

Promjena koncentracije hormona grelina i PYY i uhranjenosti djece nakon godinu dana

Petričević, Nina

Doctoral thesis / Disertacija

2016

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:969487>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-29**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Nina Petričević

**Promjena koncentracije hormona
grelina i PYY i uhranjenosti djece nakon
godinu dana**

DISERTACIJA

Zagreb, 2016

Disertacija je izrađena u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“

Voditelj rada:

prof. dr. sc. Mirko Koršić, dr. med.

Zahvala:

Najiskrenije zahvaljujem svom mentoru, prof.dr.sc. Mirku Koršiću, na uloženom trudu, vremenu i podršci u izradi ovoga rada.

Zahvaljujem cjelokupnom timu školske medicine odsjeka Siget na pomoći i požrtvovnosti, a posebno svojoj medicinskoj sestri Ljubi Ćurić.

Zahvaljujem dr.sc. Saši Kralik Oguić i dr.med. Jasni Knežević na svesrdnoj pomoći oko laboratorijske dijagnostike.

Zahvaljujem svojoj obitelji, svojoj djeci Moniki i Filipu, suprugu Ivanu na poticaju, strpljenju i razumijevanju, roditeljima Ivi i Anti, sestri Antoniji i bratu Ivanu s obiteljima.

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA.....	1
2. HIPOTEZA.....	35
3. CILJEVI RADA.....	36
4. MATERIJALI I METODE.....	37
5. REZULTATI.....	42
6. RASPRAVA.....	77
7. ZAKLJUČCI.....	89
8. SAŽETAK.....	91
9. SUMMARY.....	92
10. POPIS LITERATURE.....	93
11. ŽIVOTOPIS.....	121

POPIS OZNAKA I KRATICA

PYY – *Peptide tyrosine tyrosine*

GHS-R1a - *receptor sekretagoga hormona rasta (engl. growth hormone secretagogue receptor 1a isoform)*

GRLN-R – *grelinski receptor*

GHS - *sekretagogi hormona rasta (engl. growth-hormone secretagogues)*

GHS-R – *receptori za sekretagoge hormona rasta*

GOAT - *grelin O-acyltransferaze*

ARC – *nukleus arkuatus hipotalamusa*

NPY - *neuropeptid Y*

AgRP - *aguti-protein (prema engl. agouti-related protein)*

POMC - *pro-opiomelanokortin*

CART - *kokainom i amfetaminom reguliran neuronski put (engl. cocaine and amphetamine regulated transcript)*

OGTT – *test oralne podnošljivosti glukoze (prema engl. oral glucose tolerance test)*

GHRH - *hormon koji oslobađa hormon rasta*

ITM – *indeks tjelesne mase*

LH – *luteinizirajući hormon*

FSH – *folikulo stimulirajući hormon*

NPY Y2R - *neuropeptid Y Y2 receptor*

IOTF – *International Obesity Task Force*

SZO – *Svjetska Zdravstvena organizacija*

CDC- *Centers for Disease Control and Prevention*

CDPG - *obiteljski zakašnjeni rast i spolno sazrijevanje (prema engl. Constitutional delay of growth and puberty)*

***SDS** – standardna devijacija skor*

***T1** - prvo mjerenje*

***T2** – drugo mjerenje*

1. UVOD I SVRHA RADA

Rastuća epidemija debljine i sve veće znanje i bolje razumijevanje kompleksne fiziologije koja regulira tjelesnu masu, dovela je do velikog interesa za hormone i njihovu ulogu u homeostazi tjelesne mase i metaboličkim poremećajima. Tjelesna masa je determinirana genetskim, okolišnim, psihosocijalnim i metaboličkim čimbenicima. Regulacija apetita, energetske unosa i potrošnje rezultat je različitih neuroendokrinih medijatora. Unatrag dvadesetak godina, otkrivanjem više kompleksnih signalnih puteva između probavnog sustava i mozga, učinjen je veliki napredak u razumijevanju perifernih signala koji reguliraju apetit i energetske homeostazu. Hormoni gastrointestinalnog trakta, gušterače i masnog tkiva imaju vodeću ulogu u slanju informacija o nutritivnom statusu organizma centrima za kontrolu apetita u središnjem živčanom sustavu. Grelin (engl. ghrelin) i Peptid YY (PYY) su jedni od hormona gastrointestinalnog trakta koji su uključeni u kratkoročnu i dugoročnu regulaciju unosa hrane te energetske ravnoteže.

Grelin je “hormon gladi” koji se najvećim dijelom izlučuje u želucu, a manjim dijelom u nižim dijelovima gastrointestinalnog trakta. Koncentracija mu se znatno povećava prije obroka te naglo pada jedan sat nakon obroka (1). Njegova fiziološka uloga u kontroli apetita je signaliziranje početka uzimanja obroka. Parenteralnim unosom grelina dolazi do stimulacije apetita i povećanog unosa hrane (2, 3).

PYY je “hormon sitosti” koji se najviše izlučuje u crijevima; terminalnom ileumu i kolonu. Počinje se lučiti unutar petnaest minuta nakon obroka, najviše vrijednosti doseže nakon šezdeset minuta i ostaje povišen do šest sati nakon obroka. Njegova fiziološka uloga u kontroli apetita je signaliziranje kraja obroka. Parenteralnim unosom PYY dolazi do smanjenja apetita i smanjenog unosa hrane (4).

Prema tome, poremećaj lučenja grelina i PYY može dovesti do nepravilnog odnosa gladi i sitosti te posljedično do povećane tjelesne mase. U potrazi za što uspješnijom borbom protiv debljine, važan korak predstavlja razotkrivanje individualnih razlika u patofiziologiji razvoja debljine.

1.1. Ghrelin

Otkriće ghrelina

Ghrelin je peptid od 28 aminokiselina koji je otkriven i pročišćen u želucu štakora u kasnim 1990-ima godinama kao endogeni ligand za receptore sekretagogičkih hormona rasta (engl. growth hormone secretagogue receptor 1a isoform, GHS-R1a) (5, 6), koji su poslije nazvani ghrelinski receptori (GRLN-R) (7). Sekretagogički hormoni rasta (engl. growth-hormone secretagogues, GHS) su obitelj malih sintetičkih peptidnih i nepeptidnih molekula koji stimuliraju lučenje hormona rasta u životinja i ljudi. Znanstvenici su upotrijebili uzgojenu kulturu stanica s GHS receptorima (GHS-R) za otkriće ekstrakta tkiva koje bi moglo stimulirati GHS-R. Nakon probira nekoliko ekstrakata tkiva štakora, pronašli su vrlo jaku aktivnost u tkivu želuca. Pročišćeni ligand iz tkiva želuca štakora bio je neuropeptid koji stimulira otpuštanje hormona rasta iz hipofize i nazvan je ghrelin (5, 6). Vrlo brzo nakon samog otkrića ghrelina pronađeno je da ghrelin ima puno opsežniju ulogu od otpuštanja hormona rasta i otkrivena je njegova uloga u stimulaciji apetita i unosu hrane te za sada predstavlja jedini poznati oreksigenički hormon (2, 3).

