvrđuje i ograničenja TAC pristupa u procjeni stvarnog biološkog učinka antioksidansa (151).

Mehanistički gledano, povoljni učinci mediteranske prehrane rezultat su modulacije više patofizioloških procesa. Uočeno je da se već nakon nekoliko mjeseci pridržavanja ovoga prehrambenog obrasca bilježi značajno poboljšanje lipidnoga profila, uključujući smanjenje koncentracije LDL-kolesterola te povoljne promjene u omjeru ukupnoga i HDL-kolesterola (135, 152). Dodatno, zabilježeno je smanjenje koncentracija upalnih biljega, poput C-reaktivnoga proteina, interleukina-6 i molekula stanične adhezije, što upućuje na smanjenje kronične niskogradijentne upale, ključnoga čimbenika u patogenezi ateroskleroze i inzulinske

rezistencije (153). Pojedinačni spojevi primijenjeni u izoliranom obliku mogu dati suprotan učinak od očekivanog, stimulirajući oksidativni stres. Primjena antioksidansa u obliku dodataka prehrani umjesto raznolike prehrane također je povezana s nedostatkom sinergizma djelovanja. U studijama o važnosti mediteranske prehrane u smanjenju oksidativnog stresa, pojedinačni markeri se koriste za mjerenje oksidativnih oštećenja, aktivnosti enzimskih antioksidansa i koncentracije pojedinačnih neenzimskih antioksidansa. Istovremeno, naglašava se potreba za pronalaženjem markera koji bi sveobuhvatnije procijenili razinu oksidativnog stresa i antioksidativni kapacitet tijela (154).

Suvremeno razumijevanje mediteranske prehrane nadilazi redukcionistički pristup te je definira kao složen i integrirani prehrambeni obrazac koji uključuje visok unos povrća, voća, mahunarki, cjelovitih žitarica i orašastih plodova, dominantnu uporabu maslinova ulja kao glavnog izvora prehrambenih masti, redovitu konzumaciju ribe i plodova mora, umjeren unos fermentiranih mliječnih proizvoda te ograničenu konzumaciju crvenoga i procesiranoga mesa (135). U tom se smislu mediteranska prehrana promatra kao cjelina čiji su zdravstveni učinci rezultat dugotrajnoga i sinergijskoga djelovanja različitih sastavnica, a ne izoliranoga unosa pojedinih nutrijenata.

U širem patofiziološkom kontekstu, navedeni učinci mediteranske prehrane posebno su relevantni jer su oksidativni stres i kronična niskogradijentna upala prepoznati kao ključni mehanizmi ne samo u razvoju kardiovaskularnih bolesti nego i u patogenezi brojnih metaboličkih i autoimunih poremećaja. S obzirom na to da su upravo ti procesi uključeni i u razvoj autoimunih bolesti štitnjače, uključujući Hashimotov tireoiditis, sve se više istražuje potencijalni zaštitni učinak prehrambenih obrazaca bogatih antioksidativnim i protuupalnim sastavnicama na funkciju štitnjače i tijekom autoimunih procesa (155).

Prehrana ima značajnu ulogu u modulaciji funkcije štitnjače i imunološkog odgovora, osobito kod autoimunih bolesti poput Hashimotova tireoiditisa. Iako sama po sebi ne može izliječiti poremećaje štitnjače, adekvatan nutritivni status i ključni mikroelementi mogu podržati metabolizam hormona štitnjače, smanjiti oksidativni stres i pomoći u regulaciji imunološke aktivnosti (156).

Selen je esencijalni mikronutrijent uključen u funkciju selenoproteina i enzima deiodinaza, koji sudjeluju u pretvorbi tiroksina (T4) u aktivniji hormon trijodtironin (T3).

Klinička istraživanja pokazuju da suplementacija selena može dovesti do smanjenja razina TSH-a i antitijela povezanih s autoimunom aktivnosti, poput anti-TPO protutijela, kod osoba s Hashimotovim tireoiditisom, bez značajnog povećanja nuspojava u promatranom razdoblju. Prehrambeni izvori selena uključuju brazilske oraščiće, morske plodove, ribu i jaja (156).

Jod je nužan za sintezu hormona štitnjače. Njegov manjak može uzrokovati hipotireozu i gušu, dok prekomjeren unos može potaknuti autoimune procese. Stoga je važno individualizirati unos joda prema kliničkim nalazima pacijenta. Suvremene smjernice ne preporučuju rutinsku visoku suplementaciju jodom bez jasnih indikacija i praćenja. Ostali mikronutrijenti su cink, željezo i vitamin D. Cink je kofaktor za sintezu hormona i konverziju hormona T4 u T3. Željezo sudjeluje u funkciji tiroperoksidaze, enzima ključnog za stvaranje hormona štitnjače. Vitamin D igra ulogu u imunološkoj regulaciji. Niski status vitamina D povezan je s težim autoimunim procesima i povišenim antitijelima u Hashimotovu tireoiditisu (98, 157).

Utjecaj bezglutenske prehrane (GFD) na autoimune markere štitnjače još je predmet istraživanja. Meta-analize pokazuju određenu redukciju titara antitijela (anti-Tg), ali učinci na kliničke hormone poput TSH, fT3 i fT4 nisu konzistentno potvrđeni (158). Određene sirove namirnice, poput kupusnjača (brokula, kelj, cvjetača), sadrže goitrogene spojeve koji mogu interferirati s funkcijom štitnjače kad se konzumiraju u velikim količinama. Međutim, kuhanje reducira goitrogene tvari pa se umjerena konzumacija kuhanog povrća smatra sigurnom za osobe s hipotireozom (159).

Rezultati velikih randomiziranih kliničkih ispitivanja pružaju kvantitativne dokaze o kliničkoj relevantnosti ovoga prehranbenog obrasca. U studiji PREDIMED pokazano je da intervencija mediteranskom prehranom obogaćenom ekstra djevičanskim maslinovim uljem ili orašastim plodovima dovodi do približno 25–30 % relativnoga smanjenja rizika od velikih kardiovaskularnih događaja u usporedbi s kontrolnom prehranom s niskim udjelom masti, uz prosječno praćenje od gotovo pet godina (160). Slično tome, rezultati studije CORDIOPREV, usmjerene na sekundarnu prevenciju, pokazali su statistički značajno smanjenje incidencije ponovnih kardiovaskularnih događaja u skupini koja se pridržavala mediteranske prehrane u odnosu na niskomasnu prehranu, čime je dodatno potvrđena njezina klinička učinkovitost i u populaciji s već postojećom koronarnom bolešću (161). Osim učinaka na kardiovaskularne ishode, prospektivne kohortne studije i intervencijska istraživanja ukazuju na smanjenje rizika

od razvoja šećerne bolesti tipa 2 u rasponu od približno 20 do 40 %, ovisno o stupnju adherencije i karakteristikama populacije (162–164).

Intervencijske studije pokazale su da prehrana bogata polifenolima dovodi do statistički značajnoga smanjenja markera oksidativnoga stresa, uključujući oksidirani LDL i F2-izoprostane, kao i do smanjenja ekspresije proinflamatornih citokina i adhezijskih molekula na razini vaskularnoga endotela (165). Ovi učinci smatraju se jednim od ključnih mehanizama putem kojih mediteranska prehrana doprinosi stabilizaciji aterosklerotskih plakova i smanjenju rizika od akutnih kardiovaskularnih događaja (141, 142).

Osim kardiovaskularnih učinaka, bioaktivne sastavnice mediteranske prehrane pokazuju mjerljive metaboličke učinke. U osoba s povećanim kardiometaboličkim rizikom zabilježeno je poboljšanje inzulinske osjetljivosti i smanjenje postprandijalne glikemije, kao i povoljan učinak na tjelesnu masu i distribuciju masnog tkiva, osobito u području visceralne adipoznosti (148).

U posljednjem desetljeću sve je veći interes usmjeren na utjecaj mediteranske prehrane na sastav i funkciju crijevne mikrobiote. Istraživanja pokazuju da se pridržavanje ovoga prehrambenog obrasca povezuje s povećanjem bakterijske raznolikosti te većom zastupljenošću bakterijskih rodova povezanih s produkcijom kratkolančanih masnih kiselina, koje imaju važnu ulogu u regulaciji upale, energetske homeostaze i funkcije crijevne barijere (142, 166). Nadalje, longitudinalne studije ukazuju na to da visoka adherencija mediteranskoj prehrani korelira s sporijim kognitivnim propadanjem i smanjenim rizikom od blagog kognitivnog poremećaja i demencije, pri čemu se opaženi učinci pripisuju kombiniranomu djelovanju vaskularnih i neuroprotektivnih mehanizama (167, 168).

Na temelju dostupnih znanstvenih i statističkih dokaza može se zaključiti da zaštitni učinci mediteranske prehrane proizlaze iz dugotrajnoga i sinergijskoga djelovanja cjelokupnoga prehrambenog obrasca, a ne izoliranoga unosa pojedinih nutrijenata, čime se ovaj prehrambeni model potvrđuje kao jedan od temeljnih stupova suvremene preventivne i kliničke medicine (164, 169).

1.5. Biomarkeri kao indikatori endotelne funkcije

Endotelna disfunkcija predstavlja jedan od ključnih patofizioloških mehanizama u razvoju kardiovaskularnih, metaboličkih i bubrežnih bolesti te se smatra ranim i potencijalno reverzibilnim stadijem vaskularnog oštećenja (170, 171). Brojni eksperimentalni i klinički podaci upućuju na to da endotelna disfunkcija prethodi razvoju strukturnih promjena krvnih žila te ima središnju ulogu u inicijaciji i progresiji ateroskleroze, dijabetičkih vaskularnih komplikacija i kronične bubrežne bolesti (172, 173). U fiziološkim uvjetima vaskularni endotel djeluje kao dinamičan endokrini i parakrini organ koji regulira vaskularni tonus, održava antitrombotsku i protuupalnu površinu krvnih žila te sudjeluje u kontroli proliferacije i migracije vaskularnih glatkih mišićnih stanica. Ove se funkcije ostvaruju putem uravnoteženog lučenja vazodilatacijskih i vazokonstriktornih čimbenika, antikoagulantnih i prokoagulantnih molekula te protuupalnih i proinflammatoryh medijatora (174).

Poremećaj navedene ravnoteže dovodi do smanjenja vazodilatacijskog kapaciteta, povećane adhezije leukocita i trombocita na endotel te aktivacije proinflammatoryh i protrombotskih signalnih putova, što zajedno čini temelj endotelne disfunkcije. S obzirom na to da je izravna procjena endotelne funkcije, primjerice metodom posredovane vazodilatacije (engl. *flow-mediated dilation*, FMD), tehnički zahtjevnija i ograničena u rutinskoj kliničkoj praksi, značajna se pozornost posvećuje cirkulirajućim biomarkerima koji odražavaju različite aspekte endotelne aktivacije, oštećenja i reparacije (175).

Biomarkeri endotelne disfunkcije omogućuju neinvazivnu procjenu vaskularnog statusa te pružaju uvid u rane patološke promjene koje prethode klinički manifestnoj bolesti. Njihova se klinička važnost očituje u potencijalu za rano otkrivanje povećanog vaskularnog rizika, stratifikaciju bolesnika te praćenje progresije bolesti i odgovora na terapiju (176).

Među najznačajnije i najčešće proučavane biomarkere endotelne disfunkcije ubrajaju se molekule adhezije, poput intercelularne adhezijske molekule-1 (ICAM-1), vaskularne adhezijske molekule-1 (VCAM-1) i E-selektina. Njihova povećana ekspresija na površini endotelnih stanica i povišene cirkulirajuće koncentracije odražavaju aktivaciju endotela u proinflammatorym smjeru te olakšavaju vezanje i transmigraciju leukocita u vaskularnu stijenku (177). Ovaj proces predstavlja ključni rani korak u razvoju ateroskleroze.

Velike prospektivne kohortne studije potvrdile su kliničku važnost ovih biomarkera npr. *Nurses' Health Study* (178). Slični rezultati potvrđeni su i u Women's Health Initiative kohorti, u kojoj su povišene razine E-selektina, ICAM-1 i VCAM-1 bile povezane s povećanim rizikom incidentnog dijabetesa tijekom prosječnog praćenja od gotovo šest godina (179). Vazoaktivni medijatori čine drugu važnu skupinu biomarkera endotelne disfunkcije.

Dušikov oksid (NO) ima središnju ulogu u održavanju vaskularne homeostaze zahvaljujući svom vazodilacijskom, antiagregacijskom i protuupalnom djelovanju. Smanjena biodostupnost NO, bilo zbog smanjene sinteze ili povećane razgradnje uslijed oksidativnog stresa, smatra se jednim od temeljnih obilježja endotelne disfunkcije (180). Istodobno, povećana aktivnost vazokonstriktornih medijatora, osobito endotelina-1, dodatno narušava ravnotežu vaskularnog tonusa te doprinosi razvoju arterijske hipertenzije i strukturnih promjena krvnih žila (181). Asimetrični dimetilarginin (ADMA), endogeni inhibitor endotelne NO-sintaze, prepoznat je kao važan cirkulirajući marker smanjene NO-signalizacije i neovisni prediktor nepovoljnih kardiovaskularnih ishoda u različitim populacijama bolesnika (182).

Upalni biomarkeri imaju ključnu ulogu u procjeni endotelne disfunkcije, budući da se kronična niskogradijentna upala smatra jednim od temeljnih patofizioloških mehanizama koji pridonose nastanku i progresiji vaskularnog oštećenja. Endotel, koji u fiziološkim uvjetima održava vaskularnu homeostazu reguliranjem vazodilatacije, antitrombotskih svojstava i interakcije s cirkulirajućim leukocitima izrazito je osjetljiv na djelovanje upalnih medijatora (183). Dugotrajna aktivacija upalnih signalnih puta dovodi do smanjenja biodostupnosti dušikova oksida, povećanog stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta te pojačane ekspresije adhezijskih molekula uključujući ICAM-1 i VCAM-1 na površini endotelnih stanica, što dodatno potiče adheziju i migraciju leukocita te doprinosi ranoj aterogenezi. Recentni sustavni pregled naglašava ulogu upale i oksidacijskog stresa u patogenezi endotelne disfunkcije kao integralne komponente vaskularnih bolesti (184).

C-reaktivni protein (CRP), kao akutno-fazni protein induciran IL-6 predstavlja osjetljiv marker sustavne upale i povezan je s oštećenjem endotelne funkcije. On putem inhibicije endotelne NO-sintaze dovodi do smanjenja NO biodostupnosti i poticanja ekspresije adhezijskih molekula, čime se povećava rizik kardiovaskularnih događaja (185).

Proinflammatorni citokini poput interleukina-6 (IL-6) i tumorskog nekroznog faktora alfa (TNF- α) dodatno moduliraju funkciju endotela potičući njegovu aktivaciju, povećanu ekspresiju adhezijskih molekula i razvoj proinflammatornog i protrombotskog fenotipa krvnih žila. Noviji podaci posebno ističu kako je kronična upala i IL-6 signalizacija povezana s aterosklerotskim promjenama (186).

Poremećaji hemostaze i koagulacije čest su pratilac endotelne disfunkcije, a među biomarkerima koji odražavaju ovaj aspekt posebno se ističe von Willebrandov faktor. Povišene razine von Willebrandova faktora ukazuju na aktivaciju ili oštećenje endotela te su povezane s povećanom sklonošću trombozi i nepovoljnim kardiovaskularnim ishodima, osobito u akutnim upalnim i infektivnim stanjima (187).

U novije vrijeme sve se veći interes usmjerava prema tzv. novim biomarkerima endotelne disfunkcije. To uključuje endotelne mikročestice, endotelne progenitorne stanice i regulatorne mikro RNA. Endotelne mikročestice oslobađaju se iz aktiviranih ili oštećenih endotelnih stanica te predstavljaju osjetljiv pokazatelj subkliničkog vaskularnog oštećenja. Nasuprot tome, smanjeni broj i funkcionalni kapacitet endotelnih progenitornih stanica odražavaju smanjenu sposobnost vaskularne reparacije (188). Određene mikro RNA, osobito miRNA-126 prepoznate su kao ključni regulatori endotelne homeostaze i angiogeneze te potencijalni biomarkeri s dijagnostičkim i prognostičkim značenjem (189–191).

Nijedan pojedinačni biomarker ne može u potpunosti obuhvatiti složenost endotelne disfunkcije, kombinirani pristup koji uključuje više biomarkera različitih patofizioloških putova pruža cjelovitiju i klinički relevantniju procjenu vaskularnog statusa. Takav integrirani model ima potencijal za unapređenje ranog otkrivanja vaskularnog rizika i individualizaciju terapijskih strategija u bolesnika s povećanim rizikom za kardiovaskularne i metaboličke bolesti (192).

1.6. Katestatin

Katestatin (catestatin, CST) je bioaktivni peptid koji nastaje proteolitičkom preradom kromogranina A (CgA), sekretornog proteina karakterističnog za neuroendokrine i kromafine stanice. Od trenutka njegova otkrića, katestatin je identificiran kao endogeni regulator simpatičke neurotransmisije, ali i kao molekula s izraženim pleiotrofnim djelovanjem na

vaskularnu funkciju, upalne procese i metaboličku homeostazu. Tijekom posljednjeg desetljeća zabilježen je znatan porast znanstvenog interesa za katestatin, ponajprije zbog sve većeg broja dokaza koji ukazuju na njegovu uključenost u patogenezu endotelne disfunkcije, arterijske hipertenzije, ateroskleroze i metaboličkih poremećaja (193, 194).

Katestatin je peptid sastavljen od 21 aminokiseline (CgA_{352–372} u ljudi) koji se izlučuje zajedno s kateholaminima iz sekretornih granula nadbubrežne srži i simpatičkih neurona. U cirkulaciji zdravih odraslih osoba koncentracije katestatina najčešće se kreću u rasponu od približno 1,5 do 3,5 ng/mL, uz izraženu interindividualnu varijabilnost (195, 196). Njegovo izvorno opisano djelovanje odnosi se na inhibiciju nikotinskih acetilkolinskih receptora, čime se smanjuje egzocitoza adrenalina i noradrenalina te posljedično modulira intenzitet simpatičkog odgovora (197). Ovakav mehanizam ima izravan učinak na hemodinamsku regulaciju, osobito u stanjima obilježenima kroničnom simpatičkom hiperaktivacijom.

Na molekularnoj razini, katestatin sudjeluje u aktivaciji više signalnih putova koji su uključeni u kontrolu vaskularnog tonusa, oksidativnog stresa i upalne signalizacije. Eksperimentalni podaci pokazuju da katestatin potiče aktivaciju endotelne NO-sintaze (eNOS) te dovodi do povećanja produkcije dušikova oksida (NO) za približno 30 do 60 %, uz istodobno smanjenje stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta, čime doprinosi očuvanju funkcionalnog integriteta endotela (198, 199).

1.6.1. Katestatin i endotelna disfunkcija

Sve veći broj eksperimentalnih i kliničkih istraživanja ukazuje da katestatin ima važnu zaštitnu ulogu u održavanju endotelne homeostaze. Istraživanja na staničnim kulturama i životinjskim modelima pokazala su da katestatin smanjuje ekspresiju adhezijskih molekula ICAM-1 i VCAM-1 za približno 40 do 70 %, čime se značajno reducira adhezija leukocita na endotelne stanice i ublažava vaskularna upala (200, 201). Chen i sur. pokazali su da katestatin smanjuje endotelnu aktivaciju i potiče rezoluciju tromba u eksperimentalnom modelu akutne plućne embolije, naglašavajući njegovu ulogu u regulaciji vaskularne upale i hemostatskih procesa (202). Kliničke studije u skladu su s ovim eksperimentalnim nalazima. U bolesnika s dokazanom endotelnom disfunkcijom, arterijskom hipertenzijom i metaboličkim sindromom zabilježene su 20 do 40 % niže koncentracije cirkulirajućeg katestatina u usporedbi sa zdravim

kontrolama, osobito u ranim stadijima bolesti (203, 204). Ovi rezultati upućuju na to da relativni manjak katestatina može pridonijeti gubitku endogenih vazoprotektivnih mehanizama.

Arterijska hipertenzija jedno je od najopsežnije istraživanih kliničkih stanja u kontekstu djelovanja katestatina. Eksperimentalni modeli pokazali su da kronična primjena katestatina dovodi do sniženja arterijskog tlaka i poboljšanja autonomne ravnoteže, prvenstveno putem smanjenja simpatičkog tonusa (205). Kliničke studije dodatno potvrđuju inverznu povezanost između koncentracija katestatina i vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka, pri čemu su niže razine katestatina povezane s težim stupnjem hipertenzije (203, 206). Poseban znanstveni interes izazvala je genetska varijanta katestatina Gly364Ser, za koju je pokazano da mijenja biološku aktivnost peptida te povećava sklonost razvoju arterijske hipertenzije (207).

1.6.2. Katestatin i ateroskleroza

Ateroskleroza predstavlja kronični upalni proces u kojem endotelna disfunkcija ima središnje mjesto. Studije na životinjskim modelima pokazale su da katestatin smanjuje infiltraciju makrofaga u vaskularni zid i nastanak pjenastih stanica, uz značajno smanjenje lokalne upalne aktivnosti. Također pokazuje izražene antiaterogene učinke kroz modulaciju upalne reakcije, oksidativnog stresa i metabolizma lipida. (201). U kliničkom kontekstu, bolesnici s angiografski potvrđenom koronarnom bolešću imaju značajno niže koncentracije katestatina, a razine katestatina negativno koreliraju s opsegom koronarne ateroskleroze, uključujući broj zahvaćenih žila i angiografske skorove težine bolesti (195, 196, 200).

