

Povezanost grelina i grelinskoga receptora sa stupnjem displazije u adenomima debeloga crijeva

Stojsavljević, Sanja

Doctoral thesis / Disertacija

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:993289>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Sanja Stojsavljević

**Povezanost grelina i grelinskoga
receptora sa stupnjem displazije u
adenomima debeloga crijeva**

DISERTACIJA



Zagreb, 2020.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Sanja Stojsavljević

**Povezanost grelina i grelinskoga
receptora sa stupnjem displazije u
adenomima debeloga crijeva**

DISERTACIJA

Zagreb, 2020.

Disertacija je izrađena na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti i Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju „Ljudevit Jurak” Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice Medicinskog fakulteta i Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelji rada: prof. dr. sc. Marko Duvnjak
doc.dr.sc. Davor Tomas

Svojim mentorima prof.dr.sc. Marku Duvnjaku i doc.dr.sc. Davoru Tomasu zahvaljujem na vodstvu, vrijednim savjetima, strpljivosti i bezuvjetnoj podršci koju su mi pružali tijekom planiranja i izrade ove disertacije.

Također, velika hvala doc.dr.sc. Luciji Virović Jukić koja je bila moj inspirativni mentor i svim kolegama te medicinskim sestrama Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju koji su mi pomogli u izradi ove disertacije. Zahvaljujem i doc.dr.sc. Milanu Miloševiću na pomoći u statističkoj analizi podataka.

Posvećujem ovu disertaciju svojim roditeljima, suprugu, obitelji i prijateljima, jer bez njihove bezuvjetne podrške, razumijevanja i ljubavi koju sam imala u svim trenutcima ne bih ovo postigla.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. METABOLIČKI SINDROM	1
1.1.1. Definicija	1
1.1.2. Epidemiologija	3
1.1.3. Pretilost	4
1.1.4. Inzulinska rezistencija	5
1.1.4.1. Inzulinska rezistencija i hiperlipidemija	5
1.1.4.2. Inzulinska rezistencija i arterijska hipertenzija	6
1.1.4.3. Procjena stupnja inzulinske rezistencije	6
1.1.5. Adipokini i citokini	7
1.1.5.1. Adiponektin	8
1.1.5.2. Leptin	9
1.1.5.3. Rezistin	9
1.1.5.4. Visfatin	9
1.1.5.5. Retinol vezujući protein 4	10
1.1.5.6. Tumor nekrotizirajući čimbenik α	10
1.1.5.7. Interleukin 6	11
1.1.5.8. Interleukin 1 obitelj	11
1.1.5.9. Grelin	11
1.1.6. Inzulinska rezistencija, metabolički sindrom i zloćudne bolesti	12
1.1.7. Inzulinska rezistencija i karcinom debeloga crijeva	13
1.1.8. Inzulinska rezistencija i adenomi debeloga crijeva	16
1.2. ADENOMI DEBELOGA CRIJEVA	17
1.2.1. Epidemiologija	17
1.2.2. Rizični čimbenici	17
1.2.3. Klasifikacija	18
1.2.4. Adenom-karcinom sekvenca	19
1.2.5. Dijagnostika	20
1.2.6. Endoskopska resekcija	20

1.2.7. Praćenje bolesnika	21
1.3. GRELIN	22
1.3.1. Struktura grelina	22
1.3.2. Gen za grelin	23
1.3.3. Gen za grelinski receptor	23
1.3.4. Posttranslacijska modifikacija grelina	24
1.3.5. Patofiziologija	24
1.3.6. Acilirani i deacilirani grelin	26
1.3.7. Grelin i pretilost	27
1.3.8. Grelin i inzulinska rezistencija	28
1.3.9. Grelin i tumorogeneza	30
1.3.10. Grelin i tumori debeloga crijeva	31
2. HIPOTEZA	33
3. CILJEVI RADA	34
3.1. OPĆI CILJ	34
3.2. SPECIFIČNI CILJEVI	34
4. MATERIJALI I METODE	35
4.1. ISPITANICI	35
4.1.1. Kriteriji uključivanja	35
4.1.2. Kriteriji isključivanja	35
4.2. METODE	35
4.2.1. Anamneza i antropometrijska mjerenja	35
4.2.2. Biokemijska mjerenja	37
4.2.2.1. Acilirani grelin	38
4.2.2.2. Deacilirani grelin	38
4.2.2.3. Inzulin	39
4.2.3. Patohistološka analiza	39
4.3. STATISTIČKA ANALIZA	41
5. REZULTATI	42
6. RASPRAVA	67

7. ZAKLJUČAK	78
8. SAŽETAK	79
9. SUMMARY	80
10. POPIS LITERATURE	81
11. ŽIVOTOPIS	108

POPIS OZNAKA I KRATICA

ALT alanin aminotransferaza

AST aspartat aminotransferaza

BMI engl. body mass index, indeks tjelesne mase

CRP C reaktivni protein

DM lat. diabetes mellitus, šećerna bolest

DNA engl. Deoxyribonucleic acid, deoksiribonukleinska kiselina

ELISA engl. enzyme-linked immunosorbent assay, imunoenzimaska metoda

GGT gamma glutaril aminotransferaza

GH engl. growth hormone, hormon rasta

GHR-S engl. growth hormone secretagogue receptor, receptor sekretagognog hormona rasta

GHSR engl. ghrelin receptor gene, gen za grelinski receptor

GLUT4 transporter glukoze 4

GOAT engl. ghrelin O-acyl transferase, ghrelin O-acil transferaza

GUK glukoza

HbA1c glikozilirani hemoglobin

HDL engl. high density lipoprotein, lipoprotein velike gustoće

HOMA-IR engl. Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance, homeostatski model procjene inzulinske rezistencije

IDF engl. International Diabetes Federation, Međunarodna federacija za dijabetes

IGF-1 eng. insulin like growth factor 1, inzulinu sličan čimbenik rasta 1

IL interleukin

IR inzulinska rezistencija

LDH laktat dehidrogenaza

LDL engl. low density lipoprotein, lipoprotein niske gustoće

mRNA engl. messenger ribonucleic acid, glasnička ribonukleinska kiselina

NCEP ATP III engl. National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III, Američki nacionalni program edukacije o kolesterolu

OB opseg bokova

OS opseg struka

PCR engl. polymerase chain reaction, polimerazna lančana reakcija

RBP4 engl. retinol binding protein 4, retinol vezajući protein 4

RIA engl. radioimmunoassay, radiimunološka metoda

ROS engl. reactive oxygen species, reaktivni kisikovi radikali

RR relativni rizik

TNF- α engl. tumor necrosis factor α , tumor nekrotizirajući čimbenik alfa

VLDL, engl. very low density lipoprotein, lipoprotein vrlo niske gustoće

WHO engl. World Health Organization, Svjetska zdravstvena organizacija

1. UVOD

1.1. METABOLIČKI SINDROM

Metabolički sindrom predstavlja skup metaboličkih poremećaja što uključuje inzulinsku rezistenciju (IR) (s pridruženom hiperinzulinemijom i hiperglikemijom), pretilost centralnog tipa, dislipidemiju i arterijsku hipertenziju (AH) (1). Navedeni poremećaji predstavljaju rizične faktore za razvoj šećerne bolesti (DM) i kardiovaskularnih bolesti.

1.1.1. Definicija

Iako postoji nekoliko definicija metaboličkog sindroma predloženih od različitih medicinskih društava, najčešće su korištene one Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 1999. godine, Američkog nacionalnog programa edukacije o kolesterolu (NCEP ATP III – National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III) iz 2005. godine te Međunarodne federacije za dijabetes (IDF – International Diabetes Federation) izdane 2006. godine (2-4).

Prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije bolesnici s metaboličkim sindromom definirani su kao oni koji obavezno imaju (1):

1. inzulinsku rezistenciju, ili čije su vrijednosti glukoze natašte $\geq 6,1$ mmol/L ili imaju vrijednost glukoze u serumu 2 sata nakon obroka $\geq 7,8$ mmol/L,

uz bar još dvije od sljedećih karakteristika:

2. Omjer opsega struka (OS) i bokova (OB) $> 0,9$ u muškaraca, odnosno > 0.85 u žena, ili indeks tjelesne mase (BMI) ≥ 30 kg/m²;
3. Vrijednost triglicerida u serumu $\geq 1,7$ mmol/L;
4. Arterijsku hipertenziju $\geq 140/90$ mmHg;
5. Snižen lipoprotein velike gustoće (HDL) $< 0,9$ mmol/L u muškaraca odnosno $< 1,0$ mmol/L u žena.

Inicijalno izdane smjernice NCEP ATP III u 2001. godini nisu zahtijevale, za razliku od WHO smjernica, kao preduvjet dijagnoze metaboličkog sindroma, postojanje poremećaja inzulina ili metabolizma glukoze (to je bio samo jedan od kriterija). Na temelju novih spoznaja o važnosti poremećaja glukoze one su dopunjene 2005. godine, a kriterij koji uključuje prag glukoze natašte je

snižen na 5,6 mmol/L, što odgovara granici Američkog društva za šećernu bolest za poremećaj glukoze natašte (5).

NCEP ATP III kriteriji definiraju metabolički sindrom kao prisutnost bilo koja 3 od 5 rizičnih čimbenika (3):

1. Abdominalna pretilost, definirana kao OS ≥ 102 cm u muškaraca i ≥ 88 cm u žena;
2. Serumski trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/L ili korištenje lijekova za liječenje povišenih triglicerida;
3. Snižen HDL < 1 mmol/L u muškaraca odnosno $< 1,3$ mmol/L u žena ili korištenje lijekova za liječenje niskog HDL;
4. Arterijska hipertenzija $\geq 130/85$ mmHg ili korištenje antihipertenziva;
5. Glikemija natašte $\geq 5,6$ mmol/L ili korištenje antidijabetika.

Definicija koju je predložila IDF 2006. godine uzima kao ključni element u dijagnozi metaboličkog sindroma pretilost centralnog tipa, koju definira kritičnim opsegom struka prilagođenim za različite etničke/rasne grupe. Definicija metaboličkog sindroma za osobe koje žive ili porijekla su iz europskih zemalja glasi (4):

1. Opseg struka ≥ 94 cm za muškarce odnosno ≥ 80 cm za žene te prisutne bar još dvije od sljedećih značajki:
2. Serumski trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/L ili korištenje lijekova za liječenje povišenih triglicerida;
3. HDL $< 1,03$ mmol/L u muškaraca odnosno $< 1,29$ mmol/L u žena ili korištenje lijekova za liječenje niskog HDL;
4. Arterijska hipertenzija $\geq 130/85$ mmHg ili korištenje antihipertenziva;
5. Glikemija natašte $\geq 5,6$ mmol/L ili od ranije poznata šećerna bolest tipa dva, s tim da test intolerancije na glukozu nije neophodan ali se preporučuje učiniti za osobe s povišenim vrijednostima glukoze natašte.

Ako se analiziraju podatci iz NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) kohorte (Amerika) u razdoblju od 1999. do 2002. godine, 39 % ispitanika su imali kriterije prema IDF definiciji za dijagnozu metaboličkog sindroma u usporedbi s 34,5 % ispitanika kada su se koristili NCEP ATP III kriteriji (5). IDF definicija je tako ukazala na višu prevalenciju metaboličkog sindroma u svim demografskim grupama, a obje definicije su 93 % ispitanika jednako kvalificirali u pripadajuće grupe prema postojanju odnosno nepostojanju metaboličkog sindroma (5). Slično istraživanje na ispitanicima u Australiji identificiralo je 20 % više ispitanika s metaboličkim sindromom kada se koristila IDF

definicija (6). Naime, prema IDF stajalištu, dijagnoza metaboličkog sindroma nije nužna samo za prepoznavanje osoba s kardiovaskularnim rizikom već osoba s rizikom za razvoj DM-a i njegovih komplikacija, sve u svrhu ranog preventivnog djelovanja (6). Čak i kod bolesnika koji već boluju od DM-a bitno je identificirati one s metaboličkim sindromom, zbog višeg rizika za razvoj makrovaskularnih (ne i mikrovaskularnih) komplikacija bolesti (7).

1.1.2. Epidemiologija

Metabolički sindrom bilježi znatan porast prevalencije, što odgovara i rastućoj epidemiji pretilosti, no epidemiološki podatci uvelike ovise o definiciji korištenoj za prepoznavanje osoba s metaboličkim sindromom. WHO definicija metaboličkog sindroma je od svih najrestriktivnija te su tako i općeprepoznato epidemiološke procjene manje kada se ona koristi u identificiranju oboljelih (2). Nasuprot tome IDF klasifikacija puno slobodnije svrstava ispitanike u grupu s metaboličkim sindromom (4). Međutim, taj zaključak je dvojben kada se uključe istraživanja iz različitih dijelova svijeta (Kine, Irana), gdje su prosječne vrijednosti za opseg struka, odnosno omjer opsega struka i bokova niže od američkog/europskog standarda. U takvim zemljama su naime na temelju IDF klasifikacije zabilježene niže ili identične prevalencije metaboličkog sindroma uspoređeno s NCEP ATP III kriterijima (8,9).

Podatci iz već spomenutog NHANES istraživanja u američkih ispitanika temeljem NCEP ATP III kriterija, ukazali su da je u kohorti iz 1988. do 1994. godine bilo zabilježeno 22 % ispitanika s metaboličkim sindromom, dok je metabolički sindrom u kohorti od 1999. do 2002. godine zabilježen u čak 34,5 % ispitivane populacije (5). Na temelju NCEP ATP III kriterija procijenjena je i kohorta Framinghamskog istraživanja (10). Pri uključivanju u istraživanje ispitanici nisu imali DM ili kardiovaskularnu bolest, a prevalencija metaboličkog sindroma iznosila je 26,8 % u muškaraca te 16,6 % u žena. Nakon 8 godina praćenja zabilježen je, nakon prilagodbe rezultata za dob, porast prevalencije metaboličkog sindroma u muškaraca od 56 %, a u žena 47 % (10).

Obzirom da prevalencija pretilosti, pogotovo abdominalne pretilosti, raste s godinama života, tako i metabolički sindrom prati istu dobnu raspodjelu. U NHANES istraživanju primjećeno je da prevalencija metaboličkog sindroma raste do šestog desetljeća života. Tada se prevalencija metaboličkog sindroma u žena izjednačava s onom u muškaraca, te je u kasnijim godinama prestiže (11). Razlike među muškarcima i ženama u kasnijim godinama mogu biti i posljedica ranije smrti osoba osjetljivijih na razvoj komplikacija metaboličkog sindroma (12).

1.1.3. Pretilost

Za definiranje pretilosti prema WHO-u koristimo indeks tjelesne mase koji se izračunava kao omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima (13). Prema WHO-u razlikujemo premalu tjelesnu masu (pothranjene) s $BMI < 18,5 \text{ kg/m}^2$, normalnu tjelesnu masu s $BMI \geq 18,5 \text{ kg/m}^2$ i $< 25 \text{ kg/m}^2$, prekomjernu tjelesnu masu kada je $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ i $< 30 \text{ kg/m}^2$ te pretilost kada je $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ (13). U NHANES kohorti metabolički sindrom je bio prisutan u 5 % osoba uredne tjelesne mase, 22 % s prekomjernom tjelesnom masom i u 60 % pretilih (10). Prema Framinghamskoj kohorti, svaki porast tjelesne mase za 2,25 kg i više kroz period od 16 godina je bio povezan s porastom rizika za kardiovaskularnu bolest od 21 % do 45 % (14). Prospektivno istraživanje na 714 zdravih ispitanika pokazalo je da je već povećani opseg struka ($> 89 \text{ cm}$ za žene, te $> 102 \text{ cm}$ za muškarce), uz snižene vrijednosti HDL-a i povišene vrijednosti proinzulina, bio odličan predskazatelj rizika za razvoj metaboličkog sindroma u razdoblju praćenja od 5 godina (15).

Zapaženo je da i osobe uredne tjelesne mase mogu imati povećan rizik za razvoj arterijske hipertenzije, kardiovaskularnih bolesti te šećerne bolesti. Takve se osobe često klasificira kao posebnu skupinu unutar metaboličkog sindroma, kao osobe uredne tjelesne mase ali metabolički pretile (16). Istraživanje iz 2014. godine proučavalo je 11 najčešćih genetskih varijanti povezanih s diskretnom formom lipodistrofije u općoj populaciji, karakteriziranom inzulinskom rezistencijom (16). Bolesnici s navedenim mutacijama imali su više vrijednosti triglicerida, niži HDL, veći stupanj steatoze jetre, više vrijednosti alanin aminotransferaze (ALT) i niži adiponektin. Također su imali niže vrijednosti BMI-a uz povišen omjer visceralnog i potkožnog masnog tkiva. Te osobe su usprkos urednim vrijednostima BMI imale viši rizik za razvoj šećerne bolesti, arterijske hipertenzije te kardiovaskularnih bolesti. Navedeni podatci su ukazali na važnost omjera subkutanog i visceralnog masnog tkiva u procjeni rizika za razvoj metaboličkog poremećaja (16). U prosječne, zdrave osobe, uredne tjelesne mase, masno tkivo čini oko 20 % tjelesne mase u muškaraca i 25 % u žena. Subkutano masno tkivo se ne povezuje s komplikacijama metaboličkog sindroma ili razvojem karcinoma, već se smatra da djeluje protektivno (17). Visceralno masno tkivo je prediktivnije za morbiditet i mortalitet povezan s prekomjernom tjelesnom masom (18).

1.1.4. Inzulinska rezistencija

Inzulin omogućava unos glukoze u jetru i mišiće, inhibira lipolizu u masnom tkivu i glukoneogenezu u jetri i mišiću. U inzulinskoj rezistenciji dolazi do poremećaja u metabolizmu glukoze. U užem smislu inzulinska rezistencija označava neadekvatan odnos koncentracije glukoze i koncentracije inzulina u krvi. Obzirom da inzulin igra važnu ulogu u metabolizmu, tako i inzulinska rezistencija ima brojne reperkusije na organe i tkiva (19). Inzulinska rezistencija se najčešće povezuje s pretilosti, no postoje i drugi uzroci inzulinske rezistencije kao što su stres (zbog povišenih kontraregulatornih hormona kortizola, katekolamina, glukagona, hormona rasta), pri korištenju lijekova kao što su glukokortikoidi, oralni kontraceptivi i antiretrovirusni lijekovi, u trudnoći te u prisutnosti antitijela na inzulin. Tip A inzulinske rezistencije karakteriziran je genetskim defektom u signalnom putu inzulina, a tip B je karakteriziran postojanjem antitijela na inzulinski receptor (20).

Inzulinska rezistencija na razini masnog tkiva blokira inzulinom posredovanu inhibiciju lipolize. Lipoliza u masnom tkivu dovodi do porasta slobodnih masnih kiselina koje nastavljaju djelovati na daljnju inhibiciju lipolize inzulinom. Slobodne masne kiseline inhibiraju aktivaciju protein kinaze u mišiću što dovodi do smanjenog ulaza glukoze u mišićne stanice. Nasuprot tome, slobodne masne kiseline u jetri potiču aktivaciju protein kinaze koja promovira glukoneogenezu i lipogenezu. Kao rješenje inzulinske rezistencije tijelo pribjegava lučenju više inzulina, pa tako uz inzulinsku rezistenciju bilježimo hiperinzulinemiju. Obzirom da slobodne masne kiseline djeluju toksično na beta stanice gušterače, postupno dolazi do gubitka beta stanica i smanjuje se sekrecija inzulina (21).

Dominantno visceralni adipozitet više pridonosi inzulinskoj rezistenciji, obzirom da lipoliza u visceralnom masnom tkivu kroz splanhičku cirkulaciju direktno doprema slobodne masne kiseline u jetru, a i lipaza visceralnog masnog tkiva je osjetljivija na katekolaminsku stimulaciju od lipaze potkožnog masnog tkiva (22).

1.1.4.1. Inzulinska rezistencija i hiperlipidemija

Porast koncentracije slobodnih masnih kiselina u jetri, kao posljedica inzulinske rezistencije dovodi do pojačane sinteze triglicerida i produkcije lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL). U fiziološkim uvjetima, inzulin pojačava genetsku ekspresiju proteina koji su odgovorni za sintezu triglicerida, ali smanjuje proizvodnju VLDL-a i apolipoproteina B te potiče njegovu razgradnju. U osoba s inzulinskom rezistencijom pojačana je sinteza triglicerida, a višak triglicerida koje jetra ne može pohraniti izlučuju

se u obliku VLDL-a. Niske vrijednosti lipoproteina visoke gustoće te više vrijednosti lipoproteina niske gustoće (LDL) su posljedica promijenjenog metabolizma lipida u jetri uzrokovanoga inzulinskom rezistencijom. Naime zbog prijenosa kolesterolskog estera na HDL, nastaje HDL koji se ubrzano razgrađuje u jetri jetrenom lipazom čija je aktivnost pojačana u inzulinskoj rezistenciji i DM-u (23).

1.1.4.2. Inzulinska rezistencija i arterijska hipertenzija

Inzulin, kada se parenteralno aplicira zdravim osobama, djeluje vazodilatacijski uz sekundaran efekt reapsorpcije natrija. U inzulinskoj rezistenciji zbog djelovanja slobodnih masnih kiselina dolazi do gubitka vazodilatacijskoga učinka inzulina i pojačane vazokonstrikcije, ali uz održanu reapsorpciju natrija na razini bubrega, što pridonosi razvoju arterijske hipertenzije (24). Inzulin pojačava aktivnost simpatikusa i time podržava arterijsku hipertenziju. Organizam, kao reakciju na stres uz pojačanu aktivaciju simpatikusa, stimulira aktivnost lipaze, lipolizu i oslobađanje slobodnih masnih kiselina iz masnoga tkiva, te na taj način zatvara metabolički krug. Upala uz arterijsku hipertenziju igra značajnu ulogu u povišenju rizika od kardiovaskularnih bolesti. U pretilosti, stanju kronične upale u organizmu, pojačano je izražena aktivnost endotelne lipaze što je povezano s višim kardiovaskularnim rizikom (25).

1.1.4.3. Procjena stupnja inzulinske rezistencije

U svakodnevnom kliničkom radu od velike bi koristi bilo adekvatno procijeniti inzulinsku rezistenciju. Time bi se mogao procijeniti rizik za razvoj šećerne bolesti i njenih komplikacija, rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti i zloćudnih bolesti povezanih s inzulinskom rezistencijom. Kao zlatni standard za procjenu inzulinske rezistencije uzima se tehnika inzulinske kopče i intravenozni test tolerancije glukoze ili test tolerancije inzulina. Obzirom da su navedene tehnike nepraktične u svakodnevnom korištenju, u većim epidemiološkim studijama pribjeglo se određivanju jednostavnog omjera koji uključuje određivanje vrijednosti glukoze i inzulina natašte. Na taj način je razvijen homeostatski model procjene inzulinske rezistencije (HOMA-IR) koji se računa prema formuli koja uzima vrijednosti glukoze i inzulina natašte, a glasi (26):

$$\text{HOMA-IR} = \text{inzulin } (\mu\text{U/L}) \times \text{glukoza (nmol/L)} / 22.5.$$

Obzirom da godinama nisu bile jasno definirane referentne vrijednosti HOMA-IR indeksa, velike epidemiološke studije su kao klinički značajne prepoznale vrijednosti HOMA-IR-a više od 75 percentile

(27). Određivanje HOMA-IR-a se ne preporučuje u rutinskoj kliničkoj praksi zbog nepostojanja standardizacije za izračun inzulina u serumu, nedovoljno jasno definiranih referentnih vrijednosti HOMA-IR-a i promjena u vrijednostima inzulina ovisno o dobi. Zbog istih razloga se u rutinskoj kliničkoj praksi ne koristi niti kvantitativni indeks za određivanje inzulinske osjetljivosti (QUICKI) (28). U osoba koje ne boluju od šećerne bolesti i arterijske hipertenzije, ali imaju prekomjernu tjelesnu masu, mogu se eventualno koristiti kao biljezi inzulinske rezistencije serumska koncentracija triglicerida (vrijednost $\geq 1,47$ mmol/L), omjer triglicerida i HDL-a (vrijednost $\geq 1,8$) i koncentracija inzulina natašte (vrijednost ≥ 109 pmol/L). Međutim, senzitivnost i specifičnost ovih predloženih biljega nije bila adekvatna te se ne mogu preporučiti u kliničkoj praksi (29).

1.1.5. Adipokini i citokini

Nakon što je 1993. godine otkriveno da masno tkivo u pretilosti i šećernoj bolesti producira tumor nekrotizirajući čimbenik alfa (TNF- α) koji ima proupalno djelovanje postavljen je okvir za daljnja istraživanja funkcionalne poveznice pretilosti i kronične upale (30).

Novija istraživanja su ukazala na činjenicu da u pretilosti dolazi do neravnoteže u izraženosti proupalnih i protuupalnih adipokina te da ta neravnoteža dovodi do razvoja metaboličkih komplikacija (31, 32). U istraživanjima na humanim i animalnim modelima dokazano je da je u pretilosti masno tkivo prožeto većim brojem makrofaga te da je ta infiltracija usko povezana sa sustavnom upalom i inzulinskom rezistencijom. U istraživanjima je pokazano da je akumulacija makrofaga u masnom tkivu pozitivno povezana s tjelesnom masom. Nakon gubitka na tjelesnoj masi zamijećeno je smanjenje populacije makrofaga i smanjenje proupalnog odgovora (31, 32). Rezultati su pokazali da su makrofazi u većoj mjeri izraženi u visceralnom masnom tkivu u odnosu na subkutano masno tkivo (32). Spomenuta istraživanja ukazuju da je visceralno masno tkivo metabolički aktivnije od potkožnog masnog tkiva te time odgovorno za otpuštanje proupalnih citokina koji pridonose razvoju protrombotskog metaboličkog obrasca i vaskularnoj remodelaciji što uzrokuje povišen rizik za kardiovaskularne bolesti, ali i nealkoholnu masnu bolest jetre (33).

Osim količine visceralnog masnog tkiva, nužno je sagledati i sastav masnog tkiva, odnosno tip upalnih stanica koje prevladavaju u masnom tkivu. Pokazano je da su u pretilih miševa pojačano izraženi geni za M1 makrofage, koji produciraju proupalne citokine, kao što su TNF- α , interleukin-6 (IL-6), sintaza inducibilnog dušičnog oksida i reaktivne kisikove radikale (ROS). U masnom tkivu miševa uredne

tjelesne mase više je bio izražen M2 fenotip makrofaga koji potenciraju protuupalne citokine (kao interleukin-10) i smanjuju produkciju proupalnih citokina (34). Obzirom da se funkcionalno M2 makrofazi povezuju sa sposobnosti smanjivanja upale, smatra se da je M1 fenotip makrofaga povezan s inzulinskom rezistencijom dok M2 fenotip štiti od inzulinske rezistencije (35).

U odabiru fenotipa makrofaga koji će prevladati značajnu ulogu igraju limfociti. Pokazano je da su CD4+ regulatorni T limfociti izraženiji u masnom tkivu miševa uredne tjelesne mase, te inhibiraju proupalni fenotip makrofaga. Time pozitivno djeluju na inzulinsku rezistenciju (36). Nasuprot tome CD8+ T limfociti i Th1 upalni odgovor promoviraju upalu u masnom tkivu povezanu s razvojem inzulinske rezistencije (37). Do pojačane infiltracije masnog tkiva makrofazima vjerojatno dolazi zbog ishemije i nekroze adipocita, kao posljedica smanjene vaskularne opskrbe masnog tkiva krvlju i hranjivim nutrijentima. Naime, pokazano je da u pretilosti dolazi do smanjenja broja kapilara u masnom tkivu što dovodi do lokalizirane hipoksije (38). Osim adipocita, upalnih stanica i endotelnih stanica, pokazano je da je za razvoj inzulinske rezistencije značajan i sastav ekstracelularnog matriksa masnog tkiva. Naime, matriks s manjom fibroznom potporom (manjom količinom kolagena) omogućuje u stanjima povećanog energetskeg unosa umnažanje masnih stanica bez stresa, što je povezano s boljim upalnim i metaboličkim profilom masnog tkiva (39).

U nepovoljnom, proupalnom okružju u masnom tkivu dolazi do pojačanog lučenja proupalnih i smanjene sinteze protuupalnih adipocitokina. Adipocitokini predstavljaju heterogenu grupu medijatora u metaboličkim reakcijama, i do sada ih je opisano više od 50 (40).

1.1.5.1. Adiponektin

Adiponektin je među prvim otkrivenim adipokinima, koji je 1999. godine izolirao Arita sa sur. (41) kao produkt apM1 gena. Gotovo isključivo se sintetizira u masnom tkivu, a cirkulira u krvi u nekoliko oligomernih izoformi. Dva transmembranska proteina, AdipoR1 i AdipoR2 su identificirani kao adiponektinski receptori i većinom su prisutni u stanicama poprečno prugastih mišića, a manje u jetri (42). Istraživanja su pokazala da je koncentracija adiponektina niža u pretilih osoba s visceralnim tipom pretilosti u odnosu na osobe uredne tjelesne mase (43). Smanjena koncentracija adiponektina posljedica je smanjene proizvodnje adiponektina zbog inhibicije proupalnim citokinima kao što su TNF- α i IL-6, inhibicije hipoksijom i zbog stvaranja ROS (38). Koncentracija adiponektina je bila niža u inzulinskoj rezistenciji i šećernoj bolesti, a identificirane su i specifične genetske varijacije adiponektina

povezane s višim rizikom razvoja inzulinske rezistencija i šećerne bolesti (44). Niske vrijednosti adiponektina bile su povezane s metaboličkim sindromom, razvojem nealkoholne masne bolesti jetre i pojavom tumora u *in vivo* istraživanjima (43, 45).

1.1.5.2. Leptin

Leptin je produkt *ob* gena, i gotovo u potpunosti se proizvodi u adipocitima bijelog masnog tkiva. Modulira unos hrane, sastav tjelesne masti, termogenezu, angiogenezu i imunološki odgovor. Smatra se anoreksigenim hormonom, obzirom da u mozgu daje signal za smanjenje unosa hrane i povećanje iskorištenja energije iz tjelesnih rezervi (46).

Miševi koji ne proizvode leptin su pretili, imaju izražen apetit (hiperfagiju) i inzulinsku rezistenciju. Nakon aplikacije leptina takvim miševim došlo je regresije inzulinske rezistencije, smanjenja hiperfagije i tjelesne mase (47). U pretilih osoba leptin većinom cirkulira u slobodnom obliku u plazmi, dok je u osoba uredne mase većinom vezan za protein (48). Istraživanja su pokazala da su koncentracije leptina povišene u pretilih osoba (visceralni oblik pretilosti) i povećavaju se s prekomjernim unosom hrane, što govori u prilog razvoja leptinske rezistencije (49, 50). Vrijednosti leptina rastu kao posljedica stimulacije proupalnim citokinima (kao što je TNF- α) i lipopolisaharidima (51). Više vrijednosti leptina su utvrđene u inzulinskoj rezistenciji i šećernoj bolesti tipa dva neovisno o količini masnog tkiva (52).

1.1.5.3. Rezistin

Rezistin je u serumu prisutan u dvije forme, kao heksamer velike molekularne mase i kao trimer koji je zastupljen u manjoj mjeri ali pokazuje značajniju biološku aktivnost i inducira u jetri inzulinsku rezistenciju (53). Rezistin je u ljudi produkt mononuklearnih stanica (makrofaga i monocita), a transkripciju gena odgovornog za sintezu rezistina potiču proupalni citokini interleukin 1 (IL-1), IL-6 i TNF- α (54). Rezistin djeluje proupalno tako što u mononuklearima potiče lučenje TNF- α i IL-6 (55).

1.1.5.4. Visfatin

Visfatin je hormon čija se sekrecija povećava nakon unosa glukoze i povišena je u bolesnika koji su pretili, imaju šećernu bolest tipa dva i metabolički sindrom (56). Barijatrijske operacije reduciraju uz tjelesnu masu i koncentraciju visfatina, leptina i pozitivno utječu na koncentraciju adiponektina (57).

Također je pokazano da su više vrijednosti visfatina zabilježene u pretilih osoba s dominantno visceralnom pretilosti (58).

1.1.5.5. Retinol vezujući protein 4

Serumski retinol vezujući protein 4 (RBP4) je čimbenik koji izlučuju hepatociti i odgovoran je za prijenos retinola kroz tijelo (59). RBP4 se luči iz adipocita i makrofaga. RBP4 koji oslobađaju adipociti autokrinno i parakrinno inhibira inzulinom induciranu fosforilaciju inzulinskih receptora supstrata 1 što govori u prilog važnoj ulozi u metabolizmu glukoze u šećernoj bolesti tipa dva (60). Povišene vrijednosti RBP4 su povezane s metaboličkim sindromom i njegovim sastavnicama, arterijskom hipertenzijom, niskim vrijednostima HDL, povišenim vrijednostima triglicerida i prekomjernom tjelesnom masom (61). RBP4 se dominantno proizvodi u visceralnom masnom tkivu (manje u subkutanom) u stanjima pretilosti i inzulinske rezistencije (62).

1.1.5.6. Tumor nekrotizirajući čimbenik α

TNF- α je proupalni citokin s metaboličkim, upalnim, proliferativnim i nekrotičnim učinkom. Izražen je u masnom tkivu i u jetri. U stanju pretilosti proizvode ga makrofazi u masnom tkivu, hepatociti, Kupfferove stanice, ali i drugi tipovi stanica kao odgovor na kroničnu upalu. Povećana izraženost TNF- α nađena je u pretilosti, inzulinskoj rezistenciji i šećernoj bolesti tipa dva, što sugerira da je TNF- α moguća poveznica pretilosti i inzulinske rezistencije (63). TNF- α smanjuje inzulinom posredovan unos glukoze u stanice tako što djeluje na fosforilaciju inzulinskih receptora supstrata 1 i posljedično inhibira translokaciju transportera glukoze 4 (GLUT4). TNF- α stimulira hormon osjetljivu lipazu što uzrokuje povećanu koncentraciju slobodnih masnih kiselina i njihovu dopremu u jetru. Rezultat tog djelovanja je inzulinska rezistencija na razini perifernih tkiva, ali i poremećaj u metabolizmu lipida (64). Koncentracija TNF- α je povećana u masnom tkivu i plazmi pretilih osoba, a redukcija u tjelesnoj masi je praćena i sa smanjenjem koncentracije TNF- α (65). Inzulinska rezistencija je povezana s višim koncentracijama TNF- α (66).