Cirkulirajući ghrelin

Dva glavna oblika ghrelina u krvi su oktanoilirani, acilirani ghrelin (engl. acylated ghrelin) i neacilirani ghrelin (engl. desacylated ghrelin), koji se međusobno razlikuju po tipu aciliranja (acylation) na položaju 3 aminokiseline serina. Acilirani ghrelin se smatra aktivnim oblikom ghrelina i nastaje modifikacijom aminokiseline serin s oktanskom kiselinom (octanoic acid), podstredstvom enzima ghrelin O-acyltransferaze (GOAT) (8) i ta je modifikacija ključna za aktivnost ghrelina (5). U cirkulaciji ima oko 10-25% aktivnog oblika ghrelina (9), dok je većina cirkulirajućeg ghrelina neacilirani ghrelin koji se ne veže na ghrelinske receptore te se stoga dugo vremena smatrao neaktivnim oblikom ghrelina (10). U posljednje vrijeme postoje dokazi i za njegovu fiziološku ulogu, ali vjerojatno preko nekih drugih, do sada neidentificiranih receptora (11).

Grelina se u krvi nalazi u pikomolarnim koncentracijama, s prosječnim vrijednostima ukupnog grelina natašte od 150-180 fmol/ml (10). Lučenje grelina ima cirkadiurni ritam; koncentracija u krvi se povećava tijekom noći i natašte je povišen. Razina grelina poraste u prosjeku 80% jedan do dva sata prije svakog obroka, nakon jela se smanjuje te doseže najnižu razinu 60 minuta nakon obroka. Pulsativna sekrecija grelina upućuje da grelin djeluje kao signal za početak uzimanja obroka što potvrđuje jasan rast grelina prije jela i pad grelina nakon jela, koji korelira sa subjektivnom ocjenom osjećaja gladi (1, 12-16). Istraživanje Frecka i suradnika je pokazalo da je vrijeme kada su koncentracije grelina najviše, povezano s unaprijed usvojenim rasporedom i navikom uzimanja obroka odnosno da grelin raste već samim anticipiranjem obroka (17).

Tkivna distribucija grelina

Većina cirkulirajućeg grelina nastaje u želucu. Stanice koje luče grelin predstavljaju poseban tip endokrinih stanica (engl. enteroendocrine X/A-like cells) u mukoznoj membrani i čine oko dvadeset posto endokrinih stanica mukoze (engl. oxyntic glands) u štakora i ljudi (18). Resekcijom želuca dolazi do znatnog (65-88%) smanjenja razine grelina u krvi (19, 20) što potvrđuje da je želudac primarni izvor grelina. Manje količine grelina nastaju u distalnim dijelovima probavnog trakta; duodenumu, jejunumu, ileumu i kolonu (21, 22), a još manje količine nastaju izvan gastrointestinalnog trakta; u gušterači (23), bubregu (24), jetri, plućima, srcu, štitnjači (25), testisima (26), hipotalamusu (5, 21), hipofizi (27) i placenti (28, 29).

Grelina stimulira apetit i unos hrane vežući se na GRLN-R receptore na neuronima u nukleus arkuatusu u hipotalamusu (30). Nukleus arkuatus (ARC) hipotalamusa, centar autonomne i neuroendokrine regulacije hranjenja i energetske homeostaze, sadrži dvije zasebne grupe neurona sa suprotnim učinkom na unos hrane. Prvu grupu čine neuroni koji sintetiziraju oreksigeničke peptide: neuropeptid Y (engl. neuropeptide Y, NPY) i aguti-protein (prema engl. agouti-related protein AgRP) čija stimulacija povećava apetit i unos hrane. Drugu grupu čine pro-opiomelanokortinom (POMC) te kokainom i amfetaminom regulirane neuronske putove (engl.

cocaine and amphetamine regulated transcript, CART) koji inhibiraju apetit. Grelin prolazi kroz krvno-moždanu barijeru (31), stimulira aktivnost NPY/AGRP neurona i inaktivira aktivnost POMC i CART neurona što uzrokuje otpuštanje oreksigeničkih peptida i inhibiranje anoreksigeničkih peptida i posljedično povećanje apetita. (32-34).

Regulacija lučenja grelina

Koncentracija grelina u krvi se mijenja ovisno o akutnim i kroničnim promjenama energetske ravnoteže; akutno se povećava gladovanjem, a smanjuje hranjenjem, dok je kronično snižena kod debljine, a povećana kod pothranjenosti (2,12).

Nakon unosa hrane koncentracija grelina se smanjuje. Pad grelina je najvećim dijelom razmjernan kalorijskoj vrijednosti obroka, no ovisi i o makronutritivnom sastavu hrane te o uhranjenosti pojedinca. Nekoliko studija među odraslima i djecom je ispitalo odgovor grelina na obroke različitog makronutritivnog sastava; obrok s visokim udjelom proteina, s visokim udjelom ugljikohidrata ili s visokim udjelom masti. Obrok s visokim udjelom ugljikohidrata (88%) ima najjači supresivni učinak na grelin; uzrokuje brzi pad grelina do najnižih vrijednosti nakon 60-120 minuta te vraćanje na bazalne vrijednosti grelina unutar 3-4 sata od obroka. Obrok bogat proteinima uzrokuje postepen i manji pad grelina nego kod ugljikohidrata i koncentracija grelina ostaje duže vrijeme ispod bazalnih vrijednosti (35). Učinak obroka bogatog mastima je snižavanje grelina i ponovni porast grelina koji je između onoga za obroke proteina i ugljikohidrata (36, 37). Mogući razlog takvih razlika je brzina prolaska makronutrijenata kroz želudac, obzirom da ugljikohidrati imaju najveću brzinu pražnjenja iz želuca. Drugi razlog bi mogao biti inzulin, čija sekrecija suprimira grelin, a ugljikohidrati uzrokuju najviše izlučivanje inzulina. Ovakvi rezultati daju naslutiti da je protein najzasitniji makronutrijent te mogu djelomično objasniti veću učinkovitost redukcijskih dijeta s visokim udjelom proteina i malim udjelom ugljikohidrata u prehrani (37).

Neki istraživači su pokazali da je odgovor grelina na unos hrane smanjen kod debljine te da obrok istog kalorijskog iznosa uzrokuje manji pad grelina kod debelih osoba, nego kod osoba normalne tjelesne mase (15, 38, 39), dok drugi nisu našli razlike u postprandijalnom grelinu obzirom na uhranjenost. Istraživanja su provedena dosta različitom metodologijom, prvenstveno u razlikama u sadržaju obroka te su rezultati vrlo kontradiktorni i nije ih jednostavno komparirati. Neki istraživači su ispitivali odgovor grelina na test oralne podnošljivosti glukoze (engl. Oral glucose tolerance test, OGTT), neki na standardne obroke ili tekuće obroke preciznog kalorijskog iznosa, ili pak hranjenje ad libitum.

Dvije studije među djecom su pokazale da je nakon OGTT-a pad grelina manji kod debele djece u odnosu na normalno uhranjene (40, 41). No Baldelli i suradnici su pokazali da nema razlike u postotku smanjenja koncentracije grelina između djece normalne i prekomjerne tjelesne mase (-25% vs -30%) (42), a Bacha i suradnici su utvrdili da je apsolutno smanjenje vrijednosti grelina značajno veće kod normalno uhranjene djece u odnosu na debele (-140.2 pmol/L vs 72.6 pmol/L) (43). Studije u kojima su korišteni standardni obroci također su pokazale različite rezultate, u nekima je došlo do značajnog pada grelina i kod povećane tjelesne mase (44), dok su Mittelman i suradnici u istraživanju među adolescentima pokazali da i veći unos kalorija u jednom obroku krute hrane uzrokuje manji pad grelina kod debelih nego manji obrok kod osoba normalne tjelesne mase (45).