1.6.3. Metabolički učinci katestatina

Katestatin ima važnu ulogu i u regulaciji metabolizma glukoze i lipida. Eksperimentalni podaci pokazuju da katestatin poboljšava inzulinsku osjetljivost i potiče unos glukoze u periferna tkiva putem povećanih translokacija na membranu GLUT4 transportera (208). U kliničkim studijama pretili i inzulinski rezistentni ispitanici imali su niže koncentracije katestatina s opisanom redukcijom u rasponu od 25 do 50 %. Zabilježena je negativna korelacija s indeksom tjelesne mase (BMI), HOMA-IR indeksom i razinama C-reaktivnog proteina (CRP). Točne vrijednosti variraju ovisno o studiji, populaciji ispitanika i metodama mjerenja (204, 209). Metabolički učinci katestatina usko su povezani s njegovim protuupalnim djelovanjem. Inhibicijom infiltracije makrofaga u masno tkivo, katestatin smanjuje kroničnu

niskogradijentnu upalu koja predstavlja jedno od ključnih obilježja metaboličkog sindroma (199, 205).

Katestatin posjeduje izražena imunomodulatorna svojstva. Dosadašnje studije pokazale su da inhibira kemotaksiju monocita, smanjuje produkciju proinflammatoryh citokina te modulira fenotip makrofaga prema antiinflammatorym profilu (210, 211). Ovi učinci imaju izravne implikacije za endotelnu funkciju, budući da kronična upala predstavlja jedan od ključnih uzroka endotelne disfunkcije.

1.6.4. Katestatin kao biomarker: klinički potencijal i ograničenja

Zbog širokog spektra bioloških učinaka, katestatin se sve češće razmatra kao potencijalni biomarker kardiovaskularnog i metaboličkog rizika. Njegove prednosti uključuju osjetljivost na rane patofiziološke promjene, povezanost sa simpatičkom aktivnošću i endotelnom disfunkcijom te potencijalnu prognostičku vrijednost (193, 194). Međutim, trenutačnu kliničku primjenu ograničava nedostatak standardiziranih metoda mjerenja, kao i izražena biološka varijabilnost koncentracija ovisno o populaciji i stadiju bolesti (210).

Ovaj pleiotropni peptid ima ključnu ulogu u regulaciji simpatičke aktivnosti, endotelne funkcije, upalne signalizacije i metaboličke homeostaze. Dokazi prikupljeni tijekom posljednjeg desetljeća jasno upućuju na njegovu uključenost u patogenezu endotelne disfunkcije, arterijske hipertenzije, ateroskleroze i metaboličkih poremećaja. Iako još nije dio rutinske kliničke prakse, katestatin predstavlja obećavajući biomarker i potencijalni terapijski cilj u suvremenoj kardiovaskularnoj medicini (210).

1.7. Krajnji produkti glikacije

Krajnji produkti glikacije (engl. *advanced glycation end-products*, AGEs) obuhvaćaju strukturno i kemijski raznoliku skupinu spojeva koji nastaju neenzimskim reakcijama reducirajućih šećera s aminokiselinama, lipidima i nukleinskim kiselinama (212, 213). Navedeni procesi, zajednički označeni kao Maillardova reakcija, započinju stvaranjem labilnih Schiffovih baza i Amadorijevih produkata, koji se daljnjim nizom oksidacijskih, dehidratacijskih i kondenzacijskih koraka transformiraju u stabilne, često ireverzibilne AGE strukture (212, 214). Formiranje AGEs-a odvija se kontinuirano, a intenzitet procesa uvjetovan je koncentracijom glukoze i drugih šećera, stupnjem oksidativnog stresa, prisutnošću

prijelaznih metala te dostupnošću ciljnih biomolekula ponajviše strukturnim proteinima (214, 215).

AGEs se stvaraju i endogenim i egzogenim putem. Endogena produkcija prisutna je u svim tkivima, pri čemu je značajno ubrzana u uvjetima kronične hiperglikemije, karakteristične za šećernu bolest (216, 217).

Egzogeni AGEs u organizam dopijevaju hranom, osobito unosom namirnica bogatih proteinima i mastima koje su pripremljene na visokim temperaturama, poput pečenja, prženja ili roštiljanja. Procjene upućuju na to da se približno 10 do 30 % prehrambenih AGEs-a apsorbira kroz gastrointestinalni trakt, dok se preostali udio izlučuje fecesom (215, 218). Od apsorbirane frakcije, oko 30 % eliminira se bubrežnim putem, dok se ostatak zadržava u organizmu te doprinosi ukupnom opterećenju AGEs-ima (217, 219).

Porastom životne dobi dolazi do postupne akumulacije AGEs-a u tkivima, što je posljedica njihove stalne produkcije i relativno sporog uklanjanja (214, 216). Posebno su zahvaćeni proteini poput kolagena u koži, tetivama i stijenci krvnih žila gdje AGEs formiraju intermolekularne križne veze koje mijenjaju biomehanička svojstva tkiva (212). Takve promjene rezultiraju smanjenjem elastičnosti, povećanjem krutosti i ograničenom funkcionalnom prilagodljivošću zahvaćenih struktura (220). Populacijska istraživanja dosljedno pokazuju da su razine AGEs-a u koži i cirkulaciji značajno više u starijoj populaciji u usporedbi s mlađim ispitanicima, neovisno o prisutnosti šećerne bolesti, što je potvrđeno velikim kohortnim analizama koje su koristile mjerenje kožne autofluorescencije kao pokazatelja kumulativne AGE akumulacije (221, 222).

Središnji mehanizam patofiziološkog djelovanja AGEs-a odnosi se na njihovu vezu s receptorom za završne produkte glikacije (RAGE) (212, 213). RAGE pripada obitelji imunoglobulinskih transmembranskih receptora i eksprimiran je na brojnim staničnim tipovima, uključujući endotelne stanice, monocite i makrofage, glatke mišićne stanice krvnih žila te neurone (212). Vezanjem AGEs-a na RAGE aktivira se niz signalnih kaskada, među kojima su MAP-kinaze, JAK/STAT i NF- κ B, što dovodi do pojačane ekspresije proupalnih citokina (TNF- α , IL-6), adhezijskih molekula (VCAM-1, ICAM-1) i prooksidativnih enzima (219, 220, 223). Aktivirani NF- κ B dodatno potiče ekspresiju RAGE-a, čime se uspostavlja pozitivna povratna sprega koja održava kronično, niskogradijentno upalno stanje (219, 224).

Neovisno o RAGE-posredovanoj signalizaciji, AGEs mogu izravno mijenjati strukturu i funkciju biomolekula. Glikacija enzima često dovodi do smanjenja njihove katalitičke učinkovitosti, dok modifikacija lipoproteina, osobito LDL čestica, povećava njihova aterogena svojstva (216, 218). Glikirani LDL pokazuje slabiju interakciju s klasičnim LDL receptorima, ali se učinkovitije uklanja na makrofazima, što pogoduje stvaranju pjenastih stanica i ubrzanju aterosklerotskog procesa (216, 225).

U kontekstu šećerne bolesti, povišene koncentracije AGEs-a opravdano se povezuju s pojavom i progresijom mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija (216, 217, 226). Klinička ispitivanja pokazala su da bolesnici s lošijom regulacijom glikemije (izraženom višim vrijednostima HbA1c) imaju znatno više razine cirkulirajućih AGEs-a u odnosu na bolesnike s adekvatnom glikemijskom kontrolom (226, 227). Takva povećanja povezana su s disfunkcijom endotela, smanjenom biodostupnošću dušikova oksida i porastom arterijske krutosti, čime se pospješuje razvoj hipertenzije i ubrzava aterosklerotski proces (220, 223, 224).

Ateroskleroza se danas smatra kroničnom upalnom bolešću, a AGEs sudjeluju u gotovo svim fazama njezina nastanka i napredovanja (223, 228). Eksperimentalni i klinički dokazi upućuju na to da AGE-ovi potiču adheziju monocita na endotel, migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih stanica u intimi te procese koji pridonose destabilizaciji aterosklerotskog plaka (223, 225). U velikim populacijskim istraživanjima, uključujući Rotterdam studiju, viša razina AGEs-a povezana je s povećanim rizikom od kardiovaskularnih događaja i zatajenja srca, neovisno o tradicionalnim čimbenicima rizika (222, 224).

Sve veći interes usmjeren je i na ulogu prehrambenih AGEs-a u razvoju metaboličkih poremećaja i kardiometaboličkog rizika (224, 229). Intervencijska istraživanja pokazuju da prehrana s niskim sadržajem AGEs-a uz nepromijenjen ukupni energetske unos može rezultirati smanjenjem sistemskih upalnih biljega i oksidativnog stresa već nakon nekoliko tjedana (217, 229). Osim toga, noviji podaci ukazuju na povezanost prehrambenih AGEs-a s promjenama u sastavu i funkciji crijevne mikrobiote što može dodatno modulirati metaboličke i upalne procese u organizmu (214, 215).

Procjena razina AGEs-a predstavlja metodološki izazov zbog njihove izražene strukturne raznolikosti (212). Uz laboratorijske metode za određivanje pojedinih AGE spojeva u serumu ili urinu, u kliničkoj se praksi sve češće primjenjuje neinvazivno mjerenje

autofluorescencije kože koja odražava kumulativnu tkivnu akumulaciju AGEs-a (222). Sustavni pregledi i meta-analize pokazuju da je povišena autofluorescencija kože statistički značajno povezana s povećanim kardiovaskularnim rizikom te učestalošću nepovoljnih kardiovaskularnih ishoda, pri čemu su zabilježene jače povezanosti u populaciji osoba sa šećernom bolešću (221, 222).

Unatoč velikoj količini dostupnih dokaza, interpretacija uloge AGEs-a u patogenezi kroničnih bolesti ima određena ograničenja. Značajan dio kliničkih spoznaja temelji se na opservacijskim studijama što ograničava donošenje čvrstih uzročno-posljedičnih zaključaka (225, 230).

Dodatno, heterogenost metoda za mjerenje AGEs-a otežava izravnu usporedbu rezultata među studijama. Ipak, dosljednost nalaza kroz eksperimentalne, kliničke i populacijske studije snažno podupire koncept središnje uloge AGEs-a u povezivanju hiperglikemije, oksidativnog stresa i kronične upale (213, 219, 223).

Krajnji produkti glikacije predstavljaju ključnu molekularnu poveznicu između metaboličkih poremećaja, oksidativnog stresa i trajne upalne aktivacije. Njihova progresivna akumulacija tijekom starenja, kao i ubrzano nakupljanje u patološkim stanjima poput šećerne bolesti, značajno doprinosi razvoju ateroskleroze, kardiovaskularnih bolesti i drugih kroničnih poremećaja (216, 223, 224, 228). Dublje razumijevanje mehanizama nastanka, biološkog djelovanja i eliminacije AGEs-a predstavlja temelj za razvoj preventivnih i terapijskih pristupa usmjerenih na smanjenje njihova štetnog učinka, uključujući optimizaciju glikemijske kontrole, prehrambene intervencije i ciljanje AGE–RAGE signalnog puta (224, 225, 229).

1.7.1. Uređaj za mjerenje kožne autofluorescencije

AGE Reader (DiagnOptics Technologies BV, Groningen, Nizozemska) razvijen je kao neinvazivni medicinski uređaj za procjenu akumulacije AGEs u tkivima putem mjerenja kožne autofluorescencije (engl. *skin autofluorescence*, SAF). Načelo rada uređaja temelji se na fluorescentnim svojstvima određenih AGE spojeva, poput pentosidina i drugih fluorofora, koji nakon pobude ultraljubičastim svjetlom emitiraju fluorescentno zračenje duljih valnih duljina. Tijekom mjerenja uređaj emitira pobudno svjetlo valne duljine oko 370 nm na površinu kože, najčešće na volarnoj strani podlaktice, dok detektorski sustav bilježi emitirano fluorescentno

svjetlo u rasponu od približno 420 do 600 nm. Omjer emitiranog i reflektiranog svjetla izražava se u arbitrarnim jedinicama i predstavlja kvantitativni pokazatelj SAF-a (231, 232).

Jedna od ključnih prednosti *AGE Readera* jest brzina i jednostavnost mjerenja, koje traje svega nekoliko sekundi te je potpuno bezbolno i neinvazivno. Takva metodološka obilježja omogućuju njegovu primjenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi, populacijskim istraživanjima i longitudinalnom praćenju bolesnika. Za razliku od laboratorijskog određivanja pojedinih AGE spojeva u serumu ili plazmi, SAF odražava kumulativnu depoziciju AGEs u kožnom tkivu, koje je metabolički relativno inertno i karakterizirano sporim obnavljanjem, čime se dobiva pouzdaniji uvid u dugoročno izlaganje nepovoljnim metaboličkim uvjetima (232, 233).

Valjanost SAF-a kao pokazatelja tkivne akumulacije AGEs potvrđena je u više studija koje su pokazale dobru korelaciju između vrijednosti izmjenjenih *AGE Reader-om* i koncentracija AGEs u kožnim biopsijama, kao i u drugim tkivima. Time je SAF potvrđen kao pouzdan surogatni marker ukupnog AGE opterećenja organizma (233). Reproducibilnost mjerenja visoka je, uz nizak koeficijent varijacije pri ponovljenim mjerenjima, što dodatno potvrđuje prikladnost metode za klinička i istraživačka ispitivanja (232).

Poznato je da na mjerenje kožne autofluorescencije mogu utjecati određeni dermalni čimbenici, uključujući pigmentaciju kože, debljinu epidermisa, hidrataciju i prisutnost lokalnih kožnih promjena. Međutim, suvremene verzije *AGE Reader* uređaja koriste korekcijske algoritme koji značajno smanjuju utjecaj navedenih čimbenika te omogućuju relativno pouzdanu primjenu u različitim populacijama (232). Iako SAF ne omogućuje identifikaciju pojedinačnih AGE molekula niti obuhvaća nefluorescentne AGEs, njegova snaga leži u integriranom prikazu kumulativnog metaboličkog i oksidativnog opterećenja (231, 232).

Kožna autofluorescencija, mjerena pomoću *AGE Reader* uređaja, pokazuje jasnu dobnu ovisnost te progresivno raste s kronološkom dobi. Na temelju velikih populacijskih istraživanja definirane su dobno specifične referentne vrijednosti SAF-a, koje omogućuju interpretaciju rezultata u odnosu na očekivane vrijednosti za određenu dobnu skupinu. Vrijednosti unutar raspona ± 1 standardne devijacije u odnosu na dobni prosjek smatraju se fiziološkima, dok vrijednosti iznad tog raspona upućuju na ubranu akumulaciju AGEs i potencijalno povećani kardiometabolički rizik (234).

Povišene SAF vrijednosti dosljedno su povezane s nepovoljnim kliničkim ishodima. Brojne prospektivne i populacijske studije pokazale su da kožna autofluorescencija predstavlja neovisni prediktor kardiovaskularnih događaja i ukupne smrtnosti, pri čemu ta povezanost ostaje statistički značajna i nakon prilagodbe za tradicionalne čimbenike rizika, uključujući dob, spol, pušenje, arterijsku hipertenziju, dislipidemiju i glikemijsku kontrolu (222, 235–237). Ovi nalazi potvrđeni su i u velikim kohortama opće populacije (138, 222, 236).

Analiza SAF-a prema kvartilima dodatno ukazuje na postojanje jasnog odnosa doza–odgovor, pri čemu osobe svrstane u više kvartile kožne autofluorescencije imaju postupno rastući rizik za kardiovaskularne događaje i smrtnost u usporedbi s osobama u najnižem kvartilu (222, 235). Takav gradijentni odnos potvrđuje da SAF omogućuje precizniju stratifikaciju rizika unutar populacije, a ne služi samo kao binarni pokazatelj prisutnosti ili odsutnosti rizika (232).

U osoba sa šećernom bolešću SAF se pokazao snažno povezanim s razvojem mikro- i makrovaskularnih komplikacija. Povišene vrijednosti kožne autofluorescencije identificiraju bolesnike s većim rizikom za nefropatiju, neuropatiju, retinopatiju i kardiovaskularne događaje, čak i u slučajevima relativno dobre trenutačne glikemijske kontrole, čime se dodatno potvrđuje klinička relevantnost metaboličke memorije (235, 238, 239). Slično je pokazano i u bolesnika s dijabetesom tipa 1, gdje SAF predviđa ukupnu smrtnost (238).

Osim u dijabetesu, *AGE Reader* ima važnu ulogu u procjeni rizika u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću. U tim populacijama akumulacija AGEs značajno doprinosi ubrzanom vaskularnom starenju i povećanoj smrtnosti, a SAF se pokazao kao snažan neovisni prediktor kardiovaskularnih ishoda i mortaliteta (232, 233, 240). Dodatno, povezanost SAF-a s upalnim parametrima u općoj populaciji upućuje na njegovu ulogu kao integriranog pokazatelja sistemskog metaboličkog i upalnog opterećenja (231).

Klinička vrijednost *AGE Reader* uređaja proizlazi iz njegove sposobnosti integriranja dugotrajnog metaboličkog, oksidativnog i upalnog opterećenja u jedan kvantitativni parametar. Za razliku od standardnih laboratorijskih pokazatelja koji odražavaju trenutačno metaboličko stanje, kožna autofluorescencija pruža uvid u kumulativno oštećenje tkiva nastalo tijekom duljeg vremenskog razdoblja (241). Stoga *AGE Reader* predstavlja vrijedan dodatak postojećim

metodama procjene kardiometaboličkog rizika i može doprinijeti ranijem prepoznavanju osoba s povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih komplikacija (235, 242).

2. CILJEVI RADA I HIPOTEZE

2.1. Glavni ciljevi istraživanja:

1. Usporediti serumske vrijednosti katestatina između pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom te dobno usklađenim zdravim kontrolnim ispitanicama.
2. Usporediti izmjerene vrijednosti krajnjih produkata glikacije između pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom te dobno usklađenim zdravim kontrolnim ispitanicama.

2.2. Sporedni ciljevi istraživanja:

1. Istražiti pridržavanje mediteranskom tipu prehrane procijenjenim MDSS upitnikom u ispitivanoj i kontrolnoj skupini
2. Istražiti razine lipida u serumu i biljeg upale hsCRP u ispitivanoj i kontrolnoj skupini
3. Istražiti kvalitetu života specifičnu za pacijente s hipotireozom pomoću ThyPRO upitnika

2.3. Hipoteze

1. Koncentracije katestatina i krajnjih produkata glikacije bit će više u pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom u usporedbi sa zdravim kontrolama.
2. Niža adherencija mediteranskoj prehrani u pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom bit će povezana s višim tkivnim vrijednostima AGE-ova i nepovoljnijom procjenom kardiovaskularnog rizika prema *AGE Readeru*

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Ustroj istraživanja i ispitanici

Ovo istraživanje ustrojeno je kao monocentrično presječno istraživanje. Provedeno je na Zavodu za nuklearnu medicinu Kliničkog bolničkog centra Split u razdoblju od veljače 2022. do rujna 2023. godine. Uključivanje ispitanica započelo je nakon odobrenja Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split, broj odobrenja 2181-147/01/06/M.S.-22-02. Istraživanje je provedeno u skladu s načelima Helsinške deklaracije. Prije uključivanja u istraživanje sve su ispitanice bile upoznate s ciljevima i postupcima istraživanja te su potpisale pisani informirani pristanak. Za sudjelovanje u istraživanju ispitanicama nije ponuđena niti isplaćena novčana ili druga naknada.

Istraživanje je uključivalo 100 pacijentica s dijagnozom Hashimotova tireoiditisa te 100 zdravih kontrolnih ispitanica bez Hashimotova tireoiditisa. Uključni kriteriji za ispitivanu skupinu bili su: ženski spol, dob od 18 do 60 godina, novodijagnosticirani Hashimotov tireoiditis te neuzimanje nadomjesne terapije hormonima štitnjače prije uključivanja u istraživanje.

Kriteriji isključenja bili su: prethodno liječenje Hashimotova tireoiditisa nadomjesnom terapijom hormonima štitnjače, arterijska hipertenzija, povijest uznapredovalog zatajenja srca, odnosno NYHA stadij III ili IV, kronično zatajenje bubrega, zatajenje jetre, šećerna bolest, akutni infektivni događaji, značajna imunokompromitiranost, primjena kortikosteroidne terapije unutar tri mjeseca prije uključivanja u istraživanje, aktivna zloćudna bolest, druge bolesti štitnjače, značajne psihijatrijske bolesti, druge autoimune bolesti osim Hashimotova tireoiditisa te anamneza zlouporabe droga ili alkohola.

Kontrolnu skupinu činilo je 100 zdravih žena bez Hashimotova tireoiditisa. Kontrolne ispitanice bile su usklađene s ispitivanom skupinom prema dobi, spolu i indeksu tjelesne mase, odnosno BMI-ju. Rekrutacija kontrolnih ispitanica provedena je među kolegama, članovima obitelji, prijateljima i poznanicima istraživača. Prije uključivanja u istraživanje sve kontrolne ispitanice potpisale su informirani pristanak. U kontrolnoj skupini provedeni su isti klinički, antropometrijski, laboratorijski i prehrambeni postupci kao u ispitivanoj skupini, uključujući određivanje serumskog katestatina, mjerenje tkivnih razina krajnjih produkata uznapredovale glikacije i procjenu adherencije mediteranskoj prehrani, dok je ThyPRO, kao upitnik specifičan za bolesti štitnjače, primijenjen i analiziran u skupini bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom.