1.1.5.7. Interleukin 6

Oko trećine ukupnog IL-6 proizvodi masno tkivo. Povišena koncentracija IL-6 u pretilosti vjerojatno pridonosi metaboličkoj disfunkciji (67). Slično kao i TNF- α , vrijednosti IL-6 su povišene u pretilosti i šećernoj bolesti tipa dva, a smanjuju se sa smanjenjem tjelesne mase (68). Međutim istraživanja koja su proučavala IL-6 su imaju oprečne rezultate vezano uz utjecaj IL-6 na inzulinsku rezistenciju (69, 70). Složeni mehanizam djelovanja vjerojatno ovisi i o ciljnom organu kao i o izvoru IL-6, odnosno radi li se o izvoru iz masnog tkiva ili iz mišića (69).

1.1.5.8. Interleukin 1 obitelj

Citokini IL-1 obitelji su regulatori urođenog imuniteta i imaju proupalna i protuupalna djelovanja. IL-1 α i IL-1 β predstavljaju citokine s proupalnim djelovanjem, a protuupalno djelovanje pokazuje antagonist IL-1 receptora (IL-1Ra). IL-18, također član IL-1 obitelji citokina, djeluje proupalno (71). Koncentracije IL-18 i IL-1Ra su povišene u pretilih osoba i bolesnika s šećernom bolesti tipa dva, a masno tkivo je glavni izvor IL-1Ra (72).

Aktivnost IL-1 je važna u razvoju šećerne bolesti tipa dva jer potencira kronično upalno stanje u pretilosti i inzulinsku rezistenciju. IL-1 β inhibira funkciju i smanjuje broj beta stanica gušterače te time pridonosi razvoju šećerne bolesti tipa dva (73). U masnom tkivu (visceralnom i potkožnom) je pojačano izražena mRNA, a time i koncentracija IL-1 β i IL-1Ra. Gubitak na tjelesnoj masi, nasuprot tome, smanjuje ekspresiju mRNA za navedene citokine u masnom tkivu (74, 75). Za razliku od IL-1 β koji je istraživanjima prokazan kao medijator upale i inzulinske rezistencije u pretilosti, utjecaj IL-1 α je bio predmet tek rijetkih istraživanja. Citokin IL-1 α vjerojatno mobilizira stanice urođenog imuniteta prema masnom tkivu u slučaju nekroze adipocita i stoga bi mogao biti odgovoran za inicijaciju upale u masnom tkivu u pretilosti (76, 77).

Kao što je već napomenuto, IL-18 je proupalni citokin koji većinom proizvodi masno tkivo, a njegovu proizvodnju potiče TNF- α . Povišene vrijednosti su nađene u pretilih osoba, dok je gubitak na tjelesnoj masi uzrokovao snižavanje koncentracije IL-18 (78).

1.1.5.9. Grelin

Grelin je detaljno obrađen u poglavlju 1.3..

1.1.6. Inzulinska rezistencija, metabolički sindrom i zloćudne bolesti

Sve veći broj istraživanja ukazuje na povezanost metaboličkog sindroma i njegovih komponenti s razvojem zloćudnih bolesti (79). Istraživanja ukazuju na povezanost metaboličkog sindroma i povećanog rizika za nastanak tumora jetre, kolona, rektuma i mokraćnog mjehura u muškaraca te tumora endometrija, gušterače, dojke, kolona i rektuma u žena. Povezanost s metaboličkim sindromom bila je izraženija za karcinom gušterače i rektuma u žena nego u muškaraca (80). Prekomjerna tjelesna masa i povećani opseg struka povezani su s rizikom nastanka tumora debelog crijeva, jednjaka, želuca, jetre, postmenopausalnim karcinomom dojke i tumorom bubrega (81). Hiperglikemija predstavlja rizik za razvoj tumora neovisno o BMI (82). U populacijskom istraživanju na 140 000 osoba koje su praćene kroz 8 godina, porast u vrijednostima glukoze natašte bio je povezan s povišenim rizikom razvoja zloćudnih bolesti (83). Brojnim istraživanjima pokazano je da je rizik od razvoja kolorektalnog karcinoma povišen u muškaraca i žena koji boluju od šećerne bolesti tipa dva (84). Nedavno objavljen opsežan pregledni članak koji uključuje 204 meta-analize zaključuje da postoji snažna uzročno posljedična povezanost pretilosti i prekomjerne tjelesne mase s adenokarcinomima jednjaka, karcinomom debelog crijeva, gušterače i bilijarnog sustava (85). Uzimajući u obzir ova epidemiološka istraživanja te ona navedena u prvom dijelu ovog uvoda, jasno je da pretilost, inzulinsku rezistenciju, metabolički sindrom i tumorogenezu povezuju upalni procesi. Pretilost se već dugo u znanstvenim i kliničkim krugovima prepoznaje kao stanje trajne kronične upale, te je predmet brojnih istraživanja i preglednih članaka. Hipoksični adipociti u pretilost proizvode više koncentracije TNF- α koji negativno djeluje na unutarstaničnu signalnu kaskadu inzulina, potiče pojačano oslobađanje slobodnih masnih kiselina i smanjuje otpuštanje adiponektina kao protuupalnog faktora. Djelovanja TNF- α unutar stanice je posredovano inhibicijom peroksisomnim proliferatorom aktiviranog receptora gama (PPAR γ) i aktivacijom IL-1 preko nuklearnog faktora kapa B (NF- κ B) (86). Aktivacija NF- κ B povećava proizvodnju dušikovog oksida (NO), supstrata potrebnog za stvaranje ROS. Stvaranje ROS je važan korak u oštećenju deoksiribonukleinske kiselina (DNA), obzirom da može uzrokovati modifikaciju baza DNA, delecije i druge reorganizacije koje potiču progresiju tumora (87). U razvoju stanja koje pogoduje nastanku malignih tumora ključna je i inzulinska rezistencija obzirom na djelovanje inzulina i inzulinu sličnog čimbenika rasta 1 (IGF-1). Naime inzulini imaju snažno anaboličko djelovanje te stimulira proliferaciju stanica zdravih tkiva i tumora preko IGF-1. U jetri inzulini povećavaju broj receptora za hormon rasta koji je ključan za stimulaciju proizvodnje IGF-1. Povišene

koncentracije inzulina smanjuju jetrenu proizvodnju i sekreciju proteina koji veže IGF-1, te time povećava bioraspoloživost IGF-1 u organizmu (88). Receptor za IGF-1 je pojačano izražen u stanicama tumora dojke i debelog crijeva, a djelovanje je posredovano aktivacijom različitih unutarstaničnih puteva (89). IGF osim proliferativnog djelovanja, potiče i angiogenezu putem vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) te je kao važan mehanizam tumorogeneze prepoznat u tumoru debeloga crijeva, endometrija, dojke i prostate (90). IGF-1 i hiperinzulinemija u jetri inhibiraju raspoloživost globulina koji vežu spolne hormone. Veća raspoloživost spolnih hormona važna je u incijaciji i progresiji tumora dojke, endometrija i prostate (91). Povećana raspoloživost estrogena je povezana s razvojem tumora dojke i endometrija u postmenopauzalnih žena. U postmenopauzalnih pretilih žena s izraženom visceralnom pretilosti povećana je bioraspoloživost estrogena zbog djelovanja inzulina i IGF-1 te povećane sinteze estrogena zbog aromatizacije androgena porijeklom iz masnog tkiva (92). Što se tiče karcinoma prostate, povezanost pretilosti, metaboličkog sindroma i šećerne bolesti nije jednoznačna te postoje suprotni rezultati (93-95).

Osim ranije spomenutog TNF- α , ulogu u tumorogenezi i nepovoljnoj kroničnoj proupalnoj promjeni mikrokoliša premalignih i malignih stanica, imaju brojni drugi upalni citokini i adipokini (96).

1.1.7. Inzulinska rezistencija i karcinom debeloga crijeva

Bergstrom i sur. (97) su 2001. godine pokazali poveznicu pretilosti i rizika za nastanak karcinoma debeloga crijeva analizirajući 6 studija i utvrdili da je relativni rizik (RR) za nastanak karcinoma debeloga crijeva za svaki porast BMI-a od 1 kg/m² jednak 1.03. Procijenili su da je rizik za razvoj karcinoma kolona 33 % viši u pretilih u odnosu na osobe uredne tjelesne mase (97). Opsežni pregled 41 prospektivne studije o BMI i kolorektalnom karcinomu, s ukupno uključenih preko 8 milijuna pojedinaca i preko 85 000 slučajeva kolorektalnog karcinoma, izračunao je da je RR za nastanak kolorektalnog karcinoma u pretilih osoba 1.33 (98). Kada se analizirao tip pretilosti, primjećeno je da su osobe koje su bile u najvišoj kategoriji prema opsegu struka imale 45 % viši rizik za razvoj kolorektalnog karcinoma u odnosu na one u najnižoj kategoriji opsega struka (98). Kada se učinila stratifikacija po spolu primjećena je statistički značajna razlika samo u žena, što govori u prilog tome da je raspodjela masnog tkiva u žena puno bitniji čimbenik rizika za razvoj karcinoma kolona od tjelesne mase ili BMI (98).

Osim pretilosti i visceralnog adipoziteta kao važan čimbenik rizika za nastanak tumora spominje se hiperglikemija i hiperinzulinemija. U meta analizi objavljenoj 2015. godine, opisan je u osoba s šećernom bolesti 21 % veći rizik za nastanak kolorektalnog karcinoma nego u osoba bez šećerne bolesti (99). Također je dokazano da osobe s višim vrijednostima IGF-1, inzulina i C-peptida imaju viši rizik za nastanak kolorektalnog karcinoma (100, 101). Analizirajući terapiju bolesnika sa šećernom bolesti tipa dva, epidemiološka istraživanja su pokazala da je rizik za kolorektalni karcinom viši u bolesnika liječenih inzulinom i/ili sulfonilurejom (84). Tumorska progresija je bila brža i mortalitet vezan uz tumorsku bolest viši u bolesnika s hiperinzulinemijom. Zbog brže tumorske progresije kod bolesnika na inzulinskoj terapiji preporučena je ranija preventivna kolonoskopija te češće kontrolne kolonoskopije (84). Metformin, najčešće korišten lijek prvog izbora u šećernoj bolesti tipa dva, koji poboljšava inzulinsku rezistenciju i kontrolu glikemije, je pokazao pozitivan učinak na redukciju rizika od nastanka kolorektalnog karcinoma (102). Incidencija kolorektalnog karcinoma je bila niža u osoba koje koriste metformin (103). Protutumorsko djelovanje metformina se pripisuje supresiji mTOR-a, putem aktivacije jetrene kinaze B1/adenozin 5 monofosfat protein kinaznog puta. Time se smanjuje koncentracija cirkulirajućeg inzulina, aktivira imuni sustav, eradiciraju stanice tumora ili inducira apoptoza tumorskih stanica (104). Pretpostavka je da korištenje metformina pridonosi smanjenju incidencije kolorektalnog karcinoma time što smanjuje rizik kolorektalnog adenoma, a da je taj učinak značajniji za adenome proksimalnog debeloga crijeva (105).

Recentno objavljena meta analiza 11 istraživanja na ukupno 51 991 ispitanika je pokazala kako metformin značajno smanjuje rizik adenoma višeg stupnja displazije, no nema utjecaj na rizik pojave ili povrata ostalih adenoma. Nasuprot tome korištenje inzulina je značajno utjecalo na povećanje rizika od nastanka kolorektalnog adenoma (106).

Bolesnici s metaboličkim sindromom imaju gotovo tri puta viši rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma od zdravih osoba, a taj rizik raste što je prisutno više komponenata metaboličkog sindroma (107). Rizik nastanka karcinoma debeloga crijeva raste i s dobi (108).

Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja zajednički patofiziološki mehanizam inzulinskoj rezistenciji i metaboličkom sindromu je kronična upala. Hipoteza o ulozi upale u nastanku karcinoma debeloga crijeva poduprijet je istraživanjima koja su utvrdila povišeni rizik za razvoj karcinoma debeloga crijeva u bolesnika s upalnim bolestima crijeva (109, 110). Meta analiza istraživanja pokazala je da osobe

koje koriste acetil-salicilnu kiselinu i nesteroidne protuupalne antireumatike imaju 20 % do 26 % niži rizik od nastanka karcinoma debeloga crijeva (111).

Na životinjskim modelima je dokazano da prehranom inducirana pretilost dovodi do porasta TNF- α u stanicama debeloga crijeva i posljedično aktivacije Wnt signalnog puta koji ima kritičnu ulogu u karcinogenezi kolorektalnog karcinoma (112). Bolesnici s kolorektalnim karcinomom imaju više vrijednosti IL-6 u usporedbi sa zdravim pojedincima, a više vrijednosti IL-6 su povezane s višim stadijem i veličinom tumora, ranijim metastazama te kraćim preživljenjem (113). Ranije je pojašnjeno da pretili osobe imaju povišene vrijednosti IL-6. U pretilosti dolazi do stresa na razini endoplazmatskog retikuluma što se očituje aktivacijom nuklearnog faktora kapa B (NF- κ B), koji dalje stimulira proizvodnju adipokina (114, 115). Adipokini u probavnom sustavu mogu poticati mehanizme koji pogoduju tumorogenezi, ali još nije jasno da li djeluju na epitelne stanice na endokrini ili parakrini način, indukcijom upale u lokalnom tkivu ili modifikacijom mikrookoliša (116).

Meta analiza 13 istraživanja, koja je uključila 2632 pacijenta s kolorektalnim karcinomom i adenomom te 2753 zdrave osobe, utvrdila je niže vrijednosti adiponektina u kolorektalnom karcinomu i adenomu u odnosu na zdrave osobe. Bolesnici s nižim vrijednostima adiponektina su imali viši rizik od kolorektalnog karcinoma i to neovisno o BMI, opsegu struka, omjeru opsega struka i bokova te tjelesnoj aktivnosti (117). Kim i sur. (118) su utvrdili da adiponektin može suprimirati stanice karcinoma debeloga crijeva djelujući na svoje receptore putem AMPK unutarstaničnog puta. Adiponektinski receptori AdipoR1 i AdipoR2 su izraženi u epitelu debelog crijeva te se smatra da adiponektin svoje protektivno djelovanje na staničnu proliferaciju i rast ostvaruje aktivacijom svojih receptora (119). Dokazana je inverzna povezanost T stadija kolorektalnoga karcinoma i izraženosti adiponektinskih receptora AdipoR1 i AdipoR2. To govori u prilog da obilna izraženost adiponektinskih receptora na tkivu kolorektalnog karcinoma može pospješiti pozitivan antiproliferativni učinak adiponektina, odnosno smanjena izraženost receptora pogodovati progresiji karcinoma (120). Povišene koncentracija leptina povezuju se s agresivnijim fenotipom tumora, višim stadijem karcinoma i prisutnosti mikrovaskularne invazije (121-123). Čini se da leptin nije uključen u rani stadij karcinogeneze karcinoma debeloga crijeva, već da je njegovo djelovanje izraženije nakon faze inicijacije tumora (124). Postoji hipoteza da su za raspoznavanje nepovoljnog adipokinskog profila u kolorektalnom karcinomu bitni i leptin i adiponektin. Povišen omjer leptina i adiponektina (nepovoljni omjer) mogao bi tako poslužiti kao prognostički faktor u bolesnika s kolorektalnim karcinomom (125).

Rezistin je također naveden kao neovisan čimbenik rizika za razvoj kolorektalnog karcinoma. Istraživanja su pokazala da su vrijednosti rezistina bile više u bolesnika s kolorektalnim karcinomom nego u zdravih osoba, te da su koncentracije rezistina rasle s progresijom tumora. Čak i nakon prilagodbe za dob, spol i BMI, vrijednosti rezistina su bile statistički značajno više, a nađena je i povezanost rezistina s vrijednostima C-reaktivnog proteina (CRP) (126). Nedavno objavljeno istraživanje o serumskoj koncentraciji rezistina u bolesnika s kolorektalnim karcinomom pokazalo je da je rezistin pozitivno povezan s koncentracijom inzulina. Povišene vrijednosti rezistina su statistički značajno bile povišene u osoba s karcinomom rektuma nego u kontrolnoj skupini ispitanika ($p = 0.043$) (127).

1.1.8. Inzulinska rezistencija i adenomi debeloga crijeva

Chiu i sur. (128) uočili su da je prisutnost metaboličkog sindroma bila značajnija u bolesnika s adenomima desnog debeloga crijeva i kod bolesnika s većim brojem adenoma debeloga crijeva. Do sličnih zaključaka su došli Kim i sur. (129), s tim da je uz metabolički sindrom i opseg struka opisan kao rizični čimbenik za nastanak adenoma debeloga crijeva. Morita i sur. (130) su u svojoj studiji metabolički sindrom, osim s adenomima desnoga debeloga crijeva, povezali i s veličinom adenoma (adenomima većim od 5 mm). Istraživanje na ukupno 1771 ispitanika s adenomima debeloga crijeva i 4667 bez adenoma iznijela je podatke kako su povećan opseg struka, arterijska hipertenzija i serumski trigliceridi povezani s povišenim rizikom za nastanak adenoma debeloga crijeva (131). Poveznica s metaboličkim sindromom bila je statistički značajna bez obzira na stadij adenoma ili njihovu brojnost, s tim da je poveznica bila značajnija za adenome desnoga debeloga crijeva u odnosu na adenome lijevoga debeloga crijeva. U tom istraživanju nije nađeno jasne poveznice metaboličkog sindroma i rizika za nastanak adenoma rektuma (131).

1.2. ADENOMI DEBELOGA CRIJEVA

Polipi debeloga crijeva su izrasline koje se izbočuju u lumen crijeva. Dvije trećine polipa debeloga crijeva su adenomi, a u slučaju da se u debelomu crijevu nađe jedan polip vjerojatnost da se u tog istog bolesnika nađe još jedan polip je 30 % do 50 % (132). Adenomi debeloga crijeva su benigne premaligne promjene u kojima napredovanjem displazije (od niskog prema visokom stupnju) može nastati karcinom. Srećom, samo manji dio adenoma prelazi u karcinom (do 5 posto svih adenoma) u razdoblju od 7 do 10 godina, a rizik progresije je viši u bolesnika s adenomima s visokim stupnjem displazije, većim adenomima ili adenomima koji sadrže viloznu komponentu (133).

1.2.1. Epidemiologija

Bolesnici s adenomima debeloga crijeva se najčešće otkriju u sklopu obrade anemije ili nakon pozitivnog nalaza testa okultnog krvarenja u stolici. Prevalencija adenoma raste s dobi, a pokazano je da je prevalencija adenoma debeloga crijeva u ispitanika u dobi od 50 do 75 godina 26 % (134). U dobi višoj od 75 godina prevalencija adenoma je bila između 36 % i 50 %, dok je u dobi od 20 do 49 godina bila između 1 % i 4 % (135, 136).

1.2.2. Rizični čimbenici

Kako je već navedeno, dob je rizični čimbenik za razvoj adenoma debelog crijeva i povezana je s adenomima koji sadrže displaziju visokog stupnja, neovisno o veličini ili histološkoj klasifikaciji adenoma (133). Muški spol je, neovisno o dobi, također rizični čimbenik za razvoj adenoma debeloga crijeva (137). Povišen indeks tjelesne mase je povezan s razvojem adenoma debeloga crijeva. Meta analiza 36 istraživanja je pokazala kako rizik za razvoj adenoma debeloga crijeva raste za 19 posto sa svakim porastom indeksa tjelesne mase za 5 kg/m², s tim da je porast rizika bio značajniji za adenome u desnom debelome crijevu (138). Abdominalna pretilost, koja ukazuje na povećanu količinu visceralnoga masnoga tkiva je također značajan rizični čimbenik za razvoj adenoma debeloga crijeva, a povećan opseg struka je pokazan kao značajan prediktor rizika adenoma debeloga crijeva u muškaraca (139). Aktivno pušenje se povezuje s tri puta većim rizikom od adenoma debelog crijeva s visokim stupnjem displazije u odnosu na nepušače (140). Osim navedenih, od vanjskih čimbenika odgovornih za razvoj adenoma debeloga crijeva spominje se konzumacija alkohola, povećan unos

masnoća i crvenog mesa, smanjeni unos povrća i vlakana kao i smanjena tjelesna aktivnost (141). Utjecaj nasljeđa je prisutan u 15 % do 20 % slučajeva adenoma debeloga crijeva (142). Ne smije se zanemariti i utjecaj kronične upale, jer osobe s upalnim bolestima crijeva, kao što je ulcerozni kolitis, imaju veći rizik od nastanka adenoma i karcinoma debeloga crijeva (143).

1.2.3. Klasifikacija

Adenome debeloga crijeva prema stupnju displazije dijelimo u adenome s niskim i adenome s visokim stupnjem displazije. Adenomi niskog stupnja („low grade“) displazije predstavljaju oko 80% svih adenomatoznih polipa, što je prema ranijoj klasifikaciji uključivalo adenoma s displazijom niskog i srednjeg stupnja (144, 145). Adenomi visokog stupnja displazije („high grade“), predstavljaju oko 10 % svih adenomatoznih polipa, što je prema ranijoj klasifikaciji označavalo adenome s displazijom visokog stupnja i karcinome „in situ“ (146). Adenomi visokog stupnja displazije nalaze se na klasifikacijskoj ljestvici između adenoma s displazijom niskog stupnja i karcinoma. U adenomima visokog stupnja displazije, displazija je ograničena na epitel i nema invazije u bazalnu membranu niti laminu propriju (147). Karcinom „in situ“ označava lezije u kojima tumorske stanice prolaze u laminu propriju ali ne prolaze u muskularis mukoze (148). Oko 5% do 7% bolesnika ima adenome s visokim stupnjem displazije, a 3 % do 5 % ima invazivni karcinom u trenutku dijagnoze. S veličinom adenoma raste i vjerojatnost da polip u sebi ima viši stupanj displazije, odnosno u malih adenoma (manjih od 5 mm) postotak displazije visokog stupnja je 1 % do 2 %, u adenomima veličine 5 do 10 mm je 7 % do 12 %, a u adenomima većim od 10 mm je 20 % do 30 % (149).

Histološki se adenomi klasificiraju u tubularne, vilozne i tubulo-vilozne adenome, ovisno o udjelu pojedine od komponenti (148). Oko 80 % svih adenoma debeloga crijeva su tubularni adenomi. Da bi se adenom klasificirao kao tubularni, tubularna komponenta mora biti zastupljena u bar 75 posto adenoma (148). Da bi se adenom karakterizirao kao vilozni, vilozna komponenta mora biti prisutna u više od 75 % adenoma, a oni predstavljaju 5 % do 15% svih adenoma debeloga crijeva. Svi ostali adenomi se klasificiraju kao tubulovilozni i čine oko 5 % do 15 % adenoma debeloga crijeva (148). Endoskopski se adenomi debeloga crijeva od 2000-te godine klasificiraju prema Pariškoj klasifikaciji površinskih neoplastičnih promjena gastrointestinalnog sustava (150). Adenomi spadaju u površinske neoplastične promjene, a dijele se na adenome na peteljci (tip 0-Ip), sesilne adenome na širokoj bazi (tip 0-Is), adenome u razini stijenke (tip 0-II) i „flat adenome“ (tip 0-III). Adenom ćemo prema Pariškoj

klasifikaciji označiti kao sesilni (tip 0-Is) ako mu je visina manja od polovice promjera. Adenomi na peteljci (tip 0-Ip) znatno rjeđe pokazuju visoki stupanj displazije u odnosu na druge tipove adenoma iste veličine (151).

1.2.4. Adenom-karcinom sekvenca

Osim epidemioloških istraživanja koje povezuju pojavu adenoma s karcinomom debeloga crijeva, brojna su molekularna i genetska istraživanja koja dokazuju adenom-karcinom sekvencu (152). Prema hipotezi „multiplih pogodaka“ koju su 1990. godine postavili Fearon i Vogelstein (153), za razvoj kolorektalnog karcinoma potrebna je inaktivacija tumor supresor gena ili aktivacija onkogeni i prisutnost genske nestabilnosti koji su posljedica niza nekoliko mutacija (153). Inicijalni model je kroz godine istraživanja proširen te sada poznajemo tri ključna puta u nastanku adenoma debeloga crijeva i kolorektalnoga karcinoma; to su kanonski ili supresijski put (engl. chromosomal instability pathway, CIN), mikrosatelitska nestabilnost (MSI) ili mutacijski put i epigenetički proces metilacije CpG otočića deoksiribonukleinske kiseline (CIMP) (154). Rani događaj u kanonskom putu je hiperaktivacija Wnt signalnog puta koja se događa zbog mutacije APC gena (155). Poremećaj Wnt signalnog puta posljedica je nedostatka funkcionalnog APC gena što dovodi do nemogućnosti upravljanja mehanizmima koji su odgovorni za stanični ciklus i tumorski rast (156). Greška u kontroli proliferacije i diferencijacije epitelnih stanica dovodi do nagomilavanja drugih grešaka u genima značajnim za stanični ciklus kao što su inaktivacija tumor supresorskih gena DCC, SMAD2, SMAD4 te aktivacija onkogeni RAS i BRAF (157). Kasni događaj u ovom procesu je gubitak djelovanja tumor supresorskog gena p53 koji je inače odgovoran za kontrolu apoptoze stanica (154). Prema Fearonu i Vogelsteinu (153) mutacija u genu p53 koincidira s prelaskom adenoma visokoga stupnja displazije prema karcinomu. Mutacija u genu p53 nađena je u do 26 % adenoma, 50 % adenoma sa žarištima karcinoma, te u do 75 % kolorektalnih karcinoma (158).

Mehanizam mikrosatelitske nestabilnosti označava inaktivaciju gena koji ispravljaju pogreške DNA polimeraze u mikrosatelitskim sekvencama („mismatch repair“ ili MMR geni) (156). Poznato je najmanje sedam gena MMR sustava: hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 i hPMS2, a nalaze su u oko 15% do 20% sporadičnih kolorektalnih karcinoma (159). Testiranje mikrosatelitske nestabilnosti provodi se s pet ili više mikrosatelitskih biljega. Ukoliko više od 30 % biljega pokaže nestabilnost kolorektalni karcinom se klasificira s visokim stupnjem mikrosatelitske nestabilnosti (160).

Takvi karcinomi se češće javljaju u žena, obično u mlađoj dobi, smješteni su većinom u desnom kolonu, imaju bolje ukupno preživljenje i slabiju sposobnost za davanje metastaza (161).

Epigenetske promjene, odnosno metilacija ili izostanak metilacije CpG otočića DNA koji reguliraju aktivnost gena važnih u staničnim procesima, povezane su s nastankom karcinoma kolona (162).

Bolesnici s kolorektalnim karcinomom i navedenim epigenetskim promjenama češće su ženskog spola, tumori se češće nalaze u desnom kolonu i imaju izraženu mucinoznu komponentu (163).

1.2.5. Dijagnostika

Ako se uzme u obzir da adenomi debeloga crijeva manji od 10 mm ne krvare, onda je test okultnog krvarenja (gvajak test), pozitivan u samo 3 % asimptomatskih osoba iznad 40-te godine života, nedovoljno osjetljiva metoda za otkrivanje adenoma debeloga crijeva (164). Kada su analizirani ispitanici s adenomima debeloga crijeva koji su se testirali na test okultnog krvarenja iz stolice, manje od 40% ih je bilo pozitivno (165). Osim testa okultnog krvarenja postoje imunološki testovi, koji mogu prepoznati prisustvo ljudskog hemoglobina u stolici, odnosno karcinomske humane DNA u stolici (166). Iako pokazuju bolju osjetljivost i specifičnost od gvajak testa, prema rezultatima istraživanja otkrivaju samo 30 % do 60 % svih neoplazmi debeloga crijeva, a samo 25 % do 27 % adenoma debeloga crijeva (167). Totalna kolonoskopija je u svakom slučaju nadmoćna drugim metodama u otkrivanju adenoma jer se po detekciji adenoma on može u istom aktu i odstraniti (168). Nažalost postoje ograničenja korištenja kolonoskopije u osnovnom probiru jer je ona ipak invazivna pretraga, u 5 % do 10 % bolesnika nije moguće intubirati cecum, a zbog loše pripreme za kolonoskopiju u nekih bolesnika postoji velika mogućnost previda pojedinih adenoma. Vjerojatnost da se previdi adenom manji od 10 mm iznosi 15 % do 27 % a adenoma većih od 10 mm 13 % (169). Ozbiljne komplikacije kolonoskopije zabilježene su u samo 0,28 % slučajeva, a u više od 85 % slučajeva komplikacije su se dogodile pri samoj proceduri odstranjenja adenoma (170). CT i MR kolografija zahtijevaju pripremu bolesnika za pregled uz ponekad insuflaciju zraka te su samo dijagnostička, ne i terapijska opcija (170).

1.2.6. Endoskopska resekcija

Endoskopija je ključna u liječenju adenoma debeloga crijeva. Manji adenoma se odstranjuju mehaničkom resekcijom uz pomoć polipektomijske omče (eng. „cold snare excision”). Veći adenomi

se zbog većeg rizika krvarenja moraju prvo odignuti ubrizgavanjem fiziološke otopine, a potom se elektroreseciraju polipektomijskom omčom. Idealno je ako se adenom odstrani u jednom komadu, no kod adenoma većih od 2 cm može se raditi resekcija u dijelovima ("peacemeal") uz termokoagulaciju rubova polipektomijskog reza. Veliki adenomi se osim u dijelovima mogu odstranjivati i metodama endomukozne resekcije ili submukozne disekcije (171).

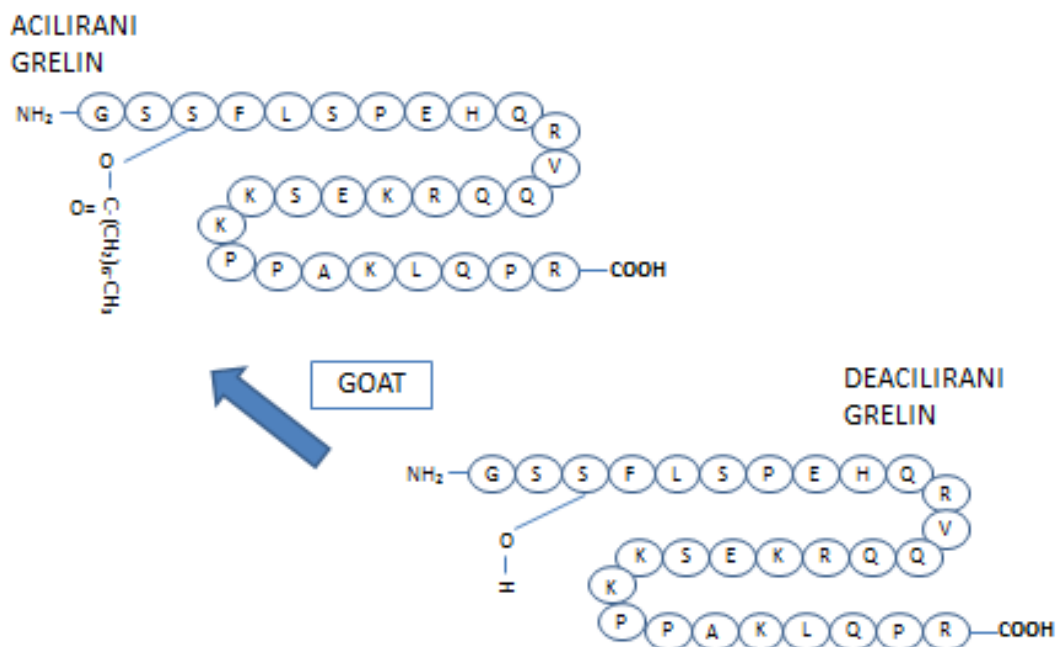
1.2.7. Praćenje bolesnika

Nakon polipektomije adenoma debelog crijeva, ključno je odrediti raspored praćenja, odnosno vrijeme kontrolne kolonoskopije. Na temelju nalaza veličine i broja adenoma i stupnja displazije u adenomu određuje se potreba za kontrolnom kolonoskopijom, odnosno vremenski period u kojem je potrebno učiniti kontrolnu kolonoskopiju (172). Tako bolesnici s do 2 tubularna adenoma veličine do 10 mm s niskim stupnjem displazije spadaju u skupinu niskog rizika za recidiv adenoma i preporučuje se kontrolna kolonoskopija za 10 godina. Kod bolesnika s tri ili više tubularnih adenoma, adenomima većim od 10 mm ili adenomima s viloznom komponentom, koje smatramo visikorizičnim adenomima, savjetuje se kontrolna kolonoskopija za 3 godine. Ako se tada ne detektira visikorizični adenom kontrolna kolonoskopija se planira za 5 godina, a u svim ostalim slučajevima ponovno za 3 godine. U bolesnika kojima se kolonoskopijom nađe više od 10 adenoma potrebno je provesti i genetsko savjetovanje. Nakon endoskopske resekcije adenoma visokog stupnja displazije bez patohistološki jasne slobodne rezne plohe, preporučuje se ponavljanje kolonoskopije kroz 6 mjeseci, a ako se histološki potvrdi adenom sa žarištem intramukoznog karcinoma kontrolna kolonoskopija se izvodi za 3 do 6 mjeseci (172).