Istraživao se i učinak tjelesne aktivnosti na razinu grelina u krvi te se pokazalo da on ovisi o trajanju i vrsti tjelesne aktivnosti te o uhranjenosti pojedinca. Većina studija je pokazalo da vježbanje ne utječe na razinu grelina, niti za vrijeme niti nakon vježbanja, bez obzira na uhranjenost osobe, oblik i trajanje tjelesne aktivnosti (46-51). No neke studije pokazuju da tjelesna aktivnost povećava razinu grelina te da je porast grelina veći kod normalno uhranjenih nego kod debelih (52-54).

Dugoročni utjecaj tjelesne aktivnosti na razinu grelina ispitivan je većinom među debelima koji su bili podvrgnuti restriktivskoj dijeti i povećanoj tjelesnoj aktivnosti. Kod njih, smanjenje tjelesne mase postignute takvom intervencijom praćeno je značajnim povećanjem grelina (55, 56).

Fiziološke funkcije grelina

Široka ekspresija grelina i grelinskih receptora ukazuje na veliki spektar različitih funkcija grelina.

1. Neuroendokrini učinci

Grelina snažno stimulira otpuštanje hormona rasta; direktno vežući se na grelinske receptore na somatotrofnim stanicama hipofize (18, 57-59), indirektno preko hipotalamusa u sinergiji s hormonom koji oslobađa hormon rasta (GHRH) (60, 61) te preko nervusa vagusa (62, 63). Grelina također stimulira sekreciju i ostalih hormona hipofize; ACTH, kortizola i prolaktina (64).

2. Apetit i unos hrane

Grelina je prvi otkriveni periferni oreksigenični hormon koji stimulira apetit i unos hrane vežući se za receptore GR1-R na neuronima u nukleusu arkuatusu hipotalamusa. Prvotna istraživanja na životinjama su pokazala da centralna i periferna primjena grelina dovodi do povećanog unosa hrane, smanjenja potrošnje energije i povećanja tjelesne mase (3, 65-67). Svakodnevna subkutana primjena grelina kod životinja uzrokuje povećanje tjelesne mase smanjujući iskorištenje masnog tkiva bez značajnog mijenjanja potrošnje energije ili lokomotorne aktivnosti. U ljudi, i.v. bolus injekcija ili infuzija grelina uzrokuje glad, povećani apetit i unos hrane (68). U koncentracijama dvostruko većim od onih natašte (5.0 pmol/kg/min), grelina povećava apetit i uzrokuje veći unos hrane s velikim povećanjem unesenih kalorija (28%, 306 kcal u jednom obroku) (68).

3. Energetska homeostaza

Smatra se da grelin sudjeluje u dugoročnoj regulaciji tjelesne mase i dobar je pokazatelj stanja uhranjenosti. Niže koncentracije grelina natašte nađene su u debelih osoba, dok su više koncentracije grelina nađene kod anoreksije nervose i kaheksije uzrokovane karcinomom pluća, dojke i kolona (69,70). Koncentracija grelina negativno korelira s indeksom tjelesne mase (ITM) te se mijenja ovisno o promjenama u tjelesnoj težini (71). Koncentracija grelina pada s porastom tjelesne mase u različitim stanjima kao što su; prejedanje (72), metabolički sindrom (73), trudnoća (74), sindrom policističnih jajnika (75) te liječenjem olanzapinom (76). Za razliku od toga, koncentracija grelina raste s gubitkom tjelesne mase uzrokovane restriktivskom dijetom (56, 71, 77-80) i dugotrajno povećanom tjelesnom aktivnošću (81).

Visoke koncentracije grelina u anoreksiji vjerojatno nastaju kao fiziološki odgovor za kompenzacijom manjka unosa energije ili zbog relativne rezistencije na grelin (82), no nakon povećanja tjelesne mase, povišene vrijednosti grelina vraćaju se na normalnu razinu. (71, 83).

Jedino stanje u kojem je grelin povišen neproporcionalno s visokim ITM-om je Prader-Willi sindrom (PWS), genetska bolest karakterizirana mentalnom retardacijom, niskim rastom i hiperfagijom koja dovodi do morbidne debljine (84). Suprotno od svih ostalih stanja debljine gdje je grelin snižen, Prader Willi sindrom karakterizira povišen grelin natašte i manji postprandijalni pad grelina (85).

4. Gastroenterološke funkcije

Grelin povećava lučenje želučane kiseline (86, 87) i stimulira gastrointestinalnu peristaltiku (88). U jetri i masnom tkivu grelin inhibira AMPK aktivnost (proteinska kinaza aktivirana AMP-om, engl. AMP-activated protein kinase) te povećava aktivnost enzima uključenih u metabolizam masti (89,90). To dovodi do povećanja glukoneogeneze, sinteze masnih kiselina i triglicerida te adipogeneze.

5. Regulacija glukoze

U posljednje vrijeme otkriveno je da grelin ima važnu ulogu u regulaciji glukoze u krvi (91-93). Grelina i grelini receptori su otkriveni u β stanicama gušterače (94) i do sada je razmatrano nekoliko mehanizama kojima grelin sudjeluje u regulaciji glukoze no točna uloga grelina i dalje ostaje nerazjašnjena. Davanje grelina dovodi do porasta glukoze, no smatra se da mehanizam regulacije ipak nije direktan, nego indirektan preko inzulina (95). Grelin inhibira sekreciju inzulina, što rezultira porastom glukoze u krvi (1, 96, 97). Davanje glukoze oralno i intravenski smanjuje razine grelina. Također se pretpostavlja da glukoza ne djeluje direktno na suprimiranje lučenja grelina u želucu, već indirektno putem inzulina i da je smanjenje grelina uzrokovano hiperinzulinemijom, a ne smanjenjem glukoze (98). Pokazalo se da davanje inzulina uzrokuje smanjenje grelina neovisno o promjenama razine glukoze u krvi (99). Inzulinska rezistencija je također povezana s nižim razinama grelina (100, 101).

6. Srčanožilne funkcije

Grelin djeluje pozitivno kod srčanožilnih funkcija; kod zdravih osoba smanjuje krvni tlak bez promjene srčanog ritma (102,103), dok kod osoba s kroničnim zatajenjem srca poboljšava funkciju lijevog ventrikla, povećava srčani minutni volumen i srčani indeks, te smanjuje sistemsku vaskularnu rezistenciju (104).

7. Protuupalni učinci

Grelin pokazuje protuupalne učinke inhibirajući produkciju proinflammatoryh citokina (105, 106). Povišen je kod bolesti kao što su ulcerozni kolitis i Chronova bolest (107, 108), u pankreatitisu, sepsi, artritisu, astmi i dijabetičkoj nefropatiji (109-113). Snižen je kod infekcije *Helicobacter pylori* i drugih stanja koja uzrokuju atrofiju želučane stijenke (114).