Kriteriji isključenja za kontrolnu skupinu bili su jednaki kriterijima isključenja primijenjenima u ispitivanoj skupini, uz dodatni uvjet odsutnosti Hashimotova tireoiditisa.

Sudionice su u dogovorenom terminu dolazile na Zavod za nuklearnu medicinu, gdje su im članovi istraživačkog tima dodatno objasnili ciljeve istraživanja, tijek mjerenja i način prikupljanja podataka. Kod svih ispitanica uzeta je detaljna anamneza, uključujući relevantne podatke iz osobne povijesti bolesti, te je učinjen fizikalni pregled. U sklopu anamneze zabilježen je i status aktivnog pušenja, definiran kao trenutno svakodnevno ili povremeno pušenje duhanskih proizvoda u vrijeme uključivanja u istraživanje.

3.2. Dijagnoza Hashimotova tireoiditisa

Dijagnoza Hashimotova tireoiditisa postavljena je na temelju standardiziranih kliničkih, laboratorijskih i ultrazvučnih kriterija. Laboratorijski nalaz protutijela smatrao se pozitivnim ako su vrijednosti protutijela na tireoidnu peroksidazu, odnosno anti-TPO, i/ili protutijela na tireoglobulin, odnosno anti-TG, bile povišene u odnosu na referentne vrijednosti laboratorija. Hormonski status štitnjače analiziran je određivanjem serumskih vrijednosti TSH-a, fT3 i fT4 u skladu s važećim kliničkim smjernicama.

3.3. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza

Uzorak venske krvi uziman je iz kubitalne vene podlaktice sterilnom jednokratnom iglom, nakon prethodnog čišćenja kože. Postupak je izvodio educirani laboratorijski tehničar. Ukupno je uzeto do 22 mL krvi. Dio uzorkovane krvi odmah je poslan na laboratorijsku analizu, dok je preostali dio centrifugiran, alikvotiran i pohranjen na temperaturi od -80°C za naknadno određivanje koncentracije katestatina. Cjelokupni postupak uzorkovanja i početne obrade uzorka trajao je približno 40 minuta.

Svi uzorci krvi analizirani su u certificiranom institucionalnom biokemijskom laboratoriju prema standardnim operativnim postupcima. Laboratorijska obrada provedena je u skladu s međunarodnim standardima, a biokemičar koji je provodio analize bio je zaslijepljen za pripadnost ispitanica ispitivanoj ili kontrolnoj skupini.

Serumske koncentracije katestatina određene su metodom enzimiški povezanog imunosorbentnog testa, odnosno ELISA metodom, koristeći komercijalni test proizvođača

Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, SAD. Prema specifikaciji proizvođača, osjetljivost testa iznosila je 0,05 ng/mL, linearni raspon detekcije 0–100 ng/mL, a križna reaktivnost s endogenim humanim katestatinom 100 %. Intra-testni koeficijent varijacije bio je manji od 10 %, dok je inter-testni koeficijent varijacije bio manji od 15 %.

U rutinskoj laboratorijskoj obradi određeni su TSH, fT3, fT4, anti-TG, anti-TPO, hsCRP, ukupni kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliceridi, glukoza natašte, kreatinin i urea. Navedeni parametri određeni su prema standardnim laboratorijskim postupcima certificiranog institucionalnog biokemijskog laboratorija.

3.4. Antropometrijska mjerenja, mjerenje arterijskog tlaka i određivanje krajnjih produkata uznapredovale glikacije

Kod svih ispitanica izmjerene su antropometrijske karakteristike, uključujući tjelesnu masu, tjelesnu visinu, opseg struka i opseg kukova. Za mjerenje tjelesne mase i visine korištena je kalibrirana medicinska vaga s visinomjerom, Seca, Birmingham, UK. Indeks tjelesne mase izračunat je prema formuli: $BMI = \text{tjelesna masa (kg)} / \text{tjelesna visina}^2 (\text{m}^2)$.

Opseg struka mjeren je u stojećem položaju, u razini srednje linije između donjeg ruba rebrenog luka u srednjoj aksilarnoj liniji i vrha kriste ilijake. Opseg kukova mjeren je u razini najvećeg opsega iznad linije koja spaja velike trohantere bedrenih kostiju. Omjer opsega struka i kukova izračunat je dijeljenjem izmjenjenog opsega struka s izmjenjenim opsegom kukova.

Ordinacijski arterijski tlak mjeren je u skladu s važećim smjernicama za mjerenje arterijskog tlaka, uporabom uređaja WatchBP Home A (Microlife AG Swiss Corporation, Widnau, Švicarska).

Razine krajnjih produkata uznapredovale glikacije, odnosno AGE-ova, određene su kod svih ispitanica pomoću uređaja *AGE Reader* (DiagnOptics Technologies BV, Groningen, Nizozemska). Uređaj *AGE Reader* korišten je za neinvazivnu procjenu tkivnih razina AGE-ova metodom autofluorescencije kože podlaktice. Metoda se temelji na primjeni ultraljubičastog svjetla kojim se potiče autofluorescencija u kožnom tkivu, a izmjerena autofluorescencija korelira s tkivnim razinama krajnjih produkata uznapredovale glikacije. Mjerenje je provedeno na koži podlaktice, a rezultat je dobiven unutar približno 12 sekundi. Vrijednosti dobivene mjerenjem *AGE Reader-om* izražene su kao kožna autofluorescencija u arbitrarnim jedinicama.

Na temelju dobno prilagođenih referentnih vrijednosti ugrađenog softvera *AGE Reader* uređaja ispitanice su razvrstane u četiri kategorije kardiovaskularnog rizika: bez kardiovaskularnog rizika, ograničeni kardiovaskularni rizik, povećani kardiovaskularni rizik i definitivni kardiovaskularni rizik. Za dodatne usporedbe kategorije bez kardiovaskularnog rizika i ograničenog kardiovaskularnog rizika objedinjene su u skupinu nižeg kardiovaskularnog rizika, dok su kategorije povećanog i definitivnog kardiovaskularnog rizika objedinjene u skupinu višeg kardiovaskularnog rizika.

3.5. Upitnici

Upitnici su ispunjavani tijekom istog istraživačkog posjeta, nakon objašnjenja postupka ispunjavanja. Ispitanice su upitnike ispunjavale samostalno, uz mogućnost pojašnjenja od strane člana istraživačkog tima bez utjecaja na odabir odgovora.

Adherencija mediteranskoj prehrani procijenjena je pomoću upitnika *Mediterranean Diet Serving Score* (MDSS). MDSS boduje usklađenost učestalosti konzumacije pojedinih skupina namirnica s preporukama mediteranskog prehrambenog obrasca, pri čemu se preporuke izražavaju prema unosu po obroku, danu ili tjednu. Ukupan rezultat za odrasle ispitanice kreće se od 0 do 24 boda, a viša vrijednost označava veću adherenciju mediteranskoj prehrani. MDSS upitnik ispunile su ispitanice iz Hashimotove i kontrolne skupine.

Kvaliteta života povezana s bolešću štitnjače procijenjena je pomoću upitnika *Thyroid-Related Patient-Reported Outcome* (ThyPRO). ThyPRO je upitnik specifičan za bolesti štitnjače i primijenjen je u skupini bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom. U ovom istraživanju analizirane su domene koje se odnose na simptome guše odnosno pritiska u vratu, simptome hipertireoze, simptome hipotireoze, očne simptome, umor i manjak energije, kognitivne poteškoće, anksioznost, depresivnost, emocionalnu labilnost, narušeno društveno funkcioniranje, narušeno svakodnevno funkcioniranje, tegobe vezane uz izgled te ukupni utjecaj bolesti na kvalitetu života. Rezultati pojedinih domena transformirani su na ljestvicu od 0 do 100, pri čemu viša vrijednost označava izraženije simptome, veće funkcionalno opterećenje ili veći negativan utjecaj bolesti na kvalitetu života.

3.6. Statistička analiza i izračun veličine uzorka

Izračun veličine uzorka proveden je na temelju podataka iz pilot-istraživanja koje je uključivalo 10 nasumično odabranih ispitanica iz populacije pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom i 10 nasumično odabranih, odgovarajuće usklađenih kontrolnih ispitanica. Za izračun veličine uzorka korištena je serumska koncentracija katestatina, koja je bila glavni ishod istraživanja. Uz pogrešku tipa I od 0,05 i snagu istraživanja od 80 %, izračunata potrebna veličina uzorka iznosila je 79 ispitanica po skupini. Uzimajući u obzir mogućnost nepotpunih podataka, odustajanja ili isključenja ispitanica tijekom provedbe istraživanja, konačni broj ispitanica povećan je na 200, odnosno 100 ispitanica u skupini s Hashimotovim tireoiditisom i 100 ispitanica u kontrolnoj skupini.

Statistička analiza provedena je uporabom programa MedCalc (verzija 19.1.2, MedCalc Software, Ostend, Belgija). Grafički prikazi izrađeni su u programu Prism (verzija 9.4.1, GraphPad, La Jolla, CA, SAD).

Kvantitativni podaci prikazani su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija ako su slijedili normalnu distribuciju, odnosno kao medijan i interkvartilni raspon ako distribucija nije bila normalna. Kategorijske varijable prikazane su kao cijeli broj i postotak. Normalnost distribucije podataka procijenjena je Shapiro-Wilkovim testom.

Usporedbe kvantitativnih varijabli između dviju skupina provedene su Studentovim t-testom za neovisne uzorke ili Mann-Whitneyjevim U-testom, ovisno o distribuciji podataka. Kategorijske varijable analizirane su hi-kvadrat testom. Za ispitivanje povezanosti serumskih koncentracija katestatina, tkivnih razina AGE-ova te odabranih kliničkih i laboratorijskih varijabli korištena je Pearsonova korelacijska analiza ili Spearmanova rang-korelacijska analiza, ovisno o distribuciji podataka.

Raspodjela kategorija kardiovaskularnog rizika prema tkivnim razinama AGE-ova uspoređena je hi-kvadrat testom. Serumske vrijednosti katestatina dodatno su uspoređene između ispitanica s nižim kardiovaskularnim rizikom, koji je uključivao kategorije bez kardiovaskularnog rizika i ograničenog kardiovaskularnog rizika, te ispitanica s višim kardiovaskularnim rizikom, koji je uključivao kategorije povećanog i definitivnog kardiovaskularnog rizika.

Usporedba MDSS rezultata između Hashimotove i kontrolne skupine provedena je Mann-Whitneyjevim U-testom. Bolesnice s Hashimotovim tireoiditisom dodatno su podijeljene prema medijanu serumskog katestatina na skupinu s vrijednostima $\leq 10,2$ ng/mL i skupinu s vrijednostima $> 10,2$ ng/mL. Rezultati ThyPRO domena uspoređeni su između navedenih podskupina Studentovim t-testom za neovisne uzorke ili Mann-Whitneyjevim U-testom, ovisno o distribuciji podataka. Povezanost ThyPRO podljestvica s tkivnim razinama AGE-ova i MDSS rezultatom u skupini bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom analizirana je Spearmanovom rang-korelacijskom analizom. Razina statističke značajnosti postavljena je na $P < 0,05$ za sve usporedbe.

4. REZULTATI

U istraživanje je uključeno 200 ispitanica, od kojih 100 bolesnica s novodijagnosticiranim i neliječnim Hashimotovim tireoiditisom te 100 zdravih kontrolnih ispitanica usklađenih prema dobi. Početna obilježja prikazana su u Tablici 3. Nije utvrđena statistički značajna razlika između skupina s obzirom na dob, tjelesnu visinu, tjelesnu masu, indeks tjelesne mase, opseg struka i kukova, omjer struka i kukova, sistolički i dijastolički krvni tlak ni udio aktivnih pušačica (sve $P > 0,05$).

Tablica 3. Početna obilježja ispitivane populacije

Parametar	Hashimotova skupina (N = 100)	Kontrolna skupina (N = 100)	P^*
Dob (godine)	36,8 ± 12,6	35,2 ± 10,5	0,345
Tjelesna visina (cm)	170,3 ± 6,6	171,5 ± 5,9	0,372
Tjelesna masa (kg)	68,2 ± 12,2	66,6 ± 10,6	0,326
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	23,3 ± 4,9	22,7 ± 3,5	0,398
Opseg struka (cm)	79,2 ± 12,2	79,1 ± 10,5	0,978
Opseg kukova (cm)	101,8 ± 9,1	100,5 ± 9,4	0,327
WHR	0,77 ± 0,05	0,78 ± 0,05	0,159
Sistolički krvni tlak (mmHg)	110,2 ± 15,5	112,4 ± 11,5	0,269
Dijastolički krvni tlak (mmHg)	68,1 ± 9,5	68,2 ± 7,7	0,935
Aktivno pušenje (da)	37 (37,0)	32 (32,0)	0,458

Napomena: Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili cijeli broj i postotak. Razlike između skupina analizirane su t-testom za neovisne uzorke ili hi-kvadrat testom. **Kratice:** WHR – omjer opsega struka i kukova.

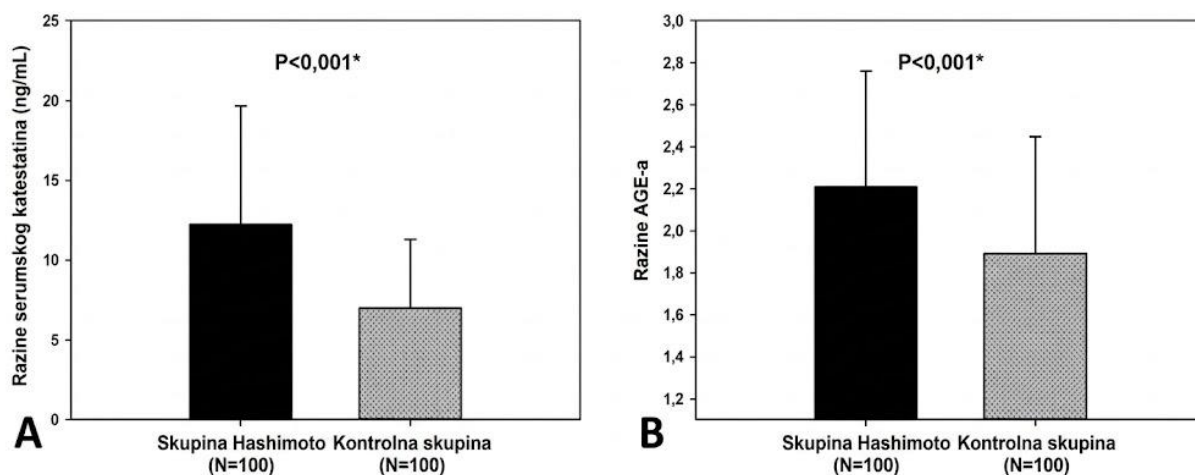
Laboratorijski nalazi prikazani su u Tablici 4. U odnosu na kontrolnu skupinu, bolesnice s Hashimotovim tireoiditisom imale su značajno više serumske vrijednosti TSH-a ($P = 0,017$), anti-TG-a ($P < 0,001$), anti-TPO-a ($P < 0,001$), hsCRP-a ($P < 0,001$) i LDL-kolesterola ($P = 0,025$), dok su vrijednosti fT4 bile značajno niže ($P = 0,027$). Vrijednosti fT3, ukupnog kolesterola, HDL-kolesterola, triglicerida, glukoze natašte, kreatinina i ureje nisu se značajno razlikovale između skupina.

Tablica 4. Laboratorijski nalazi ispitivane populacije

Parametar	Hashimotova skupina (N = 100)	Kontrolna skupina (N = 100)	P*
TSH (mIU/L)	1,65 (1,4-2,9)	1,58 (1,22-2,12)	0,017
fT3 (pmol/L)	4,4 (4,3-4,85)	4,45 (4,2-4,8)	0,562
fT4 (pmol/L)	13,1 ± 1,81	13,7 ± 1,99	0,027
anti-TG (IU/mL)	119,1 (16,4-274,0)	9,2 (6,6-13,4)	<0,001
anti-TPO (IU/mL)	71,9 (21,7-243,0)	1,9 (1,3-4,1)	<0,001
hsCRP (mg/L)	2,1 (1,3-3,2)	1,2 (0,4-1,6)	<0,001
Ukupni kolesterol (mmol/L)	5,28 ± 1,01	4,69 ± 1,42	0,088
HDL-kolesterol (mmol/L)	1,55 ± 0,31	1,53 ± 0,48	0,822
LDL-kolesterol (mmol/L)	3,24 ± 0,90	2,91 ± 1,12	0,025
Trigliceridi (mmol/L)	1,44 ± 0,67	1,37 ± 1,08	0,573
Glukoza natašte (mmol/L)	5,11 ± 0,49	4,93 ± 0,81	0,109
Kreatinin (μmol/L)	69,3 ± 15,5	67,6 ± 10,7	0,358
Urea (mmol/L)	5,5 ± 1,77	5,31 ± 1,51	0,416

Napomena: Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili medijan s interkvartilnim rasponom, ovisno o distribuciji podataka. Razlike između skupina analizirane su t-testom za neovisne uzorke ili Mann–Whitneyjevim U-testom. **Kratice:** anti-Tg – protutijela na tireoglobulin; anti-TPO – protutijela na tireoidnu peroksidazu; fT3 – slobodni trijodtironin; fT4 – slobodni tiroksin; HDL – lipoprotein visoke gustoće; hsCRP – visokosenzitivni C-reaktivni protein; LDL – lipoprotein niske gustoće; TSH – tireostimulirajući hormon.

Serumske razine katestatina i tkivne razine AGE-ova bile su značajno više u Hashimotovoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu (Slika 4). Medijan serumskog katestatina iznosio je 10,2 (6,5-15,8) ng/mL u Hashimotovoj skupini i 6,4 (4,1-9,3) ng/mL u kontrolnoj skupini ($P < 0,001$). Tkivne razine AGE-ova iznosile su $2,21 \pm 0,55$ u Hashimotovoj skupini i $1,89 \pm 0,56$ u kontrolnoj skupini ($P < 0,001$).



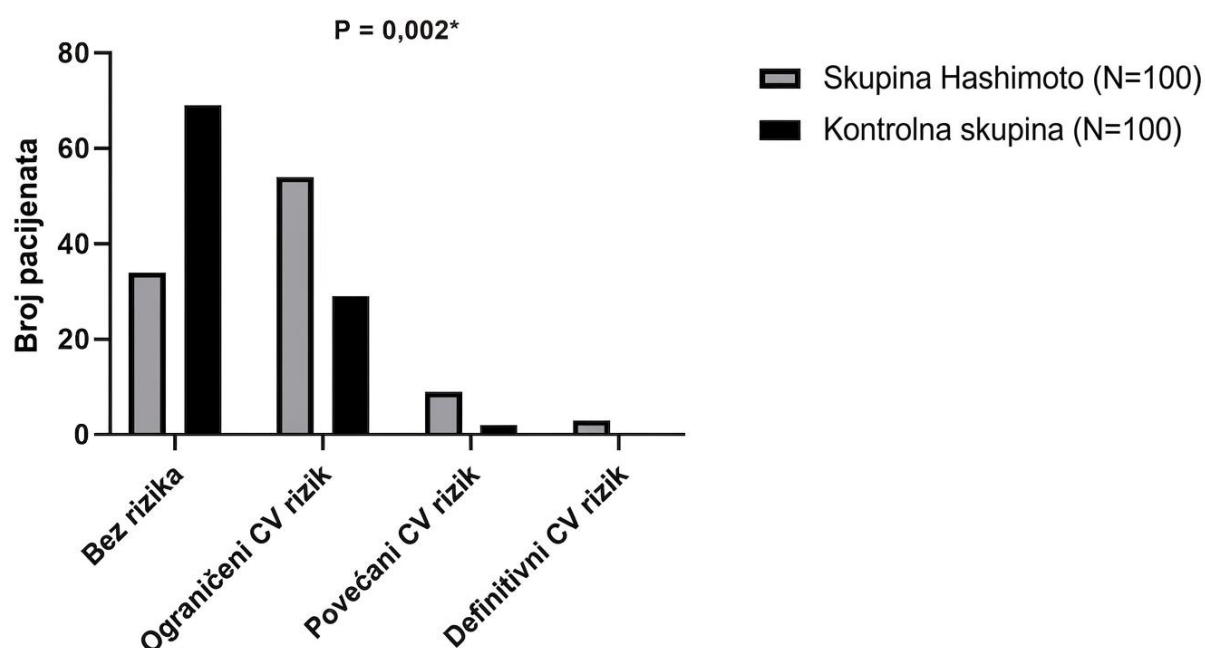
Slika 4. Serumske razine katestatina (A) i razine AGE-ova (B) u ispitanica Hashimotove skupine (N = 100) i kontrolne skupine (N = 100).

* Mann-Whitneyjev test

† t-test za neovisne uzorke

Kratice: AGE-ovi -krajnji produkti uznapredovale glikacije

Raspodjela kategorija kardiovaskularnog rizika prema tkivnim AGE-ovima razlikovala se između skupina ($P = 0,002$; Slika 5). U Hashimotovoj skupini zabilježen je veći udio ispitanica u kategorijama povišenog i definitivnog kardiovaskularnog rizika, dok je u kontrolnoj skupini dominirala kategorija bez rizika. Ispitanice bez ili s ograničenim kardiovaskularnim rizikom imale su niže vrijednosti katestatina u odnosu na ispitanice s povišenim ili definitivnim kardiovaskularnim rizikom ($9,33 \pm 5,68$ naspram $16,76 \pm 9,34$ ng/mL; $P = 0,011$).