1.3. GRELIN

1.3.1. Struktura grelina

Grelin je endogeni ligand receptora sekretagognog hormona rasta (GHS-R) koji su 1999. godine identificirali Kojima i sur. (173) iz želuca štakora. Nazvan je po proto-indo-europskoj riječi "ghre" što znači rasti obzirom da stimulira oslobađanje hormona rasta (GH). Grelin je peptid koji sadrži 28 aminokiselina s posttranslacijskom modifikacijom n-oktanoičnom masnom kiselinom na serin 3 regiji (S3) (Slika 1). Za sada je jedini poznati peptidni hormon koji je modificiran masnom kiselinom, a koja je ujedno i zaslužna za njegovu aktivnost (174).



Slika 1. Struktura humanog grelina. Acilirani grelin je peptidni hormon s modifikacijom S3 regije masnom kiselinom (n-oktanoična) koja je odgovorna za njegovu biološku aktivnost. (Prilagođeno prema Kojima i sur. Results Probl Cell Differ. 2008;46:89-115. (174))

1.3.2. Gen za grelin

Grelin nastaje proteolitičkim cijepanjem prekursorskog peptida preprogrelina čiji se gen nalazi na kratkom kraku kromosoma 3 (174). Humani preprogrelin prolazi proteolitičko cijepanje kojim nastaje zreli grelin i C-terminalni peptid naziva C-grelin. C-grelin se dalje proteolitički modificira u funkcionalni peptid naziva obestatin sastavljen od 23 aminokiseline. Incijalno se smatralo da obestatin ima antagonističko djelovanje grelinu i da je stoga i gen koji kodira preprogrelin izuzetno važan u održavanju metaboličke i energetske homeostaze. Potpuni opseg njegovog djelovanja još je uvijek predmet istraživanja (175-177). Otkriveno je nekoliko kodirajućih egzona koji predstavljaju mjesta na kojima počinje transkripcija gena za grelin što ukazuje na njegovu kompleksnost kao i na moguće nove biološki aktivne varijante peptida (178). Iako neke od tih varijanti peptida, kao što je des-Gln14-grelin koji ima deleciju glutamina, nemaju drugačiju funkciju od nativnog grelina, dokazano je da su pojedine varijante grelina pojačano izražene u zloćudnim tumorima (175). Tako je produkt preprogrelina, u kojem je došlo do izostavljanja trećeg egzona i koji zbog toga nema mogućnost kodiranja obestatina, pojačano izražen u karcinomu prostate i dojke (178).

1.3.3. Gen za grelini receptor

Gen za grelini receptor (GHS-R) se u ljudi također nalazi na trećem kromosomu. Sastoji se od dva egzona i alternativnim izrezivanjem mogu se dobiti dva tipa glasničke ribonukleinske kiseline (mRNA). Oni kodiraju dva G protein spregnuta receptora GHS-R1a i GHS-R1b. GHS-R1a mRNA kodira receptor koji se sastoji od sedam transmembranskih domena, dok GHSR1b mRNA kodira receptor s pet transmembranskih domena (179). GHS-R1a receptor je odgovoran za prenošenje signala nakon vezanja aciliranoga grelina i sintetičkih segretagoga hormona rasta. Za aktivaciju samoga receptora, nužna je posttranslacijska modifikacija grelinškoga receptora na Ser3 regiji jer mu pruža potrebnu visoku konformacijsku fleksibilnost. Kada je eksperimentalno izvedena acilacija na drugim regijama grelinškoga peptida od uobičajene, uočena je smanjena funkcija grelina (180). Daljnje prenošenje signala unutar stanice nakon vezanja grelina za GHS-R1a receptor je multifaktorijalno i ovisi o tipu stanice. U somatotrofnim stanicama, GHS-R1a aktivacija je posljedica mobilizacije kalcija preko sustava Gq/11 protein/fosfoinozimid specifične fosfolipaze C (181). Za sada još nije u potpunosti objašnjena funkcija GHSR1b receptora. Dugo se smatralo da on nema aktivnu funkciju (174), no Wasseem i sur. (182) su utvrdili da dvije linije stanica karcinoma kolona (SW-48 i RKO) značajno luče

grelin i pojačano izražavaju GHS-R1b u usporedbi sa zdravim stanicama kolona. Da bi utvrdili podvrstu receptora odgovornu za proliferaciju posredovanu grelinom, RNA interferirajućom tehnikom su suprimirali GHS-R1a i analizirali utjecaj grelina i deaciliranog grelina na proliferaciju stanica kolona. Rezultati su ukazali da proliferacijski učinak grelina nije bio ometen blokadom GHS-R1a receptora što govori u prilog da bi neendokrine biološke funkcije grelina (utjecaj na proliferaciju stanica i apoptozu) mogle biti posredovane i drugim GHS-R receptorima koji se tek trebaju otkriti (182).

1.3.4. Posttranslacijska modifikacija grelina

Grelinski peptid, kao što je ranije navedeno, mora proći posttranslacijsku modifikaciju, na Ser3 skupini uz pomoć enzima grelin-O-acil transferaze (GOAT) vezanog na membranu stanice (183). Ljudski gen za GOAT se nalazi na kromosomu 8p12 i sekvenca mu je evolucijski očuvana u svim skupinama kralježnjaka (184). GOAT je politopni integralni membranski protein čiji je profil izraženosti u tkivima vrlo sličan grelinu, a najveća izraženost je zabilježena u želucu, gušterači i crijevima (185). GOAT u lumenu endoplazmatskog retikuluma modificira Ser3 regiju progrelina nakon cijepanja preprogrelina (186). Iako GOAT može na Ser3 regiju vezati različite masne kiseline, smatra se da je oktanoična kiselina (C8:0) ključna za proces acilacije. Čak i u slučaju acilacije drugom masnom kiselinom nije *in vitro* nađena značajna razlika u sposobnosti vezanja grelina na receptor ili utjecaju na sposobnost lučenja GH (187).

1.3.5. Patofiziologija

Dugo je kao glavna funkcija grelina smatrana njegova modulatorna uloga u regulaciji raspoloživih energetskih resursa te stimulaciji apetita. Grelin je inicijalno otkriven zbog svoje funkcije da stimulira oslobađanje hormona rasta, a djelovanje ostvaruje preko GHS-R1 receptora koji se u većoj koncentraciji nalaze u hipotalamo-hipofiznoj regiji (173). Grelin osim navedenog stimulira sekreciju prolaktina i adrenokortikotropnog hormona, negativno djeluje na os hipofiza – gonade na centralnoj i perifernoj razini, kontrolira motilitet želuca i sekreciju kiseline te modulira egzokrinu i endokrinu funkciju gušterače. Također utječe na koncentraciju glukoze, inzulinsku rezistenciju i progresiju zloćudnih stanica (188).

Kojima i sur. (173) su otkrili da se grelin-imunoreaktivni neuroni nalaze u hipotalamičkoj arkuatnoj jezgri, a da je GHS-R mRNA prisutna u hipotalamusu i hipofizi. Ovi rezultati upućuju da grelin može

djelovati utjecajem preko hipotalamusa ili nakon prijenosa u prednji režanj hipofize. Iako su Kojima i sur. (173) smatrali da se grelin proizvodi u želucu te posljedično ima endokrino djelovanje, u kasnijim istraživanjima dokazano je da se grelin i GOAT stvaraju i u hipofizi, što upućuje na parakrinu, odnosno autokrinu regulaciju oslobađanja hormona hipofize lokalno proizvedenim grelinom (189, 190). Osim toga, obzirom na vrlo nisku propusnost krvno-moždane barijere za prijelaz grelina iz krvi u središnji živčani sustav, smatralo se da je djelovanje grelina posredovano aferentnim vagusnim vlaknima, djelovanjem preko neuropeptida Y i hormona koji oslobađa djelovanje hormona rasta i da se grelinom stimuliran apetit i sekrecija GH može prekinuti vagotomijom (191, 192). Međutim ta je ideja opovrgnuta drugim istraživanjima kojima se grelinom posredovana stimulacija apetita uspostavila i nakon gastrektomije, odnosno vagotomije (193,194).

Deacilirani grelin je zbog prvotnog mišljenja da se radi o inaktivnoj formi bio zanemarivan u istraživanjima. Inhoff i sur. (195) su dokazali da iako deacilirani grelin nije imao utjecaja na apetit, kada se istovremeno primijenio s aciliranim grelinom blokirao je stimulativni učinak koji acilirani grelin ima na apetit. Ovaj efekt je bio uočen u arkuatnoj jezgri hipotalamusa gdje je zamijećena smanjena aktivacija nesfatin-1 imunoreaktivnih neurona u slučaju istovremene primjene aciliranoga i deaciliranoga grelina (195).

Grelina, kao što je navedeno, stimulira i oslobađanje prolaktina iz laktotropnih stanica (196, 197).

Dokazano je također da acilirani grelin potiče sekreciju proopiomelanokortina, prekursora adrenokortikotropnoga hormona, s tim da bi efekt mogao ovisiti o metaboličkom statusu organizma (197,198). Acilirani grelin kontrolira otpuštanje adrenokortikotropnoga hormona na razini hipofize povećavajući slobodni citoplazmatski kalcij i na hipotalamičkoj razini stimulirajući kortikotropni oslobađajući hormon i arginin-vazopresin osovinu (199, 200). Također je dokazano da acilirani grelin modulira akutni odgovor na stres preko adrenokortikotropnoga hormona, kontrolirajući hipotalamičko – hipofiznu osovinu (201).

Grelina djeluje na lučenje hormona prednjeg režnja hipofize. Primjena aciliranoga grelina inhibira otpuštanje luteinizirajućega hormona te folikostimulirajućega hormona u muškaraca i žena (202-204). Nasuprot tome, utjecaj aciliranoga grelina na lučenje tireotropina nije jednoznačno definiran (205, 206). Iako je nađeno da grelin utječe i na hormone stražnjeg režnja hipofize, obzirom da GHSR nije prisutan u stražnjem režnju hipofize, pretpostavlja se da je njegovo djelovanje posredno, vjerojatno preko neuropeptid Y neurona (207, 208).

Kao što je Kojima sa sur. (173) opisao u svom radu, najveća količina grelina se proizvodi u želucu. Proizvodi ga posebna populacija endokrinih stanica (A stanice) koje se nalaze u želučanoj sluznici (173). Osim u želucu, grelin se proizvodi i u drugim dijelovima probavnog sustava, što je u skladu s izraženosti grelinskoga receptora u svim tkivima probavnog sustava (209, 210).

Dokazano je da grelin povećava broj i snagu kontrakcija u želucu i u tankomu crijevu i ubrzava pražnjenje želuca (211-214). Zanimljivi su rezultati istraživanja koje je dokazalo da hormoni stresa (adrenalin, noradrenalin, endotelin i sekretin) potiču lučenje grelina na razini želuca (215).

U gušterači su ϵ (epsilon) stanice odgovorne za proizvodnju i lučenje grelina, iako je dokazano da se grelin može lučiti i iz drugih stanica gušterače (216-218). Ove spoznaje sugeriraju da osim endokrine postoji parakrina, odnosno autokrina regulacija grelinom na razini gušterače. Više o tome će biti riječi u poglavlju o grelinu i inzulinskoj rezistenciji (vidi poglavlje 1.3.8.).

1.3.6. Acilirani i deacilirani grelin

Grelin koji su opisali Kojima i sur. (173) je acilirani oblik grelina i u većini se studija referira na njegovu aciliranu formu. Osim aciliranoga grelina tada je opisan i deacilirani grelin, vjerojatno nastao kao produkt razgradnje aciliranoga grelina. Obzirom na smanjenu sposobnost vezanja za grelinski receptor deacilirani grelin se smatrao inaktivnom formom grelina i dugo je bio zanemarivan u znanstvenim istraživanjima (174) (Slika 1). Naime, acilirani grelin ima 10000 puta veći afinitet za vezanje za grelinski receptor od deaciliranoga grelina (219).

U ljudskom serumu prisutni su i acilirani i deacilirani grelin, s tim da većinu cirkulirajućeg ukupnog grelina predstavlja deacilirani grelin dok acilirani grelin čini samo 10 %. Također, studija na zdravim dobrovoljcima je pokazala da su vrijednosti ukupnog grelina više kod žena u odnosu na muškarce i to zbog viših vrijednosti aciliranoga grelina (220).

Cirkulirajući acilirani grelin je objekt deacilacije, a naknadno i cijepanja s poluvijekom života u ljudi od oko 240 minuta (221).

Istraživanja na životinjskim modelima ukazala su da je koncentracija plazmatskoga grelina i grelin mRNA pojačano izražena nakon dužeg posta, a studije na zdravim dobrovoljcima su utvrdile da se koncentracije smanjuju nakon obroka (222-225). Bitno je naznačiti da su sve studije koncentraciju grelina mjerile radioimunonološkim određivanjem (RIA). Istraživanje na zdravim ispitanicima, koristeći imunoenzimsku (ELISA) metodu, primijetilo je da su ukupne vrijednosti grelina korelirale s rezultatima

dobivenim RIA, međutim udio aciliranoga grelina dobiven ELISA metodom bio je viši (220). Novije istraživanje koje je analiziralo koncentracije grelina mjerene ELISA metodom, zamjetilo je da uz normalni raspored obroka koncentracije aciliranoga grelina i deaciliranoga grelina rastu i padaju ovisno o unosu hrane. Tako su nakon dužeg posta zabilježene više vrijednosti deaciliranoga grelina, dok je nakon obroka zabilježena viša vrijednost aciliranoga grelina (226). Nalazi tih istraživanja podudaraju se s opservacijom da je koncentracija aciliranoga grelina viša nakon obroka bogatog trigliceridima. Kao objašnjenje za to predložena je veća raspoloživost masnih kiselina potrebnih GOAT-u za acilaciju grelina (227).

1.3.7. Grelina i pretilost

Grelina ima značajnu ulogu u regulaciji ravnoteže energije. U ljudi je koncentracija grelina obrnuto proporcionalna porastu tjelesne mase, pretilosti i inzulinskoj rezistenciji, a proporcionalna gubitku tjelesne mase potaknutom vježbanjem i nisko-energetskom dijetom (228).

Što je važnije, u pretilih osoba, niže vrijednosti ukupnoga grelina su bile zabilježene na račun sniženih vrijednosti deaciliranoga grelina, dok razlike u koncentracijama aciliranoga grelina nisu zabilježene uspoređujući pretilu s osobama uredne tjelesne mase (229). Osobe koje se prejedaju nakon dužih perioda posta (binge-eaters), bez epizoda povraćanja nakon obroka, predstavljaju oko 30% pretilih osoba. U njih su zabilježene izrazito niske vrijednosti grelina, ali više kao posljedica prejedanja, a ne kao uzrok istog (230). U zdravih osoba koje produženo gladuju zabilježene su snižene vrijednosti grelina (231). U bolesnika s anoreksijom nervosom su zabilježene povišene vrijednosti grelina, a na temelju rezultata meta-analiza zaključuje se da se vjerojatno radi o smanjenoj osjetljivosti središnjeg živčanog sustava na grelina (232). Povišene vrijednosti su također zabilježene u Hashimotovom tireoiditisu, ali ne i u pretilih osoba s Cushingovim sindromom (233, 234).

Grelinski receptor je izražen u masnom tkivu, a otkriveno je da grelina preko tih receptora potiče diferencijaciju preadipocita u adipocite, njihovu proliferaciju i inhibira apoptozu masnih stanica. Ovaj efekt bio je posredovan MAP kinaznim te fosfatidilinozitol 3-kinaza/Akt putem (235). Istraživanja na životinjskim modelima utvrdila su da je efekt proliferacije masnog tkiva infuzijama aciliranoga grelina najviše izražen u retroperitonealnom masnom tkivu, a manje u subkutanom, te da infuzije deaciliranoga grelina nisu utjecale na povećanje masnog tkiva. Zapaženo je i da grelina potiče steatozu jetre, povećavajući broj lipidnih kapljica i koncentraciju triacilglicerola djelovanjem preko GHS-R1a

receptora (236). Iako je ranije navedeno istraživanje utvrdilo da deacilirani grelin nema utjecaja na masno tkivo, istraživanje na FABP4-grelin transgeničnim miševima kod kojih su zabilježene visoke vrijednosti deaciliranoga grelina utvrdilo je da su takvi miševi otporniji na pretilost uzrokovanu dijetom bogatom mastima, pokazuju bolju osjetljivost na glukozu nakon davanja glukoze, te imaju bolji inzulinski profil (237).

1.3.8. Grelina i inzulinska rezistencija

Za utjecaj grelina na inzulinsku rezistenciju prvo treba sagledati utjecaj grelina na gušteraču, odnosno utjecaj na koncentraciju glukoze, glukagona i lučenje inzulina. Dezaki i sur. (218) su u svom istraživanju uočili da intraperitonealno apliciran grelin neovisno o hormonu rasta djeluje na porast koncentracije glukoze natašte, povisuje koncentraciju glukoze u plazmi i atenuira odgovor inzulina tijekom testa opterećenja glukozom. Također su zaključili da endogeni grelin djeluje na beta stanice gušterače i ograničava sekreciju inzulina kao odgovor na glukozu (218). Do istih zaključaka su došli i u istraživanju na ljudima gdje je primjena grelina uzrokovala porast koncentracije glukoze te smanjila sekreciju inzulina (238). Uz to je dokazano da acilirani grelin manje djeluje na vrijednosti inzulina i glukoze natašte, odnosno da je utjecaj na homeostazu glukoze značajniji nakon obroka (239). Osim utjecaja na izlučivanje inzulina, dokazano je da grelin djeluje i na glukagon. Naime, mRNA GHSR je izražena u gušterači i podudara se s izraženosti glukagona u alfa stanicama gušterače. Primjena aciliranoga grelina i kronična izloženost aciliranom grelinu utjecali su na porast koncentracije plazmatskog glukagona i povisili su koncentraciju glukoze u serumu. Ovaj efekt je također bio posredovan oslobađanjem unutarstaničnog kalcija i fosforilacijom izvanstanično reguliranog kinaznog puta (240).

Osim djelovanja na gušteraču, obzirom na rasprostranjenost grelinskoga receptora i na drugim tkivima u tijelu, provedena su istraživanja o utjecaju grelina na inzulinsku rezistenciju perifernih tkiva. Tako je uočeno da acilirani grelin inducira lipolizu i inzulinsku rezistenciju u mišićima neovisno o hormonu rasta ili kortizolu (241). Također je dokazano da deacilirani grelin prevenira porast koncentracije glukoze induciran aciliranim grelinom i da prevenira aciliranim grelinom izazvano pogoršanje inzulinske osjetljivosti (242). Istraživanje istih autora nekoliko godina kasnije pokazalo je da deacilirani grelin pojačava oslobađanje inzulina stimulirano prisutnošću glukoze, te da bi mogao imati neovisnu ulogu u regulaciji metabolizma glukoze i lipida (243). Ukupni grelin i deacilirani grelin u obrnutom su

odnosu na vrijednosti inzulina i HOMA-IR-a, suprotno od aciliranoga grelina i omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina koji su pokazali pozitivan odnos. Uspoređujući pretile osobe s metaboličkim sindromom i osobe uredne tjelesne mase, pretile osobe s metaboličkim sindromom su imale niže vrijednosti ukupnog grelina i deaciliranoga grelina ali slične vrijednosti aciliranoga grelina te viši omjer aciliranoga prema deaciliranom grelinu (244).

U istraživanju koje je uspoređivalo utjecaj aciliranoga grelina na homeostazu glukoze ovisno o dobi, zaključeno je da grelin neovisno o dobi utječe na porast koncentracije glukoze i pad u koncentraciji inzulina, no kod starijih osoba promjene su bile manje izražene (197).

Pacifico i sur. (245) su pokazali u istraživanju na ukupno 210 djece da su inzulin i HOMA-IR bili obrnuto proporcionalni ukupnom i deaciliranomu grelinu, a proporcionalni aciliranom grelinu, neovisno o dobi ili spolu. Pretila djeca s metaboličkim sindromom su imala niže vrijednosti ukupnoga grelina i deaciliranoga grelina u usporedbi s pretilom djecom bez metaboličkog sindroma. Kada su se usporedile vrijednosti u djece uredne tjelesne mase s i bez metaboličkog sindroma, primjećeno je da su kod djece uredne mase s metaboličkim sindromom zabilježene više vrijednosti aciliranoga grelina, odnosno viši omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina. Također je dokazano da su acilirani grelin i omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina bili proporcionalni HOMA-IR-u, neovisno o dobi, spolu, BMI-u ili opsegu struka (245). Druga studija, također na djeci, uočila je da su vrijednosti grelina natašte bile obrnuto proporcionalne indeksu tjelesne mase i opsegu struka, a nije nađeno statistički značajne poveznice s postotkom masnog tkiva mjerenoj bioimpedancijskom metodom (246). Pedrosa i sur. (247) su također u djece uočili da su vrijednosti grelina bile negativno povezane s BMI-om, HOMA-IR-om i koncentracijom inzulina. U odraslih osoba sa šećernom bolesti tipa dva, pokazano je da je DM tipa dva i istovremena prisutnost DM tipa dva i inzulinske rezistencije bila povezana s nižim vrijednostima grelina. Grelina je bio obrnuto proporcionalan s HOMA-IR-om, BMI-om, tjelesnom masom i koncentracijom inzulina (248). Kada su uspoređene pretile i osobe normalne tjelesne mase s DM-om tipa dva, zapaženo je da su pretile osobe imale niže, a osobe normalne tjelesne mase više vrijednosti grelina natašte. Vrijednosti grelina natašte su bile obrnuto proporcionalne BMI-u i u osoba sa i u onih bez DM-a tipa dva (249). U istraživanjima koja su ukazala na drugačije odnose obično se mjerio ukupni grelin, bez razlikovanja aciliranoga i deaciliranoga grelina (250, 251). Recentno objavljeni podatci na velikoj kohorti od 716 ispitanika u sjevernoj Italiji, u sklopu epidemiološkog istraživanja, nakon praćenja od 5 godina, pokazali su da su ukupni grelin i deacilirani grelin negativno povezani s

bazalnim HOMA-IR vrijednostima i da nevisno od drugih čimbenika mogu predvidjeti promjene u HOMA-IR-u nakon 5 godina promatranja. Nije uočeno slične poveznice s vrijednostima aciliranoga grelina. Tim su istraživanjem ukupni i deacilirani grelin predloženi kao potencijalni modulatori inzulinske rezistencije koji bi mogli predvidjeti moguće metaboličke promjene u ljudi (252).

1.3.9. Grelin i tumorogeneza

Sve je više dokaza kako grelin regulira brojne procese koji su ključni u karcinogenezi (253). Kao što je ranije navedeno, grelin stimulacijski djeluje na otpuštanje hormona rasta i regulator je GH/IGF-1 puta, koji je uključen u progresiju tumora (254). Brojna su istraživanja na tumorima proučavala ekspresiju grelina i grelinskoga receptora u tkivu karcinoma bubrega, hipofize, gušterače, štitnjače, dojke, jajnika, endometrija, prostate, želuca, jednjaka i kolorektalnog karcinoma (189, 255-261). Obzirom da je djelovanje grelina u početku najviše bilo povezano s utjecajem na hipofizu i hipotalamus, istražena je izraženost grelina i grelinskoga receptora u zdravim stanicama hipofize i stanicama tumora. Pokazano je da su grelinski receptor i grelin izraženi i u zdravim i promijenjenim stanicama hipofize što je osim endokrinog ukazalo i na autokrino, odnosno parakrino djelovanje lokalno proizvedenoga grelina (189). Istraživanje koje je proučavalo izraženost grelina i grelinskoga receptora na glioblastomima, anaplastičkim astroцитomima i difuznim astroцитomima pokazalo je da astroцитomi i glioblastomi pokazuju umjerenu do snažnu izraženost grelina i grelinskoga receptora. Pojačana izraženost grelina u tkivu pojedinog tumora bila je pozitivno povezana s većom veličinom tumora i lošijim preživljenjem (262). Istraživanje na normalnom tkivu gušterače i tkivu endokrinih tumora gušterače otkrilo je da su i grelin i grelinski receptori izraženi u zdravom tkivu gušterače, gotovo isključivo u β stanicama gušterače, dok je sam grelin izražen u oko 30 % endokrinih tumora gušterače, a grelinski receptor u 50 % endokrinih tumora gušterače (255). U stanicama adenokarcinoma gušterače, koje su imale izražen receptor za grelin, ali same nisu izražavale grelin, dokazano je da se izlaganjem grelinu potiče njihova proliferacija, invazivnost i pokretljivost (263). Izraženost grelina u tumorima bubrega je bila niža ili gotovo u potpunosti odsutna, u odnosu na izraženost grelina u zdravom tkivu bubrega (256). Tkivo štitnjače u odraslih ne proizvodi grelina, ali se u tumorima štitnjače zamjećuje sposobnost proizvodnje grelina. Grelinski receptor je izražen i u normalnom i tumorskom tkivu štitnjače (257). Dobro diferencirani tumori dojke pokazuju snažnu sposobnost vezanja grelina, ali se sposobnost vezanja grelina progresivno gubi od umjereno prema loše diferenciranim tumorima (264). Izraženost

grelina u tumorima jajnika nižeg stadija je bila viša u odnosu na tumore višeg stadija (258). U tkivu endometrija u proliferacijskoj fazi je pronađena snažna izraženost grelina, dok se ona smanjuje u tkivu hiperplastičnog endometrija, a potpuno gubi u karcinomu endometrija (259). U stanicama tumora prostate i normalnog tkiva prostate dokazana je izraženost grelina i grelinskoga receptora, ali su stanice tumora prostate nakon tretiranja grelinom izrazile 33 % veću proliferacijsku sposobnost u odnosu na stanice koje nisu bile tretirane grelinom (260). Nekoliko je prospektivnih istraživanja proučavalo vezu koncentracije serumskoga grelina s tumorima probavnoga sustava. Istraživanje na hiperplastičnim polipima želuca zabilježila je snižene vrijednosti serumskoga grelina u odnosu na bolesnike s gastritisom i benignim ulkusom želuca (265). Obzirom da stanice adenokarcinoma želuca i jednjaka nisu proizvodile grelin zaključeno je da tumorske stanice gube sposobnost lučenja grelina (266). Pokazano je da osobe s niskim vrijednostima ukupnoga serumskoga grelina imaju 5 puta veći rizik od razvoja adenokarcinoma jednjaka (267). Do sličnih su rezultata došli i u istraživanju koje je pokazalo 5 puta veći rizik od razvoja adenokarcinoma ezofagogastričnog prijelaza te adenokarcinoma želuca u osoba s niskim vrijednostima grelina. Za karcinom pločastih stanica jednjaka rizik je bio sedam puta veći u najnižoj kvartili koncentracije grelina (268). Navedena istraživanja govore u prilog da su niske serumske vrijednosti grelina bile povezane s najčešćim malignim tumorima gornjega probavnoga sustava, usprkos drugačijoj etiologiji i rizičnim faktorima za nastanak navedenih tumora.

1.3.10. Grelina i tumori debelog crijeva

Prema našim saznanjima do sada nema objavljenih istraživanja koja su proučavala izraženost grelina i grelinskoga receptora u adenomima kolona. Povezanost grelina i karcinoma debelog crijeva je za razliku od adenoma debelog crijeva proučavana u nekoliko istraživanja (269-271). U finskom istraživanju na pušačima (527 slučajeva kolorektalnoga karcinoma i isti broj zdravih ispitanika), koji su praćeni u razdoblju od 20 godina, pokazano je da su nakon 10 godina praćenja bolesnici s nižim vrijednostima serumskoga grelina imali 21 puta veći rizik od razvoja karcinoma debelog crijeva i to 7 puta veći rizik od razvoja karcinoma rektuma (269). Nasuprot tome, recentno objavljeno istraživanje na značajno manjem broju bolesnika, koje je pokušalo kopirati uvjete ranije navedenog istraživanja, nije utvrdilo povezanost niskih vrijednosti grelina s rizikom razvoja karcinoma debelog crijeva u razdoblju praćenja od 5 godina (270). Rezultati istraživanja na bolesnicima s karcinomom debelog crijeva su pokazali da se ekspresija grelina i grelinskoga receptora gubi u tumorima višega stadija što govori u

prilog da je grelin bitniji u ranim fazama tumorogeneze. Međutim u tom istraživanju nije nađena jasna povezanost serumskih vrijednosti grelina i stadija karcinoma te je naglasak stavljen na parakrino djelovanje grelina. Naime, stanice tumora su lučile veće količine grelina u odnosu na normalne stanice kolona, što bi moglo objasniti činjenicu zašto normalne stanice debeloga crijeva koje na sebi nose receptore za grelin ne proliferiraju kao zloćudne stanice u prisutnosti iste količine serumskoga grelina (271). Zhao i sur. (272) su u svom istraživanju pokazali pojačanu izraženost grelinskoga receptora u upalno promijenjenim stanicama debeloga crijeva, a Waseem i sur. (182) pojačanu proizvodnju grelina i pojačanu izraženost grelinskoga receptora u stanicama karcinoma debeloga crijeva. *In vitro* studije su pokazale da grelin svoje djelovanje ostvaruje preko GHS-R, Ras, PI3K, Akt i mTOR signalnog puta i time izaziva proliferaciju stanica karcinoma debeloga crijeva (273). Grelin također djeluje preko Bcl-2/Bax proteinskog puta, što je pokazano u istraživanju u kojoj je grelin preko navedenog puta inhibirao apoptozu stanica karcinoma debeloga crijeva tretiranih 5-flourouracilom (274).

2. HIPOTEZA

Koncentracija deaciliranoga grelina u serumu bolesnika koji imaju metabolički sindrom je niža, a izraženost grelina i grelinskoga receptora u tkivu adenoma debeloga crijeva viša u adenomima s većim stupnjem displazije.

3. CILJEVI RADA

3.1. OPĆI CILJ

Utvrđiti postoji li povezanost povećane tjelesne mase, postotka masnoga tkiva, metaboličkoga sindroma, omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina te izraženosti grelina i grelinskoga receptora u tkivu adenoma debeloga crijeva sa stupnjem displazije adenoma.

3.2. SPECIFIČNI CILJEVI

1. Utvrđiti povezanost koncentracije aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva
2. Utvrđiti povezanost izraženosti receptora za grelin i grelina u adenomu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva
3. Utvrđiti povezanost antropometrijskih mjerenja te laboratorijskih parametara sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva
4. Utvrđiti povezanost antropometrijskih mjerenja s koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina
5. Utvrđiti povezanost biokemijskih pokazatelja povezanih s metaboličkim sindromom te koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina

4. MATERIJALI I METODE

4.1. ISPITANICI

U istraživanje je uključeno 92 ispitanika muškog i ženskog spola kojima je učinjena polipektomija adenoma debeloga crijeva na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinike za unutarnje bolesti, KBC Sestre milosrdnice u razdoblju od 03.06.2015. do 15.05.2019. godine.

4.1.1. Kriteriji uključivanja

Ispitanicima su detaljno objašnjeni ciljevi istraživanja, način provođenja te postupci kojima će biti podvrgnuti. Ispitanici su uključeni u istraživanje ukoliko su se složili s navedenim i potpisali informirani pristanak.

4.1.2. Kriteriji isključivanja

U studiju nisu uključeni ispitanici s poznatom aktivnom ili preboljelom zloćudnom bolesti bilo kojeg sijela, s upalnim bolestima crijeva ili abdominalom kirurškom operacijom učinjenom unazad godinu dana od dana uključivanja u istraživanje. Također su isključene osobe kojima su ranije dijagnosticirani adenomi debeloga crijeva te im ovo nije bila prva polipektomija. Podatci o ispitanicima su dobiveni uzimajući detaljnu anamnezu uz dodatan uvid u raniju medicinsku dokumentaciju. U ispitivanom razdoblju pristanak za sudjelovanje u istraživanju je dala 123 osoba, no 31 ih je isključeno zbog gore navedenih isključnih kriterija.

4.2. METODE

4.2.1. Anamneza i antropometrijska mjerenja

Svim ispitanicima uzela se detaljna anamneza, uključujući dosadašnje bolesti i navike (podaci o konzumaciji alkohola, uzimanju lijekova i ljekovitih (biljnih) pripravaka, prehrambenim navikama). Svim bolesnicima se tjelesna visina procjenjivala stadiometrom, ispitanik je stajao na ravnoj podlozi, masom raspoređenom na obje noge, uz zid. Ravnalo se postavilo na glavu bez pritiska i u dodiru sa zidom na kojem se nalazi stadiometar. Masa tijela se mjerila uređajem za mjerenje segmentalne analize

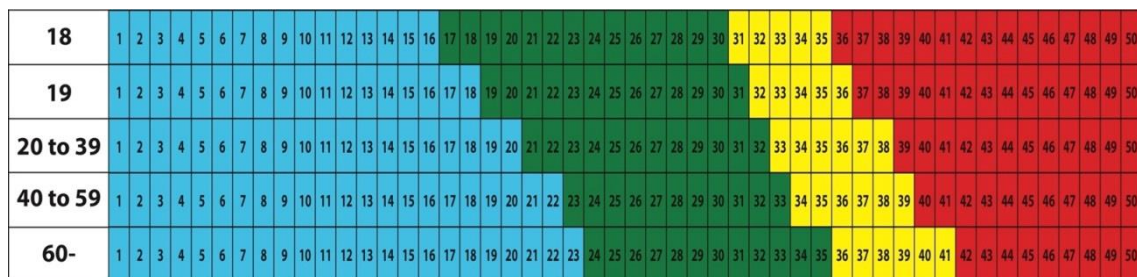
masnog tkiva (TANITA tip BC-1000 ANT + Radio Wireless Body Composition Monitor (Japan)). Opseg struka se mjerio centimetarskom vrpcom na polovini udaljenosti između donjeg ruba rebrenog luka i bočne kosti (crista iliaca) na mjestu gdje su najbliži, u ekspiriju. Opseg bokova se mjerio na najširem dijelu u visini trohantera. Dijeljenjem tih vrijednosti dobila se vrijednost omjera opsega struka i bokova. Postotak masnog tkiva se odredio pomoću analizatora sastava tijela (uređaja) marke TANITA tip BC-1000 ANT + Radio Wireless Body Composition Monitor (Japan) (Slika 2).