8. Reproktivni učinci

Grelin djeluje na reproduktivni sustav muškaraca i žena preko hipotalamus-hipofiza-gonadalne osi (115). Inhibira oslobađanje gonadotropin oslobađajućeg hormona (GnRH), luteinizirajućeg hormona (LH) i folikulostimulirajućeg hormona (FSH) (116-118), a stimulira sekreciju

prolaktina (119). U ženskom reproduktivnom sustavu, grelin i GHS-R su prisutni u ovarijima i placenti, a u muškom reproduktivnom sustavu u testisima, uglavnom u Leydigovim i Sertolinijevim stanicama (26, 120).

Androgeni utječu na razinu grelina u krvi što pokazuju studije provedene među djecom kojom su davani spolni hormoni (121), studije među hipogonadnim odraslim muškarcima pod terapijom testosterona (122) te studije provedene među ženama s policističnim sindromom jajnika (123).

9. Stvaranje koštanog tkiva

Grelina potiče stvaranje koštanog tkiva tako što stimulira proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta, inhibira staničnu apoptozu i povećava gustoću koštanog tkiva (124, 125).

Kliničke mogućnosti primjene grelina

Dosadašnje spoznaje su dovele do razvoja mnogih farmakoloških mogućnosti za buduću kliničku primjenu grelina. Obzirom da grelin stimulira otpuštanje hormona rasta i povećava apetit, razmatra se njegova primjena u liječenju stanja s manjkom hormona rasta, poremećajima prehrane, kaheksiji te sarkopeniji (126). U budućnosti je moguća njegova klinička primjena u stanjima poremećaja gastrointestinalne peristaltike, osteoporozi, upalnim procesima te stanjima nakon gastrektomije i ezofagektomije u kojima je razina grelina snižena (127). Obzirom da grelin ima dijabetogeni učinak, antagonisti grelina bi se mogli koristiti u terapiji dijabetesa tipa 2, povećavajući inzulinsku sekreciju u beta stanicama gušterače i povećavajući inzulinsku osjetljivost u perifernim tkivima. Ispituju se i agonisti grelina u terapiji dijabetesa tipa 1 i 2, koji bi sačuvali i poboljšali funkciju preostalih beta stanica. Novija istraživanja pokazuju da grelin ima i antikonvulzivna svojstva (128) te da poboljšava učenje i pamćenje (129, 130).

Farmakološke mogućnosti reguliranja grelinske aktivnosti

Do sada je razvijeno nekoliko takvih farmakoloških pripravaka većinom za liječenje debljine i šećerne bolesti tipa 2, no sva su još u pretkliničkim ili kliničkim fazama istraživanja. Jedno od njih je grelinsko cjepivo koje ima za cilj blokiranje učinka grelina i bilo bi korisno u liječenju

bolesti povezanih s visokim razinama grelina u krvi kao što je Prader Willi sindrom (131). Drugo su lijekovi usmjereni na grelinske receptore: GHS-R1A agonisti, GHS-R1A antagonisti i GHS-R1A inverzni agonisti (132). Treću grupu čine inhibitori enzima grelin O-acyl transferaze (GOAT) koji moduliraju razinu aktivnog grelina (133).

1.2. Peptid YY (PYY)

Otkriće PYY

Peptid YY (PYY) je peptidni hormon od 36 aminokiselina kojeg su 1980. godine otkrili Tatemoto i Mutt iz tkiva crijeva svinje (134). Pripada obitelji pre-propeptida, kojoj još pripadaju neuropeptid Y (NPY) i pankreatički polipeptid (engl. pancreatic polypeptide, PP). Sintetizira se i izlučuje postprandijalno iz enteroendokrinih stanica, nazvanih L-stanicama koje se dominantno nalaze u distalnom dijelu gastrointestinalnog trakta, najviše u rektumu, manje u duodenumu, jejunumu i kolonu, a izuzetno su rijetke u želucu (135).

Cirkulirajući PYY

PYY u krvi cirkulira u dva oblika: PYY (1-36) i PYY (3-36) koji nastaje iz PYY (1-36) djelovanjem enzima dipeptidyl peptidasa IV (DPPIV) (136, 137). Oba oblika smanjuju unos hrane, no PYY (3-36) ima značajno veću razinu aktivnosti od PYY (1-36) i stoga se smatra aktivnim oblikom PYY, dok se PYY (1-36) smatra neaktivnim oblikom. Ispitujući ulogu neaktivnog oblika PYY, pokazalo se da kod životinja primjena PYY (1-36) također smanjuje unos hrane, no u manjoj mjeri od PYY (3-36) (138), dok se kod ljudi zasad nije pokazalo da PYY (1-36) ima značajnu ulogu u regulaciji unosa hrane (139).

Većina cirkulirajućeg PYY natašte je PYY (1-36), dok postrandijalno većinu cirkulirajućeg PYY čini PYY (3-36) (136). Odnos koncentracija dvaju oblika PYY u krvi (PYY (1-36) i PYY (3-36)) je sličan u normalno uhranjenih i debelih osoba (137).

Bazalne koncentracije PYY u plazmi su niske (99-180pg/ml) (138) i povećavaju se unosom hrane proporcionalno kalorijskoj vrijednosti obroka (139).

Tkivna distribucija PYY

PYY (3-36) prolazi kroz krvno moždanu barijeru te ostvaruje učinak na apetit preko Neuropeptid Y Y2 receptora (NPY Y2R) na ARC hipotalamusa; PYY3-36 je specifični Y2-R agonist, dok se PYY1-36 veže na sva četiri Y receptora (Y1, Y2, Y4, i Y5) (140). PYY (3-36) smanjuje unos

hrane aktivirajući presinaptičke NPY Y2 receptore na ARC; aktivacija tih receptora dovodi do inhibicije oreksigeničkih NPY/AgRP neurona i stimulacije anoreksigeničkih proopiomelanokortinskih (POMC) neurona (141-143). PYY3-36 prolazi krvno moždanu barijeru i smatra se da djeluje centralno, putem nervusa vagusa ili kombinacijom tih puteva (144, 145).

Fiziologija i patofiziologija PYY

1. Appetit i unos hrane

Koncentracije PYY u krvi natašte su niske, nakon konzumacije hrane dolazi do porasta razine PYY unutar 15 minuta, a oko 60 minuta nakon obroka doseže svoju najvišu razinu. PYY ostaje povišen nekoliko pa sve do šest sati nakon obroka, nakon čega razina PYY pada na bazalne vrijednosti (139, 146).

Koncentracija PYY u krvi ovisi o uhranjenosti osobe, kalorijskoj vrijednosti obroka, konzistenciji i makronutritivnom sastavu hrane (147, 148). Batterham i suradnicu su prvotno pokazali da i.v. primjena normalnih postprandijalnih koncentracija PYY (3-36) značajno smanjuje apetit kod osoba normalne tjelesne mase, da bi godinu kasnije potvrdili da se apetit i unos hrane jednako smanjuje i kod ljudi prekomjerne tjelesne mase (4, 149). Kasnije istraživanje kod odraslih je potvrdilo da je osjetljivost za periferni PYY očuvana kod debljine (141), no mnoge druge studije su pokazale da debeli imaju smanjeno lučenje PYY nakon unosa hrane i moraju konzumirati više kalorija u odnosu na mršave da dosegnu jednaku razinu PYY; kod odraslih (137), a takav učinak opisan je i u nekoliko studija kod djece i adolescenata (39, 45, 150). Nakon OGTT-a, kod normalno uhranjene djece PYY raste do 120 minute, dok je kod debele djece porast PYY zabilježen samo u prvih 30 minuta (40). Nakon standardnog obroka određene kalorijske vrijednosti, djeca povećane tjelesne mase imaju veći porast PYY od debele djece (150). Smanjeno lučenje PYY kod debelih u odnosu na normalno uhranjene našao je i Mittelman u maloj studiji među 17 latinoamerikanaca (dob 11-14 godina), gdje čak i veći unos

hrane (i kalorija) kod debelih nije bio dovoljan za stimulaciju PYY kakva je nađena kod normalno uhranjene djece (45).