Slika 5. Raspodjela kategorija kardiovaskularnog rizika prema tkivnim razinama AGE-ova u ispitanica s Hashimotovim tireoiditisom ($N = 100$) i kontrolnih ispitanica ($N = 100$). Podaci su prikazani kao broj ispitanica; $P = 0,002^*$. * hi-kvadrat test

Kratice: AGE-ovi – krajnji produkti uznapredovale glikacije; CV – kardiovaskularni.

Tablica 5. Korelacija razina katestatina i AGE-ova s odabranim antropometrijskim i laboratorijskim parametrima u ukupnoj populaciji (N = 200)

Parametar	Katestatin ($P^{\dagger}$)	AGE r (P^*)
Dob (godine)	0,052 (0,466)	0,226 (0,001)
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	0,101 (0,155)	0,151 (0,033)
Opseg struka (cm)	0,053 (0,454)	0,166 (0,019)
Sistolički krvni tlak (mmHg)	0,003 (0,965)	-0,005 (0,945)
Dijastolički krvni tlak (mmHg)	0,051 (0,475)	0,057 (0,419)
TSH (mIU/L)	0,182 (0,010)	0,086 (0,225) [†]
fT3 (pmol/L)	0,016 (0,822)	0,038 (0,591) [†]
fT4 (pmol/L)	-0,119 (0,0934)	-0,067 (0,344)
anti-TG (IU/mL)	0,405 (<0,001)	0,278 (<0,001) [†]
anti-TPO (IU/mL)	0,416 (<0,001)	0,397 (<0,001) [†]
hsCRP (mg/L)	0,204 (0,004)	0,138 (0,051) [†]
Ukupni kolesterol (mmol/L)	0,075 (0,289)	-0,003 (0,967)
HDL-kolesterol (mmol/L)	-0,043 (0,548)	-0,019 (0,792)
LDL-kolesterol (mmol/L)	0,056 (0,429)	0,068 (0,338)
Trigliceridi (mmol/L)	0,011 (0,881)	-0,006 (0,933)
Glukoza natašte (mmol/L)	0,064 (0,365)	0,043 (0,543)
Kreatinin (μmol/L)	0,050 (0,478)	0,005 (0,940)

Napomena: Podaci su prikazani kao koeficijent korelacije i pripadajuća P-vrijednost. Korelacije su analizirane Pearsonovom korelacijskom analizom ili Spearmanovom rang-korelacijskom analizom, ovisno o distribuciji podataka. Podebljane vrijednosti označavaju statističku značajnost, $P < 0,05$. **Kratice:** AGE – krajnji produkti uznapredovale glikacije; anti-TG – protutijela na tireoglobulin; anti-TPO – protutijela na tireoidnu peroksidazu; fT3 – slobodni trijodtironin; fT4 – slobodni tiroksin; HDL – lipoprotein visoke gustoće; hsCRP – visokosenzitivni C-reaktivni

U ukupnoj populaciji analizirane su korelacije serumskih razina katestatina i tkivnih razina AGE-ova s odabranim antropometrijskim i laboratorijskim parametrima. Rezultati korelacijske analize prikazani su u Tablici 5.

U ukupnoj populaciji katestatin je bio pozitivno povezan s TSH-om ($r = 0,182$; $P = 0,010$), anti-TG protutijelima ($r = 0,405$; $P < 0,001$), anti-TPO protutijelima ($r = 0,416$; $P < 0,001$) i hsCRP-om ($r = 0,204$; $P = 0,004$). Nisu utvrđene značajne povezanosti katestatina s dobi, indeksom tjelesne mase, opsegom struka, krvnim tlakom, fT3, fT4, lipidnim profilom, glukozom natašte ni kreatininom.

Tkivne razine AGE-ova u ukupnoj su populaciji bile pozitivno povezane s dobi ($r = 0,226$; $P = 0,001$), indeksom tjelesne mase ($r = 0,151$; $P = 0,033$), opsegom struka ($r = 0,166$; $P = 0,019$), anti-TG protutijelima ($r = 0,278$; $P < 0,001$) i anti-TPO protutijelima ($r = 0,397$; $P < 0,001$). Povezanost AGE-ova s hsCRP-om bila je na granici statističke značajnosti ($r = 0,138$; $P = 0,051$), dok značajne povezanosti s krvnim tlakom, hormonima štitnjače, lipidnim profilom, glukozom natašte i kreatininom nisu utvrđene.

Korelacije katestatina i AGE-ova s istim parametrima dodatno su analizirane u skupini bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom, kako je prikazano u Tablici 6.

Tablica 6. Korelacija razina katestatina i AGE-ova s odabranim antropometrijskim i laboratorijskim parametrima u bolesnica Hashimotove skupine (N = 100)

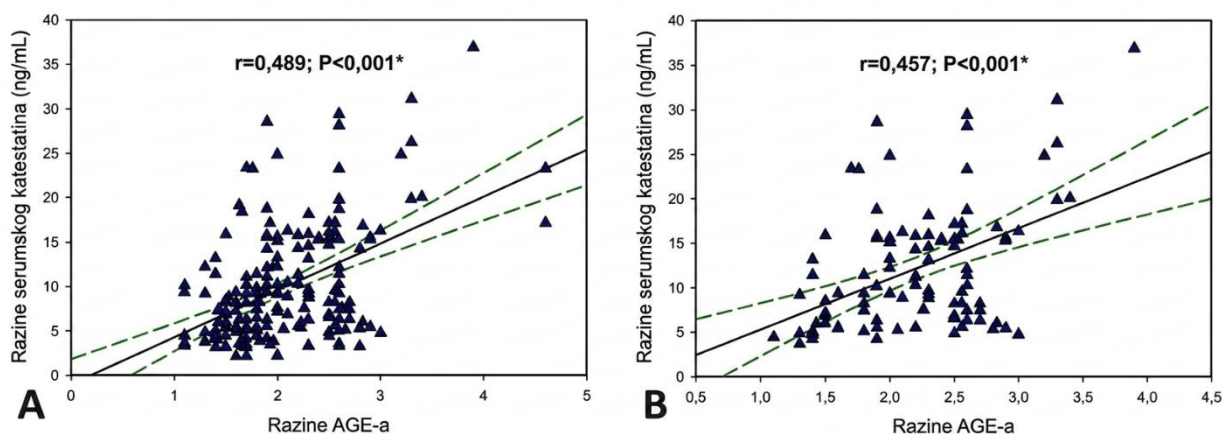
Parametar	Katestatin r (<i>P</i> [†])	AGE r (<i>P</i> [*])
Dob (godine)	0,151 (0,134)	0,247 (0,013)
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	0,142 (0,159)	0,200 (0,046)
Opseg struka (cm)	0,124 (0,219)	0,203 (0,042)
Sistolički krvni tlak (mmHg)	-0,045 (0,661)	0,036 (0,721)
Dijastolički krvni tlak (mmHg)	0,071 (0,482)	0,093 (0,357)
TSH (mIU/L)	0,123 (0,223)	0,045 (0,660) [†]
fT3 (pmol/L)	0,163 (0,105)	0,073 (0,469) [†]
fT4 (pmol/L)	-0,090 (0,374)	-0,124 (0,218)
anti-TG (IU/mL)	0,353 (<0,001)	0,215 (0,032) [†]
anti-TPO (IU/mL)	0,229 (0,024)	0,276 (0,005) [†]
hsCRP (mg/L)	0,277 (0,005)	0,141 (0,163) [†]
Ukupni kolesterol (mmol/L)	0,040 (0,689)	-0,082 (0,416)
HDL-kolesterol (mmol/L)	0,092 (0,361)	0,092 (0,361)
LDL-kolesterol (mmol/L)	-0,029 (0,776)	0,010 (0,922)
Trigliceridi (mmol/L)	-0,113 (0,263)	-0,003 (0,978)
Glukoza natašte (mmol/L)	-0,007 (0,946)	-0,057 (0,576)
Kreatinin (μmol/L)	0,089 (0,378)	-0,006 (0,952)

Napomena: Podaci su prikazani kao koeficijent korelacije i pripadajuća P-vrijednost. Korelacije su analizirane Pearsonovom korelacijskom analizom ili Spearmanovom rang-korelacijskom analizom, ovisno o distribuciji podataka. Podebljane vrijednosti označavaju statističku značajnost, $P < 0,05$. **Kratice:** AGE – krajnji produkti uznapredovale glikacije; anti-TG – protutijela na tireoglobulin; anti-TPO – protutijela na tireoidnu peroksidazu; fT3 – slobodni trijodtironin; fT4 – slobodni tiroksin; HDL – lipoprotein visoke gustoće; hsCRP – visokosenzitivni C-reaktivni protein; LDL – lipoprotein niske gustoće; TSH – tireostimulirajući hormon.

U Hashimotovoj skupini katestatin je bio pozitivno povezan s anti-TG protutijelima ($r = 0,353$; $P < 0,001$), anti-TPO protutijelima ($r = 0,229$; $P = 0,024$) i hsCRP-om ($r = 0,277$; $P = 0,005$). Nisu utvrđene značajne povezanosti katestatina s dobi, indeksom tjelesne mase, opsegom struka, krvnim tlakom, TSH-om, fT3, fT4, lipidnim profilom, glukozom natašte ni kreatininom.

Tkivne razine AGE-ova u Hashimotovoj skupini bile su pozitivno povezane s dobi ($r = 0,247$; $P = 0,013$), indeksom tjelesne mase ($r = 0,200$; $P = 0,046$), opsegom struka ($r = 0,203$; $P = 0,042$), anti-TG protutijelima ($r = 0,215$; $P = 0,032$) i anti-TPO protutijelima ($r = 0,276$; $P = 0,005$). Ostali analizirani antropometrijski i laboratorijski parametri nisu bili statistički značajno povezani s AGE-ovima.

Utvrđena je pozitivna povezanost između serumskih koncentracija katestatina i tkivnih razina AGE-ova. Povezanost je bila prisutna u ukupnoj populaciji ($r = 0,489$; $P < 0,001$) i u Hashimotovoj skupini ($r = 0,457$; $P < 0,001$), što je prikazano na Slici 6.



Slika 6. Povezanost serumskih razina katestatina i tkivnih razina AGE-ova u ukupnoj populaciji (A; $N = 200$) i u Hashimotovoj skupini (B; $N = 100$).

* Spearmanov korelacijski test

Kratice: AGE-ovi -krajnji produkti uznapredovale glikacije

U bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom procijenjena je kvaliteta života povezana s bolešću štitnjače. Rezultati po podljestvicama ThyPRO upitnika prikazani su u Tablici 7.

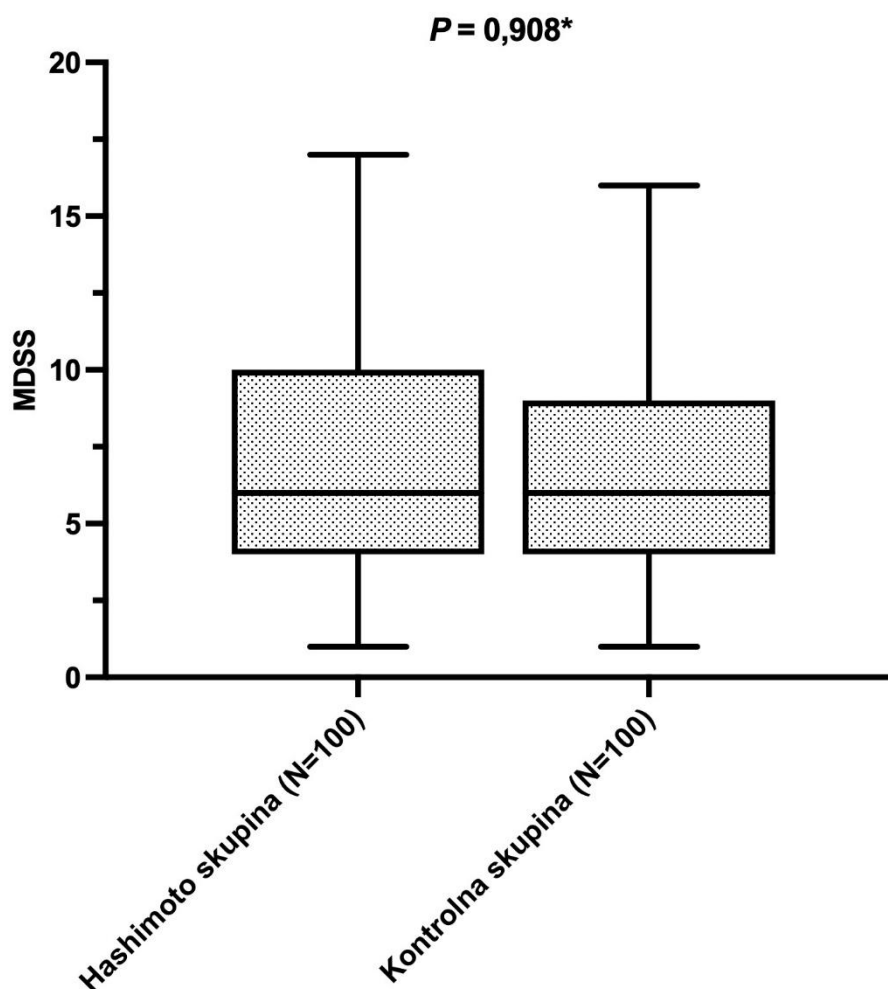
Tablica 7. Rezultati ThyPRO upitnika u bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom (N = 100)

ThyPRO podljestvica	Medijan
Simptomi guše	8,3 (0,0–16,7)
Hipertireoidni simptomi	25,0 (16,7–50,0)
Hipotireoidni simptomi	33,3 (8,3–45,8)
Očni simptomi	16,7 (0,0–25,0)
Umor i manjak energije	50,0 (33,3–58,3)
Kognitivne poteškoće	25,0 (4,2–33,3)
Anksioznost	25,0 (16,7–50,0)
Depresivnost	33,3 (25,0–41,7)
Emocionalna labilnost	50,0 (33,3–58,3)
Narušeno društveno funkcioniranje	0,0 (0,0–16,7)
Narušeno svakodnevno funkcioniranje	8,3 (0,0–20,8)
Tegobe vezane uz izgled	0,0 (0,0–12,5)
Ukupni utjecaj na kvalitetu života	0,0 (0,0–25,0)

Napomena: Podaci su prikazani kao medijan s interkvartilnim rasponom. Rezultati ThyPRO upitnika transformirani su na ljestvicu od 0 do 100, pri čemu viša vrijednost označava izraženije simptome ili veće funkcionalno opterećenje. **Kratice:** ThyPRO – engl. *Thyroid-Related Patient-Reported Outcome* upitnik.

Najviše vrijednosti zabilježene su za podljestvice umora i manjka energije te emocionalne labilnosti, s medijanom 50,0 (33,3–58,3) za obje domene. Relativno više vrijednosti zabilježene su i za hipotireoidne simptome (33,3 (8,3–45,8)) i depresivnost (33,3 (25,0–41,7)), dok su najniži medijani dobiveni za narušeno društveno funkcioniranje, tegobe vezane uz izgled i ukupni utjecaj na kvalitetu života (sve 0,0).

Rezultati upitnika pridržavanja mediteranske prehrane (MDSS) uspoređeni su između Hashimotove i kontrolne skupine te su prikazani na Slici 7.



Slika 7. Usporedba rezultata MDSS upitnika između Hashimotove i kontrolne skupine (N = 100 po skupini).

* Mann-Whitneyjev test

Kratice: MDSS – engl. *Mediterranean Diet Serving Score*

Nije utvrđena statistički značajna razlika u MDSS rezultatu između Hashimotove i kontrolne skupine ($P = 0,908$), što pokazuje da se ispitivane skupine u ovom uzorku nisu razlikovale prema adherenciji mediteranskoj prehrani.

Radi procjene povezanosti katestatina sa subjektivnim tegobama, bolesnice s Hashimotovim tireoiditisom podijeljene su prema medijanu serumskog katestatina na skupinu s vrijednostima $\leq 10,2$ ng/mL i skupinu s vrijednostima $> 10,2$ ng/mL (Tablica 8).

Tablica 8. Usporedba rezultata ThyPRO upitnika prema medijanu serumskog katestatina u Hashimotovoj skupini (N = 100)

Domena ThyPRO upitnika	Katestatin $\leq 10,2$ (N = 50)	Katestatin $> 10,2$ (N = 50)	P [†]
Simptomi guše / pritiska u vratu	14,10 $\pm$ 19,26	17,67 $\pm$ 26,28	0,441
Simptomi hipertireoze	27,24 $\pm$ 19,66	32,00 $\pm$ 24,02	0,281
Simptomi hipotireoze	31,73 $\pm$ 22,98	33,67 $\pm$ 28,31	0,708
Očni simptomi	16,67 $\pm$ 15,09	16,67 $\pm$ 17,51	1,000
Umor	48,40 $\pm$ 13,54	49,00 $\pm$ 17,57	0,848
Kognitivne smetnje	20,19 $\pm$ 22,51	29,00 $\pm$ 23,21	0,057
Anksioznost	32,05 $\pm$ 24,23	33,33 $\pm$ 25,80	0,798
Depresivnost	33,33 $\pm$ 12,69	37,33 $\pm$ 12,06	0,109
Emocionalna osjetljivost	49,04 $\pm$ 14,59	46,00 $\pm$ 16,34	0,329
Narušeno društveno funkcioniranje	11,54 $\pm$ 17,33	11,000 $\pm$ 14,18	0,865
Narušeno svakodnevno funkcioniranje	8,33 $\pm$ 13,54	18,333 $\pm$ 18,08	0,002
Kozmetičke smetnje	8,97 $\pm$ 15,80	11,33 $\pm$ 19,67	0,510
Ukupni utjecaj bolesti na kvalitetu života	12,50 $\pm$ 16,20	17,00 $\pm$ 26,73	0,312

Napomena: Podaci su prikazani kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija. Vrijednosti katestatina izražene su u ng/mL. Razlike između skupina analizirane su t-testom za neovisne uzorke ili Mann-Whitneyjevim U-testom, ovisno o distribuciji podataka. Podebljana vrijednost označava statističku značajnost, $P < 0,05$. Rezultati ThyPRO upitnika transformirani su na ljestvicu od 0 do 100, pri čemu viša vrijednost označava izraženije simptome ili veće funkcionalno opterećenje. **Kratice:** engl. *ThyPRO – Thyroid-Related Patient-Reported Outcome* upitnik.

Skupina s višim vrijednostima katestatina imala je značajno veći rezultat na podljestvici narušenog svakodnevnog funkcioniranja (18,333 $\pm$ 18,079 prema 8,333 $\pm$ 13,540; $P = 0,002$). Razlika u kognitivnim smetnjama bila je blizu granice statističke značajnosti (29,000 $\pm$ 23,214 prema 20,192 $\pm$ 22,506; $P = 0,057$), ali nije dosegla definirani prag statističke značajnosti. Za ostale ThyPRO domene nisu zabilježene statistički značajne razlike između skupina prema vrijednosti katestatina.

U Tablici 9 prikazane su korelacije između ThyPRO podljestvica i tkivnih razina AGE-ova te MDSS rezultata u bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom.

Tablica 9. Korelacija ThyPRO podljestvica s tkivnim AGE-ovima i MDSS rezultatom u Hashimotovoj skupini (N = 100)

Domena ThyPRO upitnika	AGE (N = 100) Spearmanov rho (P)	MDSS (N = 100) Spearmanov rho (P)
Simptomi guše	-0,145 (0,150)	-0,168 (0,095)
Simptomi hipertireoze	0,045 (0,657)	-0,001 (0,992)
Simptomi hipotireoze	-0,05 (0,621)	-0,133 (0,187)
Očni simptomi	0,041 (0,685)	-0,222 (0,026)
Umor i manjak energije	0,120 (0,234)	-0,155 (0,124)
Kognitivne poteškoće	0,128 (0,204)	-0,098 (0,332)
Anksioznost	-0,055 (0,587)	0,032 (0,752)
Depresivnost	-0,068 (0,501)	0,008 (0,937)
Emocionalna labilnost	-0,057 (0,573)	-0,242 (0,015)
Narušeno društveno funkcioniranje	-0,141 (0,162)	-0,143 (0,156)
Narušeno svakodnevno funkcioniranje	0,150 (0,136)	-0,094 (0,352)
Tegobe vezane uz izgled	-0,166 (0,099)	-0,131 (0,194)
Ukupni utjecaj na kvalitetu života	-0,040 (0,693)	-0,085 (0,400)

Napomena: Podaci su prikazani kao Spearmanov koeficijent korelacije rho i pripadajuća P-vrijednost. Podebljane vrijednosti označavaju statističku značajnost, $P < 0,05$. Rezultati ThyPRO upitnika transformirani su na ljestvicu od 0 do 100, pri čemu viša vrijednost označava izraženije simptome ili veće funkcionalno opterećenje. **Kratice:** AGE – krajnji produkti uznapredovale glikacije; MDSS – Mediterranean Diet Serving Score; ThyPRO – Thyroid-Related Patient-Reported Outcome upitnik.

Tkivne razine AGE-ova nisu bile statistički značajno povezane s ThyPRO domenama. MDSS rezultat bio je negativno povezan s očnim simptomima ($\rho = -0,222$; $P = 0,026$) i emocionalnom labilnošću ($\rho = -0,242$; $P = 0,015$). Nisu utvrđene značajne korelacije MDSS rezultata s ostalim ThyPRO domenama, uključujući ukupni utjecaj bolesti na kvalitetu života.