Slika 2. Analizator sastava tijela marke Tanita tip BC-1000 ANT + Radio Wireless Body Composition Monitor (Japan)

Nakon uključivanja uređaja, a prije mjerenja, unijeli su se podaci potrebni za precizno izračunavanje: spol, dob i visina ispitanika. Ispitanik je bosih nogu stao na platformu uređaja, uz ravnomjerno raspoređenu tjelesnu masu na obje noge u uspravnom stavu, ruku uz tijelo. Nakon navedenih priprema, uređaj kroz ispitanikovo tijelo propušta vrlo slabu struju (50kHz, 90 μ A) i mjeri otpor u tijelu. Bezmasno tkivo je dobar vodič struje, dok mast to nije. Otpor je stoga obrnuto proporcionalan udjelu bezmasne mase i tjelesne tekućine. Uređaj izračunava postotak ukupnog masnog tkiva (275).

Podjela prema postotku masnog tkiva u odraslih žena i muškaraca prikazana je na slikama 3A i 3B.



Slika 3A. Grupiranje temeljem postotka masnoga tkiva u žena, ovisno o dobi u četiri skupine (sa smanjenom tjelesnom masti (plava boja), uredne tjelesne masti (zelena boja), prekomjerne tjelesne masti (žuta boja) i pretile (crvena boja)) (Prilagođeno prema Gallagher D. i sur. Am J Clin Nutr. 2000;72:694-701. (275))



Slika 3B. Grupiranje temeljem postotka masnoga tkiva u muškaraca, ovisno o dobi u četiri skupine (sa smanjenom tjelesnom masti (plava boja), uredne tjelesne masti (zelena boja), prekomjerne tjelesne masti (žuta boja) i pretile (crvena boja)). (Prilagođeno prema Gallagher D. i sur. Am J Clin Nutr. 2000;72:694-701. (275))

Sva mjerenja izvodila su se u jutranjim satima, natašte, te izostavljanjem teže tjelesne aktivnosti prije mjerenja.

4.2.2. Biokemijska mjerenja

Nakon 12-satnog posta ispitanicima je iz ukupno 20 ml venske krvi određena kompletna krvna slika, osnovni biokemijski nalazi aspartat aminotransferaza (AST), ALT, gamma-glutaril aminotransferaza (GGT), bilirubin, CRP, laktat-dehidrogenaza (LDH), fibrinogen, te glukoza, lipidogram, razina glikoziliranog hemoglobina (HbA1c), ukupni proteini i albumin. Također je svim ispitanicima uzeto dodatnih 5 ml venske krvi, a serumi su se nakon obrade pohranili u hladnjak na -20 stupnjeva Celsiusa do trenutka određivanja ukupnog, aciliranog grelina, deaciliranog grelina i inzulina.

4.2.2.1. Acilirani grelin

Obzirom da se acilirani grelin nakon uzimanja uzoraka brzo degradira proteazama, u uzorak pune krvi u EDTA epruveti se dodalo 30 μ l otopine inhibitora proteaza (p-hidroksimerkuribenzoične kiseline) kako je naznačeno na uputama za pripremu uzorka. Nakon toga je uzorak centrifugiran na 3500 okreta u minuti na 4°C kroz 10 minuta. Nakon centrifugiranja se u odvojenu plazmu dodalo 100 μ l 1 N HCl na 1 ml plazme te se ponovno plazma centrifugira na 4°C na 3500 okretaja u minuti kroz 5 minuta. Tako pripremljeni uzorci su zamrznuti i čuvani na -20°C. Nakon prikupljanja svih uzoraka, za kvantitativno određivanje aciliranog grelina u plazmi je korišten enzimski imunometrijski test (EIA), proizvođača IBL international, Hamburg, Njemačka, kataloški broj A05106, s 96 jažica. Jažice u sebi sadrže monoklonalno protutijelo na C terminalni dio grelina. Protutijelo se veže na grelin iz uzorka, a dodatno se u jažice dodaje acetilkolinesteraza-Fab protutijelo koji prepoznaje N terminalni dio aciliranog grelina. Acilirani grelin tako ostaje vezan za oba protutijela dok se višak reagensa može ukloniti. Koncentracija aciliranog grelina se određuje mjerenjem enzimatske aktivnosti acetilkolinesteraza –Fab dijela koristeći Ellmanov reagens. Spajanjem Ellmanovog reagensa i acetilkolinesteraza-Fab dijela dobiva se žuti spoj, te se spektrofotometrijom određuje intenzitet boje, što je proporcionalno količini aciliranog grelina prisutnog u jažicama tijekom imunološke inkubacije.

4.2.2.2. Deacilirani grelin

Uzorak krvi za deacilirani grelin je uzet u epruvetu s EDTA, te je centrifugiran prema uputama proizvođača na 3500 okretaja u minuti na 4°C kroz 10 minuta. Nakon toga se centrifugirana plazma odvojila i zamrznula na -20°C. Nakon prikupljanja svih uzoraka, za kvantitativno određivanje neaciliranog grelina u plazmi je korišten enzimski imunometrijski test (EIA), proizvođača IBL international, Hamburg, Njemačka, kataloški broj A05119, s 96 jažica. Protutijelo se veže na grelin iz uzorka, a dodatno se u jažice dodaje acetilkolinesteraza-Fab protutijelo koji prepoznaje N terminalni dio deaciliranog grelina. Deacilirani grelin tako ostaje vezan za oba protutijela dok se višak reagensa može ukloniti. Koncentracija deaciliranog grelina se određuje mjerenjem enzimatske aktivnosti acetilkolinesteraza –Fab dijela koristeći Ellmanov reagens. Spajanjem Ellmanovog reagensa i acetilkolinesteraza-Fab dijela dobiva se žuti spoj, te se spektrofotometrijom određuje intenzitet boje, što je proporcionalno količini deaciliranog grelina prisutnog u jažicama tijekom imunološke inkubacije.

4.2.2.3. Inzulin

Uzorak krvi za inzulin je uzet u epruvetu s EDTA, te je centrifugiran prema uputama proizvođača na 3500 okretaja u minuti na 4°C kroz 10 minuta. Nakon toga se centrifugirana plazma odvojila i zamrznula na -20°C. Nakon prikupljanja svih uzoraka, za kvantitativno određivanje inzulina u plazmi je korišten enzimski imunometrijski test (INS-EASIA Kit), proizvođača DIAsource, Louvain-la-Neuve, Belgija, kataloški broj KAP1251, s 96 jažica. U testu se koristi monoklonalno protutijelo na epitop inzulina (MAb 1) i dodaje se protutijelo (MAb2) obilježeno peroksidazom. Nastaje kompleks inzulina s dva protutijela od kojih jedan ima peroksidaznu aktivnost. Nakon ispiranja viška reagensa dodaje se reagens koji novom spoju daje boju te spektrofotometrijom određuje njen intenzitet, što je proporcionalno količini inzulina u serumu. Referentni interval za ovaj test je 5 do 19 μ U/ml, a dobiven je temeljem vrijednosti 29 osoba s urednim testom tolerancije glukoze.

Iz dobivenih podataka procijenila se prisutnost komponenata metaboličkog sindroma i postojanje inzulinske rezistencije. Za određivanje prisutnosti pojedinih sastavnica metaboličkog sindroma koristili su se kriteriji dati od strane International Diabetes Federation (IDF) (4). Inzulinska rezistencija izračunala se prema HOMA-IR modelu i formuli koja uzima vrijednosti glukoze i inzulina natašte, a glasi: $\text{HOMA-IR} = \text{inzulin } (\mu\text{U/L}) \times \text{glukoza } (\text{nmol/L}) / 22.5$ (26).

4.2.3. Patohistološka analiza

Svim ispitanicima, koji su uključeni u istraživanje, nakon anamneze, uzetih antropometrijskih mjerenja i uzoraka seruma, učinjena je kolonoskopija uz endoskopsko odstranjivanje adenoma debeloga crijeva. Tijekom kolonoskopije se uz endoskopsko odstranjivanje adenoma debeloga crijeva uzeo i jedan uzorak zdrave sluznice debeloga crijeva promjera do 0,3 cm u istom segmentu crijeva, 5 cm distalno ili proksimalno od mjesta s kojega je odstranjen adenom. Adenom odstranjen polipektomijom i uzorak zdrave sluznice dalje su patohistološki analizirani te se odredio stupanj displazije adenoma (niskog ili visokog stupnja). Ispitanici su raspoređeni prema stupnju displazije adenoma debeloga crijeva, u grupu niskog ili visokog stupnja displazije (u slučaju polipektomije više adenoma debeloga crijeva u nastavak imunohistokemijske obrade je uzet adenom s višim stupnjem displazije, najveće veličine). U odstranjenom adenomu i uzorku zdrave sluznice imunohistokemijski je određena izraženost grelina i grelinskoga receptora. Materijal je obrađen standardnom histološkom metodom koja uključuje fiksaciju tkiva u 10 % puferiranom formalinu koji se nakon obrade tkiva uklapa u parafinske blokove te reže na

debljinu rezova od 5 μm . Za imunohistokemijsku analizu koristilo se poliklonalno protutijelo na grelinski receptor (ab150514, ABCAM Inc, Cambridge, SAD) i poliklonalno protutijelo na grelin (ab48285 ABCAM Inc, Cambridge, SAD). Oba protutijela koristila su se u koncentraciji od 5 mg/ml. Imunohistokemijska analiza za navedena protutijela učinila se EnVision FLEX-PTL metodom kao vizualizacijskim sistemom na Dako Autostainer (DAKO, Copenhagen, Danska) automatiziranom stroju za imunohistokemijsko bojenje. Kao pozitivna kontrola za grelin koristilo se tkivo sluznice želuca dok se za grelinski receptor kao pozitivna kontrola koristilo tkivo adenohipofize. Imunohistokemijska reakcija na grelin i grelinski receptor odredila se na cijelom odabranom prerezu pod srednjim povećanjem mikroskopa (x200).

Rezultati imunohistokemijske analize prikazani su semikvantitativno, određivanjem imunohistokemijskoga indeksa bojenja (IIB) uzimajući u obzir intenzitet reakcije te određujući postotak imunoreaktivnih stanica. Intenzitet reakcije (bojenja) označen je kao: 0, za odsutnost reakcije; 1, za slabo izraženu citoplazmatsku reakciju; 2, za umjereno izraženu citoplazmatsku reakciju; 3, za jako izraženu citoplazmatsku reakciju. Postotak imunoreaktivnih stanica određen je kao: 0, za odsutnost reakcije; 1, za reakciju u $\leq 33\%$ stanica; 2, za reakciju u $> 33\%$ do $\leq 66\%$ stanica; 3, za reakciju u $> 66\%$ stanica.

Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) dobio se kao umnožak intenziteta reakcije (RI) i postotka reaktivnih stanica (PRS): $IIB = RI \times PRS$. Skupine dobivene određivanjem imunohistokemijskoga indeksa bojenja formirane su tako da se postigne maksimalna razlučivost, a izbjegne formiranje podskupina sa statistički premalim brojem bolesnika. Poštujući prije spomenute uvjete formirane su četiri skupine (271):

IIB 0 – odsustvo reakcije

IIB 1 – slabo izražena reakcija (IIB umnožak iznosi 1, 2 ili 3)

IIB 2 – umjereno jaka reakcija (IIB umnožak iznosi 4 ili 6)

IIB 3 – izrazito jaka reakcija (IIB umnožak iznosi 9).

4.3. STATISTIČKA ANALIZA

Podaci su prikazani tablično i grafički. Priprema podataka izvršena je pomoću računalnoga tabličnog kalkulatora Microsoft Office Excel. Kolmogorov-Smirnovljevim testom analizirana je raspodjela kontinuiranih numeričkih vrijednosti te su se shodno dobivenim podacima primijenili odgovarajući neparametrijski testovi. Kategorijske i nominalne vrijednosti su prikazane kroz odgovarajuće frekvencije i udjele te su se razlike između pojedinih skupina analizirale Fisherovim egzaktnim testom, odnosno Fisher-Freeman-Haltonovim testom u slučajevima kontingencijskih tablica većih od formata 2x2. Kontinuirane vrijednosti prikazane su kroz medijane i interkvartilne raspone a razlike su analizirane Mann-Whitney U testom te su prikazane Box i Whiskerovim plotom unutar kojeg su prikazane vrijednosti medijana, interkvartilnih raspona, minimalnih i maksimalnih vrijednosti te ekstremnih vrijednosti koje se od medijana razlikuju za više od 1,5 interkvartilnih raspona. Izračunati su Spearmanovi koeficijenti korelacije između izraženosti grelina i grelinskog receptora u polipu i sluznici obzirom na stupanj displazije kao i laboratorijskih vrijednosti vezanih za metabolički sindrom te antropometrijskih mjerenja s koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina i njihovim omjerom. P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila licencirana programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (<https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software>).

5. REZULTATI

U istraživanje je uključeno 92 ispitanika, od toga 64 muškoga spola (69,6 %) i 28 ženskoga spola (30,4 %). Najmlađi bolesnik je imao 29, a najstariji 83 godine, a prosječna dob ispitanika je bila 66 godina.

Adenom s niskim stupnjem displazije imalo je 49 bolesnika (53,3 %), a adenom s visokim stupnjem displazije 43 bolesnika (46,7 %).

Kada se analizirala raspodjela adenoma prema regiji debeloga crijeva, 30 bolesnika (32,6 %) je u uzlaznom debelom crijevu imalo adenom/adenome veće od 5 mm, od kojih je 54,6 % bilo sesilno, 15,9% subpedunkularno, 6,8 % pedunkularno i 22,7 % u razini sluznice. U poprečnom i silaznom debelom crijevu su 22 bolesnika (24,2 %) imala adenom/adenome veće od 5 mm od koji je 51,7 % bilo sesilno, 13,8 % supedunkularno, 24,1 % pedunkularno i 10,4 % u razini sluznice. U sigmi je 49 bolesnika (53,3 %) imalo adenom/adenome veće od 5 mm od kojih je 31,1 % bilo sesilno, 20,7 % subpedukularno, 44,8 % pedunkularno i 3,4 % u razini sluznice. U rektumu je 19 bolesnika (20,7 %) imalo adenom veći od 5 mm, od toga 73,7 % sesilnih, 21,1 % pedunkularnih i 5,2 % subpedunkularnih. U Tablici 1 je prikazana opisna statistika ispitanika obzirom na lokalizaciju i kliničku pojavnost adenoma.

Tablica 1. Opisna statistika ispitanika obzirom na lokalizaciju i kliničku pojavnost adenoma

		N	%
Nalaz diminutivnih adenoma uzlaznoga debeloga crijeva	Ne	65	70,7%
	Da	27	29,3%
Nalaz većih adenoma uzlaznoga debeloga crijeva	Ne	62	67,4%
	Da	30	32,6%
Tip većih adenoma uzlaznoga debeloga crijeva	Sesilni	24	54,6%
	Pedukularni	3	6,8%
	Subpedukularni	7	15,9%
	U razini sluznice	10	22,7%
Nalaz diminutivnih adenoma poprečnoga i silaznoga debeloga crijeva	Ne	75	81,5%
	Da	17	18,5%
Nalaz većih adenoma poprečnoga i silaznoga debeloga crijeva	Ne	69	75,0%
	Da	23	25,0%
Tip većih adenoma poprečnoga i silaznoga debeloga crijeva	Sesilni	15	51,7%
	Pedukularni	7	24,1%
	Subpedukularni	4	13,8%
	U razini sluznice	3	10,4%
Nalaz diminutivnih adenoma sigme	Ne	68	73,9%
	Da	24	26,1%
Nalaz većih adenoma sigme	Ne	43	46,7%
	Da	49	53,3%
Tip većih adenoma sigme	Sesilni	18	31,1%
	Pedukularni	26	44,8%
	Subpedukularni	12	20,7%
	U razini sluznice	2	3,4%
Nalaz diminutivnih adenoma rektuma	Ne	75	81,5%
	Da	17	18,5%
Nalaz većih adenoma rektuma	Ne	73	79,3%
	Da	19	20,7%
Tip većih adenoma rektuma	Sesilni	14	73,7%
	Pedukularni	4	21,1%
	Subpedukularni	1	5,2%
	U razini sluznice	0	0,0%

Samo 16,3 % bolesnika imalo je pozitivnu obiteljsku anamnezu za polipe ili karcinome debeloga crijeva, dok je pozitivnu obiteljsku anamnezu za metabolički sindrom, definiranu kao dijagnozu metaboličkog sindroma u bliskih krvnih srodnika, imalo 30,4 % bolesnika.

U ispitivanoj skupini bilo je 34,8 % pušača i to 17,6 % onih koji su pušili duže od 10 godina. Preko 70% bolesnika se izjasnilo da imaju kontinentalni tip prehrane i da konzumiraju svakodnevno suhomesnate proizvode. Svakodnevna konzumacija alkohola (više od jedne jedinice alkoholnih pića)

zabilježena je u 14,1 % bolesnika. Opisna statistika ispitanika obzirom na kategorijske kliničke parametre te navike prikazana je u Tablici 2.

Tablica 2. Opisna statistika ispitanika obzirom na kategorijske kliničke parametre te navike

		N	%
Obiteljska anamneza za adenom/karcinom	Negativna	77	83,7%
	Pozitivna	15	16,3%
Obiteljska anamneza za metabolički sindrom	Negativna	64	69,6%
	Pozitivna	28	30,4%
Pušenje (ikad)	Ne	60	65,2%
	Da	32	34,8%
Pušenje (>10 godina)	Ne	75	81,5%
	Da	17	18,5%
Alkohol (>1 jedinice alkoholnog pića dnevno)	Ne	79	85,9%
	Da	13	14,1%
Suhomesnati proizvodi (>1x dnevno)	Ne	27	29,3%
	Da	65	70,7%
Kontinentalni tip prehrane	Ne	21	22,8%
	Da	71	77,2%

U Tablici 3 prikazana je opisna statistika ispitanika obzirom na spol i kategorijske parametre metaboličkoga sindroma. Prema IDF definiciji (4) metabolički sindrom imalo je 62 ispitanika (67,4 %), a 78 ispitanika (84,8 %) je imalo zadovoljen kriterij povećanog opsega struka za metabolički sindrom. Kriterij za povišenu vrijednosti glukoze natašte ili poznatu šećernu bolest u sklopu metaboličkoga sindroma imalo je 53 ispitanika (57,6 %), a zadovoljen kriterij za dijagnozu arterijske hipertenzije (ili korištenje antihipertenziva) 68 ispitanika. Povišene vrijednosti triglicerida koji se uklapaju u kriterij metaboličkog sindroma je imalo 38 ispitanika (41,3 %) ispitanika, a snižene vrijednosti HDL-a kao kriterij za metabolički sindrom 58 ispitanika (63%). Ukupno 15 ispitanika je uzimalo acetyl-salicilnu kiselinu u kroničnoj terapiji (16,3 %), od toga 23,25 % s displazijom visokog stupnja i 8 % s displazijom visokog stupnja.

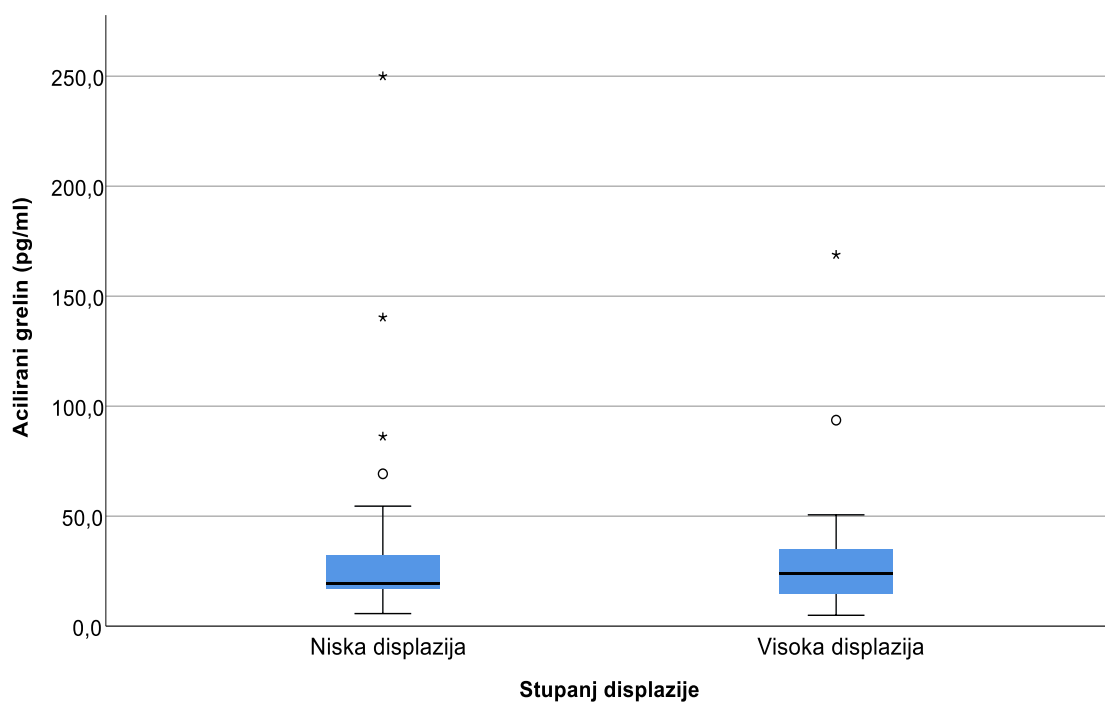
Tablica 3. Opisna statistika ispitanika obzirom na spol i kategorijske parametre metaboličkog sindroma

		N	%
Spol	Ženski	28	30,4%
	Muški	64	69,6%
1. kriterij za MS opseg struka	Negativan	14	15,2%
	Pozitivan	78	84,8%
2. kriterij za MS GUK	Negativan	39	42,4%
	Pozitivan	53	57,6%
3. kriterij za MS arterijska hipertenzija	Negativan	24	26,1%
	Pozitivan	68	73,9%
4. kriterij za MS trigliceridi	Negativan	54	58,7%
	Pozitivan	38	41,3%
5. kriterij za MS HDL	Negativan	34	37,0%
	Pozitivan	58	63,0%
Broj sastavnica metaboličkog sindroma (0-5)	0	1	1,1%
	1	16	17,4%
	2	9	9,8%
	3	20	21,7%
	4	29	31,5%
	5	17	18,5%
Metabolički sindrom prema IDF	Ne	30	32,6%
	Da	62	67,4%

Legenda MS - metabolički sindrom, GUK – glukoza u krvi, HDL - lipoprotein visoke gustoće

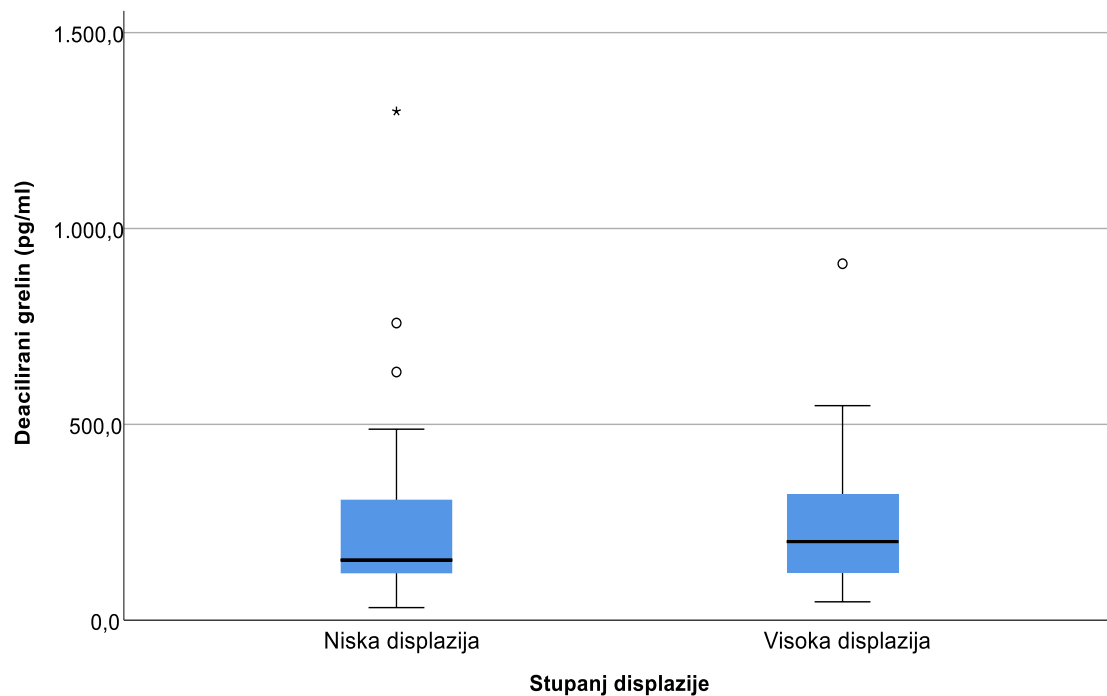
Povezanost koncentracije aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva

U 71 ispitanika određene su vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina te inzulina. Adenom s niskom displazijom je imalo 37 ispitanika, a 34 adenom s visokom displazijom. Raspon vrijednosti aciliranoga grelina za sve ispitanike u serumu je bio od 4,95 pg/ml do 250 pg/ml. Kada se stupanj displazije u adenomu usporedio s vrijednosti aciliranoga grelina u serumu nije nađena statistički značajna razlika između ispitanika s adenomima niskoga i visokoga stupnja displazije ($p=0,999$) (Slika 4).



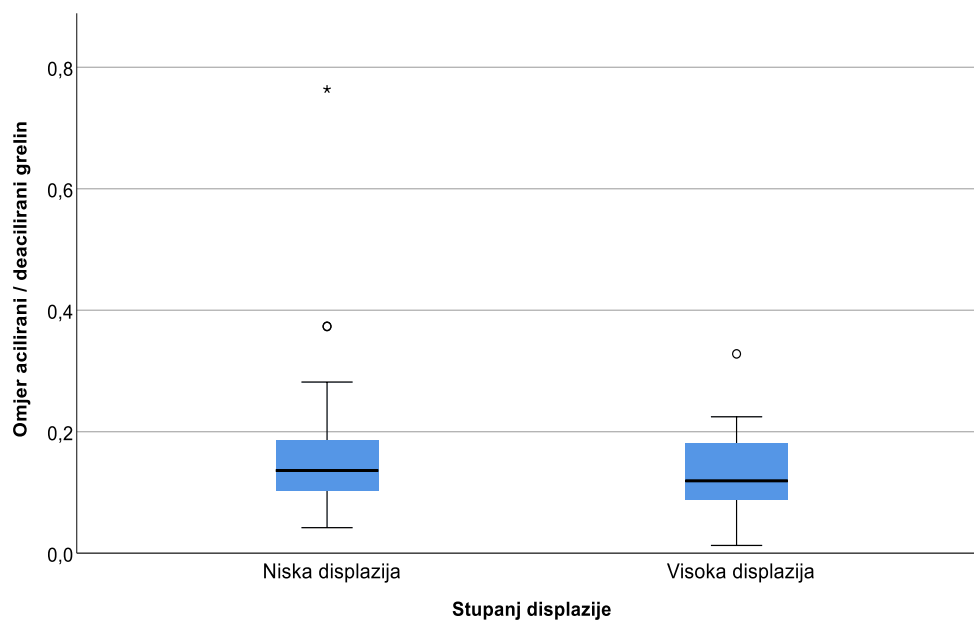
Slika 4. Povezanost koncentracije aciliranoga grelina u serumu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva.

Deacilirani grelin u ispitivanoj skupini je također imao veliki raspon izmjerenih vrijednosti od 32,19 pg/ml do 1299 pg/ml. Statistički nije nađena značajna razlika u koncentraciji deaciliranoga grelina u serumu između ispitanika s adenomima niskog stupnja i adenomima visokog stupnja displazije ($p=0,394$) (Slika 5).



Slika 5. Povezanost koncentracije deaciliranoga grelina u serumu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva.

Kada se promatrao omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu također nije nađena statistički značajna razlika između ispitanika s adenomima niskoga i adenomima visokoga stupnja displazije ($p=0,345$) (Slika 6).



Slika 6. Povezanost omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva.

Povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva

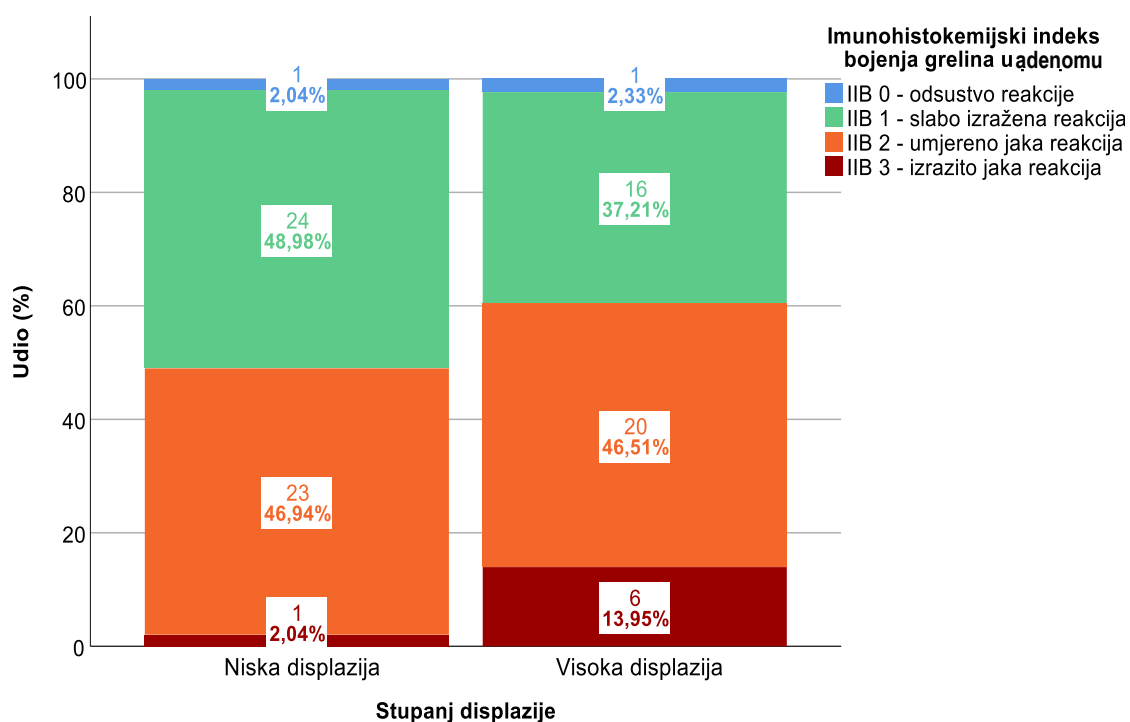
Opisna statistika ispitanika s obzirom na stupanj displazije i imunohistokemijski indeks bojanja grelina i grelinskoga receptora u adenomu i sluznici debeloga crijeva prikazana je u Tablici 4. U ispitivanom uzorku približno jednaki broj ispitanika imao je adenome s niskom (49 ispitanika odnosno 53,3 %) i visokom displazijom (43 ispitanika odnosno 46,7 %).

Tablica 4. Opisna statistika ispitanika obzirom na stupanj displazije i imunohistokemijski indeks bojanja (IIB) grelina i grelinskoga receptora u adenomu i sluznici debeloga crijeva

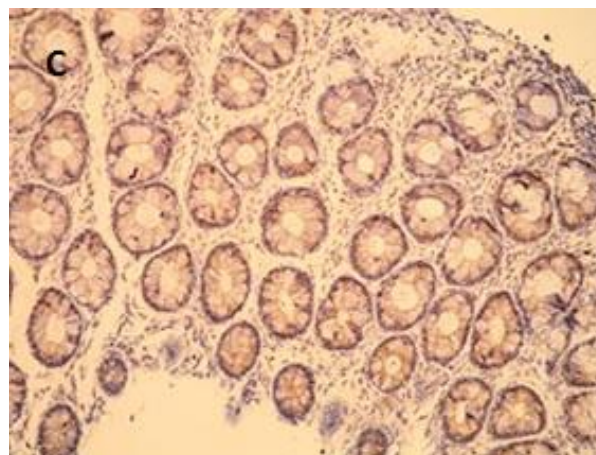
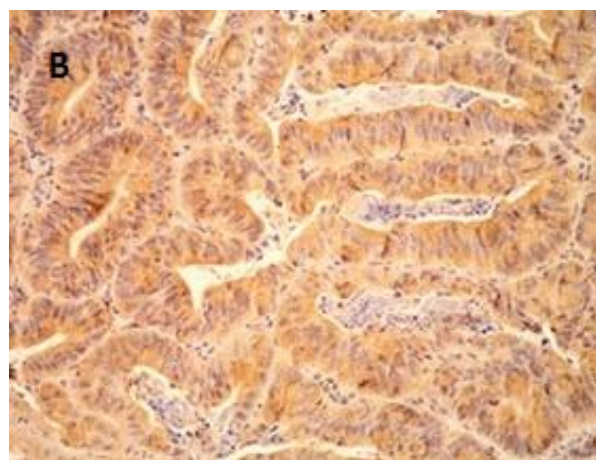
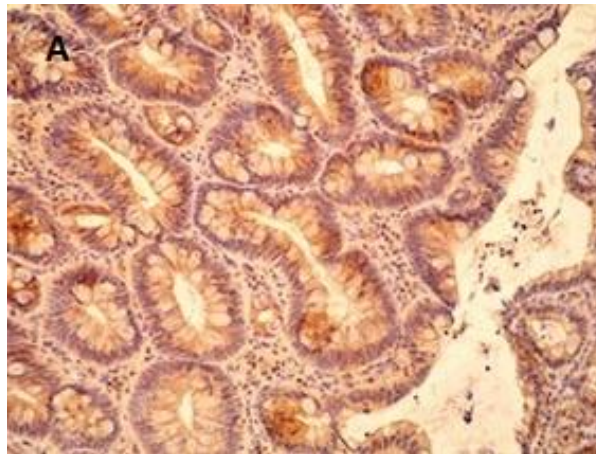
		N	%
Stupanj displazije	Niska displazija	49	53,3%
	Visoka displazija	43	46,7%
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u adenomu	IIB 0 - odsustvo reakcije	2	2,2%
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	40	43,5%
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	43	46,7%
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	7	7,6%
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u sluznici	IIB 0 - odsustvo reakcije	20	21,7%
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	59	64,2%
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	13	14,1%
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	0	0,0%
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u adenomu	IIB 0 - odsustvo reakcije	1	1,1%
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	25	27,2%
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	49	53,2%
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	17	18,5%
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u sluznici	IIB 0 - odsustvo reakcije	5	5,4%
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	54	58,7%
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	31	33,7%
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	2	2,2%

Legenda IIB – imunohistokemijski indeks bojenja

Od 49 adenoma s niskim stupnjem displazije 24 (48,98 %) adenoma imali slabo izraženu reakciju na grelin, a u jednom (2,04 %) nije nađeno reakcije na grelin. U 23 adenoma (46,94 %) nađena je umjereno jaka, a u jednom adenomu (2,04 %) izrazito jaka reakcija na grelin (Slika 7, Slika 8A). Od 43 adenoma s visokim stupnjem displazije u samo jednom nije nađeno reakcije na grelin dok je on bio slabo izražen u 37,21 % slučajeva. U 20 adenoma (46,51 %) slučajeva izraženost je bila umjereno jaka dok je izrazito jaka bila u 6 adenoma (13,95 %) (Slika 7, Slika 8B). Adenomi s visokim stupnjem displazije su u većem broju slučajeva imali izrazito jaku reakciju na grelin u odnosu na one s niskim stupnjem displazije (Slika 7).