Sekrecija lučenja PYY ovisi i o makronutritivnom sastavu hrane. Istraživanja među odraslima su pokazala da je postprandijalni PYY niži nakon obroka bogatog ugljikohidratima u odnosu na obrok bogat mastima ili proteinima (151) te da je PYY povišen oko 30 minuta nakon obroka bogatog mastima, a nakon proteinskog obroka PYY ostaje povišen i do 120 minuta (148). Slična istraživanja provedena su i među djecom i adolescentima gdje se također pokazalo da je porast PYY najveći nakon obroka bogatog proteinima (152, 37). Kod djece, obrok bogat mastima (81% masti) uzrokuje porast te kasnije sporiji pad PYY u usporedbi s obrokom bogatog ugljikohidratima (88%) kod kojeg dolazi do brzog porasta PYY unutar 30 minuta i nakon toga do pada PYY, dok obrok bogat proteinima (44%) uzrokuje postepen porast PYY (37).

Inicijalni postprandijalni porast PYY nastaje unutar 15 minuta nakon obroka, puno ranije nego li hrana stigne u distalne dijelove gastrointestinalnog trakta, implicirajući živčani ili hormonalni mehanizam inicijalnog lučenja PYY. Brzo postprandijalno otpuštanje PYY u crijevima najvjerojatnije nastaje putem nervusa vagusa (144, 145).

2. Energetska homeostaza

Osim što sudjeluje u postprandijalnoj sitosti, nekoliko činjenica upućuje i na to da PYY sudjeluje i u dugoročnoj regulaciji tjelesne mase. Prvo: određen broj studija kod djece i odraslih su pokazale da su razine PYY natašte niže kod debljine i da negativno koreliraju s ITM-om (138, 140, 151, 153-155). No ta korelacija nije tako konzistentna u literaturi jer neka istraživanja pokazuju kod debljine slične razine PYY na tašte (154, 156) ili čak više (39) u odnosu na normalno uhranjene. Za razliku od debljine, neke studije govore da je koncentracija PYY kod anoreksije nervose povećana, kako natašte tako i postprandijalno (138, 157, 158) te da je PYY povišen i u drugim bolestima koje obilježava gubitak tjelesne mase, kao što su upalna bolest crijeva, celijakija i kardijalna kaheksija (159). Djeca s PWS imaju povišen PYY natašte i

postprandijalno (160) te se pretpostavlja da bi to mogao biti jedan od čimbenika za izrazito povećani osjećaj gladi i povećanu tjelesnu masu kod te bolesti.

Drugo; PYY stimulira termogenezu i povećava energetske potrebe, makar mehanizmi nisu još do kraja razjašnjeni (154).

Treće; postoji pozitivna korelacija između postprandijalnog PYY i subjektivnog osjećaja sitosti (154, 161). Neka istraživanja pokazuju da debele osobe imaju smanjeni postprandijalni porast PYY i potreban im je veći kalorijski unos da bi postigli postprandijalne koncentracije PYY jednake onima kod normalne tjelesne mase (149, 147).

Četvrto; transgenetička istraživanja na životinjama su pokazala da nedostatak PYY rezultira hiperfagijom i debljinom, a da egzogeni nadomjestak PYY smanjuje i hiperfagiju i prekomjernu tjelesnu masu (147).

3. Gastroenterološke funkcije

PYY inhibira gastričnu, pankratičnu i intestinalnu sekreciju i peristaltiku (162).

Regulacija lučenja PYY

Koncentracija PYY se mijenja ovisno o promjenama u energetske ravnoteži. Većina istraživanja o PYY je provedena na odrasloj populaciji i pokazala su niže razine PYY natašte i manji postprandijalni rast PYY kod debljine nego kod normalne uhranjenosti (153). Još uvijek se ne zna dovoljno o regulaciji lučenja PYY u dječjoj populaciji jer su istraživanja PYY među djecom i adolescentima mnogo rjeđa i nisu pokazala jednoznačne rezultate i jasnu razliku u razini PYY između debelih i djece normalne tjelesne mase. Nekoliko studija je ispitalo PYY kod novorođenčadi i dojenčadi (163-166). Adrian je pronašao visoke razine PYY kod novorođenčadi s najvišim vrijednostima dvanaestog dana života, te s daljnjim smanjenjem kroz prvu godinu života. Razine su bile znatno više kod novorođenčadi nego kod zdravih odraslih osoba. U devetom mjesecu života razine PYY se značajno smanjuju (32 ± 3 pmol/L), no još uvijek su znatno više nego one u odrasloj dobi. Smatra se da je postnatalni porast PYY-a adaptivni

odgovor na specifičnosti hranjenja u novorođenačkoj dobi te da PYY inhibira želučanu sekreciju, usporava pražnjenje želuca i peristaltiku. Tim mehanizmom PYY omogućava više vremena za apsorpciju hrane u dojenačkoj dobi.

Niske koncentracije PYY natašte u krvi kod debljine upućuju na ulogu PYY patofiziologiji debljine, no da li je PYY uključen u etiologiju, ili pak povećava razvoj debljine još nije posve razjašnjeno.

Kod djece s povećanom tjelesnom masom, nakon provedene intervencije mršavljenja, gubitak tjelesne mase je povezan s povećanjem koncentracije PYY u krvi (138, 139).

Većina studija pokazuje da tjelesna aktivnost povećava razinu PYY bez obzira na trajanje i oblik tjelesne aktivnosti. Analizirajući kratkoročni utjecaj tjelesne aktivnosti na PYY pokazalo se da razina PYY raste i osjećaj gladi se smanjuje za vrijeme i kratko nakon aerobnog vježbanja i vježbanja snage (49, 50, 167), te da vježbanje dva sata nakon obroka produžava osjećaj sitosti i povećava razinu PYY (168). Dugotrajna tjelesna aktivnosti povećava razinu ukupnog PYY kod preuhranjenih adolescenata (169).

PYY i farmakološke mogućnosti liječenja debljine

PYY predstavlja potencijalni cilj u farmakologiji u liječenju debljine obzirom da smanjuje unos hrane i tjelesnu masu. Osim toga smanjuje želju za masnom hranom (170) te poboljšava inzulinsku osjetljivost (171). Energetska ravnoteža je regulirana brojnim hormonima koji usklađeno djeluju te se, kao rezultat smanjenja unosa hrane i smanjenja tjelesne mase, aktiviraju mehanizmi koji preveniraju daljnji gubitak mase. Djelujući na samo jedan cilj, uspješnost liječenja debljine je vrlo limitirana. Stoga, jedino će sinergističko djelovanje više hormona i drugih anorektičnih čimbenika biti uspješno kao farmakološki oblik u liječenju debljine.