5. RASPRAVA

Glavni nalaz ovoga istraživanja jest da su pacijentice s novodijagnosticiranim i terapijski neliječenim Hashimotovim tireoiditisom imale značajno više serumske koncentracije katestatina i više tkivne razine krajnjih produkata uznapredovale glikacije (AGE-ova) u odnosu na dobno i antropometrijski usklađene zdrave ispitanice. Istodobno je u Hashimotovoj skupini zabilježen veći udio ispitanica u kategorijama povišenog i definitivnog kardiovaskularnog rizika prema neinvazivnoj procjeni *AGE Reader-om*, dok su osnovni antropometrijski pokazatelji, arterijski tlak i učestalost aktivnog pušenja bili usporedivi između skupina. Ovaj rezultat je osobito važan jer upućuje na mogućnost da u ranom stadiju Hashimotova tireoiditisa, prije razvoja očitih komorbiditeta i prije uključivanja nadomjesne terapije hormonima štitnjače, već postoje pokazatelji vaskularnog, upalnog i metaboličkog opterećenja (243).

U laboratorijskim nalazima Hashimotova skupina imala je više vrijednosti TSH-a, anti-TG i anti-TPO protutijela, hsCRP-a i LDL-kolesterola te niže vrijednosti fT4. Međutim, razliku u TSH-u treba tumačiti oprezno jer je apsolutna razlika između skupina mala i ne govori sama po sebi o izraženoj hipotireozii. Upravo zato povišene vrijednosti katestatina i AGE-ova ne treba jednostavno pripisati manifestnoj hipotireozii, nego ih je vjerojatnije promatrati u širem kontekstu autoimunosti, niskogradijentne upale, oksidativnog stresa i rane endotelne disfunkcije. Takvo tumačenje dodatno podupire činjenica da katestatin i AGE-ovi nisu pokazali jasnu povezanost s perifernim hormonima štitnjače, dok su bili povezani s autoantitijelima usmjerenima prema tireoidnim antigenima.

Drugi važan nalaz jest pozitivna povezanost između katestatina i AGE-ova, kako u ukupnoj populaciji tako i u samoj Hashimotovoj skupini. Ta povezanost upućuje na mogućnost da oba pokazatelja odražavaju srodne patofiziološke procese, ponajprije oksidativno i upalno opterećenje vaskularnog sustava. Ipak, zbog presječnog ustroja istraživanja nije moguće odrediti vremenski slijed ni uzročnost. Ne može se zaključiti uzrokuje li autoimuni proces porast katestatina i AGE-ova, jesu li ti biomarkeri kompenzacijski odgovor na vaskularno oštećenje, ili predstavljaju paralelne posljedice istog niskogradijentnog upalnog miljea. Stoga nalaze treba promatrati kao hipotezu-generirajuće, a ne kao dokaz jasnog uzročno-posljedičnog mehanizma.

Treći aspekt rezultata odnosi se na prehrambene i subjektivne pokazatelje. U ovom uzorku nije utvrđena statistički značajna razlika u adherenciji mediteranskoj prehrani između Hashimotove i kontrolne skupine. Time hipoteza da će se ispitivane skupine razlikovati prema

MDSS rezultatu nije potvrđena. S druge strane, u Hashimotovoj skupini zabilježene su izraženije subjektivne tegobe u domenama umora, emocionalne labilnosti, hipotireoidnih simptoma i depresivnosti, dok je viša koncentracija katestatina bila povezana s narušenim svakodnevnim funkcioniranjem. Ovi nalazi proširuju biokemijsku interpretaciju istraživanja jer pokazuju da Hashimotov tireoiditis, čak i u relativno ranoj fazi, nije samo laboratorijski entitet nego stanje koje može biti povezano s mjerljivim smanjenjem funkcionalnog i psihološkog blagostanja.

Hashimotov tireoiditis najčešća je autoimuna bolest štitnjače i tipičan je primjer kronične organ-specifične autoimunosti u kojoj se gubitak imunološke tolerancije, prisutnost autoantitijela i limfocitna infiltracija žlijezde postupno povezuju s funkcionalnim poremećajem štitnjače (244). Klinički se tradicionalno naglasak stavlja na dijagnozu i liječenje hipotireoze, no suvremena literatura sve više naglašava da bi kardiometaboličke posljedice poremećaja štitnjače mogle nadilaziti samu koncentraciju TSH-a i hormona štitnjače (36). U skladu s time, rezultati ovog istraživanja pokazuju da pacijentice s Hashimotovim tireoiditisom mogu imati povišene pokazatelje vaskularnog rizika i onda kada ne postoje velike razlike u klasičnim čimbenicima rizika kao što su arterijski tlak, indeks tjelesne mase, glukoza natašte ili bubrežna funkcija.

Povezanost poremećaja funkcije štitnjače i kardiovaskularnog sustava dobro je poznata. Hipotireoza može dovesti do nepovoljnog lipidnog profila, povećanog perifernog vaskularnog otpora, dijastoličke hipertenzije, promjena u endotelnoj funkciji i ubrzanja aterosklerotskog procesa (36). U žena je hipotireoza povezana s koronarnom endotelnom disfunkcijom (245), a u subkliničkoj hipotireozii opisano je narušavanje endotelne funkcije s mogućim poboljšanjem nakon liječenja levotiroksinom (246). Međutim, ovo istraživanje sugerira da se dio vaskularnog opterećenja u Hashimotovu tireoiditisu ne može svesti samo na stupanj hormonalnog deficita, nego je vjerojatno povezan s kroničnom imunološkom aktivacijom.

Posebno je značajan koncept niskogradijentne sustavne upale. Taddei i sur. pokazali su da kronična upala u Hashimotovu tireoiditisu može uzrokovati endotelnu disfunkciju neovisno o promjenama lipidnog metabolizma (247). Nadalje, povezanost između tireoidnih autoantitijela i narušene endotelne funkcije opisana je i u eutiroidnih bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom (248). Ovi nalazi su u skladu s rezultatima ovoga istraživanja u kojem su katestatin i AGE-ovi bili povezani s anti-TPO i anti-TG protutijelima. Takva povezanost ne znači da

protutijela izravno oštećuju vaskularnu stijenku, ali upućuje na to da veći intenzitet autoimunog procesa može pratiti veće vaskularno i oksidativno opterećenje.

Kritički je važno naglasiti da literatura nije potpuno jednoznačna. Velika populacijska istraživanja nisu uvijek potvrdila izravnu povezanost tireoidnih autoantitijela s aterosklerotskim ishodima (249). Zbog toga nalaze ovog istraživanja ne treba pretjerano interpretirati kao dokaz da sama autoantitijela uzrokuju aterosklerozu. Preciznije je reći da autoantitijela u ovom uzorku djeluju kao pokazatelji autoimune aktivnosti koja je povezana s biomarkerima potencijalnog kardiovaskularnog rizika. Time se otvara prostor za daljnja longitudinalna istraživanja, ali ne i za zaključak o kauzalnosti.

Katestatin je bioaktivni peptid nastao proteolitičkom obradom kromogranina A, a njegova biološka uloga uključuje modulaciju simpatičke aktivnosti, vaskularnog tonusa, upalnog odgovora i metaboličke homeostaze (193,194). U kardiovaskularnom sustavu katestatin se najčešće promatra kao molekula s pleiotrofnim učinkom: može smanjiti kateholaminsko otpuštanje, utjecati na funkciju endotela, modulirati upalnu aktivaciju i sudjelovati u regulaciji krvnog tlaka (193,194). Zbog tih učinaka katestatin je potencijalno zanimljiv biomarker u bolestima u kojima se preklapaju autonomna disregulacija, niskogradijentna upala i vaskularno oštećenje.

Povišene vrijednosti katestatina u Hashimotovoj skupini predstavljaju jedan od najvažnijih originalnih nalaza ovoga istraživanja. Njihova interpretacija nije jednostavna. S jedne strane, katestatin ima antiinflamatorna svojstva i u eksperimentalnim modelima može smanjiti kemotaksiju i upalne odgovore (210). Također je pokazano da može smanjiti makrofagima posredovane aterosklerotske promjene, uključujući upalne reakcije i stvaranje pjenastih stanica (201). S druge strane, u kliničkim istraživanjima na bolesnicima s koronarnom bolešću zabilježene su niže cirkulirajuće vrijednosti katestatina, što je otvorilo pitanje predstavlja li smanjeni katestatin gubitak zaštitnog mehanizma ili obilježje uznapredovale bolesti (200). U hipertenziji su razine katestatina povezivane s ambulantnim vrijednostima krvnog tlaka i pokazateljima arterijske krutosti (203).

U ovom istraživanju povišeni katestatin vjerojatno ne treba tumačiti kao jednostavan dokaz štetnog učinka katestatina. Vjerojatnije je da porast katestatina odražava kompenzacijski odgovor na kroničnu autoimunu i vaskularnu aktivaciju. Pozitivna povezanost katestatina s

hsCRP-om u Hashimotovoj skupini ide u prilog upalnom kontekstu. Povezanost s anti-TG i anti-TPO protutijelima dodatno sugerira da katestatin može biti povezan s intenzitetom autoimunog procesa, a ne samo s klasičnim kardiometaboličkim čimbenicima. Budući da katestatin nije bio značajno povezan s fT3, fT4, krvnim tlakom, lipidnim profilom ili glukozom natašte u Hashimotovoj skupini, ovi rezultati govore protiv pojednostavljenog objašnjenja prema kojem bi porast katestatina bio posljedica samo hormonalnog statusa ili klasičnih metaboličkih promjena.

Moguće su najmanje tri interpretacije nalaza. Prvo, katestatin može biti zaštitni odgovor organizma na ranu endotelnu disfunkciju i oksidativni stres. Drugo, njegova povišena razina može odražavati pojačanu neuroendokrinu aktivaciju u sklopu kronične autoimune bolesti. Treće, katestatin može biti samo popratni biomarker, bez izravne patogenetske uloge. Presječni dizajn istraživanja ne može razlikovati ove mogućnosti. Stoga je najrazumniji zaključak da je katestatin potencijalni pokazatelj vaskularno-upalnog fenotipa u Hashimotovu tireoiditisu, ali da njegova klinička uloga i prognostička vrijednost još nisu dokazane.

AGE-ovi nastaju neenzimskom glikacijom proteina, lipida i nukleinskih kiselina, a njihovo nakupljanje povezuje se s oksidativnim stresom, upalom, endotelno-vaskularnim oštećenjem i ubrzanim starenjem tkiva (212,216). Iako se najčešće razmatraju u kontekstu šećerne bolesti, AGE-ovi nisu specifični samo za hiperglikemiju. Nastaju i u uvjetima kronične upale, pojačanog oksidativnog stresa, nepovoljnih prehrambenih navika, pušenja, starenja i smanjene eliminacije putem bubrega. Zbog toga su posebno prikladni kao integrirani pokazatelj dugotrajnog metaboličkog i oksidativnog opterećenja.

Povišene tkivne razine AGE-ova u Hashimotovoj skupini zanimljive su jer u ovom istraživanju nije bilo značajne razlike u glukozu natašte ni kreatininu između skupina, a šećerna bolest i kronično zatajenje bubrega bili su kriteriji isključenja. Time je smanjena vjerojatnost da su razlike u AGE-ovima posljedica klasičnih i očitih uzroka njihova nakupljanja. Ranija istraživanja pokazala su da su oksidativni stres i AGE-ovi povišeni u bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom, što podupire pretpostavku da autoimuna upala štitnjače može biti povezana s glikooksidativnim stresom (250). Rezultati ovoga istraživanja nadovezuju se na te nalaze jer pokazuju da se AGE-ovi mogu mjeriti i neinvazivno te da su povezani s autoantitijelima štitnjače.

AGE Reader i mjerenje kožne autofluorescencije nude praktičnu prednost jer odražavaju kumulativnu akumulaciju fluorescentnih AGE spojeva u kožnom tkivu, umjesto kratkoročnih promjena pojedinačnih serumskih metabolita (251). Kožna autofluorescencija povezana je s aterosklerotskim opterećenjem (221), a u općoj populaciji predviđa razvoj šećerne bolesti, kardiovaskularnih bolesti i smrtnost (237). Noviji podaci iz Rotterdam studije dodatno povezuju AGE-ove mjerene kožnom autofluorescencijom sa subkliničkom kardiovaskularnom bolešću (222). Stoga viša vrijednost AGE-ova u Hashimotovoj skupini ne predstavlja samo izolirani laboratorijski nalaz, nego potencijalni signal povećanog dugoročnog vaskularnog rizika.

U Hashimotovoj skupini AGE-ovi su bili pozitivno povezani s dobi, indeksom tjelesne mase i opsegom struka. To je očekivano jer dob i adipoznost pridonose oksidativnom opterećenju i nakupljanju AGE-ova. Međutim, povezanost s anti-TG i anti-TPO protutijelima upućuje na dodatnu dimenziju nalaza: autoimuna aktivnost može biti povezana s glikooksidativnim oštećenjem i u odsutnosti dijabetesa. Takav rezultat ne dokazuje da protutijela izravno potiču nastanak AGE-ova, ali ukazuje da bi tireoidna autoimunost mogla biti dio šireg sustavnog upalno-oksidativnog procesa.

Unatoč vrijednosti *AGE Reader*a, postoje ograničenja. Kožna autofluorescencija ne mjeri sve AGE spojeve, ne razlikuje pojedinačne molekule i može biti pod utjecajem dobi, pigmentacije kože, lokalnih kožnih osobitosti, pušenja i prehrambenih navika (242,251). U ovom istraživanju osnovni čimbenici poput dobi, BMI-ja, glukoze i bubrežne funkcije bili su kontrolirani ili usporedivi, što jača nalaz, ali ne uklanja sve moguće izvore pristranosti. Zbog toga AGE-ove treba promatrati kao vrijedan, ali još uvijek pomoćni marker, a ne kao samostalan dijagnostički kriterij kardiovaskularnog rizika u Hashimotovu tireoiditisu.

Povezanost prehrane i AGE-ova dodatno je važna. Prehrambeni AGE-ovi nastaju osobito pri termičkoj obradi hrane na visokim temperaturama, a njihovo smanjenje može povoljno utjecati na oksidativni i upalni profil. U bolesnika sa šećernom bolešću opisana je povezanost bolje adherencije mediteranskoj prehrani s nižim vrijednostima AGE-ova (220). Iako u ovom istraživanju nije dokazana razlika u MDSS rezultatu između skupina, buduća istraživanja trebala bi izravnije procijeniti unos prehrambenih AGE-ova, način pripreme hrane i ukupnu kvalitetu prehrane, jer MDSS ne obuhvaća sve dimenzije glikooksidativnog prehrambenog opterećenja.

Jedan od središnjih integrativnih rezultata istraživanja jest pozitivna povezanost katestatina i AGE-ova. Budući da su oba biomarkera bila povišena u Hashimotovoj skupini i povezana s autoantitijelima, moguće je da odražavaju zajedničku patofiziološku os koja uključuje autoimunu aktivaciju, oksidativni stres, endotelnu disfunkciju i kompenzacijske neuroendokrine odgovore. AGE-ovi mogu poticati upalu i endotelnu aktivaciju putem AGE-RAGE signalnog puta, dok katestatin može sudjelovati u pokušaju ograničavanja upalnog i simpatičkog odgovora (193,210,212). Ta dvosmjerna interpretacija bolje objašnjava rezultate od pretpostavke da je jedan biomarker jednostavno uzrok drugoga.

Povezanost katestatina i AGE-ova s anti-TPO i anti-TG protutijelima upućuje na to da intenzitet tireoidne autoimunosti ima sustavne odjeke. Anti-TPO i anti-TG u kliničkoj praksi najčešće služe za potvrdu dijagnoze Hashimotova tireoiditisa, ali u istraživačkom kontekstu mogu se promatrati i kao pokazatelji imunološke aktivnosti. U ovom uzorku upravo su autoantitijela, a ne TSH, fT3 ili fT4, dosljednije korelirala s katestatinom i AGE-ovima. To govori u prilog ideji da kardiovaskularni rizik u Hashimotovu tireoiditisu može imati imunometaboličku komponentu koja nije u potpunosti objašnjena hormonalnim statusom.

Ipak, treba biti vrlo oprezan. Korelacije su statistički značajne, ali većinom slabog do umjerenog intenziteta. To znači da autoantitijela, katestatin i AGE-ovi dijele dio zajedničke varijabilnosti, ali ne objašnjavaju međusobno većinu razlika među ispitanicima. Osim toga, povišeni hsCRP u Hashimotovoj skupini podržava prisutnost niskogradijentne upale, ali hsCRP nije specifičan marker i može odražavati brojne nespecifične upalne i metaboličke utjecaje. Stoga je najprimjerenije govoriti o povezanosti biomarkera s upalno-autoimunim fenotipom, a ne o jasnom patogenetskom lancu.

Povišeni LDL-kolesterol u Hashimotovoj skupini dodatno je relevantan, premda ukupni kolesterol i trigliceridi nisu značajno razlikovali skupine. Čak i blagi pomak LDL-kolesterola u nepovoljnom smjeru može biti važan ako se istodobno javlja upalni i oksidativni okoliš koji pogoduje endotelnom oštećenju. Ovaj nalaz ne znači da su sve pacijentice s Hashimotovim tireoiditisom visokorizične, ali podupire potrebu za sustavnijom procjenom tradicionalnih i netradicionalnih čimbenika rizika.

Mediteranska prehrana jedan je od najbolje istraženih prehrambenih obrazaca u prevenciji kardiometaboličkih bolesti. Njezini učinci povezuju se s većim unosom povrća, voća,

mahunarki, cjelovitih žitarica, ribe, orašastih plodova i maslinova ulja, uz niži unos crvenog i procesiranog mesa te rafiniranih ugljikohidrata (135). Velika randomizirana istraživanja pokazala su da mediteranska prehrana može smanjiti rizik velikih kardiovaskularnih događaja u primarnoj prevenciji (160) i poboljšati ishode u sekundarnoj prevenciji koronarne bolesti (161). Mehanistički, njezini učinci uključuju poboljšanje lipidnog profila, smanjenje oksidativnog stresa, povoljan utjecaj na inzulinsku osjetljivost, modulaciju crijevne mikrobiote i smanjenje upalnih biljega (137,138).

U ovom istraživanju MDSS rezultat nije se značajno razlikovao između Hashimotove i kontrolne skupine. To je važan nalaz izostanka razlike i treba ga jasno istaknuti. Nije opravdano tvrditi da su pacijentice s Hashimotovim tireoiditisom imale lošiju adherenciju mediteranskoj prehrani, niti da je mediteranska prehrana u ovom uzorku objasnila razlike u katestatinu i AGE-ovima. Jednako tako, ovaj rezultat ne dokazuje da prehrana nema ulogu u Hashimotovu tireoiditisu. Vjerojatnije je da u mediteranskoj populaciji obje skupine imaju sličan prehrambeni obrazac ili da MDSS nije dovoljno osjetljiv za detekciju razlika koje su relevantne za autoimunost, oksidativni stres i AGE-ove.

MDSS je razvijen kao instrument za procjenu adherencije mediteranskoj prehrani prema preporučenoj učestalosti konzumacije pojedinih skupina namirnica (252), a hrvatska verzija 14-čestičnog MDSS upitnika pokazala je prihvatljivu valjanost i pouzdanost (253). Međutim, MDSS ne mjeri izravno ukupni energetske unos, unos joda, selena, vitamina D, glutena, prehrambenih AGE-ova, stupanj procesiranosti hrane ni način termičke obrade. Upravo su te komponente potencijalno važne u Hashimotovu tireoiditisu i glikooksidativnom opterećenju. Stoga negativan rezultat MDSS-a ne isključuje prehrambeni utjecaj, nego ukazuje na potrebu za detaljnijom nutritivnom procjenom.

Novi podaci dodatno podupiru razborit, ali ne preuveličan pristup prehrani u Hashimotovu tireoiditisu. Pilot istraživanje iz 2025. godine pokazalo je da mediteranski prehrambeni obrazac može povoljno djelovati na markere oksidativnog stresa u osoba s Hashimotovim tireoiditisom, dok bezglutenska prehrana nije dosljedno poboljšala markere oksidativnog stresa, funkciju štitnjače ili autoimunost (155). Pregledi literature o nutritivnim čimbenicima u Hashimotovu tireoiditisu naglašavaju važnost individualnog statusa joda, selena, željeza, cinka i vitamina D, ali dokazi nisu dovoljno jednoznačni da bi podržali univerzalnu suplementaciju ili restriktivne dijetete za sve bolesnike (98,157). Za selen postoje

meta-analitički podaci o mogućem smanjenju autoantitijela, ali klinička relevantnost i dugoročni ishodi ostaju predmet rasprave (156). Za bezglutensku prehranu u osoba bez celijakije dokazi su još heterogeni, pa je ne treba rutinski preporučivati kao obvezan terapijski pristup (158).

U Hashimotovoj skupini MDSS je bio negativno povezan s očnim simptomima i emocionalnom labilnošću. Taj nalaz je zanimljiv i biološki moguć jer kvalitetniji prehrambeni obrazac može biti povezan s nižom upalom, boljom regulacijom raspoloženja i općenito povoljnijim životnim stilom. Međutim, korelacije su slabe i dolaze iz višestrukih usporedbi, pa ih treba tumačiti kao eksploratorne. Ovaj nalaz ne dokazuje terapijski učinak mediteranske prehrane na psihološke ili očne simptome, ali može poslužiti kao osnova za buduća intervencijska istraživanja.

Rezultati ThyPRO upitnika pokazuju da pacijentice s Hashimotovim tireoiditisom najviše opterećenje prijavljuju u domenama umora i manjka energije te emocionalne labilnosti, a relativno više vrijednosti zabilježene su i za hipotireoidne simptome i depresivnost. To je u skladu s literaturom koja pokazuje da benigne bolesti štitnjače mogu znatno narušiti kvalitetu života i da su umor, emocionalna osjetljivost, kognitivne poteškoće i psihološki simptomi među najvažnijim tegobama iz perspektive bolesnika (254).