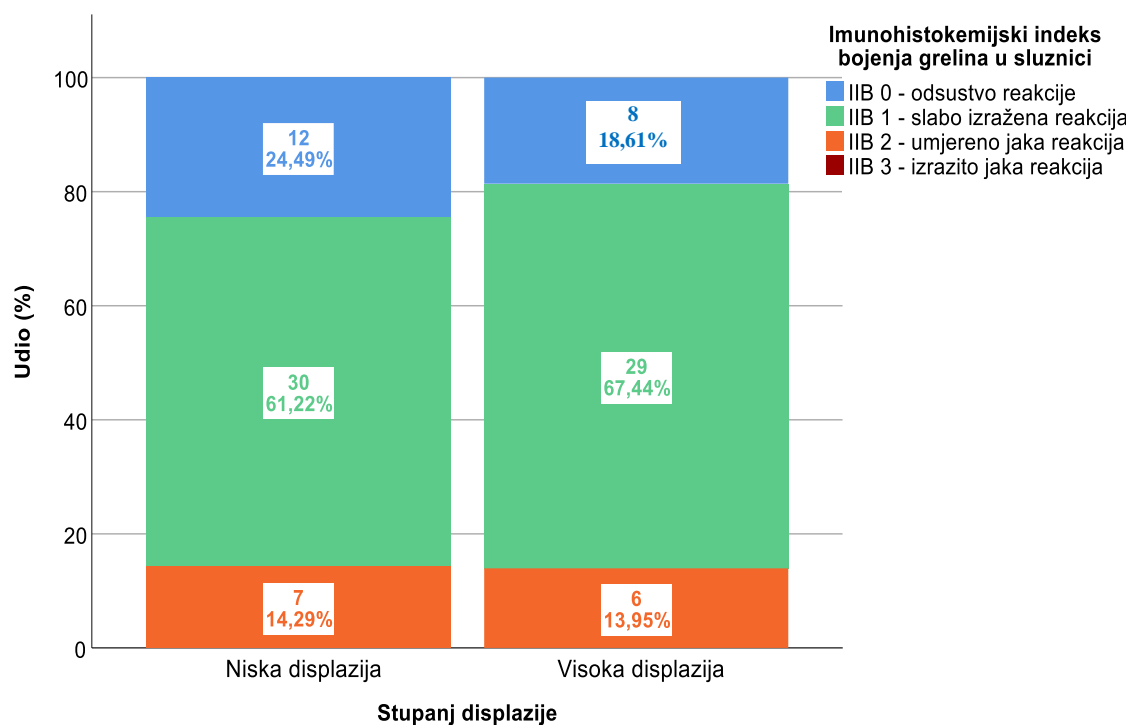


Slika 7. Imunohistokemijska izraženost grelina u adenomima ovisno o stupnju displazije adenoma



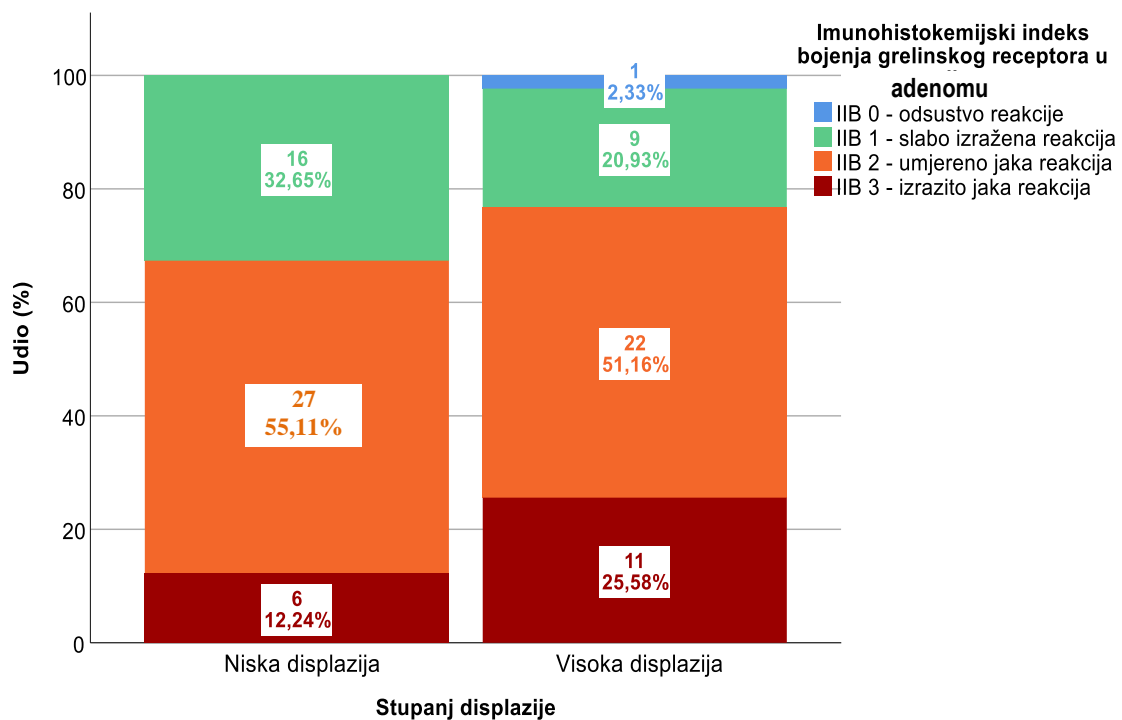
Slika 8. Imunohistokemijska izraženost grelina u adenomima i sluznici debeloga crijeva. A) Jaka imunohistokemijska reakcija na grelin u adenomu s niskom displazijom (x200); B) Jaka imunohistokemijska reakcija na grelin u adenomu s visokom displazijom (x200); C) Umjerena imunohistokemijska reakcija na grelin u sluznici debeloga crijeva (x200)

U sluznici nasuprot adenoma s niskim stupnjem displazije slabo izražena reakcija na grelin zabilježena je u 30 slučajeva (61,22 %), umjereno jaka reakcija u 7 slučajeva (14,29 %), a u 12 slučajeva (24,49 %) nije nađeno izraženosti grelina. U sluznici nasuprot adenoma s visokim stupnjem displazije reakcija na grelin nije zabilježena u 8 slučajeva (18,61 %), bila je slabo izražena u 29 (67,44 %) a umjereno jako izražena u 6 (13,95 %) slučajeva (Slika 8C). Zanimljivo je da u zdravoj sluznici nije niti u jednog ispitanika, neovisno o stupnju displazije adenoma, zabilježena izrazito jaka reakcija bojanja na grelin (Slika 9).

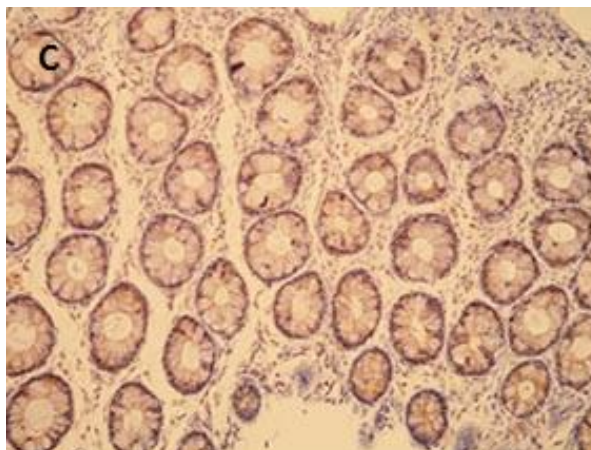
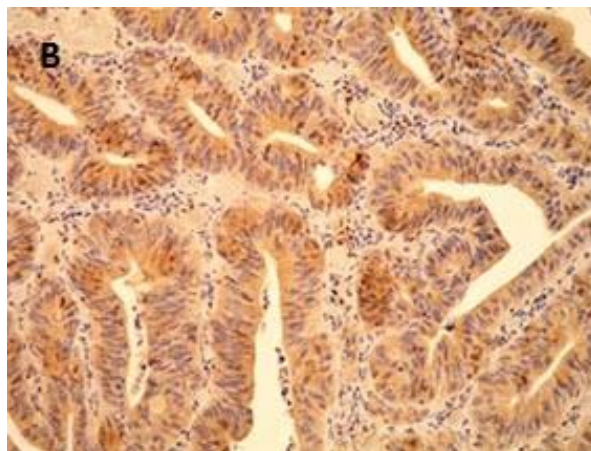
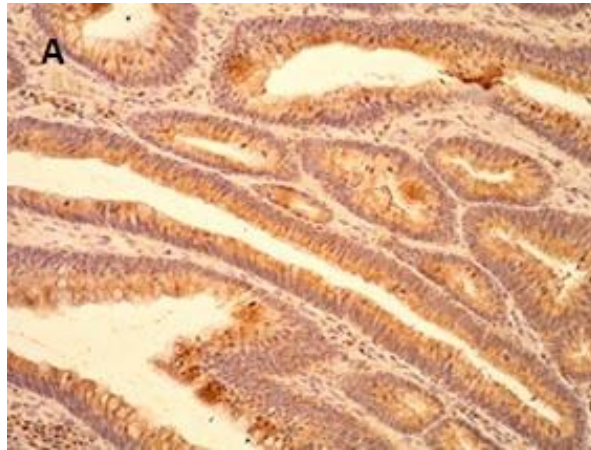


Slika 9. Imunohistokemijska izraženost grelina u zdravoj sluznici nasuprot adenoma ovisno o stupnju displazije adenoma

U 16 adenoma s niskim stupnjem displazije (32.65 %) je zabilježena slabo izražena reakcija za grelinški receptor, u 27 (55,11 %) umjerena i u 6 (12,24 %) jaka reakcija na grelinški receptor (Slika 10, Slika 11A). Adenomi s visokim stupnjem displazije su u 9 (20,93 %) slučajeva imali slabo izraženu reakciju na grelinški receptor, u 22 (51,16 %) slučajeva umjereno izraženu i u 11 (25,58 %) slučajeva izrazito jaku reakciju na grelinški receptor (Slika 10, Slika 11B).

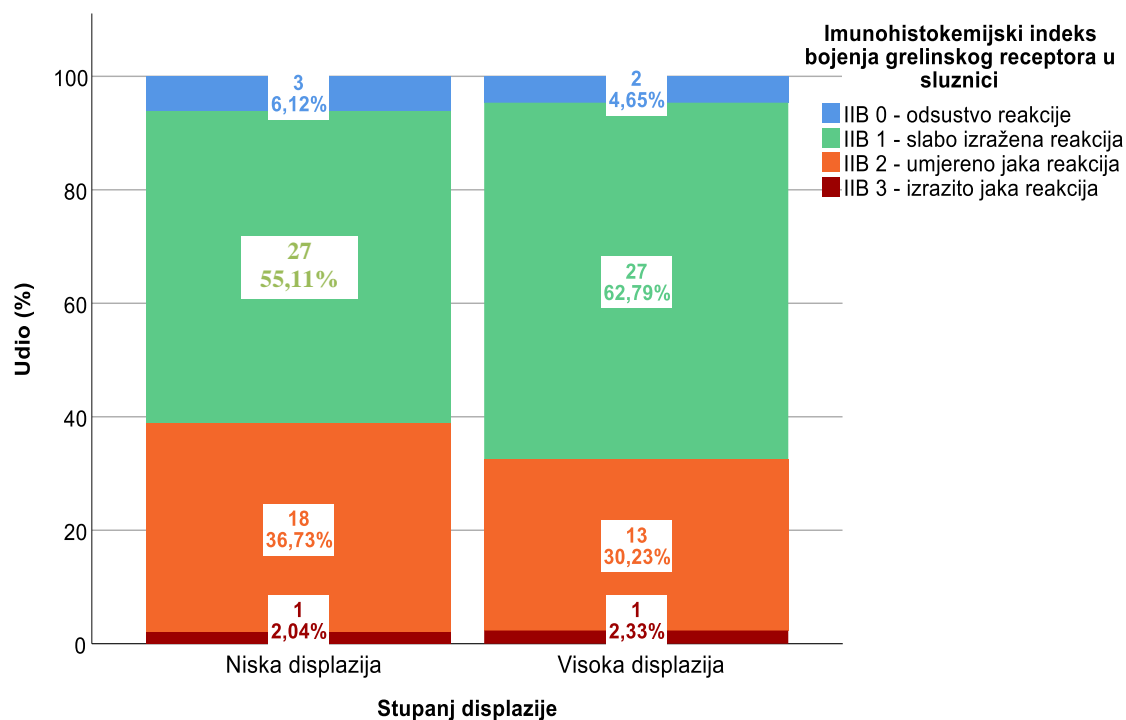


Slika 10. Imunohistokemijska izraženost grelinskoga receptora u adenomima ovisno o stupnju displazije adenoma



Slika 11. Imunohistokemijska izraženost grelinskoga receptora u adenomima i sluznici debeloga crijeva. A) Jaka imunohistokemijska reakcija na grelini receptor u adenomu s niskom displazijom (x200); B) Jaka imunohistokemijska reakcija na grelini receptor u adenomu s visokom displazijom (x200); C) Umjerena imunohistokemijska reakcija na grelini receptor u sluznici debeloga crijeva (x200)

Sluznica nasuprot adenoma niskog stupnja displazije je u 27 (55,11 %) slučajeva izražavala slabu, u 18 (36,73%) slučajeva umjerenu (Slika 11C), a u jednom slučaju izrazito jaku reakciju na grelinški receptor. U 6,12 % slučajeva nije zabilježena izraženost grelinškoga receptora u zdravoj sluznici debeloga crijeva. Slične vrijednosti zabilježene su i kod sluznice nasuprot adenoma s visokim stupnjem displazije, a prikazane su na Slici 12.



Slika 12. Imunohistokemijska izraženost grelinškoga receptora u zdravoj sluznici nasuprot adenoma ovisno o stupnju displazije adenoma

Statističkom analizom podataka nije nađena statistički značajna razlika u imunohistokemijskoj izraženosti grelina ($p=0,134$) i grelinškoga receptora ($p=0,172$) u adenomima s displazijom niskog i visokog stupnja. Također nije nađena značajna statistička razlika u izraženosti grelina ($p=0,827$) i grelinškoga receptora ($p=0,864$) u zdravoj sluznici debeloga crijeva bez obzira na stupanj displazije u adenomu (Tablica 5).

Tablica 5. Povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora u adenomima i zdravoj sluznici debeloga crijeva ovisno o stupnju displazije adenoma

		Stupanj displazije				P
		Niska displazija		Visoka displazija		
		N	%	N	%	
Imunohistokemijski indeks bojenja grelina u adenomu	IIB 0 - odsustvo reakcije	1	2,04%	1	2,33%	0,134
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	24	48,98%	16	37,21%	
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	23	46,94%	20	46,51%	
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	1	2,04%	6	13,95%	
Imunohistokemijski indeks bojenja grelina u sluznici	IIB 0 - odsustvo reakcije	12	24,49%	8	18,61%	0,827
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	30	61,22%	29	67,44%	
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	7	14,29%	6	13,95%	
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	0	0,0%	0	0,0%	
Imunohistokemijski indeks bojenja grelinskoga receptora u adenomu	IIB 0 - odsustvo reakcije	0	0,0%	1	2,33%	0,172
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	16	32,65%	9	20,93%	
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	27	55,11%	22	51,16%	
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	6	12,24%	11	25,58%	
Imunohistokemijski indeks bojenja grelinskoga receptora u sluznici	IIB 0 - odsustvo reakcije	3	6,12%	2	4,65%	0,864
	IIB 1 - slabo izražena reakcija	27	55,11%	27	62,79%	
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	18	36,73%	13	30,23%	
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	1	2,04%	1	2,33%	

Legenda IIB – imunohistokemijski indeks bojenja

Međutim, kada se imunohistokemijski indeks bojenja grelina i grelinskoga receptora u adenoma grupira u dvije skupine (skupina s IIB vrijednosti 9 i skupina s IIB vrijednosti <9) dobiju se značajne razlike u imunohistokemijskom indeksu bojenja grelina u adenomima. U adenomima s visokom displazijom izrazito jaka izraženost grelina je 7 puta češća u usporedbi s adenomima s niskom displazijom ($p=0,048$) (Tablica 6). Za grelinski receptor u adenomu i zdravoj sluznici nasuprot adenoma nije nađeno statistički značajne poveznice ni nakon novog grupiranja ($p>0,05$) (Tablica 6).

Tablica 6. Usporedba imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora podijeljenih u dvije skupine u adenomima i zdravoj sluznici debeloga crijeva ovisno o stupnju displazije.

		Stupanj displazije				P
		Niska displazija		Visoka displazija		
		N	%	N	%	
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u adenomu	IIB 0,1 i 2	48	98,0%	37	86,0%	0,048
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	1	2,0%	6	14,0%	
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u sluznici	IIB 0 i 1	42	85,7%	37	86,0%	1,000
	IIB 2 - umjereno jaka reakcija	7	14,3%	6	14,0%	
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u adenomu	IIB 0,1 i 2	43	87,8%	32	74,4%	0,114
	IIB 3 - izrazito jaka reakcija	6	12,2%	11	25,6%	
Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u sluznici	IIB 0 i 1	30	61,2%	29	67,4%	0,664
	IIB 2 i 3 - umjerena i jaka reakcija	19	38,8%	14	32,6%	

Legenda IIB – imunohistokemijski indeks bojenja

U Tablici 7 je prikazano kako kod adenoma niske displazije postoji statistički značajna pozitivna povezanost između imunohistokemijske izraženosti grelinskoga receptora u adenomu te imunohistokemijske izraženosti grelinskoga receptora u sluznici ($\rho=0,567$; $p<0,001$). Postoji pozitivna povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina u zdravoj sluznici i imunohistokemijske izraženosti grelinskoga receptora u zdravoj sluznici nasuprot adenoma niskog stupnja displazije ($\rho=0,367$; $p=0,009$). U adenomima s visokom displazijom postoji pozitivna povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina u adenomu s imunohistokemijskom izraženosti grelina u sluznici ($\rho=0,347$; $p=0,023$). Nađena je statistički značajna pozitivna povezanost imunohistokemijske izraženosti grelinskoga receptora u adenomu s imunohistokemijskom izraženosti grelinskoga receptora u sluznici ($\rho=0,467$; $p=0,002$), te pozitivna povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina u zdravoj sluznici i imunohistokemijske izraženosti grelinskoga receptora u zdravoj sluznici nasuprot adenomu s visokim stupnjem displazije ($\rho=0,409$, $p=0,007$), slično kao i kod adenoma s niskim stupnjem displazije. Obzirom na vrijednosti Spearmanovog koeficijenta, najznačajnija je pozitivna povezanost bila između izraženosti grelina u adenomu visokog stupnja displazije s izraženosti grelinskoga receptora u adenomu visokog stupnja displazije ($\rho=0,519$; $p<0,001$). Ovaj rezultat govori u prilog tome da u adenomima visokog stupnja displazije imamo uz jače izražen grelin i jače izražen grelinski receptor, što nije registrirano u adenomima s niskim stupnjem displazije.

Zanimljivo je to da je ista pozitivna poveznica registrirana kako je ranije navedeno za zdravu sluznicu neovisno o stupnju displazije adenoma. Bitno je za kasniju raspravu ponoviti da u zdravoj sluznici nasuprot adenoma, neovisno o stupnju displazije, nismo kod niti jednog ispitanika zabilježili izrazito jaku izraženost grelina (Slika 9) a izrazito jaka izraženost za grelinski receptor je zabilježena u samo jednom slučaju (Slika 12). Za razliku od toga u adenomima visoke displazije izrazito jaka izraženost za grelin u adenomu je zabilježena u 13,95 % slučajeva, a za grelinski receptor u adenomu u 25,58 % slučajeva.

Tablica 7. Povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora u adenomima i zdravoj sluznici debeloga crijeva s obzirom na stupanj displazije

			IIB grelina u adenomu	IIB grelina u sluznici	IIB grelinskoga receptora u adenomu	IIB grelinskoga receptora u sluznici
Niska displazija	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u adenomu	Rho	1,000	0,173	-0,108	-0,096
		P		0,235	0,459	0,511
		N	49	49	49	49
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u sluznici	Rho	0,173	1,000	0,159	0,367
		P	0,235		0,276	0,009
		N	49	49	49	49
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u adenomu	Rho	-0,108	0,159	1,000	0,576
		P	0,459	0,276		<0,001
		N	49	49	49	49
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u sluznici	Rho	-0,096	0,367	0,576	1,000
		P	0,511	0,009	0,000	
		N	49	49	49	49
Visoka displazija	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u adenomu	Rho	1,000	0,347	0,519	0,077
		P		0,023	<0,001	0,622
		N	43	43	43	43
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelina u sluznici	Rho	0,347	1,000	0,230	0,409
		P	0,023		0,138	0,007
		N	43	43	43	43
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u adenomu	Rho	0,519	0,230	1,000	0,467
		P	<0,001	0,138		0,002
		N	43	43	43	43
	Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) grelinskoga receptora u sluznici	Rho	0,077	0,409	0,467	1,000
		P	0,622	0,007	0,002	
		N	43	43	43	43

Legenda IIB – imunohistokemijski indeks bojenja

Povezanost antropometrijskih mjerenja i laboratorijskih vrijednosti ispitanika sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva

U Tablici 8 prikazana je opisna statistika kontinuiranih kliničkih i laboratorijskih vrijednosti na cjelokupnom ispitivanom uzorku (Tablica 8).

Tablica 8. Opisna statistika kontinuiranih kliničkih i laboratorijskih vrijednosti na cjelokupnom ispitivanom uzorku

	N	Min	Max	Centile		
				25.	Medijan	75.
Acilirani grelin (pg/ml)	71	4,95	250,00	15,40	21,59	35,15
Deacilirani grelin (pg/ml)	71	32,19	1299,10	119,69	171,53	309,09
Omjer acilirani / deacilirani grelin	71	0,01	0,76	0,10	0,13	0,19
Inzulin (μ IU/ml ili mIU/L)	71	0,26	82,13	8,51	15,15	20,02
GUK (mmol/L)	92	4,00	14,10	5,10	5,60	6,78
HOMA-IR	71	0,10	28,50	2,30	3,80	5,90
Dob (godine)	92	29,00	83,00	60,00	67,00	72,75
TT (tjelesna masa - kg)	92	57,00	124,00	73,00	86,00	98,00
TV (tjelesna visina - cm)	92	150,00	192,00	165,00	172,00	178,00
BMI (kg/m ²)	92	20,30	40,40	25,73	28,40	33,40
% tjelesne masti	91	18,00	46,20	27,60	31,00	36,00
Opseg struka (cm)	92	74,00	134,00	95,00	103,00	108,00
Opseg bokova (cm)	92	85,00	123,00	98,00	102,00	106,75
Omjer opsega struka i bokova	92	0,77	1,29	0,90	1,00	1,07
E (10E12)	92	3,50	6,00	4,40	4,70	5,10
Hb (g/L)	92	102,00	177,00	137,00	146,50	154,00
RDW (%)	92	11,90	29,70	13,10	13,60	14,40
L (10E9)	92	3,80	11,30	6,03	7,10	8,70
T (10E9)	92	18,00	490,00	179,00	208,50	248,00
AST U/L	92	11,00	60,00	18,00	21,50	26,75
ALT (U/L)	92	9,00	52,00	18,00	23,50	29,00
GGT (U/L)	90	10,00	331,00	22,75	31,50	44,50
CRP (mg/L)	91	0,20	47,70	1,30	2,90	5,00
Fibrinogen (g/L)	92	1,20	51,00	2,93	3,40	3,98
HbA1c (%)	92	4,60	8,60	5,20	5,65	6,20
Kolesterol (mmol/L)	92	2,40	10,20	4,20	5,05	6,00
Trigliceridi (mmol/L)	92	0,50	6,00	1,03	1,45	2,30
LDL (mmol/L)	92	1,00	7,80	2,43	3,20	3,78
HDL (mmol/L)	92	0,50	2,00	0,90	1,10	1,40
uk proteini (g/L)	92	56,00	87,00	65,00	70,00	75,75
albumin (g/L)	92	27,10	57,80	38,40	40,95	43,30
SE	92	1,00	72,00	5,00	10,00	17,75

Statističkom analizom laboratorijskih parametara dokazane su statistički značajne razlike u vrijednosti eritrocita ($p=0,017$) te ALT-a ($p=0,027$) u ispitanika s adenomima s visokom displazijom u usporedbi s ispitanicima s adenomima s niskom displazijom. Ispitanici s adenomima s visokom displazijom imali su statistički značajno niže vrijednosti eritrocita i ALT-a (Tablica 9).

Tablica 9. Razlike u laboratorijskim parametrima obzirom na stupanj displazije adenoma

	Stupanj displazije	N	Min	Max	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
E ($10E^{12}$)	Niska displazija	49	3,60	5,80	4,50	4,90	5,10	0,017
	Visoka displazija	43	3,50	6,00	4,30	4,60	4,90	
Hb (g/L)	Niska displazija	49	102,00	166,00	139,00	148,00	155,00	0,114
	Visoka displazija	43	106,00	177,00	132,00	142,00	154,00	
RDW (%)	Niska displazija	49	11,90	29,70	13,00	13,60	14,35	0,464
	Visoka displazija	43	12,10	17,60	13,20	13,70	14,50	
L ($10E^9$)	Niska displazija	49	4,50	10,20	6,10	6,90	9,10	0,802
	Visoka displazija	43	3,80	11,30	5,80	7,60	8,50	
T ($10E^9$)	Niska displazija	49	18,00	490,00	181,50	204,00	243,00	0,922
	Visoka displazija	43	104,00	387,00	175,00	210,00	251,00	
AST (U/L)	Niska displazija	49	11,00	60,00	19,00	22,00	26,50	0,608
	Visoka displazija	43	11,00	53,00	18,00	21,00	27,00	
ALT (U/L)	Niska displazija	49	9,00	50,00	20,50	24,00	31,50	0,027
	Visoka displazija	43	9,00	52,00	15,00	21,00	28,00	
GGT (U/L)	Niska displazija	47	10,00	181,00	23,00	32,00	44,00	0,526
	Visoka displazija	43	12,00	331,00	21,00	29,00	46,00	
CRP (mg/L)	Niska displazija	48	0,20	11,90	1,23	2,40	5,65	0,717
	Visoka displazija	43	0,20	47,70	1,60	2,90	4,70	
Fibrinogen (g/L)	Niska displazija	49	1,20	4,90	2,90	3,40	3,95	0,969
	Visoka displazija	43	2,00	51,00	3,00	3,40	4,20	
HbA1c (%)	Niska displazija	49	4,70	8,60	5,20	5,70	6,20	0,635
	Visoka displazija	43	4,60	8,00	5,20	5,50	6,30	
Kolesterol (mmol/L)	Niska displazija	49	2,40	10,20	4,00	5,00	5,75	0,177
	Visoka displazija	43	2,70	8,40	4,30	5,20	6,20	
Trigliceridi (mmol/L)	Niska displazija	49	0,50	4,50	1,05	1,40	2,30	0,559
	Visoka displazija	43	0,70	6,00	1,00	1,50	2,60	
LDL (mmol/L)	Niska displazija	49	1,00	7,80	2,20	3,10	3,65	0,210
	Visoka displazija	43	1,30	5,60	2,60	3,20	4,10	
HDL (mmol/L)	Niska displazija	49	0,50	2,00	0,90	1,20	1,40	0,239
	Visoka displazija	43	0,60	2,00	0,90	1,00	1,30	
Uk proteini (g/L)	Niska displazija	49	56,00	83,00	64,50	70,00	76,00	0,805
	Visoka displazija	43	56,00	87,00	66,00	70,00	75,00	
albumin (g/L)	Niska displazija	49	27,10	48,90	38,40	41,40	44,15	0,501
	Visoka displazija	43	32,20	57,80	37,20	40,02	43,20	
SE	Niska displazija	49	1,00	40,00	4,00	7,00	18,50	0,299
	Visoka displazija	43	3,00	72,00	5,00	10,00	18,00	

Statističkom analizom podataka o koncentracijama aciliranoga i deaciliranoga grelina, njihovom omjeru, tjelesnoj masi, indeksu tjelesne mase i ostalim antropometrijskim i kliničkim vrijednostima nisu nađene značajne statističke razlike između ispitanika s adenomima s visokom displazijom i ispitanika s adenomima s niskom displazijom (Tablica 10).

Tablica 10. Razlike u koncentracijama aciliranoga i deaciliranoga grelina, njihovom omjeru, tjelesnoj masi, indeksu tjelesne mase i ostalim antropometrijskim i kliničkim vrijednostima obzirom na stupanj displazije adenoma

	Stupanj displazije	N	Min	Max	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
Acilirani grelin (pg/ml)	Niska displazija	37	5,72	250,00	16,46	19,42	36,07	0,999
	Visoka displazija	34	4,95	168,82	14,88	23,97	35,70	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Niska displazija	37	32,19	1299,10	111,90	153,54	308,41	0,394
	Visoka displazija	34	46,96	910,08	119,41	200,51	328,38	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Niska displazija	37	0,04	0,76	0,10	0,14	0,19	0,345
	Visoka displazija	34	0,01	0,33	0,09	0,12	0,18	
Inzulin (μ IU/ml ili mIU/L)	Niska displazija	37	0,26	81,72	8,05	14,40	21,68	0,872
	Visoka displazija	34	3,23	82,13	8,67	15,21	19,63	
GUK (mmol/L)	Niska displazija	49	4,00	12,20	5,10	5,60	7,10	0,496
	Visoka displazija	43	4,00	14,10	5,10	5,60	6,20	
HOMA-IR	Niska displazija	37	0,10	28,50	2,10	4,20	6,15	0,743
	Visoka displazija	34	0,80	22,60	2,30	3,45	5,50	
Dob (godine)	Niska displazija	49	45,00	82,00	60,50	67,00	72,50	0,763
	Visoka displazija	43	29,00	83,00	60,00	67,00	73,00	
TT (tjelesna masa - kg)	Niska displazija	49	57,00	113,50	73,55	89,00	100,00	0,301
	Visoka displazija	43	58,00	124,00	72,00	82,00	95,00	
TV (tjelesna visina - cm)	Niska displazija	49	154,00	190,00	165,00	172,00	178,50	0,687
	Visoka displazija	43	150,00	192,00	165,00	172,00	178,00	
BMI (kg/m ²)	Niska displazija	49	20,30	39,00	25,80	29,70	33,50	0,425
	Visoka displazija	43	22,80	40,40	25,70	27,70	32,90	
% tjelesne masti	Niska displazija	48	18,00	45,20	25,08	30,80	35,75	0,155
	Visoka displazija	43	19,00	46,20	29,00	32,00	37,00	
Opseg struka (cm)	Niska displazija	49	78,00	125,00	95,00	104,00	109,00	0,258
	Visoka displazija	43	74,00	134,00	91,00	100,00	106,00	
Opseg bokova (cm)	Niska displazija	49	89,00	120,00	98,00	103,00	106,50	0,618
	Visoka displazija	43	85,00	123,00	98,00	100,00	107,00	
Omjer opsega struka i bokova	Niska displazija	49	0,85	1,25	0,90	1,01	1,08	0,391
	Visoka displazija	43	0,77	1,29	0,90	0,96	1,06	

Legenda: GUK - glukoza, HOMA-IR - homeostatski model procjene inzulinske rezistencije, BMI - indeks tjelesne masti

Povezanost antropometrijskih mjerenja i laboratorijskih vrijednosti vezanih s metaboličkim sindromom s koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina

Tablica 11 prikazuje povezanost laboratorijskih vrijednosti vezanih za metabolički sindrom te antropometrijskih mjerenja s koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina i njihovim omjerom. Deacilirani grelin značajno negativno korelira s koncentracijom inzulina ($p < 0,001$), vrijednostima glukoze natašte ($p = 0,048$), HOMA-IR-om ($p = 0,001$), tjelesnom masom ($p = 0,009$), BMI-om ($p = 0,002$), opsegom struka ($p = 0,003$) i bokova ($p = 0,022$). Acilirani grelin značajno negativno korelira s BMI-om ($p = 0,019$) i opsegom bokova ($p = 0,015$). Omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina značajno pozitivno korelira s koncentracijom inzulina ($p = 0,001$), HOMA-IR-om ($p = 0,002$), opsegom struka ($p = 0,002$) i omjerom opsega struka i bokova ($p = 0,004$).