Kod odraslih, nakon kirurškog liječenja debljine (gastric bypass) i smanjenja tjelesne mase, dolazi do porasta PYY na tašte, postprandijalnog PYY i do smanjenja apetita (172). Stoga se

pretpostavlja i da PYY djelomično utječe na smanjenje unosa hrane i uspješno mršavljenje nakon tih zahvata (173).

1.3. Debljina - javnozdravstveni problem

U posljednje vrijeme postignut je veliki napredak u razumijevanju regulacije tjelesne mase, no unatoč tome debljina i dalje ostaje jedan od glavnih javnozdravstvenih problema pandemijskih razmjera, s nizom oboljenja, zdravstvenih i psihosocijalnih posljedica.

Debljina: definicija, rizični čimbenici i uzroci

Debljina je stanje koje nastaje kada energetske potrebe kronično premašuje energetska potrošnja. Čak i suptilne razlike u kalorijskom unosu (manje od 0.5%) u odnosu na potrošnju su dovoljne za povećanja tjelesne mase i eventualnog nastanka debljine (174). Veliku ulogu u unosu hrane imaju okolišni, kognitivni i emocionalni čimbenici koji mogu dovesti do konzumiranja količine hrane koja premašuje energetske potrebe (175). Smatra se da je sve veća prevalencija debljine u razvijenom svijetu i u zemljama u razvoju rezultat „modernog“ doba, okolišnih čimbenika i životnih navika, koje omogućavaju jednostavan pristup ukusnoj hrani i smanjena potreba za tjelesnom aktivnošću, koje je u suprotnosti sa životnim stilom iz davne prošlosti koje karakterizira velika potreba za kretanjem i potraga za hranom, te nepredvidiva razdoblja obilja hrane i posta (176).

Prema Svjetskoj Zdravstvenoj Organizaciji kod odraslih osoba se povećana tjelesna masa definira kao indeks tjelesne mase (ITM, tjelesna masa u kilogramima podijeljena s tjelesnom visinom u metrima na kvadrat) od 25.00 do 29.99 kg/m², a debljina kao $ITM \geq 30.00 \text{ kg/m}^2$ (177). Procjena stupnja uhranjenosti i dijagnoza debljine kod djece i adolescenata se također temelji na ITM, no s obzirom da su djeca u stanju rasta i razvoja i ITM se mijenja s dobi, spolom i visinom, za dijagnozu se ne koriste apsolutne vrijednosti ITM, već se koriste spolno specifične centilne krivulje ITM za dob (178). Klasifikacija stupnja uhranjenosti pojedinca (normalna uhranjenost, povećana tjelesna masa i debljina) ovisi o korištenim referentnim krivuljama i trenutno tri najčešće korištena kriterija, uz nacionalne ukoliko postoje, su krivulje Svjetske Zdravstvene Organizacije, Internacionalne operativne grupe za debljinu (The International

Obesity Task Force, IOTF) (179) i američke krivulje Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) (180). SZO centilne krivulje ITM-a za djecu u dobi od 5 do 19 godine koriste parametre standardne devijacije kojima se povećana tjelesna masa definira kao +1 SD (ekvivalent za ITM=25,4kg/m² s 19 godina za dječake i ITM=25,0kg/m² s 19 godina za djevojke) a debljina kao +2 SD (ekvivalent ITM=29,7kg/m² s 19 godina za oba spola) (181). IOTF referentne vrijednosti kreirane su prema vrijednostima ITM za povećanu tjelesnu masu i debljinu kod odraslih u dobi od 18 godina, a CDC povećanu tjelesnu masu definira vrijednostima ITM-a između 85. i 95. percentile za dob i spol, a debljinu kao vrijednosti ITM-a \geq 95 percentile.

Kod odraslih, prevalencija debljine se utrostručila u zadnjem desetljeću; procjenjuje se da je 2008. godine u svijetu bilo više od 1,4 milijarde odraslih prekomjerne tjelesne mase, od kojih je 500 milijuna debelo. Od osobitog značenja je epidemija debljine u djece i adolescenata, s nizom zdravstvenih posljedica već u mladosti i koja će se u određenom broju nastaviti i u odrasloj dobi. (182-184). Trenutna prevalencija debljine u djece je 7-10% no pretpostavlja se da će se udvostručiti do 2025. godine (185). Dostupni podaci za Hrvatsku pokazuju da je prema IOTF kriteriju 26% djece (6-12 godina) i 20% (12-16 godina) prekomjerne tjelesne mase (186), a prema nacionalnim krivuljama (masa prema visini) 11.9% djece školske dobi ima povećanu tjelesnu težinu, a 6.9% djece je debelo (187).

Čimbenici rizika za dječju debljinu su brojni i složeni te uključuju okolišne, nasljedne i metaboličke faktore. Povećani rizik za razvoj debljine predstavljaju: debljina roditelja, velika ili niska rodna masa za gestacijsku dob, raniji ulazak u pubertet, rani „catch-up“ rast, veliki dojenački prirast mase, nepravilna prehrana, sjedalački način života te novije otkriveni čimbenici kao što su nedostatak sna, kronične upale, problemi ponašanja i psihijatrijske bolesti (188-193). Nedavne studije pokazuju da porođajna masa negativno korelira sa razinom grelina (194, 195). Djeca s niskom porođajnom težinom imaju više razine grelina te se smatra da je povišeni grelin

mogući trajni oreksinogeni signal koji doprinosi postnatalnom zamahu rasta, većem prirastu mase u prvoj godini i nakupljanju masnog tkiva u kasnijim godinama (196, 197)

Prevenција i liječenje debljine

Dugoročni ciljevi u borbi protiv debljine su prevencija edukacijom i mijenjanjem čimbenika okoliša koji doprinose razvoju debljine, no za one koji su već razvili debljinu potrebno je liječenje. Nažalost, mogućnosti uspješnog liječenja debljine do danas su ostale vrlo skromne. Promjene životnih navika u vidu redukcijских dijeta i povećane tjelesne aktivnosti, općenito ne dovode do znatnog i dugoročnog smanjenja tjelesne mase (198, 199). Jedan od oblika psihoterapije, kognitivno bihevioralna psihoterapija, se pokazala donekle uspješna u liječenju debljine s različitim dugoročnim rezultatima, no takav način liječenja debljine je teško široko provediv (200). Kirurške metode liječenja debljine, barijatrijska kirurgija, do danas ostaje najuspješnija metoda liječenja debljine, i to u vidu dugoročnog smanjenja tjelesne mase, smanjenja komplikacija uzrokovanih debljinom te produljenja životnog vijeka. Smatra se da uspjehu barijatrijske kirurgije pridonosi i to što ju prati promjena u razini hormona probavnog sustava i promjene u crijevnoj mikroflori. Smanjenje tjelesne mase postignute kirurškim putem dovodi do različitih učinaka na grelin, neka istraživanja pokazuju pad grelina (172, 201, 202), neka istraživanja ne pokazuju promjene u koncentraciji grelina (203-205) dok neka pokazuju porast grelina (206, 207). Unatoč svemu, kirurške metode liječenja su namijenjene većinom za liječenje morbidne debljine i nisu prikladne u općoj borbi protiv debljine (208-210).