U bolesnika s autoimunom hipotireozom kvaliteta života može biti narušena prije liječenja, pri čemu je umor jedan od najizraženijih simptoma, a poboljšanje nakon uvođenja levotiroksina često nije potpuno (255). Sustavni pregled o perzistirajućim simptomima u Hashimotovoj bolesti pokazao je da se kod dijela biokemijski eutiroidnih bolesnika i dalje mogu javljati tegobe i niža kvaliteta života, što upućuje na mogućnost da sama autoimunost, upala, komorbiditeti ili psihološki čimbenici pridonose simptomima neovisno o hormonima štitnjače (256). U tom kontekstu, rezultati ovog istraživanja imaju dodatnu vrijednost jer povezuju subjektivne ishode s biomarkerom koji bi mogao odražavati vaskularno-upalno opterećenje.

Skupina s višim koncentracijama katestatina imala je značajno veće narušenje svakodnevnog funkcioniranja. Ovaj rezultat ne treba interpretirati kao dokaz da katestatin uzrokuje funkcionalno ograničenje. Vjerojatnije je da viši katestatin označava skupinu bolesnica s većim ukupnim biološkim opterećenjem, u kojoj se kombiniraju autoimuna aktivnost, upala, oksidativni stres i subjektivni simptomi. Razlika u kognitivnim smetnjama bila

je blizu statističke značajnosti, što je zanimljivo, ali nije dovoljno za čvrst zaključak. Za ostale ThyPRO domene nisu pronađene značajne razlike prema vrijednosti katestatina, pa se ne može govoriti o širokoj i konzistentnoj povezanosti katestatina sa svim aspektima kvalitete života.

U metodološkom smislu, uporaba ThyPRO upitnika predstavlja snagu istraživanja jer se radi o instrumentu specifičnom za bolesti štitnjače, razvijenom upravo za obuhvat simptoma i funkcionalnih posljedica koje opći upitnici često nedovoljno detektiraju (257,258). Istodobno, subjektivni ishodi su pod utjecajem brojnih čimbenika, uključujući očekivanja bolesnika, psihološko stanje, kvalitetu sna, stres, tjelesnu aktivnost i komorbiditete. Zbog toga ih treba interpretirati zajedno s biokemijskim i kliničkim nalazima, a ne kao izolirani dokaz aktivnosti bolesti.

Rezultati ovog istraživanja imaju nekoliko praktičnih implikacija. Prvo, kod pacijentica s novodijagnosticiranim Hashimotovim tireoiditisom razumno je procjenjivati kardiometabolički profil šire od samog TSH-a i fT4. To uključuje lipidni status, krvni tlak, glukozu, tjelesnu masu, opseg struka, pušenje, obiteljsku anamnezu i životne navike. Takav pristup je u skladu sa suvremenim preventivnim smjernicama koje naglašavaju procjenu ukupnog kardiovaskularnog rizika, a ne izolirano promatranje pojedinačnih parametara (113).

Drugo, povišeni katestatin i AGE-ovi ne mogu se još preporučiti kao rutinski klinički biomarkeri u obradi Hashimotova tireoiditisa. Za takvu primjenu potrebni su referentni rasponi, standardizirane metode mjerenja, longitudinalni podaci i dokaz da dodaju prognostičku vrijednost postojećim modelima rizika. Trenutačno ih je bolje promatrati kao istraživačke pokazatelje koji mogu pomoći u razumijevanju ranih vaskularnih promjena u autoimunim bolestima štitnjače.

Treće, nalazi podupiru oprezan, ali proaktivan pristup prevenciji. Ako Hashimotov tireoiditis prati niskogradijentna upala i glikooksidativno opterećenje, tada su kontrola LDL-kolesterola, održavanje primjerene tjelesne mase, redovita tjelesna aktivnost, prestanak pušenja, regulacija sna i prehrana s antiinflamatornim potencijalom racionalne mjere. Mediteranska prehrana ostaje opravdana preporuka zbog snažnih dokaza o kardiovaskularnoj koristi, iako ovo istraživanje nije pokazalo razliku u MDSS rezultatu između skupina (135,137,138,160,161)

Četvrto, subjektivne tegobe ne treba podcijeniti. Umor, emocionalna labilnost i narušeno svakodnevno funkcioniranje mogu biti prisutni i u bolesnica kod kojih laboratorijske razlike nisu dramatične. Klinička skrb zato treba uključivati razgovor o simptomima, kvaliteti života, psihološkom opterećenju i očekivanjima od liječenja. Ovo je važno jer se dio bolesnica može osjećati nedovoljno prepoznato ako se terapijska odluka temelji isključivo na TSH-u.

Konačno, rezultate treba interpretirati u kontekstu suvremenog razumijevanja ateroskleroze kao kroničnog upalnog procesa, a ne samo bolesti lipida (114). U tom okviru Hashimotov tireoiditis može predstavljati stanje u kojem se blaga hormonalna promjena, autoimuna aktivacija, oksidativni stres i klasični čimbenici rizika međusobno preklapaju. To ne znači da svaka bolesnica s Hashimotovim tireoiditisom ima visok kardiovaskularni rizik, nego da se dio rizika može pojaviti ranije i suptilnije nego što se očekuje prema standardnim parametrima.

Glavna snaga istraživanja jest uključivanje jasno definirane populacije novodijagnosticiranih, terapijski neliječenih pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom. Time je smanjen utjecaj nadomjesne hormonske terapije na mjerene biomarkere. Dodatna snaga je usklađivanje kontrolne skupine prema dobi, spolu i indeksu tjelesne mase te isključenje važnih komorbiditeta kao što su arterijska hipertenzija, šećerna bolest, kronično bubrežno zatajenje, aktivna maligna bolest i druge autoimune bolesti. Na taj način smanjen je utjecaj najvažnijih čimbenika koji bi mogli samostalno povećati katestatin, AGE-ove ili kardiovaskularni rizik.

Druga snaga je istodobno mjerenje više razina ishoda: autoimunih i hormonskih parametara, upalnog biljega hsCRP-a, lipidnog profila, katestatina, neinvazivne procjene AGE-ova, prehrambene adherencije i kvalitete života specifične za bolest štitnjače. Takav pristup omogućuje širu interpretaciju Hashimotova tireoiditisa kao imunometaboličkog i kliničkog stanja, a ne samo izoliranog poremećaja funkcije štitnjače.

Glavno ograničenje istraživanja proizlazi iz presječnog dizajna, zbog čega nije moguće utvrditi prethodi li porast katestatina i AGE-ova razvoju vaskularnog rizika, nastaje li kao posljedica autoimune bolesti ili predstavlja kompenzacijski odgovor. Dodatno, uključivanje samo žena u dobi od 18 do 60 godina iz jednog kliničkog centra smanjuje heterogenost uzorka, ali ograničava primjenjivost rezultata na muškarce, starije bolesnike i populacije s većim komorbiditetnim opterećenjem. Budući da istraživanje nije uključilo izravne funkcionalne ili

slikovne pokazatelje endotelne disfunkcije i ateroskleroze, povišene vrijednosti katestatina i AGE-ova treba tumačiti kao pokazatelje potencijalnog vaskularnog rizika, a ne kao dokaz klinički manifestne vaskularne bolesti.

Buduća istraživanja trebala bi biti longitudinalna te pratiti promjene katestatina, AGE-ova, hsCRP-a, autoantitijela i hormona štitnjače prije i nakon uvođenja levotiroksina, kako bi se procijenilo ovise li ovi biomarkeri o normalizaciji tireoidne funkcije ili odražavaju trajniju autoimunu i vaskularnu aktivaciju. Posebnu vrijednost imala bi kombinacija *AGE Readera* s izravnim pokazateljima vaskularne funkcije i strukture, poput FMD-a, karotidnog ultrazvuka, arterijske krutosti ili koronarnog kalcijskog skora. Uz to, buduće studije trebale bi detaljnije analizirati prehrambeni unos, osobito prehrambene AGE-ove i način pripreme hrane, te uključiti širu populaciju bolesnika, uključujući muškarce, starije osobe i bolesnike s različitim stupnjevima poremećaja funkcije štitnjače.

Zaključno, rezultati ovoga istraživanja podupiru koncept prema kojem Hashimotov tireoiditis može biti povezan s ranim promjenama u biomarkerima endotelne funkcije, glikooksidativnog opterećenja i kardiovaskularnog rizika. Povišeni katestatin i AGE-ovi, njihova međusobna povezanost te korelacije s tireoidnim autoantitijelima i hsCRP-om upućuju na postojanje imunometaboličkog fenotipa koji zaslužuje daljnje istraživanje. Ipak, zbog presječnog ustroja i korištenja surogatnih biomarkera, rezultati ne dokazuju kauzalnost ni kliničku prognozu. Njihova najveća vrijednost je u tome što otvaraju prostor za precizniju procjenu kardiovaskularnog rizika i kvalitete života u pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom, uz jasno upozorenje da se zaključci moraju potvrditi u većim, longitudinalnim i intervencijskim istraživanjima.

6. ZAKLJUČCI

1. U pacijentica s novodijagnosticiranim i terapijski neliječenim Hashimotovim tireoiditisom utvrđene su značajno više serumske koncentracije katestatina i više vrijednosti tkivnih AGE-ova nego u dobno i antropometrijski usklađenih zdravih ispitanica.
2. Budući da su skupine bile usporedive prema antropometrijskim pokazateljima, arterijskom tlaku i pušenju, povišeni katestatin i AGE-ovi upućuju na moguće rano vaskularno, oksidativno i upalno opterećenje povezano s Hashimotovim tireoiditisom.
3. Bolesnice s Hashimotovim tireoiditisom imale su više vrijednosti hsCRP-a i LDL-kolesterola te izraženiju tireoidnu autoimunost, a povezanosti katestatina i AGE-ova s autoantitijelima podupiru ulogu niskogradijentne upale i autoimunosti.
4. Pozitivna povezanost između katestatina i AGE-ova u ukupnoj populaciji i u Hashimotovoj skupini upućuje na njihovu moguću zajedničku povezanost s endotelnom disfunkcijom i kardiovaskularnim rizikom.
5. Kategorije kardiovaskularnog rizika prema *AGE Readeru* bile su nepovoljnije u Hashimotovoj skupini, a ispitanice s višim rizikom imale su više vrijednosti katestatina.
6. Adherencija mediteranskoj prehrani, procijenjena MDSS upitnikom, nije se značajno razlikovala između skupina, dok se slabe povezanosti MDSS-a s pojedinim simptomima trebaju tumačiti eksploratorno.
7. ThyPRO upitnik pokazao je da su umor, manjak energije, emocionalna labilnost, hipotireoidni simptomi i depresivnost najizraženije tegobe, a viši katestatin bio je povezan s narušenim svakodnevnim funkcioniranjem.
8. Zbog presječnog, monocentričnog ustroja i uključivanja samo žena potrebna su longitudinalna i intervencijska istraživanja radi procjene promjena biomarkera nakon liječenja, učinka prehrane i prognostičke vrijednosti ovih nalaza. Time bi se bolje odredila klinička relevantnost katestatina i AGE-ova u procjeni ranog kardiovaskularnog rizika kod ove skupine bolesnica u praksi.

7. LITERATURA

1. Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev.* 2014;94:355-82.
2. Cook HJ. Thomas Wharton's Adenographia, first published in London in 1656. *Med Hist.* 1998;42:411-2.
3. Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Role of thyroid hormone during early brain development. *Eur J Endocrinol.* 2004;151 Suppl 3:U25-37.
4. Obregon MJ, Calvo RM, Escobar Del Rey F, Morreale de Escobar G. Ontogenesis of thyroid function and interactions with maternal function. *Endocr Dev.* 2007;10:86-98.
5. Nilsson M, Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development.* 2017;144:2123-40.
6. Moog NK, Entringer S, Heim C, Wadhwa PD, Kathmann N, Buss C. Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development. *Neuroscience.* 2017;342:68-100.
7. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ i sur. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;50:149-55.
8. Loubière LS, Vasilopoulou E, Bulmer JN, Taylor PM, Stieger B, Verrey F i sur. Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. *Placenta.* 2010;31:295-304.
9. Adu-Gyamfi EA, Wang YX, Ding YB. The interplay between thyroid hormones and the placenta: a comprehensive review. *Biol Reprod.* 2020;102:8-17.
10. Colin IM, Deneff JF, Lengelé B, Many MC, Gérard AC. Recent insights into the cell biology of thyroid angiofollicular units. *Endocr Rev.* 2013;34:209-38.
11. Toda S, Aoki S, Uchihashi K. Culture models for studying thyroid biology and disorders. *ISRN Endocrinol.* 2011;2011:275782.
12. Peeters RP, Visser TJ. Metabolism of thyroid hormone. U: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E i sur., urednici. *Endotext [Internet].* South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. [citirano 15 siječanja 2026]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25905401/>
13. Chambard M, Verrier B, Gabrion J, Mauchamp J. Polarization of thyroid cells in culture: evidence for the basolateral localization of the iodide 'pump' and of the thyroid-stimulating hormone receptor-adenyl cyclase complex. *J Cell Biol.* 1983;96:1172-7.

14. Mendoza A, Hollenberg AN. New insights into thyroid hormone action. *Pharmacol Ther.* 2017;173:135-45.
15. Singh R. Surgical anatomy of thyroid gland - a comprehensive review. *Medicine.* 2020;9:10-4.
16. Bhargav PRK. Salient anatomical landmarks of thyroid and their practical significance in thyroid surgery: a pictorial review of thyroid surgical anatomy (revisited). *Indian J Surg.* 2014;76:207-11.
17. Henry BM, Sanna B, Vikse J, Graves MJ, Spulber A, Witkowski C i sur. Zuckerkandl's tubercle and its relationship to the recurrent laryngeal nerve: a cadaveric dissection and meta-analysis. *Auris Nasus Larynx.* 2017;44:639-47.
18. Noussios G, Chatzis I, Konstantinidis S, Filo E, Spyrou A, Karavasilis G i sur. The anatomical relationship of inferior thyroid artery and recurrent laryngeal nerve: a review of the literature and its clinical importance. *J Clin Med Res.* 2020;12:640-6.
19. Nagasaki T, Inaba M, Kumeda Y, Fujiwara-Ueda M, Hiura Y, Nishizawa Y. Significance of thyroid blood flow as a predictor of methimazole sensitivity in untreated hyperthyroid patients with Graves' disease. *Biomed Pharmacother.* 2007;61:472-6.
20. Chason HM, Downs BW. Anatomy, head and neck, thyroid. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. [citirano 18 siječanja 2026]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470452/>
21. Bazika-Gerasch B, Kumowski N, Enax-Krumova E, Kaisler M, Eitner LB, Maier C i sur. Impaired autonomic function and somatosensory disturbance in patients with treated autoimmune thyroiditis. *Sci Rep.* 2024;14:12358.
22. Sheahan P, Murphy MS. Thyroid tubercle of Zuckerkandl: importance in thyroid surgery. *Laryngoscope.* 2011;121:2335.
23. Ortega-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Compr Physiol.* 2016;6:1387-428.
24. Jing L, Zhang Q. Intrathyroidal feedforward and feedback network regulating thyroid hormone synthesis and secretion. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:992883.
25. Feldt-Rasmussen U, Effraimidis G, Klose M. The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT)-axis and its role in physiology and pathophysiology of other hypothalamus-pituitary functions. *Mol Cell Endocrinol.* 2021;525:111173.

26. Shahid MA, Ashraf MA, Sharma S. Physiology, thyroid hormone. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. [citirano 22 siječanja 2026]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>
27. Citterio CE, Targovnik HM, Arvan P. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15:323-38.
28. Coscia F, Taler-Verčič A, Chang VT, Sinn L, O'Reilly FJ, Izore T i sur. The structure of human thyroglobulin. *Nature*. 2020;578:627-30.
29. Carvalho DP, Dupuy C. Thyroid hormone biosynthesis and release. *Mol Cell Endocrinol*. 2017;458:6-15.
30. Sorrenti S, Baldini E, Pironi D, Lauro A, D'Orazi V, Tartaglia F i sur. Iodine: its role in thyroid hormone biosynthesis and beyond. *Nutrients*. 2021;13:4469.
31. Luongo C, Dentice M, Salvatore D. Deiodinases and their intricate role in thyroid hormone homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15:479-88.
32. Ravera S, Reyna-Neyra A, Ferrandino G, Amzel LM, Carrasco N. The sodium/iodide symporter (NIS): molecular physiology and preclinical and clinical applications. *Annu Rev Physiol*. 2017;79:261-89.
33. Takaba H, Takayanagi H. The mechanisms of T cell selection in the thymus. *Trends Immunol*. 2017;38:805-16.
34. Bogusławska J, Godlewska M, Gajda E, Piekiełko-Witkowska A. Cellular and molecular basis of thyroid autoimmunity. *Eur Thyroid J*. 2022;11:e210024.
35. Ferrari SM, Fallahi P, Antonelli A, Benvenga S. Environmental issues in thyroid diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:50.
36. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. *Lancet*. 2017;390:1550-62.
37. Mincer DL, Jialal I. Hashimoto thyroiditis. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. [citirano 25 siječanja 2026]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459262/>
38. Amaya-Amaya J, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. Autoimmunity: from bench to bedside. Bogota: El Rosario University Press; 2013.
39. Kahaly GJ. Management of Graves thyroidal and extrathyroidal disease: an update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105:3704-20.
40. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmun Rev*. 2015;14:174-80.

41. Hayter SM, Cook MC. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev.* 2012;11:754-65.
42. Hashimoto H. Zur Kenntniss der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir.* 1912;97:219-48.
43. Hiromatsu Y, Satoh H, Amino N. Hashimoto's thyroiditis: history and future outlook. *Hormones (Athens).* 2013;12:12-8.
44. Brix TH, Knudsen GPS, Kristiansen M, Kyvik KO, Ørstavik KH, Hegedüs L. High frequency of skewed X-chromosome inactivation in females with autoimmune thyroid disease: a possible explanation for the female predisposition to thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5949-53.
45. Simmonds MJ, Kavvoura FK, Brand OJ, Newby PR, Jackson LE, Hargreaves CE i sur. Skewed X chromosome inactivation and female preponderance in autoimmune thyroid disease: an association study and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:E127-31.
46. Concepción-Zavaleta MJ, Coronado-Arroyo JC, Quiroz-Aldave JE, Concepción-Urteaga LA, Paz-Ibarra J. Thyroid dysfunction and female infertility: a comprehensive review. *Diabetes Metab Syndr.* 2023;17:102876.
47. Greer LG, Casey BM, Halvorson LM, Spong CY, McIntire DD, Cunningham FG. Antithyroid antibodies and parity: further evidence for microchimerism in autoimmune thyroid disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;205:471.e1-4.
48. Jørgensen KT, Pedersen BV, Nielsen NM, Jacobsen S, Frisch M. Childbirths and risk of female predominant and other autoimmune diseases in a population-based Danish cohort. *J Autoimmun.* 2012;38:J81-7.
49. Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6:311-8.
50. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev.* 2014;13:391-7.
51. Li Y, Nishihara E, Hirokawa M, Taniguchi E, Miyauchi A, Kakudo K. Distinct clinical, serological, and sonographic characteristics of Hashimoto's thyroiditis based with and without IgG4-positive plasma cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1309-17.
52. Wasniewska M, Corrias A, Salerno M, Mussa A, Capalbo D, Messina MF i sur. Outcomes of children with hashitoxicosis. *Horm Res Paediatr.* 2012;77:36-40.

53. Nishimaki M. Clinical characteristics of frequently recurring painless thyroiditis: contributions of higher thyroid hormone levels, younger onset, male gender, presence of thyroid autoantibody and absence of goiter to repeated recurrence. *Endocr J.* 2009;56:391-7.
54. Ajjan RA, Weetman AP. The pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis: further developments in our understanding. *Horm Metab Res.* 2015;47:702-10.
55. Aghini Lombardi F, Fiore E, Tonacchera M, Antonangeli L, Rago T, Frigeri M i sur. The effect of voluntary iodine prophylaxis in a small rural community: the Pescopagano survey 15 years later. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:1031-9.
56. van Zuuren EJ, Albusta AY, Fedorowicz Z, Carter B, Pijl H. Selenium supplementation for Hashimoto's thyroiditis: summary of a Cochrane systematic review. *Eur Thyroid J.* 2014;3:25-31.
57. Torino F, Barnabei A, Paragliola RM, Baldelli R, Appetecchia M, Corsello SM. Thyroid dysfunction as an unintended side effect of anticancer drugs. *Thyroid.* 2013;23:1345-66.
58. Effraimidis G, Tijssen JGP, Wiersinga WM. No causal relationship between *Yersinia enterocolitica* infection and autoimmune thyroid disease: evidence from a prospective study. *Clin Exp Immunol.* 2011;165:38-43.
59. Goldner WS, Sandler DP, Yu F, Hoppin JA, Kamel F, LeVan TD. Pesticide use and thyroid disease among women in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol.* 2010;171:455-64.
60. de Freitas CU, Grimaldi Campos RA, Rodrigues Silva MA, Panachão MR, De Moraes JC, Waissmann W i sur. Can living in the surroundings of a petrochemical complex be a risk factor for autoimmune thyroid disease? *Environ Res.* 2010;110:112-7.
61. Godlewska M, Banga JP. Thyroid peroxidase as a dual active site enzyme: focus on biosynthesis, hormonogenesis and thyroid disorders of autoimmunity and cancer. *Biochimie.* 2019;160:34-45.
62. Bresson D, Rebuffat SA, Prandini JC, Guo J, Estienne V, Carayon P i sur. Localization of the immunodominant region on human thyroid peroxidase in autoimmune thyroid diseases: an update. *J Autoimmune Dis.* 2005;2:2.
63. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JI i sur. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract.* 2012;18:988-1028.