Tablica 11. Povezanost laboratorijskih vrijednosti vezanih za metabolički sindrom te antropometrijskih mjerenja s koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina i njihovim omjerom

		Acilirani grelin (pg/ml)	Deacilirani grelin (pg/ml)	Omjer acilirani / deacilirani grelin
Inzulini (μIU/ml ili mIU/L)	Rho	-0,207	-0,458	0,388
	P	0,084	<0,001	0,001
GUK (mmol/L)	Rho	-0,191	-0,236	0,016
	P	0,111	0,048	0,895
HOMA-IR	Rho	-0,190	-0,452	0,360
	P	0,112	0,001	0,002
Dob (godine)	Rho	-0,127	-0,126	-0,061
	P	0,291	0,297	0,615
TT (tjelesna masa - kg)	Rho	-0,170	-0,310	0,144
	P	0,157	0,009	0,232
TV (tjelesna visina - cm)	Rho	0,119	0,012	0,042
	P	0,322	0,918	0,729
BMI (kg/m ²)	Rho	-0,277	-0,354	0,111
	P	0,019	0,002	0,355
% tjelesne masti (%)	Rho	-0,157	-0,196	0,132
	P	0,193	0,103	0,277
Opseg struka (cm)	Rho	-0,100	-0,349	0,363
	P	0,407	0,003	0,002
Opseg bokova (cm)	Rho	-0,288	-0,272	0,000
	P	0,015	0,022	0,998
Omjer opsega struka i bokova	Rho	0,104	-0,153	0,336
	P	0,389	0,201	0,004
Kolesterol (mmol/L)	Rho	-0,172	-0,080	-0,084
	P	0,151	0,507	0,488
Trigliceridi (mmol/L)	Rho	-0,216	-0,132	0,026
	P	0,071	0,272	0,832
LDL (mmol/L)	Rho	-0,078	-0,121	0,085
	P	0,517	0,313	0,481
HDL (mmol/L)	Rho	0,191	0,173	-0,067
	P	0,110	0,150	0,578

Legenda: GUK – glukoza u krvi, HOMA-IR - homeostatski model procjene inzulinske rezistencije, BMI - indeks tjelesne masti, LDL - lipoprotein niske gustoće, HDL - lipoprotein visoke gustoće

Povezanost parametara metaboličkoga sindroma prema IDF-u sa stupnjem displazije adenoma

Analiza povezanosti parametara metaboličkoga sindroma definiranog prema IDF definiciji (4) sa stupnjem displazije adenoma prikazana je u Tablici 12.

Statističkom analizom nisu utvrđene statistički značajne razlike u učestalosti metaboličkoga sindroma i pojedinih kriterija za metabolički sindrom između ispitanika s adenomima s niskom i ispitanika s adenomima s visokom displazijom (Tablica 12).

Tablica 12. Povezanost parametara metaboličkoga sindroma prema IDF-u sa stupnjem displazije adenoma

		Stupanj displazije				P
		Niska displazija		Visoka displazija		
		N	%	N	%	
1. kriterij za MS opseg struka	Negativan	7	14,3%	7	16,3%	1,000
	Pozitivan	42	85,7%	36	83,7%	
2. kriterij za MS GUK	Negativan	19	38,8%	20	46,5%	0,528
	Pozitivan	30	61,2%	23	53,5%	
3. kriterij za MS arterijska hipertenzija	Negativan	12	24,5%	12	27,9%	0,813
	Pozitivan	37	75,5%	31	72,1%	
4. kriterij za MS trigliceridi	Negativan	30	61,2%	24	55,8%	0,673
	Pozitivan	19	38,8%	19	44,2%	
5. kriterij za MS HDL	Negativan	20	40,8%	14	32,6%	0,517
	Pozitivan	29	59,2%	29	67,4%	
Broj sastavnica metaboličkoga sindroma (0-5)	0	0	0,0%	1	2,3%	0,844
	1	10	20,4%	6	14,0%	
	2	4	8,2%	5	11,6%	
	3	11	22,4%	9	20,9%	
	4	14	28,6%	15	34,9%	
Metabolički sindrom prema IDF	Ne	15	30,6%	15	34,9%	0,824
	Da	34	69,4%	28	65,1%	

Legenda: MS - metabolički sindrom, GUK - glukoza, HDL - lipoprotein visoke gustoće

Povezanost biokemijskih pokazatelja povezanih s metaboličkim sindromom te koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina i njihovim omjerom prikazan je u Tablici 13. S obzirom na prisutnost metaboličkog sindroma prema IDF definiciji nije dokazana statistički značajna poveznica s koncentracijama aciliranog i deaciliranog grelina ($p > 0,05$).

Ispitanici s pozitivnim kriterijem opsega struka imali su značajno veće vrijednosti omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina ($p=0,037$). Također, ispitanici s pozitivnim kriterijem za GUK imali su značajno niže vrijednosti aciliranoga grelina ($p=0,007$) kao i niže vrijednosti deaciliranoga grelina ($p=0,013$), dok je njihov omjer bio podjednak. Iako statistički nije bilo značajno ($p=0,084$), niže vrijednosti HDL (u sklopu kriterija za metabolički sindrom) pokazivale su povezanost s nižim vrijednostima deaciliranoga grelina.

Tablica 13. Povezanost biokemijskih pokazatelja povezanih s metaboličkim sindromom te koncentracijom aciliranoga i deaciliranoga grelina i njihovim omjerom

Metabolički sindrom prema IDF		N	Min	Max	Centile			P
					25.	Medijan	75.	
Acilirani grelin (pg/ml)	Ne	24	4,95	140,36	15,10	25,67	40,78	0,568
	Da	47	5,72	250,00	16,06	20,04	31,68	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Ne	24	38,48	1299,10	125,53	218,64	346,40	0,170
	Da	47	32,19	910,08	103,60	153,39	249,02	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Ne	24	0,04	0,37	0,10	0,11	0,15	0,129
	Da	47	0,01	0,76	0,10	0,14	0,20	
1. kriterij za MS - opseg struka								
Acilirani grelin (pg/ml)	Negativan	11	4,95	86,22	13,97	17,25	43,91	0,546
	Pozitivan	60	5,72	250,00	16,26	23,08	34,98	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Negativan	11	46,96	1299,10	122,04	215,04	350,11	0,515
	Pozitivan	60	32,19	910,08	107,68	166,88	308,75	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Negativan	11	0,04	0,19	0,08	0,11	0,14	0,037
	Pozitivan	60	0,01	0,76	0,10	0,14	0,19	
2. kriterij za MS - GUK								
Acilirani grelin (pg/ml)	Negativan	32	6,49	250,00	16,46	31,36	41,21	0,007
	Pozitivan	39	4,95	69,26	15,00	18,54	25,47	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Negativan	32	32,19	910,08	155,17	236,50	370,18	0,013
	Pozitivan	39	46,96	1299,10	101,88	136,65	230,12	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Negativan	32	0,06	0,76	0,10	0,13	0,19	0,548
	Pozitivan	39	0,01	0,33	0,10	0,14	0,18	
3. kriterij za MS - arterijska hipertenzija								
Acilirani grelin (pg/ml)	Negativan	20	6,49	250,00	15,98	21,69	37,57	0,818
	Pozitivan	51	4,95	168,82	15,00	21,59	34,46	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Negativan	20	38,48	1299,10	121,66	170,50	333,29	0,609
	Pozitivan	51	32,19	910,08	104,05	171,53	307,72	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Negativan	20	0,01	0,76	0,10	0,14	0,18	0,838
	Pozitivan	51	0,04	0,37	0,10	0,13	0,19	
4. kriterij za MS - trigliceridi								
Acilirani grelin (pg/ml)	Negativan	39	6,49	140,36	16,87	26,63	38,37	0,130
	Pozitivan	32	4,95	250,00	14,63	18,71	27,24	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Negativan	39	32,19	1299,10	122,04	178,78	309,09	0,518
	Pozitivan	32	46,96	910,08	103,71	146,66	317,79	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Negativan	39	0,04	0,37	0,10	0,13	0,19	0,712
	Pozitivan	32	0,01	0,76	0,08	0,14	0,18	
5. kriterij za MS - HDL								
Acilirani grelin (pg/ml)	Negativan	27	6,49	140,36	16,87	27,38	42,46	0,100
	Pozitivan	44	4,95	250,00	14,74	18,94	29,85	
Deacilirani grelin (pg/ml)	Negativan	27	38,48	1299,10	124,07	215,04	383,77	0,084
	Pozitivan	44	32,19	910,08	91,65	156,80	248,65	
Omjer acilirani / deacilirani grelin	Negativan	27	0,04	0,37	0,10	0,12	0,16	0,308
	Pozitivan	44	0,01	0,76	0,10	0,14	0,21	

Legenda: MS - metabolički sindrom, GUK - glukoza, HDL - lipoprotein visoke gustoće

6. RASPRAVA

Pretraživanjem dostupne literature ustanovili smo da do sada nije bila istraživana povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora u adenomima debeloga crijeva sa stupnjem displazije adenoma te povezanost serumskih vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti tu povezanost i vidjeti postoji li poveznica antropometrijskih mjera, prisutnosti pojedinih sastavnica metaboličkoga sindroma i samog metaboličkoga sindroma sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva te koncentracijama aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu. U literaturi postoje nekonzistentni podatci o odnosu serumskih vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina s antropometrijskim mjerenjima, prisutnosti metaboličkoga sindroma, prisutnosti pojedinih komponenata metaboličkoga sindroma i drugim laboratorijskim mjerenjima.

Složenost odnosa imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora u sluznici i adenomu debeloga crijeva veća je od onoga što smo inicijalno pretpostavili. Grelin je bio izražen u 98,8 % svih adenoma i 79,3 % zdravih sluznica, a grelinski receptor u 98,9 % svih adenoma i 94,6 % zdravih sluznica. Statističkom analizom podataka, kada se imunohistokemijski indeks bojanja grelina i grelinskoga receptora grupirao u četiri skupine, nije nađena značajna razlika u imunohistokemijskoj izraženosti grelina ($p=0,134$) i grelinskoga receptora ($p=0,172$) u adenomima s displazijom niskog i visokog stupnja. Također, nije nađena značajna statistička razlika u izraženosti grelina ($p=0,827$) i grelinskoga receptora ($p=0,864$) u zdravoj sluznici debeloga crijeva bez obzira na stupanj displazije u adenomu. Međutim, kada se imunohistokemijski indeks bojenja grelina i grelinskoga receptora grupira u dvije skupine (skupina izrazito jake izraženosti s IIB vrijednosti 9 i skupina s IIB vrijednosti < 9) dobiju se značajne razlike u izraženosti bojenja grelina u adenomima s niskom i visokom displazijom. Za grelinski receptor nije nađena statistički značajna razlika u izraženosti između adenoma niske i visoke displazije ($p>0,05$). Naši rezultati govore u prilog tome da se različita izraženost grelina i grelinskoga receptora može naći na normalnoj sluznici, u adenomima s niskim stupnjem displazije i adenomima s visokim stupnjem displazije. Međutim značajno je da je u našem istraživanju jaka izraženost grelina zabilježena 7 puta češće u adenomima s visokom displazijom u usporedbi s adenomima s niskom displazijom ($p=0,048$). Ovi rezultati govore u prilog tome da se u visokoj displaziji nalazi viša koncentracija grelina, odnosno da vjerojatno stanice adenoma s visokom

displazijom lokalno proizvode više grelina. Waseem i sur. (271) su istraživanjem o izraženosti grelina i grelinskoga receptora u karcinomu debeloga crijeva na 110 ispitanika također utvrdili da i zdrave i tumorske stanice debeloga crijeva izražavaju grelin i grelinski receptor, no da stanice dobro i umjereno diferenciranih tumora sintetiziraju veću količinu grelina u odnosu na normalne stanice debeloga crijeva. Jačinu imunohistokemijske reakcije za grelin su odredili vrijednostima od 0-4, te su dobro diferencirani tumori imali $1,92 \pm 0,4$ puta veću izraženost grelina, a oni umjerenog stadija do $2,25 \pm 0,5$ puta veću izraženost grelina u odnosu na normalnu sluznicu debeloga crijeva. Također primjetili su da kako stanice tumora gube sposobnost diferencijacije i tumori progrediraju prema višem stadiju (definiranom prema Američkom zajedničkom odboru za rak) tako se smanjuje i izraženost grelina i grelinskoga receptora ($p < 0,05$). Na temelju svojih rezultata zaključili su da je grelin-grelinski receptor sustav bitan u tumorima nižeg stadija, te da se važnost njegovog proliferativnog djelovanja gubi u tumorima visokog stadija. Obzirom da se izraženost grelina i grelinskoga receptora gubi u tumorima visokog stadija, grelin i grelinski receptor bi mogli imati značajnu ulogu u ranim stadijima karcinogeneze tumora debeloga crijeva. U kasnijem istraživanju Wasseem i sur. (182) su promatrali ranije pretpostavljeno proliferativno djelovanje grelina na *in vitro* modelu zdrave stanice debeloga crijeva i stanice karcinoma. Izlaganje oba tipa stanica grelinu uzrokovalo je pomicanje većine stanica iz stanične faze G1 u S, odnosno dovelo je do aktiviranja većine stanica prema proliferativnom obrascu ($p < 0,05$). Dodatno su analizirali djelovanje grelina na subcelularnoj razini te su otkrili da je djelovanje grelina u proliferativnom smislu posredovano aktivacijom EGFR puta i fosforilacijom PI3K-Akt proteina. Iako su na svim stanicama otkrili izraženost grelinskoga receptora, nakon inaktivacije receptora GHS-R1a i ponovnom izlaganju stanica grelinu i dalje su bilježili proliferativni učinak ($p < 0,05$ uz koncentraciju grelina od 10nM). Ovi su ih rezultati naveli na zaključak da grelin može svoje djelovanje izraziti i preko drugih receptora, kao što je GHS-R1b (182).

Mottershead i sur. (266) su istraživali imunohistokemijsku izražnost grelina i izraženost mRNA PCR-om na 22 uzorka adenokarcinoma jednjaka i 10 uzoraka karcinoma želuca te zdravoj sluznici. U njihovom istraživanju nije nađena imunohistokemijska izraženost grelina u stanicama adenokarcinoma želuca i jednjaka. Nasuprot tome, normalne stanice sluznice želuca su imunohistokemijski izražavale grelin ($p < 0,05$). Na temelju svojih rezultata također su došli do zaključka da tumorske stanice u uznapređovalom stadiju tumora gube sposobnost lučenja grelina. Iako se odmičemo od probavnog sustava, obzirom na mali broj objavljenih istraživanja na ovu temu, bitno je istaknuti i rezultate

istraživanja na tumorima jajnika od Nurkalem i sur. (258). Autori su proučavali izraženost grelina na benignim, graničnim i malignim tumorima jajnika (ukupno 47 slučajeva). Rezultati njihovog istraživanja pokazuju slabiju izraženost grelina u benignim tumorima, odnosno jaka izraženost grelina bila je češće zabilježena u graničnim i malignim tumorima jajnika u odnosu na benigne tumore ($p < 0,05$) (258). Isto tako istraživanje Cassoni i sur. (264) na 24 slučaja karcinoma dojke je pokazalo da dobro diferencirani tumori dojke imaju snažnu sposobnost vezanja grelina koja se progresivno gubila s napredovanjem prema umjerenom i uznapredovalom stadiju tumora ($p < 0,05$).

Naši rezultati su pokazali da postoji pozitivna povezanost imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora u zdravoj sluznici debeloga crijeva neovisno je li sluznica uzeta nasuprot adenoma niske ili niske displazije ($p < 0,05$). U adenomima je pozitivna povezanost između izraženosti grelina i grelinskoga receptora nađena samo u adenomima s visokim stupnjem displazije ($p < 0,001$), dok u adenomima s niskim stupnjem displazije nije bilo povezanosti između izraženosti istraživanih proteina ($p > 0,05$). Ovi rezultati su značajni jer iako pozitivnu povezanost izraženosti grelina i grelinskoga receptora možemo naći i u zdravoj sluznici i u adenomima s visokim stupnjem displazije, samo smo u adenomima s visokim stupnjem displazije zabilježili izrazito jaku imunohistokemijsku izraženost grelina. Nasuprot tome, izrazito jaka imunohistokemijska izraženost grelina nije zabilježena niti u jednom preparatu zdrave sluznice debeloga crijeva. Smatramo da stanice adenoma visokoga stupnja displazije vjerojatno lokalno sintetiziraju više grelina od stanica adenoma niske displazije i od zdrave sluznice debeloga crijeva te bi taj lokalno proizveden grelin mogao vezanjem na grelinski receptor djelovati proliferacijski. S obzirom na to da nismo uočili pozitivnu povezanost grelina i grelinskoga receptora u adenomima niskog stupnja displazije ($p = 0,459$), najvjerojatnije utjecaj grelina na proliferaciju nije toliko bitan u adenomima s niskom displazijom, već je njegov značaj veći u adenomima s visokom displazijom.

Što se tiče rezultata vezanih uz imunohistokemijsku izraženost grelinskoga receptora, u našoj studiji nisu nađene statistički značajne razlike u izraženosti grelinskoga receptora u zdravoj sluznici ni u adenomima s visokom ni u adenomima s niskom displazijom ($p > 0,05$). No, kao i za grelin, izrazito jaka izraženost grelinskoga receptora zabilježena je češće u adenomima s visokom displazijom (25,58 %), dok je u adenomima s niskom displazijom bila dvostruko rjeđa (12,24 %). U zdravoj sluznici izrazito jaka izraženost grelinskoga receptora zabilježena je u samo dva ispitanika, od ukupno 92, i to neovisno o stupnju displazije adenoma. Naši rezultati pokazuju da ne postoji značajna statistička

razlika u imunohistokemijskoj izraženosti grelinskoga receptora između adenoma s niskom displazijom i adenoma s visokom displazijom ($p > 0,05$). Waseem i sur. (182) su u ranije navedenom istraživanju utvrdili da stanice karcinoma debeloga crijeva pokazuju imunohistokemijsku izraženost grelinskoga receptora. Obzirom na dobivene podatke statističke analize i sada poznate činjenice ne možemo objasniti zašto i kod naših ispitanika nije zabilježena pojačana izraženost grelinskoga receptora u adenomima višeg stupnja displazije te to ostaje predmet budućih istraživanja. Smatram da će biti nužno, s obzirom na naše rezultate i rezultate studije Wasseem i sur. (182), utvrditi važnost grelinskoga receptora i njegovih podgrupa u posredovanju proliferacijskog učinka grelina. Potrebno je spomenuti istraživanje Zhao i sur. (272) koji su na mišjem modelu istraživali izražnost grelina i grelinskoga receptora, mjerenu putem kvantifikacije mRNA uz pomoć PCR (polymerase chain reaction), na upalno promijenjenoj i zdravoj sluznici debeloga crijeva. Rezultati njihovog istraživanja pokazuju da su grelin i grelini receptor bili jače izraženi u upalno promijenjenoj u odnosu na zdravu sluznicu debeloga crijeva ($p < 0,05$) (272). Njihovi rezultati bi mogli ukazivati na bitnu ulogu grelina i grelinskoga receptora kod osoba koje boluju od upalnih bolesti crijeva za koje je dokazano da nose teret povećanog rizika od karcinoma debeloga crijeva.

Osim imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora, u istraživanju smo željeli ispitati i serumske vrijednosti grelina te ih usporediti s parametrima inzulinske rezistencije i metaboličkog sindroma. Većina istraživanja do sada je ispitivala vrijednosti ukupnoga grelina, dok smo mi određivali vrijednosti obje do sada otkrivene forme grelina, acilirani i deacilirani grelin. U našem istraživanju vrijednosti deaciliranoga grelina u serumu mjerene natašte (medijan 21,59 pg/ml) bile su više od vrijednosti aciliranoga grelina u serumu (medijan vrijednosti 171,53 pg/ml). Naši rezultati su u skladu s do sada objavljenim rezultatima po kojima većinu cirkulirajućega ukupnoga grelina čini upravo deacilirani grelin, što je zaključeno i u istraživanju Akamizu i sur. (220) koji su na 36 zdravih ispitanika proveli ispitivanje koncentracije aciliranoga i deaciliranoga grelina natašte, mjerenu ELISA metodom kao i u našem istraživanju. Vrijednosti aciliranoga grelina su u našem istraživanju bile relativno stabilne i nisu ovisile o BMI-u ili prisutnosti metaboličkoga sindroma što odgovara rezultatima istraživanja na muškim zdravim ispitanicima, provedenom od Liu i sur. (226), koje je pokazalo da su vrijednosti aciliranoga grelina najniže natašte te da rastu i padaju ovisno o unosu hrane, a ne toliko o prisutnosti metaboličkoga sindroma ili razlici u antropometrijskim mjerama. Vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina su također određivane ELISA metodom kao i u našem istraživanju.

Prema našim rezultatima vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina, kao i omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina nisu se statistički značajno razlikovale između ispitanika s adenomima s visokom i niskom displazijom, niti ispitanika s ili bez metaboličkoga sindroma ($p > 0,05$). Iako do sada nije bilo istraživanja koja su uspoređivala vrijednosti aciliranoga i deaciliranoga grelina ovisno o stupnju displazije adenoma debelog crijeva, postoji nekoliko sličnih na karcinomima debeloga crijeva. U istraživanju na 527 slučajeva karcinoma debeloga crijeva i istog broja zdravih ispitanika, koji su praćeni u razdoblju od 20 godina, pokazano je da su nakon 10 godina praćenja ispitanici s nižim vrijednostima serumskoga grelina imali 21 puta veći rizik od razvoja karcinoma debeloga crijeva (OR: 21,00; 95%CI 5,08-86,75) i to 7 puta veći rizik od razvoja karcinoma rektuma (OR: 6,80; 95%CI 2,65-17,39) (269). Sundkvist i sur. (270) su nekoliko godina kasnije proveli validaciju istraživanja Murphy i sur. (269), replicirajući uvjete njihovog istraživanja, na manjem broju ispitanika od ukupno 60 slučajeva kolorektalnoga karcinoma. Oni nisu dobili povezanost nižih vrijednosti deaciliranoga grelina mjenog u serumu ispitanika, 5 godina prije nego što im je otkriven kolorektalni karcinom, s rizikom dobivanja kolorektalnoga karcinoma (OR 0,98; 95%CI 0,41-2,35) (270). Također istraživanje Waseem i sur. (271) na 110 bolesnika s karcinomom debeloga crijeva nije pokazalo jasnu povezanost serumskih vrijednosti ukupnog grelina sa stadijem karcinoma ($p > 0,05$), što su objasnili time da je za proliferaciju stanica karcinoma važnije lokalno od sistemnog djelovanja grelina. Nasuprot tome, istraživanje de Martel i sur. (267) na 52 ispitanika s adenokarcinomom jednjaka i njihovim kontrolama uparenim po spolu, dobi i rasi je dobilo drugačije rezultate. Oni su pokazali da su više vrijednosti ukupnoga grelina u osoba s BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$ bile povezane s nižim rizikom za razvoj karcinoma jednjaka (OR 0,27; 95%CI 0,07-0,98), a ujedno su našli da je vrijednost ukupnog grelina bila negativno povezana s BMI ($p = 0,09$) (267). Do sličnih rezultata je došla i drugo istraživanje Murphy i sur. (268) koja je proučavalo povezanost serumске koncentracije s rizikom razvoja karcinoma jednjaka. Na 82 ispitanika s dijagnosticiranim karcinomom jednjaka i njihovim kontrolama uparenim po dobi, pokazano je da su osobe u najnižoj kvartili koncentracije grelina u usporedbi s osobama u najvišoj kvartili koncentracija grelina imale 6 puta veći rizik od razvoja karcinoma jednjaka (OR 6,83; 95%CI 1,46-31,84). Dobiveni rizik je bio neovisan o prisustvu infekcije bakterijom *Helicobacter pylori* i bio je evidentan 10 godina prije trenutka dijagnoze karcinoma jednjaka (268). S obzirom na rezultate dobivene u našem istraživanju ne možemo potvrditi povezanost serumске koncentracije aciliranoga i deaciliranoga grelina sa stupnjem displazije u adenomima.

Statističkom analizom vrijednosti laboratorijskih parametara i njihovom usporedbom sa stupnjem displazije adenoma dobili smo značajne razlike samo u vrijednosti eritrocita i ALT. Ispitanici s adenomima s višim stupnjem displazije imali su niže vrijednosti eritrocita ($p=0,017$), što se može objasniti većom tendencijom krvarenja adenoma s visokim stupnjem displazije te time i zamjetnijom anemijom u laboratorijskim nalazima. U ispitanika s adenomima s visokom displazijom su verificirane niže vrijednosti ALT u usporedbi s ispitanicima s niskom displazijom ($p=0,027$). Ove rezultate nismo uspjeli interpretirati adekvatnom patofiziološkom ili kliničkom etiologijom. Također nismo našli statistički značajnu razliku u laboratorijskim vrijednostima povezanim uz parametre upale, CRP i brzinom sedimentacijom eritrocita, ovisno o stupnju displazije adenoma. Sve su p vrijednosti bile manje od 0,05. CRP se kao mogući pokazatelj upale istraživao na 575 žena s dijagnosticiranim adenomom debeloga crijeva visokog stupnja displazije i zdravim ispitanicima kao kontrolama, ali nije nađena značajna poveznica vrijednosti CRP s pojavnosti adenoma ili karcinoma debeloga crijeva ($p>0,05$) (276). U recentno objavljenom istraživanju na 190 bolesnika koji su praćeni radi procjene rizičnih faktora za dijagnosticiranje adenoma i karcinoma debeloga crijeva u razdoblju do 10 godina, utvrđeno je da su brzina sedimentacije eritrocita i anemija bile pozitivno povezane s rizikom dijagnosticiranja kolorektalnog karcinoma, ali ne i s rizikom dijagnoze adenoma debeloga crijeva (277).

Naši rezultati pokazali su statistički značajnu negativnu poveznicu vrijednosti deaciliranoga grelina u serumu s tjelesnom masom ($p=0,009$), BMI-om ($p=0,002$) i opsegom struka ($p=0,002$). Istraživanje na 64 ispitanika, koje je uključilo 28 pretilih ispitanika kojima je radi liječenja pretilosti učinjena operacija želučane premosnice, usporedilo je vrijednosti ukupnoga i aciliranoga grelina mjenjenih radioimunoesej metodom u pretilih osoba i osoba uredne tjelesne mase. U pretilih osoba su zabilježene značajno niže vrijednosti ukupnoga grelina (na račun deaciliranog grelina) ($p<0,05$), dok nije bilo značajne razlike u vrijednostima aciliranoga grelina. Nakon operacije želučane premosnice i gubitka na tjelesnoj masi zabilježen je statistički značajan postupni rast vrijednosti ukupnoga grelina ($p<0,05$) (229). Do sličnih rezultata došli su i Tschop i sur. (228) u istraživanju na 30 ispitanika, koji su utvrdili da je koncentracija ukupnoga grelina, mjerena radioimunoesej metodom, bila obrnuto povezana s porastom tjelesne mase, pretilosti i inzulinskom rezistencijom ($p<0,05$). U našem istraživanju omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina je pokazao pozitivnu poveznicu s opsegom struka ($p=0,002$) i omjerom opsega struka i bokova ($p=0,004$), kao pokazateljima nepovoljnog metaboličkoga obrasca.

Što se tiče koncentracija grelina u serumu i inzulinske rezistencije, našim istraživanjem dobili smo statistički značajnu negativnu poveznicu deaciliranoga grelina s koncentracijom inzulina ($p < 0,001$), vrijednostima glukoze natašte ($p = 0,048$) i HOMA-IR-om ($p = 0,001$). Također omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina je pokazao pozitivnu poveznicu s koncentracijom inzulina ($p = 0,001$) i HOMA-IR-om ($p = 0,002$). U ranije spomenutom istraživanju Akamizu i sur. (220) na zdravim ispitanicima, vrijednosti deaciliranoga grelina su također bile negativno povezane s BMI-om, koncentracijom inzulina i HOMA-IR-om ($p < 0,05$). Dugo se deacilirani grelin smatrao metabolički inaktivnom formom grelina, ali sve je jasnije da ublažava djelovanje aciliranoga grelina. Rezultati našeg istraživanja podupiru rezultate istraživanja Gauna i sur. (242) na 8 zdravih ispitanika, kojima su aplicirali u različitim koncentracijama i kombinacijama acilirani i deacilirani grelin i pratili utjecaj na vrijednosti glukoze i inzulina u serumu. Svojim istraživanjem su pokazali da deacilirani grelin prevenira porast koncentracije glukoze induciran aciliranim grelinom te prevenira aciliranim grelinom izazvano pogoršanje inzulinske osjetljivosti. U istraživanju na 107 ispitanika sa šećernom bolesti tipa dva i 101 zdravom ispitaniku Al Qarni i sur. (248), su pokazali da je dijagnoza šećerne bolesti tipa dva i inzulinske rezistencije bila povezana s nižim vrijednostima ukupnoga grelina mjenog radioimunoesej metodom ($p < 0,01$).

Kada smo analizirali poveznicu postojanja metaboličkoga sindroma s koncentracijama aciliranoga, deaciliranoga grelina i njihovog omjera u svih ispitanika nismo našli statistički značajne razlike ($p > 0,05$). No statistička razlika je nađena za pojedine sastavnice metaboličkog sindroma. Tako su ispitanici s pozitivnim kriterijem za opseg struka po IDF definiciji imali znatno više vrijednosti omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina ($p = 0,037$). Ispitanici koji su imali pozitivni kriterij za GUK prema IDF definiciji su imali niže vrijednosti deaciliranoga grelina ($p = 0,013$). Nismo našli statistički značajne poveznice za vrijednosti GUK-a i omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina ($p > 0,05$). Iako nije bila statistički značajna poveznica nižih vrijednosti HDL-a i deaciliranoga grelina, primijećena je tendencija povezanosti nižih vrijednosti HDL-a s nižim vrijednostima deaciliranoga grelina ($p = 0,084$). Većina drugih istraživanja je uzimala u obzir samo ukupnu vrijednost grelina. Tako je istraživanje Ikezaki i sur. (246), provedeno na 49 ispitanika u dobi od 8 do 12 godina pokazalo da su vrijednosti grelina bile obrnuto proporcionalne opsegu struka i indeksu tjelesne mase, ali ne i postotku masnog tkiva, te su bile negativno povezane s vrijednosti inzulina i HOMA-IR-om ($p < 0,05$). Kako je već navedeno u istraživanju Al Qarni i sur. (248), osobe sa šećernom bolesti tipa dva i prisutnosti inzulinske

rezistencije su imale niže vrijednosti ukupnoga grelina, dok nije istraživana odnos omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina. Za razliku od toga Barazzoni i sur. (244) su na 45 ispitanika s metaboličkim sindromom definiranim po NCEP ATP III definiciji utvrdili da su ukupni grelin i deacilirani grelin bili negativno, a omjer aciliranoga i deaciliranoga grelina pozitivno povezani s HOMA-IR-om i vrijednostima inzulina ($p < 0,05$). Također su utvrdili da su pretili osobe u usporedbi s osobama uredne tjelesne mase imale niže vrijednosti ukupnoga grelina i deaciliranoga grelina, ali slične vrijednosti aciliranoga grelina te viši omjer aciliranoga prema deaciliranom grelinu.

U našem istraživanju nismo našli statistički značajne razlike antropometrijskih mjerenja (tjelesne mase, tjelesne visine, postotka tjelesne masti, opsega struka ili omjera opsega struka i bokova) sa stupnjem displazije u adenomima. Važno je istaknuti da su gotovo svi bolesnici uključeni u ovu studiju imali BMI veći od 25 kg/m^2 , što znači da su ispitanici imali prekomjernu tjelesnu masu, medijan postotka masnog tkiva je bio 32% što je sve naše bolesnike (neovisno o spolu i dobi) svrstavalo u grupu s prekomjernom tjelesnom masti. Također u našem istraživanju nije nađeno statistički značajne razlike u povezanosti metaboličkoga sindroma definiranog po IDF definiciji, niti bilo koje od njegovih sastavnica, sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva. To bi se moglo objasniti činjenicom da u našoj skupini ispitanika, samo jedna trećina nije imala metabolički sindrom, a samo jedna osoba nije imala niti jedan ispunjeni kriterij za metabolički sindrom. Odnosno, gotovo svi naši ispitanici s adenomima debeloga crijeva su imali zadovoljena dva ili više kriterija metaboličkoga sindroma te stoga nisu činili adekvatnu grupu za statističku usporedbu. Kim i sur. (129) su analizirali 731 ispitanika s adenomom debeloga crijeva i 1800 zdravih ispitanika kao kontrolnu skupinu. Prisutnost metaboličkoga sindroma definiranog prema IDF definiciji u ispitanika je predstavljala rizični čimbenik za dijagnozu adenoma debeloga crijeva (OR 1,51; 95%CI 1,18-1,93) i bila je pozitivno povezana s adenomima s višim stupnjem displazije. Istraživanje na ukupno 1771 ispitanika s adenomima debeloga crijeva i 4667 ispitanika bez adenoma utvrdilo je da su povećan opseg struka, arterijska hipertenzija i serumski trigliceridi, sve sastavnice kriterija za metabolički sindrom, povezani s povišenim rizikom za nastanak adenoma debeloga crijeva, kao i dijagnoza samog metaboličkoga sindroma prema NCEP ATP III definiciji (OR 1,44; 95%CI 1,23-1,70). Metabolički sindrom je predstavljao rizik neovisno o stupnju displazije adenoma ili brojnosti otkrivenih adenoma (131). Multicentrično istraživanje, koje je uključilo 140 ispitanika s karcinomom debeloga crijeva i 280 zdravih ispitanika kao kontrolnu skupinu, pokazalo je da je metabolički sindrom (definiran prema NCEP ATP III

kriterijima) bio prisutan u 70,7 % ispitanika s karcinomom debeloga crijeva. U toj kohorti je pokazano da je u bolesnika s razvijenim metaboličkim sindromom rizik za razvoj karcinoma debelog crijeva gotovo tri puta viši u odnosu na osobe koje su metabolički zdrave (OR 2,61; 95%CI 1,53-4,47) te da je rizik za otkrivanje karcinoma debeloga crijeva bio pozitivno povezan s brojem prisutnih komponenti metaboličkoga sindroma (107).