Alternativa barijatrijskog kirurgiji kao uspješnoj metodi liječenja debljine, je razvoj lijekova koji će smanjiti tjelesnu masu bilo smanjenjem unosa hrane ili smanjenjem apsorpcije hrane, i/ili povećanjem energetske potrošnje (211, 212). Takva strategija je, unatoč vrlo predanom radu više od pola prošlog stoljeća, pokazala vrlo skromne rezultate. Mnogi lijekovi, proizvedeni u nadi da će riješiti problem debljine, su povučeni zbog brojnih i vrlo ozbiljnih nuspojava te je danas svega par takovih lijekova odobreno za kliničku primjenu (213).

Zbog toga su potrebna daljnja istraživanja u cilju pronalaska novih metoda liječenja debljine, učinkovitijih i s manje nuspojava (213-215). U tom kontekstu, napredak u razumijevanju neurobiologije apetita i energetske homeostaze, doveo je i do pronalaska novih ciljeva za razvoj potencijalnih lijekova protiv debljine (214, 216).

1.4. Grelin i PYY u debljini

Većina istraživanja pokazuje da je grelin natašte niži kod debele djece nego kod normalno uhranjene djece (42, 43, 54, 150, 217-220), a tek manji broj ne nalazi povezanost grelina i uhranjenosti kod djece (39, 45). Rezultati istraživanja za PYY nisu tako jednoznačni, većina istraživača je pokazala sličnu razinu PYY kod debelih i normalno uhranjenih (37, 150, 152, 221), dok su neki našli niže razine PYY (138), a neki više razine PYY kod debele djece (37, 220). Također, debeli pokazuju manji postprandijalni porast PYY i manji postprandijalni pad grelina u usporedbi sa djecom i odraslima normalne uhranjenosti (39, 45).

Takva saznanja ukazuju da razlike u bazalnim i postprandijalnim koncentracijama grelina i PYY između debelih i mršavih imaju ulogu u patogenezi debljine. Da li sudjeluju u etiologiji razvoja debljine ili je to fiziološki odgovor na stanje prekomjerne tjelesne mase, još nije posve jasno.

Istražujući razloge veće incidencije debljine kod djece određenih etničkih skupina, Bacha i suradnici su pronašli da postoje razlike u razini grelina i PYY među američkom djecom bijele i crne rase. Apsolutno smanjenje koncentracije grelina nakon unosa glukoze je 32% manje među djecom crne rase. Koncentracija PYY natašte i postprandijalno je 17-19% niža među djecom crne rase. Pretpostavlja se da manje postprandijalno smanjenje grelina i niži PYY u djece crne rase uzrokuje smanjeni osjećaj sitosti i veći unos kalorija u sljedećem obroku te dijelom doprinose većoj incidenciji debljine koju nalazimo u djece crne rase (222).

Unatoč učinku grelina da povećava unos hrane, grelin je smanjen kod debljine, a povećan kod pothranjenosti. Da bi se objasnio taj paradoks, pretpostavlja se da je grelin u debljini smanjen kao adaptivni odgovor na povećanje tjelesne mase i predstavlja fiziološki signal da su dostatne energetske zalihe, odnosno da je zbog debljine smanjena potreba za stvaranjem novih energetskih zaliha. Stoga se vjeruje da je smanjeni grelin u debljini fiziološka prilagodba na pozitivnu energetska ravnotežu i da nema aktivnu ulogu u patogenezi pretilosti, već je njegova glavna uloga održavanje homeostaze u razdobljima negativne energetske ravnoteže. Smatra se da je

njegova uloga u regulaciji apetita evoluirala da bi se spriječilo gladovanje u uvjetima nedostatka hrane.

Pretpostavlja se da su osobe prekomjerne tjelesne mase razvili centralnu grelinsku rezistenciju. Studije na debelim miševima su pokazale hipotalamičku rezistenciju na grelin, u kojoj grelin više ne stimulira aktivaciju NPY i AgRP koji potiču glad. Debljina kod miševa smanjuje aktivnost GOAT enzima potrebnog za stvaranje aktivnog grelina, te tako smanjuje acilirani grelin (223).

Mnoge studije provedene među debelima su pratile promjene grelina za vrijeme mršavljenja. Većina istraživanja pokazuje porast grelina nakon gubitka tjelesne mase (55, 71, 78, 218, 224), no jedan manji broj pokazuje da nije došlo do promjene grelina (219, 221, 225), ili čak pokazuje smanjenje grelina nakon gubitka tjelesne mase (202). Smatra se da je upravo porast grelina nakon mršavljenja ključan čimbenik odgovoran za dugoročno teško održavanje smanjene tjelesne mase i vraćanje na staru tjelesnu masu, što se često uočava kod debelih osoba nakon mršavljenja. Smatra se da je povećanje grelina za vrijeme mršavljenja u suštini evolucijski kompenzacijski mehanizam koji onemogućava održavanje novonastale smanjene mase, odnosno dugoročno mršavljenje (221). Roth i suradnici su proveli intervenciju za smanjenje tjelesne mase među djecom, u kojoj nije došlo do povećanja grelina u krvi kod djece unatoč tome što su postigla značajno smanjenje tjelesne mase (226). Ta vrsta intervencije (nazvana „Obeldisk“) se bazirala na polaganom smanjenju tjelesne mase, što bi moglo objasniti da takvo sporije mršavljenje ne uzrokuje trenutačni obrambeni mehanizam povećanja grelina. Ta spoznaja bi mogla pomoći kod održavanja nove smanjene tjelesne mase i sprečavanja uobičajenog brzog povratka na staru težinu zbog povećanja grelina.

U velikom broju različitih redukcijskih dijeta koje „obećavaju“ optimalan gubitak tjelesne mase tako što će smanjiti apetit i unos hrane, istaknule su se dvije dijete odnosno dva načina prehrane: prehrana s većim udjelom proteina i prehrana s većim brojem obroka. Tu hipotezu dijelom podupiru i istraživanja koja su pokazala da obrok bogat proteinima povećava postprandijalnu

sitost i smanjuje postprandijalnu glad, tako što drugačije utječe na postprandijalnu razinu grelina i PYY, u odnosu na ugljikohidrate ili masti. Također neka istraživanja, ali ne sva, su pokazala da veći broj obroka u danu dovodi do smanjenja gladi, povećanog osjećaja sitosti i smanjenog unosa hrane (227-229).

1.5. Pubertet i hormoni koji reguliraju apetit

Pubertet nastaje kao rezultat složenih, koordiniranih neuroendokrinih zbivanja koja uključuju hipotalamičku pulsativnu sekreciju GnRH i aktivaciju hipotalamus-hipofiza-gonadalne (HPG) osi, oslobađanje gonadotropina, LH, FHS i spolnih hormona (230). Hormonske promjene prati razvoj sekundarnih spolnih obilježja i mnoge druge tjelesne promjene: adolescentni zamah rasta, spolno specifične promjene u građi tijela, promjene u masnom tkivu, mišićnom tkivu i koštanoj masi.