64. Kaczur V, Vereb G, Molnar I, Krajczar G, Kiss E, Farid NR i sur. Effect of anti-thyroid peroxidase (TPO) antibodies on TPO activity measured by chemiluminescence assay. *Clin Chem*. 1997;43:1392-6.
65. Ząbczyńska M, Polak K, Kozłowska K, Sokołowski G, Pocheć E. The contribution of IgG glycosylation to antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and complement-dependent cytotoxicity (CDC) in Hashimoto's thyroiditis: an in vitro model of thyroid autoimmunity. *Biomolecules*. 2020;10:171.
66. Weetman AP, Freeman M, Morgan BP. Thyroid follicular cell function after non-lethal complement membrane attack. *Clin Exp Immunol*. 2008;82:69-74.
67. Walsh JP, Bremner AP, Feddema P, Leedman PJ, Brown SJ, O'Leary P. Thyrotropin and thyroid antibodies as predictors of hypothyroidism: a 13-year, longitudinal study of a community-based cohort using current immunoassay techniques. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:1095-104.
68. Pandit AA, Vijay Warde M, Menon PS. Correlation of number of intrathyroid lymphocytes with antimicrosomal antibody titer in Hashimoto's thyroiditis. *Diagn Cytopathol*. 2003;28:63-5.
69. Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, Ruf J. Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinology*. 2003;144:5422-9.
70. Wang H, Zhang T. The relationship between thyroid peroxidase antibody and differentiated thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024;15:1349041.
71. Di Jeso B, Arvan P. Thyroglobulin from molecular and cellular biology to clinical endocrinology. *Endocr Rev*. 2016;37:2-36.
72. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? *J Immunol Res*. 2015;2015:979167.
73. Rasooly L, Rose NR, Saboori AM, Ladenson PW, Burek CL. Iodine is essential for human T cell recognition of human thyroglobulin. *Autoimmunity*. 1998;27:213-9.
74. Eleftheriadou AM, Mehl S, Renko K. Re-visiting autoimmunity to sodium-iodide symporter and pendrin in thyroid disease. *Eur J Endocrinol*. 2020;183:571-80.
75. Rees Smith B, Núñez Miguel R, Sanders J. The thyrotropin receptor structure and interactions with autoantibodies. *Eur Thyroid J*. 2025;14:e250261.

76. Zhang Y, Tan Y, Zhang Z, Cheng X, Duan J, Li Y. Targeting thyroid-stimulating hormone receptor: a perspective on small-molecule modulators and their therapeutic potential. *J Med Chem*. 2024;67:16018-34.
77. Skov J, Calissendorff J, Eriksson D, Magnusson P, Kämpe O, Bensing S i sur. Limited genetic overlap between overt Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease in twins: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106:e1101-10.
78. Ragusa F, Fallahi P, Elia G, Gonnella D, Paparo SR, Giusti C i sur. Hashimoto's thyroiditis: epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33:101367.
79. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM i sur. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14:301-16.
80. Razvi S, Jabbar A, Pingitore A, Danzi S, Biondi B, Klein I i sur. Thyroid hormones and cardiovascular function and diseases. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:1781-96.
81. Moffatt DC, Tucker J, Goldenberg D. Management of compression symptoms of thyroid goiters: hemithyroidectomy is equally as successful as total thyroidectomy. *Am J Otolaryngol*. 2023;44:103676.
82. Das KC, Mukherjee M, Sarkar TK, Dash RJ, Rastogi GK. Erythropoiesis and erythropoietin in hypo- and hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1975;40:211-20.
83. Jameson JL, Weetman AP. Disorders of the thyroid gland. U: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, urednici. *Harrison's principles of internal medicine*. 21. izdanje. New York: McGraw Hill; 2022. str. 2714-36.
84. Melmed S, Auchus RJ, Goldfine AB, Koenig RJ, Rosen CJ. *Williams textbook of endocrinology*. 14. izdanje. Philadelphia: Elsevier; 2020. str. 342-81.
85. Gardner DG, Shoback DM. *Greenspan's basic & clinical endocrinology*. 10. izdanje. New York: McGraw-Hill Education; 2018. str. 201-4.
86. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C i sur. 2017 guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum. *Thyroid*. 2017;27:315-89.
87. Matsuda Y, Kainaga M, Maeda M, Kitao H, Tokushige S, Uchibori A i sur. An anti-NH(2) terminal of α -enolase antibody-positive Hashimoto's encephalopathy with bilateral basal ganglia lesions: a case report and literature review. *Intern Med*. 2026;65:485-9.

88. Kaur J, Jialal I. Hashimoto thyroiditis. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. [citirano 18 veljače 2026]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459262/>
89. Matz OC, Gustafson HC, Figueroa J. Anatomy-based approach to the thyroid examination. *J Osteopath Med*. 2023;123:269-72.
90. Carlé A, Laurberg P, Knudsen N, Perrild H. Thyroid peroxidase and thyroglobulin auto-antibodies in patients with newly diagnosed overt hypothyroidism. *Autoimmunity*. 2006;39:497-503.
91. Rose NR. Prediction and prevention of autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1109:117-28.
92. Chen CR, Hamidi S, Braley-Mullen H. Antibodies to thyroid peroxidase arise spontaneously with age in NOD.H-2h4 mice and appear after thyroglobulin antibodies. *Endocrinology*. 2010;151:4583-93.
93. Hutfless S, Matos P, Talor MV, Caturegli P, Rose NR. Significance of prediagnostic thyroid antibodies in women with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1466-71.
94. Hegedüs L. Thyroid ultrasound. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001;30:339-60, viii-ix.
95. Durante C, Hegedüs L, Czarniecka A, Paschke R, Russ G, Schmitt F i sur. 2023 European Thyroid Association clinical practice guidelines for thyroid nodule management. *Eur Thyroid J*. 2023;12:e230067.
96. Kandemirli SG, Bayramoglu Z, Caliskan E, Sari ZNA, Adaletli I. Quantitative assessment of thyroid gland elasticity with shear-wave elastography in pediatric patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Med Ultrason (2001)*. 2018;45:417-23.
97. Thuillier P, Benisvy D, Ansquer C, Corvilain B, Mirallié E, Taïeb D i sur. SFE-AFCE-SFMN 2022 consensus on the management of thyroid nodules: what is the role of functional imaging and isotopic treatment? *Ann Endocrinol (Paris)*. 2022;83:401-6.
98. Ihnatowicz P, Drywień M, Wątor P, Wojsiat J. The importance of nutritional factors and dietary management of Hashimoto's thyroiditis. *Ann Agric Environ Med*. 2020;27:184-93.
99. Wichman J, Winther KH, Bonnema SJ, Hegedüs L. Selenium supplementation significantly reduces thyroid autoantibody levels in patients with chronic autoimmune thyroiditis: a systematic review and meta-analysis. *Thyroid*. 2016;26:1681-92.

100. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, Burman KD, Cappola AR, Celi FS i sur. Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the American Thyroid Association Task Force on thyroid hormone replacement. *Thyroid*. 2014;24:1670-751.
101. Leng O, Razvi S. Hypothyroidism in the older population. *Thyroid Res*. 2019;12:2.
102. Watanabe T, Maruyama M, Ito T. Clinical features of a new disease concept, IgG4-related thyroiditis. *Scand J Rheumatol*. 2013;42:325-30.
103. De Almeida R, McCalmon S, Cabandugama PK. Clinical review and update on the management of thyroid storm. *Mo Med*. 2022;119:366-71.
104. Ruddiman K. Diffuse toxic goiter (Graves disease) guidelines [Internet]. Medscape; 2024. [citirano 24 veljače 2026]. Dostupno na: <https://emedicine.medscape.com/article/120140-guidelines>
105. Cappellani D, Urbani C, Manetti L, Martino E, Bartalena L, Bogazzi F. Effect of high-dose intravenous glucocorticoid therapy on serum thyroid hormone concentrations in type 2 amiodarone-induced thyrotoxicosis: an exploratory study. *J Endocrinol Invest*. 2020;43:1637-43.
106. Hoang TD, Olsen CH, Mai VQ, Clyde PW, Shakir MKM. Desiccated thyroid extract compared with levothyroxine in the treatment of hypothyroidism: a randomized, double-blind, crossover study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:1982-90.
107. Chandrasekhar SS, Randolph GW, Seidman MD, Rosenfeld RM, Angelos P, Barkmeier-Kraemer J i sur. Clinical practice guideline: improving voice outcomes after thyroid surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;148:S1-37.
108. Gan T, Randle RW. The role of surgery in autoimmune conditions of the thyroid. *Surg Clin North Am*. 2019;99:633-48.
109. Ferrari CC, Rausei S, Amico F, Boni L, Chiang FY, Wu CW i sur. Recurrent laryngeal nerve injury in thyroid surgery: clinical pathways and resources consumption. *Head Neck*. 2016;38:1657-65.
110. Sorrenti S, Calò PG. Updates in thyroid cancer surgery. *Cancers (Basel)*. 2023;15:3102.
111. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM i sur. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76:2982-3021.
112. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham heart study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383:999-1008.

113. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M i sur. 2021 ESC guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42:3227-337.
114. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*. 2021;592:524-33.
115. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F i sur. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;365:937-52.
116. Jha P, Peto R. Global effects of smoking, of quitting, and of taxing tobacco. *N Engl J Med*. 2014;370:60-8.
117. Lloyd-Jones DM, Allen NB, Anderson CAM, Black T, Brewer LC, Foraker RE i sur. Life's Essential 8: Updating and enhancing the American Heart Association's construct of cardiovascular health: a presidential advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2022;146:e18-43.
118. Khera A V, Emdin CA, Drake I, Natarajan P, Bick AG, Cook NR i sur. Genetic risk, adherence to a healthy lifestyle, and coronary disease. *N Engl J Med*. 2016;375:2349-58.
119. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, Anderson SG, Callender T, Emberson J i sur. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death. *Lancet*. 2016;387:957-67.
120. Bundy JD, Li C, Stuchlik P, Bu X, Kelly TN, Mills KT i sur. Systolic blood pressure reduction and risk of cardiovascular disease. *JAMA*. 2017;318:560-70.
121. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018;39:3021-104.
122. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E i sur. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2017;38:2459-72.
123. Silverman MG, Ference BA, Im K, Wiviott SD, Giugliano RP, Grundy SM i sur. Association between lowering LDL-c and cardiovascular risk. *JAMA*. 2016;316:1289-97.
124. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N i sur. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy. *Lancet*. 2010;376:1670-81.
125. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Sattar N, Eliasson B, Svensson AM i sur. Mortality and cardiovascular disease in type 1 and type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2017;376:1407-18.

126. Sarwar N, Gao P, Seshasai SRK, Gobin R, Kaptoge S, Di Angelantonio E i sur. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of vascular disease. *Lancet*. 2010;375:2215-22.
127. Zelniker TA, Wiviott SD, Raz I, Im K, Goodrich EL, Furtado RHM i sur. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Lancet*. 2019;393:31-9.
128. Gerstein HC, Colhoun HM, Dagenais GR, Diaz R, Lakshmanan M, Pais P i sur. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2019;380:2307-19.
129. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JFE, Nauck MA i sur. Liraglutide and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2016;375:311-22.
130. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S i sur. Empagliflozin and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2015;373:2117-28.
131. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C i sur. Antiinflammatory therapy with canakinumab. *N Engl J Med*. 2017;377:1119-31.
132. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis. *Circulation*. 2011;124:e19-23.
133. Pennells L, Kaptoge S, Wood A, Sweeting M, Zhao X, White I i sur. SCORE2 risk prediction algorithms. *Eur Heart J*. 2021;42:2439-54.
134. Blaha MJ, Cainzos-Achirica M, Greenland P, McEvoy JW, Blankstein R, Budoff MJ i sur. Role of coronary artery calcium in prevention. *Circulation*. 2022;146:157-72.
135. Martínez-González MA, Gea A, Ruiz-Canela M. The Mediterranean diet and cardiovascular health. *Circ Res*. 2019;124:779-98.
136. Covas MI, Nyyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJF, Kiesewetter H i sur. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;145:333-41.
137. Tosti V, Bertozzi B, Fontana L. Health benefits of the Mediterranean diet: metabolic and molecular mechanisms. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2018;73:318-26.
138. Schwingshackl L, Hoffmann G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24:929-39.
139. Machowetz A, Poulsen HE, Gruendel S, Weimann A, Fitó M, Marrugat J i sur. Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans. *FASEB J*. 2007;21:45-52.

140. Gorzynik-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, Kuban-Jankowska A, Marino Gammazza A, Knap N i sur. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *Int J Mol Sci.* 2018;19:686.
141. Serra G, Incani A, Serreli G, Porru L, Melis MP, Tuberoso CIG i sur. Olive oil polyphenols reduce oxysterols-induced redox imbalance and pro-inflammatory response in intestinal cells. *Redox Biol.* 2018;17:348-54.
142. Rudrapal M, Rakshit G, Singh RP, Garse S, Khan J, Chakraborty S. Dietary polyphenols: review on chemistry/sources, bioavailability/metabolism, antioxidant effects, and their role in disease management. *Antioxidants (Basel).* 2024;13:429.
143. Zafari R, Goudarzi N, Kamroo A, Tafti MF, Ghorbani A, Talebian N i sur. The effects of polyphenols on gut microbial metabolites and composition in neurodegenerative diseases: a systematic review. *Nutr Metab (Lond).* 2025;22:142.
144. Ishimoto H, Shibata M, Myojin Y, Ito H, Sugimoto Y, Tai A i sur. In vivo anti-inflammatory and antioxidant properties of ellagitannin metabolite urolithin A. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011;21:5901-4.
145. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:727-47.
146. Saini RK, Nile SH, Park SW. Carotenoids from fruits and vegetables: chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res Int.* 2015;76:735-50.
147. Kojo S. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2004;11:1041-64.
148. Scaglione S, Di Chiara T, Daidone M, Tuttolomondo A. Effects of the Mediterranean diet on the components of metabolic syndrome concerning the cardiometabolic risk. *Nutrients.* 2025;17:358.
149. Kielczykowska M, Kocot J, Paździor M, Musik I. Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27:245-55.
150. Ortner Hadžiabdić M, Vitali Čepo D, Rahelić D, Božikov V. The effect of the Mediterranean diet on serum total antioxidant capacity in obese patients: a randomized controlled trial. *J Am Coll Nutr.* 2016;35:224-35.
151. Pellegrini N, Vitaglione P, Granato D, Fogliano V. Twenty-five years of total antioxidant capacity measurement of foods and biological fluids: merits and limitations. *J Sci Food Agric.* 2020;100:5064-78.

152. Tehrani SD, Ahmadi AR, Sadeghi N, Keshani M. The effects of the mediterranean diet supplemented with olive oils on pro-inflammatory biomarkers and soluble adhesion molecules: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab (Lond)*. 2025;22:52.
153. Boumezough K, Alami M, Oubaouz J, Morvaridzadeh M, Zoubdane N, Khalil A i sur. Potential health benefits of olive oil polyphenols in metabolic disorders management. *PharmaNutrition*. 2025;31:100428.
154. Davis C, Bryan J, Hodgson J, Murphy K. Definition of the Mediterranean diet: a literature review. *Nutrients*. 2015;7:9139-53.
155. Laganà M, Piticchio T, Alibrandi A, Le Moli R, Pallotti F, Campennì A i sur. Effects of dietary habits on markers of oxidative stress in subjects with Hashimoto's thyroiditis: comparison between the Mediterranean diet and a gluten-free diet. *Nutrients*. 2025;17:363.
156. Huwiler VV, Maissen-Abgottspon S, Stanga Z, Mühlebach S, Trepp R, Bally L i sur. Selenium supplementation in patients with Hashimoto thyroiditis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Thyroid*. 2024;34:295-313.
157. Hu S, Rayman MP. Multiple nutritional factors and the risk of Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*. 2017;27:597-610.
158. Piticchio T, Frasca F, Malandrino P, Trimboli P, Carrubba N, Tumminia A i sur. Effect of gluten-free diet on autoimmune thyroiditis progression in patients with no symptoms or histology of celiac disease: a meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1200372.
159. Felker P, Bunch R, Leung AM. Concentrations of thiocyanate and goitrin in human plasma, their precursor concentrations in brassica vegetables, and associated potential risk for hypothyroidism. *Nutr Rev*. 2016;74:248-58.
160. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F i sur. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *N Engl J Med*. 2018;378:e34.
161. Delgado-Lista J, Torres-Peña JD, Alcalá-Díaz JF, Quintana-Navarro GM, Fuentes F, Garcia-Rios A i sur. Long-term secondary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet and a low-fat diet (CORDIOPREV): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2022;399:1876-85.

162. Zheng X, Zhang W, Wan X, Lv X, Lin P, Si S i sur. The effects of Mediterranean diet on cardiovascular risk factors, glycemic control and weight loss in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *BMC Nutr.* 2024;10:59.
163. Barbosa AR, Pais S, Marreiros A, Correia M. Impact of a Mediterranean-inspired diet on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial. *Nutrients.* 2024;16:2443.
164. Martínez-González MÁ, Fuente-Arrillaga CDL, Nunez-Cordoba JM, Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Vazquez Z i sur. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. *BMJ.* 2008;336:1348-51.
165. Visioli F, Poli A, Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *ChemInform.* 2010;22:65-75.
166. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L i sur. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2016;65:1812-21.
167. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Manly JJ, Schupf N, Luchsinger JA. Mediterranean diet and mild cognitive impairment. *Arch Neurol.* 2009;66:216-25.
168. Fu J, Tan LJ, Lee JE, Shin S. Association between the Mediterranean diet and cognitive health among healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Front Nutr.* 2022;9:946361.
169. Delgado-Lista J, Alcala-Diaz JF, Torres-Peña JD, Quintana-Navarro GM, Fuentes F, Garcia-Rios A i sur. Long-term secondary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet and a low-fat diet (CORDIOPREV): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2022;399:1876-85.
170. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EHC. Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. *Acta Physiol (Oxf).* 2017;219:22-96.
171. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115:1285-95.
172. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:III27-32.
173. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A i sur. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation.* 2001;104:191-6.
174. Gimbrone MA Jr, García-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118:620-36.

175. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P i sur. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*. 2012;126:753-67.
176. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:168-75.
177. Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science*. 1991;251:788-91.
178. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2004;291:1978-86.
179. Qiu S, Cai X, Liu J, Yang B, Zügel M, Steinacker JM i sur. Association between circulating cell adhesion molecules and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2019;287:147-54.
180. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33:829-37, 837a-837d.
181. Böhm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2007;76:8-18.
182. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med*. 2006;38:126-36.
183. Verma S, Yeh ETH. C-reactive protein and atherothrombosis--beyond a biomarker: an actual partaker of lesion formation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;285:R1253-6.
184. Abrashev H, Abrasheva D, Nikolov N, Ananiev J, Georgieva E. A systematic review of endothelial dysfunction in chronic venous disease-inflammation, oxidative stress, and shear stress. *Int J Mol Sci*. 2025;26:3660.
185. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that c-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 2002;106:1439-41.
186. Preda A, Tirandi A, Leo G, Di Vece D, Vilahur G, Bonaventura A i sur. IL-6 in the spotlight: from cardiovascular pathophysiology to therapy. *Eur J Clin Invest*. 2026;56:e70161.
187. Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*. 2006;4:1186-93.
188. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A i sur. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353:999-1007.

189. Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD i sur. MiR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell*. 2008;15:272-84.
190. Zerneck A, Bidzhekov K, Noels H, Shagdarsuren E, Gan L, Denecke B i sur. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Sci Signal*. 2009;2:ra81.
191. Schober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Bidzhekov K, Gremse F, Grommes J i sur. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1. *Nat Med*. 2014;20:368-76.
192. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Crit Care Clin*. 2020;36:307-21.
193. Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M i sur. Catestatin as a biomarker of cardiovascular diseases: a clinical perspective. *Biomedicines*. 2021;9:1757.
194. Zalewska E, Kmiec P, Sworczak K. Role of catestatin in the cardiovascular system and metabolic disorders. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:909480.
195. Wołowicz Ł, Rogowicz D, Banach J, Gilewski W, Sinkiewicz W, Grześk G. Catestatin as a new prognostic marker in stable patients with heart failure with reduced ejection fraction in two-year follow-up. *Dis Markers*. 2020;2020:8847211.
196. Xu W, Yu H, Li W, Gao W, Guo L, Wang G. Plasma catestatin: a useful biomarker for coronary collateral development with chronic myocardial ischemia. *PLoS One*. 2016;11:e0149062.
197. O'Connor DT, Kailasam MT, Kennedy BP, Ziegler MG, Yanaihara N, Parmer RJ. The catecholamine release-inhibitory 'catestatin' region of chromogranin A: early decline in humans at genetic risk of hypertension. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;971:533-5.
198. Rathee JS, Iyer DR, Kiranmayi M, Reddy S, Sureshabu VV, Mahapatra NR. The physiological anti-hypertensive peptide catestatin and its common human variant Gly364Ser: differential cardiovascular effects in a rat model of hypertension. *Biosci Rep*. 2024;44:BSR20241433.
199. Ying W, Mahata S, Bandyopadhyay GK, Zhou Z, Wollam J, Vu J i sur. Catestatin inhibits obesity-induced macrophage infiltration and inflammation in the liver and suppresses hepatic glucose production, leading to improved insulin sensitivity. *Diabetes*. 2018;67:841-8.