S obzirom na to da su gotovo svi ispitanici uključeni u naše istraživanje imali bar jednu komponentu metaboličkoga sindroma te na taj način nismo imali zdravu kontrolnu skupinu ispitanika, nismo bili u mogućnosti statistički potvrditi povezanost metaboličkoga sindroma s rizikom nastanka adenoma, posebice adenoma s visokim stupnjem displazije. Međutim možemo zaključiti da je prisutnost metaboličkoga sindroma u naših ispitanika neupitna, te da na temelju dosadašnjih istraživanja metabolički sindrom u patogenezi adenoma debeloga crijeva igra važnu ulogu.

Meta analiza 17 velikih populacijskih istraživanja, koja je uključila skoro milijun ispitanika oba spola pokazala je da je muški spol, neovisno o dobi, rizični faktor za razvoj adenoma debeloga crijeva (SRR 1,83; 95%CI 1,69-1,97) (137). U ovo istraživanje je uključeno od ukupno 92 ispitanika 64 ispitanika muškog spola što čini 69,6 % ispitivane populacije i time vjerno predstavlja prevalenciju adenoma prema spolu. Prosječna dob naših ispitanika je bila 66 godina, a u meta analizi 18 istraživanja (133) pokazano da je dob rizični faktor za razvoj adenoma debeloga crijeva i pozitivno je povezana s adenomima višeg stupnja displazije, neovisno o veličini ili histološkoj klasifikaciji adenoma. Obzirom na uznapredovalu dob naših ispitanika, utjecaj drugih prisutnih čimbenika za rizik razvoja adenoma kolona kao što su pušenje, dijeta, fizička aktivnost, nije se mogao adekvatno ispitati neovisan utjecaj dobi na rezultate našeg istraživanja.

U našoj kohorti ispitanika, 32,6 % ispitanika su imali adenom veći od 5 mm u uzlaznom debelom crijevu, 24,2 % u poprečnom i silaznom debelom crijevu, 53,3 % u sigmi, a 20,7 % u rektumu. Iz tih rezultata je vidljivo da je većina naših ispitanika imala adenom u lijevom debelom crijevu. Gotovo svi bolesnici uključeni u naše istraživanje imali su BMI veći od 25 kg/m² što znači da su ispitanici većinom imali prekomjernu tjelesnu masu. Povišen indeks tjelesne mase je povezan s razvojem adenoma debeloga crijeva, što je pokazala i meta analiza 36 istraživanja koja je uključila 29 860 slučajeva adenoma debeloga crijeva. Istraživanjem je utvrđeno da rizik za razvoj adenoma debeloga crijeva raste za 19 % sa svakim porastom indeksa tjelesne mase za 5 kg/m² (SRR 1,19; 95%CI 1,13-1,26). Iako je porast BMI-a za 5 kg/m² predstavljao veći rizik za razvoj adenoma s višim stupnjem displazije

nego adenoma s nižim stupnjem displazije, nije nađena statistički značajna razlika između te dvije skupine adenoma (138).

U našem istraživanju, zadovoljen kriterij povećanog opsega struka za dijagnozu metaboličkoga sindroma prema IDF definiciji je imalo 78 ispitanika (84,8 %). Studija na 3922 ispitanika pokazala je da povećanjem abdominale pretilosti u ispitanika raste i rizik za razvoj adenoma debeloga crijeva u oba spola ($p < 0,05$). Ispitanici koji su svrstani uskupinu s najvišim postotkom abdominale pretilosti imali su viši rizik za razvoj adenoma većih od 10 mm i viši rizik za razvoj većeg broja adenoma (139).

Aktivno pušenje također se spominje kao faktor rizika za razvoj adenoma debeloga crijeva. Ono je u našoj kohorti zabilježeno u 34,8 % ispitanika (140). Rezultati meta analize 12 istraživanja, u kojoj je zabilježeno 18 750 slučajeva kolorektalnog karcinoma, pokazali su da osobe koje koriste acetyl-salicilnu kiselinu u niskim dozama imaju 20 % do 26 % niži rizik od nastanka karcinoma debeloga crijeva (111). U našem istraživanju korištenje niskih doza acetyl-salicilne kiseline je bilo zabilježeno češće u ispitanika s adenomom s visokom displazijom (23,25 %) u odnosu na ispitanike s niskom displazijom (8 %). Smatram da su naši rezultati odraz činjenice da ispitanici s adenomom s visokim stupnjem displazije češće imaju komorbiditete koji zahtijevaju svakodnevnu kroničnu primjenu niskih doza acetyl-salicilne kiseline u odnosu na ispitanike s adenomom s niskim stupnjem displazije. Oko 70 % naših ispitanika je svakodnevno konzumiralo meso i suhomesnate proizvode. Povećan unos masnoća i crvenog mesa uz smanjeni unos povrća i vlakana je poznat rizični faktor za nastanak adenoma debeloga crijeva (141). Pozitivnu obiteljsku anamnezu za adenome debeloga crijeva i karcinome debeloga crijeva u našem istraživanju je imalo samo 16,3 % ispitanika. Poznato je da je utjecaj nasljeđa prisutan u 15 % do 20 % slučajeva adenoma debeloga crijeva, uz još oko 6 % dodatnog rizika koji nose uobičajene genetske varijacije u populaciji (142). To odgovara i našoj kohorti ispitanika, a smatramo da smo takvu kohortu dobili temeljem odgovarajućih isključivih uvjeta. Smatramo da smo oštrim isključivim kriterijima isključili one ispitanike s potencijalnom dijagnozom nasljednih polipoznih sindroma i drugim stanjima, kao što su upalne bolesti crijeva ili zloćudne bolesti bilo kojeg sijela, koje bi ugrozile dobivene rezultate.

Ono što smatramo nedostatkom ovog istraživanja je činjenica da su nenamjerno u istraživanje uključeni ispitanici s prekomjernom tjelesnom masom i gotovo svi koji su imali bar jedan pozitivan kriterij za metabolički sindrom, a da nismo adekvatno uključili bolesnike bez patološkog metaboličkoga profila. Međutim, upravo je zabrinjavajuće da je većina bolesnika imala tako loš metabolički profil, uz

prekomjernu tjelesnu masu te medijan vrijednosti BMI-a koji naginje pretilosti. Pretilost je u našem društvu neosporno veliki zdravstveni problem preko kojeg se često olako prelazi. S obzirom na to da je srednja dob naših ispitanika bila 66 godina, a da su ujedno svi imali loš metabolički profil glavno je pitanje je li potrebno ranije početi probirati opću populaciju na prisutnost adenoma debeloga crijeva u slučaju da imaju loš metabolički profil. Ovo istraživanje je i inicijalno započelo s jednom od ideja prema kojoj su bolesnici s metaboličkim sindromom skloniji adenomima s visokim stupnjem displazije. Iako to nismo dokazali, obzirom da su svi ispitanici imali loš metabolički profil pa nije bilo adekvatne kontrolne skupine, smatramo da je potrebno daljnjim istraživanjima preispitati dosadašnje kriterije za prvu, takozvanu "screening" kolonoskopiju. Nadamo se da će buduća istraživanja uključivati traženje adekvatnih neinvazivnih pokazatelja, temeljenih na lošem metaboličkom profilu i sklonosti razvoja metaboličkog sindroma, koji će nam uspješnije od sadašnjih metoda probira pomoći prepoznati osobe s visokim rizikom za adenome debeloga crijeva. Na taj način se individualizira pristup svakom bolesniku, odnosno ostvaruje bolji i ekonomičniji pristup probiru na adenome debelog crijeva.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata dobivenih u istraživanju potvrdili smo imunohistokemijsku izraženost grelina i grelinskoga receptora u normalnoj sluznici debeloga crijeva i u adenomima s niskim i visokim stupnjem displazije. Obzirom na zadane opće i specifične ciljeve istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Koncentracije aciliranoga i deaciliranoga grelina nisu povezane s prisutnosti metaboličkoga sindroma definiranog prema IDF definiciji, ali je koncentracija deaciliranoga grelina negativno povezana s tjelesnom masom, BMI, opsegom struka, koncentracijom inzulina, vrijednostima glukoze natašte i HOMA-IR.
2. Koncentracija aciliranoga, deaciliranoga te omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina u serumu nije povezana sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva.
3. U adenomima s visokom displazijom izrazito jaka imunohistokemijska izraženost grelina je 7 puta češća u usporedbi s adenomima s niskom displazijom, što govori u prilog pojačane sinteze grelina na lokalnoj razini.
4. Imunohistokemijska izraženost grelina u adenomu visokog stupnja displazije je pozitivno povezana s izraženosti grelinskoga receptora u adenomu visokog stupnja displazije.
5. Imunohistokemijska izraženost grelinskoga receptora u adenomima visoke displazije nije statistički značajno veća u odnosu na adenome niske displazije.
6. Antropometrijska mjerenja i laboratorijski parametri nisu statistički značajno povezani sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva, što se može objasniti činjenicom da su gotovo svi ispitanici uključeni u istraživanje imali BMI > 25 kg/m².
7. Povišene vrijednosti omjera aciliranoga i deaciliranoga grelina su pozitivno povezane s opsegom struka, dok je koncentracija deaciliranoga grelina negativno povezana s višim vrijednostima glikemije natašte i pokazuje statistički značajno pozitivnu poveznost s vrijednostima HDL-a. Svi navedeni parametri spadaju u kriterije za dijagnozu metaboličkoga sindroma prema IDF definiciji.

8. SAŽETAK

Grelin je adipokin koji ima ulogu u patogenezi inzulinske rezistencije i metaboličkoga sindroma, a oba navedena stanja su povezana s povećanom incidencijom adenoma i karcinoma debeloga crijeva. Prema našim saznanjima do sada nije istražena izraženost grelina i grelinskoga receptora u adenomima debeloga crijeva. Cilj istraživanja je bio istražiti povezanost serumskih vrijednosti grelina i imunohistokemijske izraženosti grelina i grelinskoga receptora sa stupnjem displazije adenoma debeloga crijeva te ih usporediti s parametrima inzulinske rezistencije i kriterijima za metabolički sindrom. U istraživanje su uključena 92 ispitanika oba spola s adenomima debeloga crijeva, od kojih je 43 imalo adenom s visokim stupnjem displazije. Ispitanicima je učinjena polipektomija, antropometrijska i laboratorijska mjerenja, određeni su acilirani i deacilirani grelin u serumu te imunohistokemijska izraženost grelina i grelinskoga receptora u adenomima. U adenomima s visokom displazijom jaka izraženost grelina je 7 puta češća u usporedbi s adenomima s niskom displazijom (13,95 % naprema 2,04 %), a u normalnoj sluznici debeloga crijeva nije zabilježena jaka izraženost grelina. Grelinski receptor je bio jako izražen u 12,24 % adenoma s niskom displazijom, 25,58 % s visokom displazijom i u 2,17 % ispitanika u normalnoj sluznici debeloga crijeva. Izraženost grelina je pozitivno povezana s izraženosti grelinskoga receptora u adenomima s visokom displazijom. Koncentracija deaciliranoga grelina je negativno povezana s tjelesnom masom, BMI, opsegom struka, inzulinom, glikemijom natašte i HOMA-IR. Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da su grelin i grelinski receptor izraženi u normalnoj sluznici debeloga crijeva i u adenomima bez obzira na stupanj displazije, ali je grelin značajno jače izražen u adenomima s visokom displazijom što bi moglo biti posljedica pojačane lokalne sinteze grelina te bi grelin mogao imati ulogu u progresiji adenoma s visokom displazijom. S obzirom na to da su serumske vrijednosti deaciliranoga grelina negativno povezane s parametrima inzulinske rezistencije i kriterijima za metabolički sindrom, deacilirani grelin bi mogao imati protektivnu ulogu u ova dva stanja ometanjem djelovanja aciliranoga grelina.

Ključne riječi: grelin, grelinski receptor, adenom debeloga crijeva, metabolički sindrom.

9. SUMMARY

Correlation of ghrelin and ghrelin receptor with the grade of dysplasia in colonic adenomas

Sanja Stojsavljević, 2020.

Aim of this study was to investigate the correlation of serum ghrelin and immunohistochemical expression of ghrelin and ghrelin receptor with the grade of dysplasia in colonic adenomas, and compare them with the presence of insulin resistance and metabolic syndrome. The study included 92 participants with colonic adenomas, of whom 43 had high grade dysplasia. In high grade adenomas high expression of ghrelin was 7 times more common than in low grade adenomas (13,95% to 2,04%) and it was absent in normal mucosa. High expression of ghrelin receptor was present in 12,24% low grade, 25,58% high grade adenomas and 2,17% of normal mucosa. Expression of ghrelin positively correlated with expression of ghrelin receptor in high grade dysplasia. Serum deacylated ghrelin negatively correlated with body mass, BMI, waist circumference, insulin, fasting plasma glucose levels and HOMA-IR. High expression of grelin in high grade adenomas is probably due to increased local production of ghrelin, and could in that way have a role in proliferation and tumorigenesis. Serum deacylated ghrelin is negatively correlated with insulin resistance and metabolic syndrome criteria, and could have a protective role in these two conditions.

Key words: ghrelin, ghrelin receptor, colon adenoma, metabolic syndrome

10. POPIS LITERATURE

1. Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2017;11:215-25. doi: 10.1177/1753944717711379.
2. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998;15:539-53. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.
3. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary on The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001; 285:2486-97. doi: 10.1001/jama.285.19.2486
4. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome 2006. [Internet] Brisel: International Diabetes Federation; 2006 [pristupljeno 30.7.2019.]. Dostupno na: <https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html>
5. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care.* 2005;28:2745-9. doi: 10.2337/diacare.28.11.2745.
6. Adams RJ, Appleton S, Wilson DH, Taylor AW, Dal Grande E, Chittleborough C, i sur. Population comparison of two clinical approaches to the metabolic syndrome: implications of the new International Diabetes Federation consensus definition. *Diabetes Care.* 2005;28:2777-9. doi: 10.2337/diacare.28.11.2777.
7. Cull CA, Jensen CC, Retnakaran R, Holman RR. Impact of the metabolic syndrome on macrovascular and microvascular outcomes in type 2 diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study 78. *Circulation.* 2007;116:2119-26. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.733428.
8. Chien KL, Lee BC, Hsu HC, Lin HJ, Chen MF, Lee YT. Prevalence, agreement and classification of various metabolic syndrome criteria among ethnic Chinese: a report on the hospital-based health diagnosis of the adult population. *Atherosclerosis.* 200;196:764-71. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.01.006.

9. Zabetian A, Hadaegh F, Azizi F. Prevalence of metabolic syndrome in Iranian adult population, concordance between the IDF with the ATPIII and the WHO definitions. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77:251-7. doi: 10.1016/j.diabres.2006.12.001.
10. Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2005;112:3066-72. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.539528.
11. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among u.s. Adults. *Diabetes Care.* 2004;27:2444-9. doi: 10.2337/diacare.27.10.2444.
12. Cameron AJ, Magliano DJ, Zimmet PZ, Welborn T, Shaw JE. The metabolic syndrome in Australia: prevalence using four definitions. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77:471-8. doi: 10.1016/j.diabres.2007.02.002.
13. World Health Organization. Body mass index – BMI. [Internet]. Ženeva: World Health Organization; 2019 [pristupljeno 15.9.2019.]. Dostupno na: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>
14. Wilson PW, Kannel WB, Silbershatz H, D'Agostino RB. Clustering of metabolic factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 1999;159:1104-9. doi: 10.1001/archinte.159.10.1104.
15. Palaniappan L, Carnethon MR, Wang Y, Hanley AJ, Fortmann SP, Haffner SM, i sur. Predictors of the incident metabolic syndrome in adults: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care.* 2004;27:788-93. doi: 10.2337/diacare.27.3.788.
16. Yaghoobkar H, Scott RA, White CC, Zhang W, Speliotes E, Munroe PB, i sur. Genetic evidence for a normal-weight "metabolically obese" phenotype linking insulin resistance, hypertension, coronary artery disease, and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2014;63:4369-77. doi: 10.2337/db14-0318.
17. Porter SA, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, O'Donnel CJ, Fox CS. Abdominal subcutaneous adipose tissue: a protective fat depot? *Diabetes Care.* 2009;32:1068-75. doi: 10.2337/dc08-2280.
18. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD. The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory issue. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1229:45-52. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06096.x.
19. Mantzoros C. Insulin Resistance: Definition and clinical spectrum. U : UpToDate, Nathat DM ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2019 [pristupljeno 26.6.2019.] Dostupno na: <http://www.uptodate.com/>

20. Semple RK, Savage DB, Cochran EK, Gorden P, O'Rahilly S. Genetic syndromes of severe insulin resistance. *Endocr Rev.* 2011;32:498-514. doi: 10.1210/er.2010-0020.
21. Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:14-23. doi: 10.1046/j.1365-2362.32.s3.3.x.
22. Lewis GF, Steiner G. Acute effects of insulin in the control of VLDL production in humans. Implications for the insulin-resistant state. *Diabetes Care.* 1996;19:390-3. doi: 10.2337/diacare.19.4.390.
23. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96:1221-32. doi:10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c.
24. Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S, Syed T, Ghanim H, Aljada A, et al. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. *Diabetes.* 2003;52:2882-7. doi: 10.2337/diabetes.52.12.2882.
25. Lamarche B, Paradis ME. Endothelial lipase and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18:298-303. doi:10.1097/MOL.0b013e328133857f.
26. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-9. doi: 10.1007/bf00280883.
27. Meigs JB, Larson MG, Fox CS, Keaney JF Jr, Vasan RS, Benjamin EJ. Association of oxidative stress, insulin resistance, and diabetes risk phenotypes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care.* 2007;30:2529-35. doi: 10.2337/dc07-0817.
28. Ascaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care.* 2003;26:3320-5. doi:10.2337/diacare.26.12.3320.
29. McLaughlin T, Abbasi F, Cheal K, Chu J, Lamendola C, Reaven G. Use of metabolic markers to identify overweight individuals who are insulin resistant. *Ann Intern Med.* 2003;139:802-9. doi: 10.7326/0003-4819-139-10-200311180-00007.
30. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259:87-91. doi: 10.1126/science.7678183.

31. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, i sur. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003;112:1821-30. doi: 10.1172/JCI19451.
32. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003;112:1796-808. doi: 10.1172/JCI19246.
33. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost*. 2003;1:1575-9. doi:10.1046/j.1538-7836.2003.00279.x.
34. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117:175–84. doi: 10.1172/JCI29881.
35. Odegaard JI, Chawla A. Alternative macrophage activation and metabolism. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:275-97. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130138.
36. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, i sur. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med*. 2009;15:930-9. doi: 10.1038/nm.2002.
37. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, i sur. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15:914-20. doi: 10.1038/nm.1964.
38. Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, i sur. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*. 2007;56:901-11. doi: 10.2337/db06-0911.
39. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, i sur. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol Cell Biol*. 2009;29:1575-91. doi: 10.1128/MCB.01300-08.
40. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:85-97. doi:10.1038/nri2921.
41. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, i sur. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79-83. doi: 10.1006/bbrc.1999.0255.

42. Stojšavljević S, Gomerčić Palčić M, Virović Jukić L, Smirčić Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20:18070-91. doi: 10.3748/wjg.v20.i48.18070.
43. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, i sur. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J*. 2004;68:975-81. doi: 10.1253/circj.68.975.
44. Ramya K, Ayyappa KA, Ghosh S, Mohan V, Radha V. Genetic association of ADIPOQ gene variants with type 2 diabetes, obesity and serum adiponectin levels in south Indian population. *Gene*. 2013;532:253-62. doi: 10.1016/j.gene.2013.09.012.
45. Kamada Y, Matsumoto H, Tamura S, Fukushima J, Kiso S, Fukui K, i sur. Hypoadiponectinemia accelerates hepatic tumor formation in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model. *J Hepatol*. 2007;47:556–564. doi: 10.1016/j.jhep.2007.03.020.
46. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*. 2007;8:21-34. doi: 10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x.
47. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395:763-70. doi: 10.1038/27376.
48. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, i sur. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest*. 1996;98:1277-82. doi:10.1172/JCI118913.
49. Zimmet P, Hodge A, Nicolson M, Staten M, de Courten M, Moore J, i sur. Serum leptin concentration, obesity, and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study. *BMJ*. 1996;313:965-9. doi: 10.1136/bmj.313.7063.965.
50. El-Wakkad A, Hassan Nel-M, Sibaii H, El-Zayat SR. Proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and adiponkines in students with central obesity. *Cytokine*. 2013;61:682–687. doi: 10.1016/j.cyto.2012.11.010.
51. Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollack A, Moser A, Friedman J, i sur. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest*. 1996;97:2152-7. doi: 10.1172/JCI118653.
52. Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes*. 1996;45:988-91. doi: 10.2337/diab.45.7.988.

53. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science*. 2004;304:1154-8. doi: 10.1126/science.1093466.
54. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309:286-90. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.07.003.
55. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*. 2005;174:5789-95. doi: 10.4049/jimmunol.174.9.5789.
56. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, i sur. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:295-9. doi: 10.1210/jc.2005-1475.
57. Haider DG, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1578-81. doi: 10.1210/jc.2005-2248.
58. Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R, i sur. Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:3165-70. doi: 10.1210/jc.2006-0361.
59. Quadro L, Blaner WS, Salchow DJ, Vogel S, Piantedosi R, Gouras P, i sur. Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein. *EMBO J*. 1999;18:4633-44. doi: 10.1093/emboj/18.17.4633.
60. Ost A, Danielsson A, Lidén M, Eriksson U, Nystrom FH, Strålfors P. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin-induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes. *FASEB J*. 2007;21:3696-704. doi: 10.1096/fj.07-8173com.
61. Graham TE, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, i sur. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med*. 2006;354:2552-63. doi: 10.1056/NEJMoa054862.
62. Klöting N, Graham TE, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Wason CJ, i sur. Serum retinol-binding protein is more highly expressed in visceral than in subcutaneous adipose tissue and is a marker of intra-abdominal fat mass. *Cell Metab*. 2007;6:79-87. doi: 10.1016/j.cmet.2007.06.002.

63. Lang CH, Dobrescu C, Bagby GJ. Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology*. 1992;130:43-52. doi: 10.1210/endo.130.1.1727716.
64. Plomgaard P, Bouzakri K, Krogh-Madsen R, Mittendorfer B, Zierath JR, Pedersen BK. Tumor necrosis factor- α induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*. 2005;54:2939-45. doi: 10.2337/diabetes.54.10.2939.
65. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest*. 1995;95:2111-9. doi: 10.1172/JCI117899.
66. Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan DM, D'Agostino RB Sr, Wilson PW, et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor- α with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3165-72. doi: 10.1210/jc.2008-0425.
67. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:847-50. doi: 10.1210/jcem.83.3.4660.
68. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001 Jul 18;286:327-34. doi: 10.1001/jama.286.3.327.
69. Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, et al. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. *Diabetes*. 2004;53:1060-7. doi: 10.2337/diabetes.53.4.1060.
70. Sabio G, Das M, Mora A, Zhang Z, Jun JY, Ko HJ, et al. A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science*. 2008;322:1539-43. doi: 10.1126/science.1160794.
71. Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *Eur Cytokine Netw*. 2000;11:483-6.
72. Meier CA, Bobbioni E, Gabay C, Assimakopoulos-Jeannet F, Golay A, Dayer JM. IL-1 receptor antagonist serum levels are increased in human obesity: a possible link to the resistance to leptin? *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1184-8. doi: 10.1210/jcem.87.3.8351.

73. Donath MY, Dalmas É, Sauter NS, Böni-Schnetzler M. Inflammation in obesity and diabetes: islet dysfunction and therapeutic opportunity. *Cell Metab.* 2013;17:860-72. doi: 10.1016/j.cmet.2013.05.001.
74. Juge-Aubry CE, Somm E, Chicheportiche R, Burger D, Pernin A, Cuénod-Pittet B, i sur. Regulatory effects of interleukin (IL)-1, interferon-beta, and IL-4 on the production of IL-1 receptor antagonist by human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2652-8. doi: 10.1210/jc.2003-031219.
75. Moschen AR, Molnar C, Enrich B, Geiger S, Ebenbichler CF, Tilg H. Adipose and liver expression of interleukin (IL)-1 family members in morbid obesity and effects of weight loss. *Mol Med.* 2011;17:840-5. doi: 10.2119/molmed.2010.00108.
76. Um JY, Rim HK, Kim SJ, Kim HL, Hong SH. Functional polymorphism of IL-1 alpha and its potential role in obesity in humans and mice. *PLoS One.* 2011;6:29524. doi: 10.1371/journal.pone.0029524.
77. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, i sur. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005;46:2347-55. doi: 10.1194/jlr.M500294-JLR200.
78. Wood IS, Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. The pro-inflammatory cytokine IL-18 is expressed in human adipose tissue and strongly upregulated by TNFalpha in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337:422-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.09.068.
79. Uzunlulu M, Telci Caklili O, Oguz A. Association between Metabolic Syndrome and Cancer. *Ann Nutr Metab.* 2016;68:173-9. doi: 10.1159/000443743.
80. Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2012;35:2402-11. doi: 10.2337/dc12-0336.
81. Cowey S, Hardy RW. The metabolic syndrome: A high-risk state for cancer? *Am J Pathol.* 2006;169:1505-22. doi: 10.2353/ajpath.2006.051090.
82. Levine W, Dyer AR, Shekelle RB, Schoenberger JA, Stamler J. Post-load plasma glucose and cancer mortality in middle-aged men and women. 12-year follow-up findings of the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Am J Epidemiol.* 1990;131:254-62. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a115495.

83. Rapp K, Schroeder J, Klenk J, Ulmer H, Concin H, Diem G, i sur. Fasting blood glucose and cancer risk in a cohort of more than 140,000 adults in Austria. *Diabetologia*. 2006;49:945-52. doi: 10.1007/s00125-006-0207-6.
84. Berster JM, Göke B. Type 2 diabetes mellitus as risk factor for colorectal cancer. *Arch Physiol Biochem*. 2008;114:84-98. doi: 10.1080/13813450802008455.
85. Kyrgiou M, Kalliala I, Markozannes G, Gunter MJ, Paraskeva E, Gabra H, i sur. Adiposity and cancer at major anatomical sites: umbrella review of the literature. *BMJ*. 2017;356:477. doi: 10.1136/bmj.j477.
86. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes*. 2009;33:54-66. doi:10.1038/ijo.2008.229.
87. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*. 2004;266:37-56. doi:10.1023/B:MCBI.0000049134.69131.89.
88. Giovannucci E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. *J Nutr*. 2001;131:3109S-20S. doi: 10.1093/jn/131.11.3109S.
89. Ibrahim YH, Yee D. Insulin-like growth factor-I and cancer risk. *Growth Horm IGF Res*. 2004;14:261-9. doi: 10.1016/j.ghir.2004.01.005.
90. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004;56:549-80. doi:10.1124/pr.56.4.3.
91. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:579-91. doi:10.1038/nrc1408.
92. Morimoto LM, White E, Chen Z, Chlebowski RT, Hays J, Kuller L, i sur. Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States). *Cancer Causes Control*. 2002;13:741-51.
93. MacInnis RJ, English DR. Body size and composition and prostate cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Cancer Causes Control*. 2006;17:989-1003. doi:10.1007/s10552-006-0049-z.
94. Rodriguez C, Freedland SJ, Deka A, Jacobs EJ, McCullough ML, Patel AV, i sur. Body mass index, weight change, and risk of prostate cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16:63-9. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0754.

95. Bonovas S, Filioussi K, Tsantes A. Diabetes mellitus and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2004;47:1071-8. doi: 10.1007/s00125-004-1415-6.
96. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116:1793-801. doi: 10.1172/JCI29069.
97. Bergström A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer*. 2001;91:421-30. doi: 10.1002/1097-0215(200002)9999:9999<::aid-ijc1053>3.0.co;2-t.
98. Ma Y, Yang Y, Wang F, Zhang P, Shi C, Zou Y, et al. Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One*. 2013;8:e53916. doi: 10.1371/journal.pone.0053916.
99. Guraya SY. Association of type 2 diabetes mellitus and the risk of colorectal cancer: A meta-analysis and systematic review. *World J Gastroenterol*. 2015;21:6026-31. doi: 10.3748/wjg.v21.i19.6026.
100. Rinaldi S, Cleveland R, Norat T, Biessy C, Rohrmann S, Linseisen J, et al. Serum levels of IGF-I, IGFBP-3 and colorectal cancer risk: results from the EPIC cohort, plus a meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer*. 2010;126:1702-15. doi: 10.1002/ijc.24927.
101. Chi F, Wu R, Zeng YC, Xing R, Liu Y. Circulation insulin-like growth factor peptides and colorectal cancer risk: an updated systematic review and meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013;40:3583-90. doi: 10.1007/s11033-012-2432-z.
102. He XK, Su TT, Si JM, Sun LM. Metformin Is Associated With Slightly Reduced Risk of Colorectal Cancer and Moderate Survival Benefits in Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *Medicine*. 2016;95:e2749. doi: 10.1097/MD.0000000000002749.
103. Nie Z, Zhu H, Gu M. Reduced colorectal cancer incidence in type 2 diabetic patients treated with metformin: a meta-analysis. *Pharm Biol*. 2016;54:2636-42. doi: 10.1080/13880209.2016.1176057.
104. Kourelis TV, Siegel RD. Metformin and cancer: new applications for an old drug. *Med Oncol*. 2012;29:1314-27. doi: 10.1007/s12032-011-9846-7.
105. Deming DA, Leystra AA, Farhoud M, Nettekoven L, Clipson L, Albrecht D, et al. mTOR inhibition elicits a dramatic response in PI3K-dependent colon cancers. *PLoS One*. 2013;8:e60709. doi: 10.1371/journal.pone.0060709.

106. Mansourian M, Karimi R, Vaseghi G Different effects of metformin and insulin on primary and secondary chemoprevention of colorectal adenoma in diabetes type 2: Traditional and Bayesian meta-analysis. *EXCLI J*. 2018;17:45-56. doi: 10.17179/excli2017-993.
107. Ulaganathan V, Kandiah M, Zalilah MS, Faizal JA, Fijeraid H, Normayah K, i sur. Colorectal cancer and its association with the metabolic syndrome: a Malaysian multi-centric case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13:3873-7. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.8.3873.
108. He Q, Zhang H, Yao S, Zhu D, Lv D, Cui P, i sur. A study on relationship between metabolic syndrome and colorectal cancer. *J BUON*. 2018;23:1362-68. PMID: 30570859.
109. Castaño-Milla C, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic review with meta-analysis: the declining risk of colorectal cancer in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:645-59. doi: 10.1111/apt.12651.
110. Canavan C, Abrams KR, Mayberry J. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23:1097-104. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.02854.x.
111. Ye X, Fu J, Yang Y, Chen S. Dose-risk and duration-risk relationships between aspirin and colorectal cancer: a meta-analysis of published cohort studies. *PLoS One*. 2013;8:e57578. doi: 10.1371/journal.pone.0057578.
112. Liu Z, Brooks RS, Ciappio ED, Kim SJ, Crott JW, Bennett G, i sur. Diet-induced obesity elevates colonic TNF- α in mice and is accompanied by an activation of Wnt signaling: a mechanism for obesity-associated colorectal cancer. *J Nutr Biochem*. 2012;23:1207-13. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.07.002.
113. Knüpfer H, Preiss R. Serum interleukin-6 levels in colorectal cancer patients--a summary of published results. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25:135-40. doi: 10.1007/s00384-009-0818-8.
114. Zick Y. Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27:56-60. doi:10.1038/sj.ijo.0802503.
115. Shoelson SE, Lee J, Yuan M. Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27:49-52. doi:10.1038/sj.ijo.0802501.
116. Kant P, Hull MA. Excess body weight and obesity--the link with gastrointestinal and hepatobiliary cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:224-38. doi:10.1038/nrgastro.2011.23.

117. An W, Bai Y, Deng SX, Gao J, Ben QW, Cai QC, i sur. Adiponectin levels in patients with colorectal cancer and adenoma: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev.* 2012;21:126-33. doi: 10.1097/CEJ.0b013e32834c9b55.
118. Kim AY, Lee YS, Kim KH, Lee JH, Lee HK, Jang SH, i sur. Adiponectin represses colon cancer cell proliferation via AdipoR1- and -R2-mediated AMPK activation. *Mol Endocrinol.* 2010;24:1441-52. doi: 10.1210/me.2009-0498.
119. Drew JE, Farquharson AJ, Padidar S, Duthie GG, Mercer JG, Arthur JR, i sur. Insulin, leptin, and adiponectin receptors in colon: regulation relative to differing body adiposity independent of diet and in response to dimethylhydrazine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007;293:682-91. doi: 10.1152/ajpgi.00231.2007.
120. Byeon JS, Jeong JY, Kim MJ, Lee SM, Nam WH, Myung SJ, i sur. Adiponectin and adiponectin receptor in relation to colorectal cancer progression. *Int J Cancer.* 2010;127:2758-67. doi: 10.1002/ijc.25301.
121. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Söderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, i sur. Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? *Int J Cancer.* 2004;109:149-52. doi: 10.1002/ijc.11668.
122. Tutino V, Notarnicola M, Guerra V, Lorusso D, Caruso MG. Increased soluble leptin receptor levels are associated with advanced tumor stage in colorectal cancer patients. *Anticancer Res.* 2011;31:3381-3. PMID: 21965750.
123. Healy LA, Howard JM, Ryan AM, Beddy P, Mehigan B, Stephens R, i sur. Metabolic syndrome and leptin are associated with adverse pathological features in male colorectal cancer patients. *Colorectal Dis.* 2012;14:157-65. doi: 10.1111/j.1463-1318.2011.02562.x.
124. Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Sakai E, Sugiyama M, Takahashi H, i sur. Leptin acts as a growth factor for colorectal tumours at stages subsequent to tumour initiation in murine colon carcinogenesis. *Gut.* 2011;60:1363-71. doi: 10.1136/gut.2010.235754.
125. Song M, Zhang X, Wu K, Ogino S, Fuchs CS, Giovannucci EL, i sur. Plasma adiponectin and soluble leptin receptor and risk of colorectal cancer: a prospective study. *Cancer Prev Res (Phila).* 2013;6:875-85. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-13-0169.
126. Danese E, Montagnana M, Minicozzi AM, Bonafini S, Ruzzenente O, Gelati M, i sur. The role of resistin in colorectal cancer. *Clin Chim Acta.* 2012;413:760-4. doi: 10.1016/j.cca.2012.01.019.

127. Farahani H, Mahmoudi T, Asadi A, Nobakht H, Dabiri R, Hamta A. Insulin Resistance and Colorectal Cancer Risk: the Role of Elevated Plasma Resistin Levels. *J Gastrointest Cancer*. 2019. doi: 10.1007/s12029-019-00260-7. [Epub ahead of print]
128. Chiu HM, Lin JT, Shun CT, Liang JT, Lee YC, Huang SP, i sur. Association of metabolic syndrome with proximal and synchronous colorectal neoplasm. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:221-9. doi: 10.1016/j.cgh.2006.06.022.
129. Kim JH, Lim YJ, Kim YH, Sung IK, Shim SG, Oh SO, i sur. Is metabolic syndrome a risk factor for colorectal adenoma? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16:1543-6. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0199.
130. Morita T, Tabata S, Mineshita M, Mizoue T, Moore MA, Kono S. The metabolic syndrome is associated with increased risk of colorectal adenoma development: the Self-Defense Forces health study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2005;6:485-9. PMID: 16435997.
131. Kim BC, Shin A, Hong CW, Sohn DK, Han KS, Ryu KH, i sur. Association of colorectal adenoma with components of metabolic syndrome. *Cancer Causes Control*. 2012;23:727-35. doi: 10.1007/s10552-012-9942-9.
132. Carlsson G, Petrelli NJ, Nava H, Herrera L, Mittelman A. The value of colonoscopic surveillance after curative resection for colorectal cancer or synchronous adenomatous polyps. *Arch Surg*. 1987;122:1261-3. doi: 10.1001/archsurg.1987.01400230047008.
133. Heitman SJ, Ronksley PE, Hilsden RJ, Manns BJ, Rostom A, Hemmelgarn BR. Prevalence of adenomas and colorectal cancer in average risk individuals: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:1272-8. doi: 10.1016/j.cgh.2009.05.032.
134. Rex DK, Lehman GA, Hawes RH, Ulbright TM, Smith JJ. Screening colonoscopy in asymptomatic average-risk persons with negative fecal occult blood tests. *Gastroenterology*. 1991;100:64-7. doi: 10.1016/0016-5085(91)90583-7.
135. Pendergrass CJ, Edelstein DL, Hyland LM, Phillips BT, Iacobuzio-Donahue C, Romans K, i sur. Occurrence of colorectal adenomas in younger adults: an epidemiologic necropsy study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:1011-5. doi: 10.1016/j.cgh.2008.03.022.
136. Williams AR, Balasooriya BA, Day DW. Polyps and cancer of the large bowel: a necropsy study in Liverpool. *Gut*. 1982;23:835-42. doi: 10.1136/gut.23.10.835.

137. Nguyen SP, Bent S, Chen YH, Terdiman JP. Gender as a risk factor for advanced neoplasia and colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7:676-81.e1-3. doi: 10.1016/j.cgh.2009.01.008.
138. Ben Q, An W, Jiang Y, Zhan X, Du Y, Cai QC, i sur. Body mass index increases risk for colorectal adenomas based on meta-analysis. *Gastroenterology.* 2012;142:762-72. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.050.
139. Nam SY, Kim BC, Han KS, Ryu KH, Park BJ, Kim HB, i sur. Abdominal visceral adipose tissue predicts risk of colorectal adenoma in both sexes. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2010;8:443-50. doi: 10.1016/j.cgh.2010.02.001.
140. Anderson JC, Calderwood AH, Christensen BC, Robinson CM, Amos CI, Butterly L. Smoking and Other Risk Factors in Individuals With Synchronous Conventional High-Risk Adenomas and Clinically Significant Serrated Polyps. *Am J Gastroenterol.* 2018;113:1828-35. doi: 10.1038/s41395-018-0393-0.
141. Peipins LA, Sandler RS. Epidemiology of colorectal adenomas. *Epidemiol Rev* 1994;16:273-97. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036154.
142. Burt RW. Hereditary aspect of colorectal adenomas. *Cancer.* 1992;70:1296-9. doi: 10.1002/1097-0142(19920901)70:3+<1296::aid-cnrcr2820701516>3.0.co;2-3.
143. Lieberman DA, Prindiville S, Weiss DG, i sur. Risk factors for advanced colonic neoplasia and hyperplastic polyps in asymptomatic individuals. *JAMA.* 2003;290:2959-67. doi: 10.1001/jama.290.22.2959.
144. Shinya H, Wolff WI. Morphology, anatomic distribution and cancer potential of colonic polyps. *Ann Surg.* 1979;190:679-83. doi: 10.1097/00000658-197912000-00001.
145. Koniski F, Morson BCJ. Pathology of colorectal adenomas: A colonoscopic survey. *J Clin Pathol.* 1982;35:830-8. doi: 10.1136/jcp.35.8.830.
146. Muto T, Bussey HJR, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer.* 1975;36:2251-70. doi: 10.1002/cncr.2820360944.
147. Komuta K, Batts K, Jessurun J, Snover D, Garcia-Aguilar J, Rothenberger D, i sur. Interobserver variability in the pathological assessment of malignant colorectal polyps. *Br J Surg.* 2004;91:1479-84. doi: 10.1002/bjs.4588.

148. O'Brien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, Gottlieb LS, Sternberg SS, Diaz B, i sur. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 1990;98:371-9.
149. Butterly LF, Chase MP, Pohl H, Fiarman GS. Prevalence of clinically important histology in small adenomas. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4:343-8. doi: 10.1016/j.cgh.2005.12.021.
150. Participants in the Paris Workshop November 30 to December 1, 2002. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon. *Gastroint endosc*. 2003;58:6. doi: 10.1016/s0016-5107(03)02159-x
151. Schoen RE, Gerber LD, Margulies C. The pathologic measurement of polyp size is preferable to the endoscopic estimate. *Gastrointest Endosc*. 1997;46:492-6. doi: 10.1016/s0016-5107(97)70002-6.
152. Muto T, Bussey HJR, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1975;36:2251-70. doi: 10.1002/cncr.2820360944.
153. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61:759-67. doi:10.1016/0092-8674(90)90186-i.
154. Grady WM, Carethers JM. Genomic and Epigenetic Instability in Colorectal Cancer Pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008;135:1079-99. doi: 10.1053/j.gastro.2008.07.076.
155. Taketo MM. Shutting down Wnt signal-activated cancer. *Nat Genet*. 2004;36:320-2. doi:10.1038/ng0404-320.
156. Morán A, Ortega P, de Juan C, Fernández-Marcelo T, Frías C, Sánchez-Pernaute A, i sur. Differential colorectal carcinogenesis: Molecular basis and clinical relevance. *World J Gastrointest Oncol*. 2010;2:151-8. doi: 10.4251/wjgo.v2.i3.151.
157. Rajagopalan H, Jallepalli PV, Rago C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, i sur. Inactivation of hCDC4 can cause chromosomal instability. *Nature*. 2004;428:77-81. doi: 10.1038/nature02313.
158. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13:3784-91 doi: 10.3748/wjg.v13.i28.3784.
159. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*. 2001;411:366-74. doi: 10.1038/35077232.
160. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, i sur. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition:

development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58:5248-57.

161. Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, et al. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology.* 2007;133:48-56. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.044.

162. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:8681-6. doi: 10.1073/pnas.96.15.8681.

163. Ward RL, Cheong K, Ku SL, Meagher A, O'Connor T, Hawkins NJ. Adverse prognostic effect of methylation in colorectal cancer is reversed by microsatellite instability. *J Clin Oncol.* 2003;21:3729-36. doi: 10.1200/JCO.2003.03.123.

164. Simon JB. Occult blood screening for colorectal carcinoma: a critical review. *Gastroenterol.* 1985;88:820-37. doi: 10.1016/0016-5085(85)90158-1.

165. Macrae St F, John DJB. Relationship between patterns of bleeding and Hemoccult sensitivity in patients with colorectal cancers or adenomas. *Gastroenterology.* 1982;82:891-8.

166. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR, Kinzler KW, Levin B, Frost P, et al. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science.* 1992;256:102-5. doi: 10.1126/science.1566048.

167. Hundt S, Haug U, Brenner H. Comparative evaluation of immunochemical fecal occult blood tests for colorectal adenoma detection. *Ann Intern Med.* 2009;150:162-9. doi: 10.7326/0003-4819-150-3-200902030-00005.

168. Williams CB, Macrae FA, Bartrum CI. A prospective study of diagnostic methods in adenoma follow-up. *Endoscopy* 1982;14:74-8. doi: 10.1055/s-2007-1021584.

169. Rex DK. Maximizing detection of adenomas and cancers during colonoscopy. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:2866-77. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00905.x.

170. Whitlock EP, Lin JS, Liles E, Beil TL, Fu R. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2008;149:638-58. doi: 10.7326/0003-4819-149-9-200811040-00245.

171. Choo WK, Subhani J. Complication rates of colonic polypectomy in relation to polyp characteristics and techniques: a district hospital experience. *J Interv Gastroenterol*. 2012;2:8-11. doi: 10.4161/jig.20126.
172. Hassan C, Quintero E, Dumonceau JM, Regula J, Brandão C, Chaussade S, i sur. Post-polypectomy colonoscopy surveillance: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*. 2013; 45: 842–51 doi: 10.1055/s-0033-1344548.
173. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402:656-60.doi: 10.1038/45230.
174. Kojima M, Kangawa K. Structure and function of ghrelin. *Results Probl Cell Differ*. 2008;46:89-115. doi: 10.1007/400_2007_049.
175. Sato T, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M. Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem*. 2012;151:119-28. doi: 10.1093/jb/mvr134.
176. Xing YX, Yang L, Kuang HY, Gao XY, Liu HL. Function of obestatin in the digestive system. *Nutrition*. 2017;34:21-8. doi: 10.1016/j.nut.2016.08.009.
177. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, i sur. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*. 2005;310:996-9. doi:10.1126/science.1117255.
178. Seim I, Herington AC, Chopin LK. New insights into the molecular complexity of the ghrelin gene locus. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20:297-304. doi: 10.1016/j.cytogfr.2009.07.006.
179. Camiña JP. Cell biology of the ghrelin receptor. *J Neuroendocrinol*. 2006;18:65-76. doi:10.1111/j.1365-2826.2005.01379.x.
180. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, i sur. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem*. 2000;43:4370-6. doi: 10.1021/jm0001727.
181. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberatore PA, Rosenblum CI, i sur. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*. 1996;273:974-7. doi: 10.1126/science.273.5277.974.

182. Waseem T, Duxbury M, Ashley SW, Robinson MK. Ghrelin promotes intestinal epithelial cell proliferation through PI3K/Akt pathway and EGFR trans-activation both converging to ERK 1/2 phosphorylation. *Peptides*. 2014;52:113-21. doi: 10.1016/j.peptides.2013.11.021.
183. Hofmann K. A superfamily of membrane-bound O-acyltransferases with implications for wnt signaling. *Trends Biochem Sci*. 2000;25:111-2. doi:10.1016/S0968-0004(99)01539-X.
184. Müller TD, Tschöp MH, Jarick I, Ehrlich S, Scherag S, Herpertz-Dahlmann B, i sur. Genetic variation of the ghrelin activator gene ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is associated with anorexia nervosa. *J Psychiatr Res*. 2011;45:706-11. doi: 10.1016/j.jpsychires.2010.10.001.
185. Lim CT, Kola B, Grossman A, Korbonits M. The expression of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) in human tissues. *Endocr J*. 2011;58:707-10. doi: 10.1507/endocrj.K11E-117.
186. Taylor MS, Ruch TR, Hsiao PY, Hwang Y, Zhang P, Dai L, i sur. Architectural organization of the metabolic regulatory enzyme ghrelin O-acyltransferase. *J Biol Chem*. 2013;288:32211-28. doi: 10.1074/jbc.M113.510313.
187. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem*. 2003;278:64-70. doi: 10.1074/jbc.M205366200.
188. Gahete MD, Rincón-Fernández D, Villa-Osaba A, Hormaechea-Agulla D, Ibáñez-Costa A, Martínez-Fuentes AJ, i sur. Ghrelin gene products, receptors, and GOAT enzyme: biological and pathophysiological insight. *J Endocrinol*. 2013;220:1-24. doi: 10.1530/JOE-13-0391.
189. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, i sur. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:881-7. doi: 10.1210/jcem.86.2.7190.
190. Gahete MD, Córdoba-Chacón J, Salvatori R, Castaño JP, Kineman RD, Luque RM. Metabolic regulation of ghrelin O-acyl transferase (GOAT) expression in the mouse hypothalamus, pituitary, and stomach. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 Apr 12;317:154-60. doi: 10.1016/j.mce.2009.12.023.
191. Banks WA, Tschöp M, Robinson SM, Heiman ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302:822-7. doi: 10.1124/jpet.102.034827.

192. Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, i sur. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*. 2002;123:1120-8. doi: 10.1053/gast.2002.35954.
193. Adachi S, Takiguchi S, Okada K, Yamamoto K, Yamasaki M, Miyata H, i sur. Effects of ghrelin administration after total gastrectomy: a prospective, randomized, placebo-controlled phase II study. *Gastroenterology*. 2010;138:1312-20. doi: 10.1053/j.gastro.2009.12.058.
194. Arnold M, Mura A, Langhans W, Geary N. Gut vagal afferents are not necessary for the eating-stimulatory effect of intraperitoneally injected ghrelin in the rat. *J Neurosci*. 2006;26:11052-60. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2606-06.2006.
195. Inhoff T, Mönnikes H, Noetzel S, Stengel A, Goebel M, Dinh QT, i sur. Desacyl ghrelin inhibits the orexigenic effect of peripherally injected ghrelin in rats. *Peptides*. 2008;29:2159-68. doi: 10.1016/j.peptides.2008.09.014.
196. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, i sur. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1169-74. doi: 10.1210/jcem.86.3.7314.
197. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodham F, Destefanis S, i sur. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1537-42. doi: 10.1210/jc.2002-021504.
198. Milosević VLJ, Stevanović DM, Nesić DM, Sosić-Jurjević BT, Ajdzanović VZ, Starcević VP, i sur. Central effects of ghrelin on the adrenal cortex: a morphological and hormonal study. *Gen Physiol Biophys*. 2010;29:194-202.
199. Yamazaki M, Aizawa S, Tanaka T, Sakai T, Sakata I. Ghrelin increases intracellular Ca^{2+} concentration in the various hormone-producing cell types of the rat pituitary gland. *Neurosci Lett*. 2012;526:29-32. doi: 10.1016/j.neulet.2012.07.063.
200. Wren AM, Small CJ, Fribbens CV, Neary NM, Ward HL, Seal LJ, i sur. The hypothalamic mechanisms of the hypophysiotropic action of ghrelin. *Neuroendocrinology*. 2002;76:316-24. doi: 10.1159/000066629.

201. Spencer SJ, Xu L, Clarke MA, Lemus M, Reichenbach A, Geenen B, i sur. Ghrelin regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and restricts anxiety after acute stress. *Biol Psychiatry*. 2012;72:457-65. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.03.010.
202. Kluge M, Schüssler P, Uhr M, Yassouridis A, Steiger A. Ghrelin suppresses secretion of luteinizing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:3202-5. doi:10.1210/jc.2007-0593.
203. Kluge M, Uhr M, Bleninger P, Yassouridis A, Steiger A. Ghrelin suppresses secretion of FSH in males. *Clin Endocrinol*. 2009;70:920-3. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03440.x.
204. Kluge M, Schüssler P, Schmidt D, Uhr M, Steiger A. Ghrelin suppresses secretion of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:448-51. doi: 10.1210/jc.2011-2607.
205. Kluge M, Riedl S, Uhr M, Schmidt D, Zhang X, Yassouridis A, i sur. Ghrelin affects the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in humans by increasing free thyroxine and decreasing TSH in plasma. *Eur J Endocrinol*. 2010;162:1059-65. doi: 10.1530/EJE-10-0094.
206. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, i sur. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. doi: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280:1483-7. doi:10.1152/ajpregu.2001.280.5.R1483.
207. Reichenbach A, Steyn FJ, Sleeman MW, Andrews ZB. Ghrelin receptor expression and colocalization with anterior pituitary hormones using a GHSR-GFP mouse line. *Endocrinology*. 2012;153:5452-66. doi: 10.1210/en.2012-1622.
208. Ishizaki S, Murase T, Sugimura Y, Kakiya S, Yokoi H, Tachikawa K, i sur. Role of ghrelin in the regulation of vasopressin release in conscious rats. *Endocrinology*. 2002;143:1589-93. doi:10.1210/endo.143.5.8804.
209. Ghelardoni S, Carnicelli V, Frascarelli S, Ronca-Testoni S, Zucchi R. Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression. *J Endocrinol Invest*. 2006;29:115-21. doi: 10.1007/BF03344083.
210. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, i sur. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:2988. doi: 10.1210/jcem.87.6.8739.

211. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, i sur. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;276:905-8. doi: 10.1006/bbrc.2000.3568.
212. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, i sur. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology.* 2001;120:337-45. doi: 10.1053/gast.2001.22158.
213. Trudel L, Tomasetto C, Rio MC, Bouin M, Plourde V, Eberling P, i sur. Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;282:948-52. doi: 10.1152/ajpgi.00339.2001.
214. Fujino K, Inui A, Asakawa A, Kihara N, Fujimura M, Fujimiya M. Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats. *J Physiol.* 2003;550:227-40. doi: 10.1113/jphysiol.2003.040600.
215. de la Cour CD, Norlén P, Håkanson R. Secretion of ghrelin from rat stomach ghrelin cells in response to local microinfusion of candidate messenger compounds: a microdialysis study. *Regul Pept.* 2007;143:118-26. doi: 10.1016/j.regpep.2007.05.001.
216. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept.* 2002;107:63-9. doi: 10.1016/S0167-0115(02)00067-8.
217. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, i sur. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes.* 2002;51:124-9. doi: 10.2337/diabetes.51.1.124.
218. Dezaki K, Hosoda H, Kakei M, Hashiguchi S, Watanabe M, Kangawa K, i sur. Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca²⁺ signaling in beta-cells: implication in the glycemic control in rodents. *Diabetes.* 2004;53:3142-51. doi: 10.2337/diabetes.53.12.3142.
219. Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N, Minamitake Y, Tanaka S, i sur. Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;287:142-6. doi: 10.1006/bbrc.2001.5553.
220. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Nakai Y, i sur. Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:6-9. doi: 10.1210/jc.2004-1640.

221. De Vriese C, Gregoire F, Lema-Kisoka R, Waelbroeck M, Robberecht P, Delporte C. Ghrelin degradation by serum and tissue homogenates: identification of the cleavage sites. *Endocrinology*. 2004;145:4997-5005. doi: 10.1210/en.2004-0569.
222. Gualillo O, Caminos JE, Nogueiras R, Seoane LM, Arvat E, Ghigo E, i sur. Effect of food restriction on ghrelin in normal-cycling female rats and in pregnancy. *Obes Res*. 2002;10:682-7. doi: 10.1038/oby.2002.92.
223. Barazzoni R, Zanetti M, Stebel M, Biolo G, Cattin L, Guarnieri G. Hyperleptinemia prevents increased plasma ghrelin concentration during short-term moderate caloric restriction in rats. *Gastroenterology*. 2003;124:1188-92. doi: 10.1016/s0016-5085(03)00281-6.
224. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, i sur. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest*. 2001;24:RC19-21. doi:10.1007/BF03351037.
225. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. 2001;50:1714-9. doi: 10.2337/diabetes.50.8.1714.
226. Liu J, Prudom CE, Nass R, Pezzoli SS, Oliveri MC, Johnson ML, i sur. Novel ghrelin assays provide evidence for independent regulation of ghrelin acylation and secretion in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:1980-7. doi: 10.1210/jc.2007-2235.
227. Nishi Y, Hiejima H, Hosoda H, Kaiya H, Mori K, Fukue Y, i sur. Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology*. 2005;146:2255-64. doi: 10.1210/en.2004-0695.
228. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001;50:707-9. doi: 10.2337/diabetes.50.4.707.
229. Barazzoni R, Zanetti M, Nagliati C, Cattin MR, Ferreira C, Giuricin M, i sur. Gastric bypass does not normalize obesity-related changes in ghrelin profile and leads to higher acylated ghrelin fraction. *Obesity*. 2013;21:718-22. doi: 10.1002/oby.20272.
230. Geliebter A, Gluck ME, Hashim SA. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder. *J Nutr*. 2005;135:1326-30. doi: 10.1093/jn/135.5.1326.
231. Korbonits M, Blaine D, Elia M, Powell-Tuck J. Metabolic and hormonal changes during the refeeding period of prolonged fasting. *Eur J Endocrinol*. 2007;157:157-66. doi: 10.1530/EJE-06-0740.

232. Müller TD, Perez-Tilve D, Tong J, Pfluger PT, Tschöp MH. Ghrelin and its potential in the treatment of eating/wasting disorders and cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2010;1:159-67. doi: 10.1007/s13539-010-0012-4.
233. Malandrino N, Miceli A, Leggio L, Mingrone G, Capristo E. High ghrelin levels in post-treatment euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis: a case-control preliminary study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014;122:540-3. doi: 10.1055/s-0034-1376965.
234. Giordano R, Picu A, Pagotto U, De lasio R, Bonelli L, Prodam F, i sur. The negative association between total ghrelin levels, body mass and insulin secretion is lost in hypercortisolemic patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2005;153:535-43. doi: 10.1530/eje.1.02003.
235. Kim MS, Yoon CY, Jang PG, Park YJ, Shin CS, Park HS, i sur. The mitogenic and antiapoptotic actions of ghrelin in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*. 2004;18:2291-301. doi: 10.1210/me.2003-0459.
236. Davies JS, Kotokorpi P, Eccles SR, Barnes SK, Tokarczuk PF, Allen SK. Ghrelin induces abdominal obesity via GHS-R-dependent lipid retention. *Mol Endocrinol*. 2009;23:914-24. doi: 10.1210/me.2008-0432.
237. Zhang W, Chai B, Li JY, Wang H, Mulholland MW. Effect of des-acyl ghrelin on adiposity and glucose metabolism. *Endocrinology*. 2008;149:4710-6. doi: 10.1210/en.2008-0263.
238. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, i sur. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5083-6. doi: 10.1210/jcem.86.10.8098.
239. Tong J, Prigeon RL, Davis HW, Bidlingmaier M, Kahn SE, Cummings DE, i sur. Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes*. 2010;59:2145-51. doi: 10.2337/db10-0504.
240. Chuang JC, Sakata I, Kohno D, Perello M, Osborne-Lawrence S, Repa JJ, i sur. Ghrelin directly stimulates glucagon secretion from pancreatic alpha-cells. *Mol Endocrinol*. 2011;25:1600-11. doi: 10.1210/me.2011-1001.
241. Vestergaard ET, Gormsen LC, Jessen N, Lund S, Hansen TK, Moller N, i sur. Ghrelin infusion in humans induces acute insulin resistance and lipolysis independent of growth hormone signaling. *Diabetes*. 2008;57:3205-10. doi: 10.2337/db08-0025.

242. Gauna C, Meyler FM, Janssen JA, Delhanty PJ, Abribat T, van Koetsveld P, i sur. Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5035-42. doi: 10.1210/jc.2004-0363.
243. Gauna C, Kiewiet RM, Janssen JA, van de Zande B, Delhanty PJ, Ghigo E, i sur. Unacylated ghrelin acts as a potent insulin secretagogue in glucose-stimulated conditions. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293:697-704. doi: 10.1152/ajpendo.00219.2007.
244. Barazzoni R, Zanetti M, Ferreira C, Vinci P, Pirulli A, Mucci M, i sur. Relationships between desacylated and acylated ghrelin and insulin sensitivity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:3935-40. doi: 10.1210/jc.2006-2527.
245. Pacifico L, Poggiogalle E, Costantino F, Anania C, Ferraro F, Chiarelli F, i sur. Acylated and nonacylated ghrelin levels and their associations with insulin resistance in obese and normal weight children with metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2009;161:861-70. doi: 10.1530/EJE-09-0375.
246. Ikezaki A, Hosoda H, Ito K, Iwama S, Miura N, Matsuoka H, i sur. Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-1, but not with leptin, in obese children and adolescents. *Diabetes.* 2002;51:3408-11. doi: 10.2337/diabetes.51.12.3408.
247. Pedrosa C, Oliveira BM, Albuquerque I, Simões-Pereira C, Vaz-de-Almeida MD, Correia F. Metabolic syndrome, adipokines and ghrelin in overweight and obese schoolchildren: results of a 1-year lifestyle intervention programme. *Eur J Pediatr.* 2011;170:483-92. doi: 10.1007/s00431-010-1316-2.
248. Al Qarni AA, Joatar FE, Das N, Awad M, Eltayeb M, Al-Zubair AG, i sur. Association of Plasma Ghrelin Levels with Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus among Saudi Subjects. *Endocrinol Metab.* 2017;32:230-40. doi: 10.3803/EnM.2017.32.2.230.
249. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, i sur. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:240-4. doi:10.1210/jcem.87.1.8129.
250. Hamed EA, Zakary MM, Ahmed NS, Gamal RM. Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: relation to ghrelin and oxidative stress. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;94:434-41. doi: 10.1016/j.diabres.2011.08.023.

251. Stepien M, Rosniak-Bak K, Paradowski M, Misztal M, Kujawski K, Banach M, i sur. Waist circumference, ghrelin and selected adipose tissue-derived adipokines as predictors of insulin resistance in obese patients: preliminary results. *Med Sci Monit.* 2011;17:PR13-18. doi: 10.12659/msm.882030.
252. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Semolic A, Lus M, Mamolo L, Dore F, i sur. Plasma total and unacylated ghrelin predict 5-year changes in insulin resistance. *Clin Nutr.* 2016;35:1168-73. doi:10.1016/j.clnu.2015.10.002.
253. Lin TC, Hsiao M. Ghrelin and cancer progression. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2017;1868:51-7. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.02.002.
254. Bustin SA, Jenkins PJ. The growth hormone-insulin-like growth factor-I axis and colorectal cancer. *Trends Mol Med.* 2001;7:447-54. doi:10.1016/S1471-4914(01)02104-9.
255. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, i sur. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:1300-8. doi: 10.1210/jcem.87.3.8279.
256. Dagli AF, Aydin S, Karaoglu A, Akpolat N, Ozercan IH, Ozercan MR. Ghrelin expression in normal kidney tissue and renal carcinomas. *Pathol Res Pract.* 2009;205:165-73. doi: 10.1016/j.prp.2008.10.002.
257. Volante M, Allia E, Fulcheri E, Cassoni P, Ghigo E, Muccioli G, i sur. Ghrelin in fetal thyroid and follicular tumors and cell lines: expression and effects on tumor growth. *Am J Pathol.* 2003;162:645-54. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63858-8.
258. Nurkalem C, Celik H, Dagli F, Gurates B, Kavak B, Dogan Z, i sur. Ghrelin and obestatin expression in serous ovarian tumours. *Gynecol Endocrinol.* 2012;28:941-4. doi: 10.3109/09513590.2011.650753.
259. Dagli AF, Aydin S, Kocdor H, Gurates B, Sahin I, Catak Z, i sur. Ghrelin expression of endometrium hyperplasia and endometrioid carcinoma. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27:199-204. doi: 10.3109/09513590.2010.488772.
260. Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK. Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol.* 2002;172:R7-11. doi: 10.1677/joe.0.172r007.

261. Nikolopoulos D, Theocharis S, Kouraklis G. Ghrelin's role on gastrointestinal tract cancer. *Surg Oncol.* 2010;19:e2-e10. doi: 10.1016/j.suronc.2009.02.011.
262. Okada Y, Sugita Y, Ohshima K, Morioka M, Komaki S, Miyoshi J, i sur. Signaling of ghrelin and its functional receptor, the growth hormone secretagogue receptor, promote tumor growth in glioblastomas. *Neuropathology.* 2016;36:535-43. doi: 10.1111/neup.12315.
263. Duxbury MS, Waseem T, Ito H, Robinson MK, Zinner MJ, Ashley SW, i sur. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309:464e8. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.08.024.
264. Cassoni P, Papotti M, Ghè C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, i sur. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1738-45. doi: 10.1210/jcem.86.4.7402.
265. Ersoy O, Ersoy R, Akin E, Demirezer A, Büyükaşık S, Selvi E, i sur. Evaluation of serum ghrelin levels in patients with hyperplastic gastric polyps. *Turk J Gastroenterol.* 2012;23:444-7. doi: 10.4318/tjg.2012.0424.
266. Mottershead M, Karteris E, Barclay JY, Suortamo S, Newbold M, Randeva H, i sur. Immunohistochemical and quantitative mRNA assessment of ghrelin expression in gastric and oesophageal adenocarcinomas. *J Clin Pathol* 2007;60: 405e9. doi: 10.1136/jcp.2006.038356.
267. de Martel C, Haggerty TD, Corley DA, Vogelmann JH, Orentreich N, Parsonnet J. Serum ghrelin levels and risk of subsequent adenocarcinoma of the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2007;102:1166-72. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01116.x.
268. Murphy G, Kamangar F, Albanes D, Stanczyk FZ, Weinstein SJ, Taylor PR, i sur. Serum ghrelin is inversely associated with risk of subsequent oesophageal squamous cell carcinoma. *Gut.* 2012;61:1533-7. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300653.
269. Murphy G, Cross AJ, Dawsey SM, Stanczyk FZ, Kamangar F, Weinstein SJ, i sur. Serum ghrelin is associated with risk of colorectal adenocarcinomas in the ATBC study. *Gut.* 2018;67:1646-1651. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313157.
270. Sundkvist A, Myte R, Palmqvist R, Harlid S, Van Guelpen B. Plasma ghrelin is probably not a useful biomarker for risk prediction or early detection of colorectal cancer. *Gut.* 2019;68:373-74. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316110.

271. Waseem T, Javaid-Ur-Rehman, Ahmad F, Azam M, Qureshi MA. Role of ghrelin axis in colorectal cancer: a novel association. *Peptides*. 2008;29:1369-76. doi: 10.1016/j.peptides.2008.03.020.
272. Zhao D, Zhan Y, Zeng H, Moyer MP, Mantzoros CS, Pothoulakis C. Ghrelin stimulates interleukin-8 gene expression through protein kinase C-mediated NF-kappaB pathway in human colonic epithelial cells. *J Cell Biochem*. 2006;97:1317-27. doi: 10.1002/jcb.20744.
273. Lien GS, Lin CH, Yang YL, Wu MS, Chen BC. Ghrelin induces colon cancer cell proliferation through the GHS-R, Ras, PI3K, Akt, and mTOR signaling pathways. *Eur J Pharmacol*. 2016;776:124-31. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.02.044.
274. He XT, Fan XM, Zha XL. Ghrelin inhibits 5-fluorouracil-induced apoptosis in colonic cancer cells. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26:1169-73. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06715.x.
275. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:694-701. doi: 0.1093/ajcn/72.3.694.
276. Song M, Mehta RS, Wu K, Fuchs CS, Ogino S, Giovannucci EL, et al. Plasma Inflammatory Markers and Risk of Advanced Colorectal Adenoma in Women. *Cancer Prev Res*. 2016;9:27-34. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0307.
277. Ateş Ö, Sivri B, Kılıçkap S. Evaluation of risk factors for the recurrence of colorectal polyps and colorectal cancer. *Turk J Med Sci*. 2017;47:1370-1376. doi: 10.3906/sag-1601-63.

11. ŽIVOTOPIS

Sanja Stojsavljević je rođena 23.12.1984. u Zagrebu, gdje je pohađala osnovnu i srednju školu te 2003. godine maturirala (V. gimnazija) i završila srednju glazbenu školu (Vatroslav Lisinski). Diplomirala je 2009. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija dodijeljene su joj dvije dekanove nagrade (za prosjek i znanstveni rad). Nakon pripravničkog staža (KBC Sestre milosrdnice) i položenog državnog ispita volontirala je kao znanstveni novak na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju KBC Sestre milosrdnice. Od 2012. zaposlena je na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju KBC Sestre milosrdnice, a 2018. je položila specijalistički ispit iz Gastroenterologije. Usavršavala se na europskim radionicama iz gastroenterologije, hepatologije i ultrazvuka abdomena, te Sveučilišnim klinikama u Austriji, Njemačkoj i Švicarskoj. Do sada je kao autor i koautor objavila 15 znanstvenih i stručnih radova, od kojih su tri rada indeksirana u Current contentsu. Koautor je knjige *Dyspepsia in clinical practice* (Springer) i *Ultrazvuk abdomena* (Medicinska naklada). Sudjeluje u dodiplomskoj nastavi predmeta Temelji liječničkog umijeća, predmeta *Fundamentals of Medical Skills (FMS)* i *Emergency medicine* na Studiju medicine na engleskom jeziku Sveučilišta u Zagrebu i poslijediplomskom tečaju I kategorije "Ultrazvuk abdomena" na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Završila je poslijediplomski doktorski studij "Biomedicina i zdravstvo" na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.