200. Chen Y, Wang X, Yang C, Su X, Yang W, Dai Y i sur. Decreased circulating catestatin levels are associated with coronary artery disease: The emerging anti-inflammatory role. *Atherosclerosis*. 2019;281:78-88.
201. Kojima M, Ozawa N, Mori Y. Catestatin prevents macrophage-driven atherosclerosis but not arterial injury-induced neointimal hyperplasia. *Thromb Haemost*. 2018;118:182-94.
202. Chen H, Liu D, Ge L, Wang T, Ma Z, Han Y i sur. Catestatin prevents endothelial inflammation and promotes thrombus resolution in acute pulmonary embolism in mice. *Biosci Rep*. 2019;39:BSR20192236.
203. Kumric M, Vrdoljak J, Dujic G, Supe-Domic D, Ticinovic Kurir T, Dujic Z i sur. Serum catestatin levels correlate with ambulatory blood pressure and indices of arterial stiffness in patients with primary hypertension. *Biomolecules*. 2022;12:1204.
204. Simunovic M, Supe-Domic D, Karin Z, Degoricija M, Paradzik M, Bozic J i sur. Serum catestatin concentrations are decreased in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2019;20:549-55.
205. Wang D, Liu T, Shi S, Li R, Shan Y, Huang Y i sur. Chronic administration of catestatin improves autonomic function and exerts cardioprotective effects in myocardial infarction rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2016;21:526-35.
206. Peng F, Chu S, Ding W, Liu L, Zhao J, Cui X i sur. The predictive value of plasma catestatin for all-cause and cardiac deaths in chronic heart failure patients. *Peptides*. 2016;86:112-7.
207. Kiranmayi M, Chirasani VR, Allu PKR, Subramanian L, Martelli EE, Sahu BS i sur. Catestatin Gly364Ser variant alters systemic blood pressure and the risk for hypertension in human populations via endothelial nitric oxide pathway. *Hypertension*. 2016;68:334-47.
208. Gallo MP, Femminò S, Antoniotti S, Querio G, Alloatti G, Levi R. Catestatin induces glucose uptake and GLUT4 trafficking in adult rat cardiomyocytes. *Biomed Res Int*. 2018;2018:2086109.
209. Luketin M, Mizdrak M, Boric-Skaro D, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M i sur. Plasma catestatin levels and advanced glycation end products in patients on hemodialysis. *Biomolecules*. 2021;11:456.
210. Muntjewerff EM, Dunkel G, Nicolassen MJT, Mahata SK, van den Bogaart G. Catestatin as a target for treatment of inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2018;9:2199.
211. Muntjewerff EM, Parv K, Mahata SK, van Riessen NK, Phillipson M, Christoffersson G i sur. The anti-inflammatory peptide catestatin blocks chemotaxis. *J Leukoc Biol*. 2022;112:273-8.

212. Twarda-Clapa A, Olczak A, Białkowska AM, Koziolkiewicz M. Advanced glycation end-products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs. *Cells*. 2022;11:1312.
213. Dozio E, Vettoretti S, Caldiroli L, Nerini-Molteni S, Tacchini L, Ambrogi F i sur. Advanced glycation end products (AGE) and soluble forms of AGE receptor: emerging role as mortality risk factors in CKD. *Biomedicines*. 2020;8:638.
214. Chen J, Radjabzadeh D, Medina-Gomez C, Voortman T, van Meurs JBJ, Ikram MA i sur. Advanced glycation end products (AGEs) in diet and skin in relation to stool microbiota: the Rotterdam study. *Nutrients*. 2023;15:2567.
215. Snelson M, Coughlan MT. Dietary advanced glycation end products: digestion, metabolism and modulation of gut microbial ecology. *Nutrients*. 2019;11:215.
216. Lee J, Yun JS, Ko SH. Advanced glycation end products and their effect on vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Nutrients*. 2022;14:3086.
217. Baye E, de Courten MP, Walker K, Ranasinha S, Earnest A, Forbes JM i sur. Effect of dietary advanced glycation end products on inflammation and cardiovascular risks in healthy overweight adults: a randomised crossover trial. *Sci Rep*. 2017;7:4123.
218. Tong YW, Ko JKY, Lam KSL, Tam S, Lee VCY, Ho PC i sur. Advanced glycation end-products and its soluble receptor are not independent predictors of incident dysglycaemia or metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome: a prospective observational study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023;21:41.
219. Chen Y, Meng Z, Li Y, Liu S, Hu P, Luo E. Advanced glycation end products and reactive oxygen species: uncovering the potential role of ferroptosis in diabetic complications. *Mol Med*. 2024;30:141.
220. Grahovac M, Kumric M, Vilovic M, Martinovic D, Kreso A, Ticinovic Kurir T i sur. Adherence to Mediterranean diet and advanced glycation endproducts in patients with diabetes. *World J Diabetes*. 2021;12:1942-56.
221. den Dekker MAM, Zwiers M, van den Heuvel ER, de Vos LC, Smit AJ, Zeebregts CJ i sur. Skin autofluorescence, a non-invasive marker for AGE accumulation, is associated with the degree of atherosclerosis. *PLoS One*. 2013;8:e83084.
222. Chen J, Arshi B, Waqas K, Lu T, Bos D, Ikram MA i sur. Advanced glycation end products measured by skin autofluorescence and subclinical cardiovascular disease: the Rotterdam study. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22:326.

223. Liu J, Pan S, Wang X, Liu Z, Zhang Y. Role of advanced glycation end products in diabetic vascular injury: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *Eur J Med Res.* 2023;28:553.
224. Chen Q, Liu L, Ke W, Li X, Xiao H, Li Y. Association between the soluble receptor for advanced glycation end products and diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord.* 2024;24:232.
225. Li ZH, Wang XY, Luo Q. The roles of advanced glycation end products in cardiovascular diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Front Cardiovasc Med.* 2025;12:1637252.
226. Rezaei M, Rabizadeh S, Mirahmad M, Hajmiri MS, Nakhjavani M, Hemmatabadi M i sur. The association between advanced glycation end products (AGEs) and ABC (hemoglobin A1C, blood pressure, and low-density lipoprotein cholesterol) control parameters among patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2022;14:122.
227. Clarke RE, Dordevic AL, Tan SM, Ryan L, Coughlan MT. Dietary advanced glycation end products and risk factors for chronic disease: a systematic review of randomised controlled trials. *Nutrients.* 2016;8:125.
228. Soto-Aguilera CA, Meneses-León J, Villaverde P, Hernández-López R, Salmerón J, Rivera-Paredes B i sur. Association between advanced glycation end products and estimated glomerular filtration rate: a cross-sectional analysis. *Diabetol Metab Syndr.* 2025;17:165.
229. Arshi B, Chen J, Ikram MA, Zillikens MC, Kavousi M. Advanced glycation end-products, cardiac function and heart failure in the general population: the Rotterdam study. *Diabetologia.* 2023;66:472-81.
230. Khan MI, Ashfaq F, Alsayegh AA, Hamouda A, Khatoon F, Altamimi TN i sur. Advanced glycation end product signaling and metabolic complications: dietary approach. *World J Diabetes.* 2023;14:995-1012.
231. Groenen AG, Halmos B, van Zeventer IA, Salzbrunn JB, Mayer ML, La Rose ND i sur. Skin autofluorescence, a measure for accumulation of advanced glycation end products, positively associates with blood neutrophil and monocyte counts in the general population, and particularly in men with prediabetes. *Atherosclerosis.* 2024;395:117609.
232. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Graaff R, Smit AJ. Dermal factors influencing measurement of skin autofluorescence. *Diabetes Technol Ther.* 2011;13:165-70.

233. McIntyre NJ, Chesterton LJ, John SG, Jefferies HJ, Burton JO, Taal MW i sur. Tissue-advanced glycation end product concentration in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:51-5.
234. Martínez-García I, Cavero-Redondo I, Pascual-Morena C, Otero-Luis I, Fenoll-Morante M, Lever-Megina CG i sur. Reference values of skin autofluorescence by age groups in healthy Spanish adults: results from the EVasCu study, a systematic review, and a meta-analysis. *J Clin Med.* 2025;14:474.
235. Boersma HE, van Waateringe RP, van der Klauw MM, Graaff R, Paterson AD, Smit AJ i sur. Skin autofluorescence predicts new cardiovascular disease and mortality in people with type 2 diabetes. *BMC Endocr Disord.* 2021;21:14.
236. Boersma HE, Smit AJ, Paterson AD, Wolffenbuttel BHR, van der Klauw MM. Skin autofluorescence and cause-specific mortality in a population-based cohort. *Sci Rep.* 2024;14:19967.
237. van Waateringe RP, Fokkens BT, Slagter SN, van der Klauw MM, van Vliet-Ostaptchouk J V, Graaff R i sur. Skin autofluorescence predicts incident type 2 diabetes, cardiovascular disease and mortality in the general population. *Diabetologia.* 2019;62:269-80.
238. Larroumet A, Foussard N, Majchrzak C, Monlun M, Blanco L, Mohammedi K i sur. Skin autofluorescence predicts mortality in type 1 diabetes. *Diabetes Metab.* 2022;48:101273.
239. Kim JJ, Jeong B, Cho Y, Kwon MH, Lee YH, Kang U i sur. The association between skin auto-fluorescence of palmoplantar sites and microvascular complications in Asian patients with type 2 diabetes mellitus. *Sci Rep.* 2018;8:6309.
240. Majchrzak C, Cougnard-Gregoire A, Le-Goff M, Féart C, Delcourt C, Reydit M i sur. Skin autofluorescence of advanced glycation end-products and mortality in older adults: the roles of chronic kidney disease and diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2022;32:2526-33.
241. Boersma HE, van der Klauw MM, Smit AJ, Wolffenbuttel BHR. A non-invasive risk score including skin autofluorescence predicts diabetes risk in the general population. *Sci Rep.* 2022;12:21794.
242. Kellow NJ, Coughlan MT, Reid CM. Association between habitual dietary and lifestyle behaviours and skin autofluorescence (SAF), a marker of tissue accumulation of advanced glycation endproducts (AGEs), in healthy adults. *Eur J Nutr.* 2018;57:2209-16.

243. Punda P, Kumric M, Baric Zizic A, Sladic S, Vuletic M, Supe Domic D i sur. Catestatin and advanced glycation end-products: potential indicators of cardiovascular risk in Hashimoto's thyroiditis. *Biomolecules*. 2025;15:169.
244. Weetman AP. An update on the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 2021;44:883-90.
245. Sara JD, Zhang M, Gharib H, Lerman LO, Lerman A. Hypothyroidism is associated with coronary endothelial dysfunction in women. *J Am Heart Assoc*. 2015;4:e002225.
246. Niknam N, Khalili N, Khosravi E, Nourbakhsh M. Endothelial dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism and the effects of treatment with levothyroxine. *Adv Biomed Res*. 2016;5:38.
247. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, Dardano A, Versari D, Ghiadoni L i sur. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:5076-82.
248. Hu Y, Yao Z, Wang G. Correction: the relationship between the impairment of endothelial function and thyroid antibodies in Hashimoto's thyroiditis patients with euthyroidism. *Horm Metab Res*. 2020;52:e3.
249. Bano A, Chaker L, Mattace-Raso FUS, Van Der Lugt A, Ikram MA, Franco OH i sur. Thyroid function and the risk of atherosclerotic cardiovascular morbidity and mortality: the Rotterdam study. *Circ Res*. 2017;121:1392-400.
250. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A i sur. Oxidative stress and advanced glycation end products in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*. 2016;26:504-11.
251. Atzeni IM, Van De Zande SC, Westra J, Zwerver J, Smit AJ, Mulder DJ. The AGE Reader: a non-invasive method to assess long-term tissue damage. *Methods*. 2022;203:533-41.
252. Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Rivas A, Lorenzo-Tovar ML, Tur JA, Olea-Serrano F. Proposal of a Mediterranean diet serving score. *PLoS One*. 2015;10:e0128594.
253. Marendić M, Polić N, Matek H, Oršulić L, Polašek O, Kolčić I. Mediterranean diet assessment challenges: validation of the Croatian version of the 14-item Mediterranean diet serving score (MDSS) questionnaire. *PLoS One*. 2021;16:e0247269.
254. Watt T, Groenvold M, Rasmussen ÅK, Bonnema SJ, Hegedüs L, Bjorner JB i sur. Quality of life in patients with benign thyroid disorders. A review. *Eur J Endocrinol*. 2006;154:501-10.

255. Winther KH, Cramon P, Watt T, Bjorner JB, Ekholm O, Feldt-Rasmussen U i sur. Disease-specific as well as generic quality of life is widely impacted in autoimmune hypothyroidism and improves during the first six months of levothyroxine therapy. *PLoS One*. 2016;11:e0156925.
256. Groenewegen KL, Mooij CF, Van Trotsenburg ASP. Persisting symptoms in patients with Hashimoto's disease despite normal thyroid hormone levels: does thyroid autoimmunity play a role? A systematic review. *J Transl Autoimmun*. 2021;4:100101.
257. Uslar V, Becker C, Weyhe D, Tabriz N. Thyroid disease-specific quality of life questionnaires - a systematic review. *Endocrinol Diabetes Metab*. 2022;5:e357.
258. Watt T, Cramon P, Hegedüs L, Bjorner JB, Bonnema SJ, Rasmussen ÅK i sur. The thyroid-related quality of life measure ThyPRO has good responsiveness and ability to detect relevant treatment effects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:3708-17.

8. SAŽETAK

Naslov rada: Procjena kardiovaskularnog rizika i adherencije mediteranskoj prehrani u pacijentica s Hashimotovim tireoiditisom

Ciljevi: Cilj istraživanja bio je usporediti serumske koncentracije katestatina i tkivne vrijednosti krajnjih produkata uznapredovale glikacije (AGE-ova) između pacijentica s novodijagnosticiranim, terapijski neliječenim Hashimotovim tireoiditisom i zdravih kontrolnih ispitanica. Dodatni su ciljevi bili procijeniti pridržavanje mediteranskom prehrambenom obrascu, analizirati lipidni profil i vrijednosti hsCRP-a te ispitati kvalitetu života povezanu s bolešću štitnjače.

Materijali i metode: A single-centre cross-sectional study was conducted and included 100 female patients with Hashimoto's thyroiditis and 100 healthy control participants matched for age, sex, and body mass index. Serum catestatin concentrations were measured using an ELISA assay, whereas tissue AGE levels were assessed non-invasively using the *AGE Reader*. Anthropometric, clinical, and laboratory data were collected; Mediterranean diet adherence was assessed using the MDSS questionnaire in both groups, while thyroid-related quality of life was assessed using the ThyPRO questionnaire in the Hashimoto group.

Rezultati: The groups did not differ according to age, BMI, blood pressure, or smoking status. Patients with Hashimoto's thyroiditis had higher TSH, anti-TG, anti-TPO, hsCRP, and LDL-cholesterol values and lower fT4 values. Catestatin was higher in the Hashimoto group than in the control group (10.2 (6.5–15.8) vs. 6.4 (4.1–9.3) ng/mL; $P < 0.001$), as were AGEs (2.21 ± 0.55 vs. 1.89 ± 0.56 ; $P < 0.001$). Catestatin and AGEs were positively correlated in the total population (Spearman's $\rho = 0.489$; $P < 0.001$) and in the Hashimoto group (Spearman's $\rho = 0.457$; $P < 0.001$). The MDSS score did not differ between groups ($P = 0.908$), while the highest ThyPRO scores were observed for fatigue, lack of energy, and emotional lability.

Zaključci: U pacijentica s novodijagnosticiranim i terapijski neliječenim Hashimotovim tireoiditisom utvrđene su više vrijednosti katestatina i AGE-ova, uz njihovu pozitivnu međusobnu povezanost, što upućuje na moguće rano vaskularno, oksidativno i upalno opterećenje. Adherencija mediteranskoj prehrani, procijenjena MDSS upitnikom, nije se razlikovala između skupina. Buduća longitudinalna istraživanja potrebna su kako bi se razjasnila prognostička vrijednost katestatina i AGE-ova u procjeni kardiovaskularnog rizika u ovoj populaciji.

9. SUMMARY

Doctoral dissertation title: Cardiovascular Risk Assessment and Adherence to the Mediterranean Diet in Female Patients with Hashimoto's Thyroiditis

Objectives: The aim of this study was to compare serum catestatin concentrations and tissue levels of advanced glycation end-products (AGEs) between female patients with newly diagnosed, untreated Hashimoto's thyroiditis and healthy control participants. Additional aims were to assess adherence to the Mediterranean dietary pattern, analyze lipid profile and hsCRP values, and examine thyroid-related quality of life.

Materials and methods: A single-centre cross-sectional study was conducted and included 100 female patients with Hashimoto's thyroiditis and 100 healthy control participants matched by age, sex, and body mass index. Catestatin was measured using an ELISA method, while AGEs were assessed non-invasively using the AGE Reader. Anthropometric, clinical, and laboratory data were collected, and the MDSS and ThyPRO questionnaires were administered.

Results: The groups did not differ according to age, BMI, blood pressure, or smoking status. Patients with Hashimoto's thyroiditis had higher TSH, anti-TG, anti-TPO, hsCRP, and LDL-cholesterol values and lower fT4 values. Catestatin was higher in the Hashimoto group than in the control group (10.2 (6.5–15.8) vs. 6.4 (4.1–9.3) ng/mL; $P < 0.001$), as were AGEs (2.21 ± 0.55 vs. 1.89 ± 0.56 ; $P < 0.001$). Catestatin and AGEs were positively correlated in the total population (Spearman's $\rho = 0.489$; $P < 0.001$) and in the Hashimoto group (Spearman's $\rho = 0.457$; $P < 0.001$). The MDSS score did not differ between groups ($P = 0.908$), while the highest ThyPRO scores were observed for fatigue, lack of energy, and emotional lability.

Conclusions: Female patients with newly diagnosed and untreated Hashimoto's thyroiditis had higher catestatin and AGE levels, with a positive correlation between these biomarkers, suggesting possible early vascular, oxidative, and inflammatory burden. Mediterranean diet adherence, assessed using the MDSS questionnaire, did not differ between the groups. Future longitudinal studies are needed to clarify the prognostic value of catestatin and AGEs in cardiovascular risk assessment in this population.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODACI

PETRA PUNDA

Put Radoševca 7, 21000 Split, Hrvatska

Telefon: 095 198 63 06

E-mail: zubanovicpetra@gmail.com

Datum i mjesto rođenja: 15.11.1993., Hrvatska

OBRAZOVANJE

2012. -2015. Sveučilište u Splitu, Fakultet zdravstvenih studija

Preddiplomski sveučilišni studij radiološke tehnologije

Stечena kvalifikacija: univ. bacc. rad. techn. (sveučilišna prvostupnica radiološke tehnologije)

2017. -2020. Sveučilište u Splitu, Fakultet zdravstvenih studija

Diplomski sveučilišni studij radiološke tehnologije

Stечena kvalifikacija: mag. rad. techn. (magistra radiološke tehnologije)

2020. -danas Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet

Poslijediplomski studij: Translacijska istraživanja u biomedicini (TRIBE)

RADNO ISKUSTVO

2016. -2017. Stručno osposobljavanje za rad, KBC Split

Pripravnik radiološke tehnologije, Zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju

2017. -danas KBC Split, Zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju

Inženjer medicinske radiologije

Samostalni i timski rad u izvođenju radioloških pretraga (RTG, CT, MR, denzitometrija) te timski rad u koronarnom laboratoriju i operacijskom bloku (C-luk). Kalibracija i odgovorno rukovanje radiološkom aparaturom uz poštivanje ALARA principa rada.

STRANI JEZICI

Engleski jezik (C1/C2)

Njemački jezik (B1)

RAČUNALNE VJEŠTINE

Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint)

DODATNE INFORMACIJE

- Dobitnica Diploma Supplement priznanja za izniman završni rad na Fakultetu zdravstvenih studija.

- Dobitnica zahvalnice KBC-a Split za rad u COVID centru Križine tijekom pandemije COVID-19.

- Sudjelovala u edukacijama: SEA-EU tečaj znanstvene komunikacije (Sveučilište u Kielu) te tečaj “Vještina medicinske edukacije i znanstvenog rada” (Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu).

- Recenzent radova za časopise BMC Medical Research Methodology i Journal of Medical Internet Research.

- U rujnu 2025. godine uspješno je održana javna rasprava o temi doktorske disertacije.

ZNANSTVENI RADOVI U ČASOPISIMA

1. Punda P., Kumrić M., Barić Žižić A., Sladić S., Vuletić M., Šupe D., Vilović M., Božić J. Catestatin and Advanced Glycation End-Products: Potential Indicators of Cardiovascular Risk in Hashimoto's Thyroiditis. *Biomolecules*. 2025;15(2):169.

RADOVI PREDANI ZA OBJAVU

Sanader Vučemilović A., Šimundić Munitić M., Biočić M., Hrkać A., Nujić D., Vučić K., Šaler F., Škrinjar I., Lukežić M., Bubić A., Gložinić T., Čivljak A., Klinar I., Krnić Martinić M., Punda P., Čivljak M., Marenić M., Balkowiec-Iskra E., Markulin H., Bilić I., Filipan A., Puljak L. Mapping evidence on pain associated with psoriasis: systematic scoping review. (predano za objavu)

VOZAČKA DOZVOLA

B kategorija