Vrijeme ulaska u pubertet je različito kod djevojčica i dječaka, kod djevojčica započinje između 8 i 12 godina, a kod dječaka između 9 i 14 godina (231). Početak puberteta je najvećim dijelom određen nasljednim čimbenicima, no važnu ulogu imaju i okolišni čimbenici, kao što su podneblje, prehrana, stresni čimbenici itd. (232).

U novije vrijeme su se počeli otkrivati i neuroendokrini čimbenici za metaboličku regulaciju puberteta te je otkriveno nekoliko perifernih hormona koji imaju utjecaj na razvoj puberteta, prvenstveno na razini GnRH sustava. Najviše je istražena i poznata uloga leptina u pubertetu (233), a u zadnje vrijeme je pobuđen interes i za ulogu drugih hormona u razvoju puberteta, kao što su grelin i PYY. Ta istraživanja su znatno rjeđa, manji broj je istraživao ulogu grelina, a još skromniji broj studija se bavi ulogom PYY u pubertetu zbog čega je i uloga tih hormona u pubertetu još uvijek nedovoljno jasna.

Leptin ima značajnu ulogu u započinjanju puberteta. To je anoreksigenički hormon koji nastaje u masnim stanicama i regulira energetske ravnoteže tako što smanjuje apetit i unos hrane, a povećava termogenezu. Razina leptina u predpubertetu je niska i kod djevojčica i dječaka, no prije samog početka puberteta i prije porasta testosterona, LH i FSH, dolazi do značajnog porasta leptina za oko 50% (234). Promjene u razini leptina su različite kod djevojčica i dječaka i paralelne su s povećanjem masnog tkiva kod djevojčica i smanjenjem masnog tkiva kod mladića. Kod djevojčica, leptin kontinuirano raste tijekom puberteta sve do petnaeste godine i najviši je u

kasnom pubertetu. Za razliku od toga, kod dječaka leptin raste samo kratko razdoblje i najviši je u ranoj fazi puberteta, dok nakon toga, u kasnijim stadijima puberteta, razina leptina pada na predpubertetske vrijednosti (233).

Razlike između djevojčica i dječaka postoje i u lučenju hormona rasta za vrijeme puberteta. Kod djevojčica hormon rasta doseže najviše razine u stadiju puberteta Tanner III, a kod dječaka u stadiju puberteta Tanner IV, odnosno kad je volumen testisa 10-15ml (235). Sukladno tomu, kod djevojčica zamah rasta započinje u ranom pubertetu (stadij Tanner II), a maksimum rasta se događa u stadiju Tanner II i III (srednja dob 11,5 godina). Kod dječaka zamah rasta započinje tek u stadiju Tanner III i dostiže maksimum u stadiju Tanner III i IV (srednja dob 13,5 godina) (236).

Novija istraživanja pokazuju da grelin ima ulogu u inicijaciji i napredovanju puberteta.

Istraživanja na životinjama su pokazala da povišene razine grelina imaju inhibitorni utjecaj na početak puberteta kod oba spola, no da je muški spol osjetljiviji na djelovanje grelina od ženskog. U eksperimentalnim studijama se pokazalo da dugotrajno davanje grelina predpubertetskim životinjama inhibira oslobađanje gonadotropina i oponaša stanje zakašnjelog puberteta (237), te da su oba spola osjetljiva na inhibitorni učinak povišenog grelina na početak puberteta, no da je muški spol osjetljiviji (238).

Istraživanja među djecom su također pokazala da grelin ima ulogu rastu i razvoju. Lučenje grelina započinje u fetalnom razdoblju oko dvadesetog tjedna i povećava se u prvim godinama života (239, 217), no kasnije u djetinjstvu razina grelina počinje opadati i pada sve do kraja puberteta. Grelina je viši kod djece u predpubertetu nego pubertetu i negativno korelira s testosteronom i estrogenom (217, 220, 238, 240-242). Pad grelina, koji nastaje napredovanjem pubertetskog razvoja, je više naglašen kod dječaka nego djevojčica (241, 243). Lebenthal i suradnici su u istraživanju među djecom niskog rasta (visina \leq 10. centila), pokazali da je farmakološki uzrokovan porast spolnih hormona (estrogena i testosterona) povezan s padom

grelina samo kod dječaka, što bi također potvrdilo da je grelin više osjetljiv na promjene u koncentracijama testosterona nego estrogena (121).

Studije su pokazale negativnu korelaciju grelina i leptina (244, 245) i suprotno djelovanje u regulaciji reproduktivne osi tako što grelin suprimira lučenje GnRH (256, 247), a leptin stimulira lučenje GnRH (118, 248). Na temelju tih spoznaja smatra se da je početak puberteta povezan s povećanjem razine leptina i smanjenjem razine grelina u krvi.

Neprijmjereno niska razina leptina i visoka razina grelina mogla bi imati ulogu u razvoju obiteljskog zakašnjelog rasta i spolnog sazrijevanja (eng. Constitutional delay of growth and puberty, CDGP) (244). To je stanje zakašnjelog puberteta bez otkrivene endokrine bolesti. El-Elshrawy i suradnici su proveli istraživanje među zdravim dječacima sa CDGP (23 dječaka, 15.1 ± 0.67 godina, 20 kontrola) i dokazali da dječaci s CDGP imaju niže razine leptina i više razine grelina od kontrolne grupe te pretpostavili da bi upravo to moglo imati ulogu u nastajanju tog poremećaja (244).

Malobrojna istraživanja impliciraju ulogu i PYY u regulaciji puberteta. Rezultati istraživanja među životinjama su dosta oprečni; periferno davanje PYY povećava LH i FSH, centralno PYY inhibira sekreciju LH u predpubertetu (249), dok primjena hormona rasta smanjuje razine PYY (250). Prva studija koja je ispitala razine PYY kod djece za vrijeme puberteta bila je studija Lloyda i suradnika. Oni su proveli presječnu studiju među 87 djece (46 djevojčica, 9-17 godina, Tanner I-V) te pokazali da su razine PYY najniže kod dječaka u stadiju puberteta Tanner III-IV, a kod djevojaka u stadiju Tanner II-III, odnosno da su razine PYY najniže kada su razine hormona rasta najviše (251). Njegove rezultate potvrdili su i Pattel i sur koji su u malom istraživanju među 20 dječaka pokazali da je PYY natašte 1.5 puta viši u ranom pubertetu (Tanner I-II), nego u srednjem i kasnom pubertetu (Tanner III-V) (220).

U posljednje vrijeme uočen je sekularni trend sve ranijeg ulaska djece u pubertet (252).

Da tome, između ostalog, pridonosi i porast debljine u dječjoj dobi potvrđuju i epidemiološke studije iz zadnjih tridesetak godina koje pokazuju povezanost debljine i ranijeg ulaska u pubertet kod djevojčica (253-255). Povećanje ITM-a i udjela masnog tkiva je neophodno za pubertetski razvoj i prethodi pubertetskom zamahu rasta u visinu (256). Smanjeni unos hrane i pothranjenost povezani su s nemogućnošću ulaska u pubertet te sa sporijim napredovanjem pubertetskog razvoja (257). Raniji ulazak u pubertet može biti posljedica naglog porasta ITM ili viška masnog tkiva zbog čega dolazi do povećanog lučenja leptina koje ubrzava početak puberteta. Longitudinalne studije su pokazale da povećanje leptina jasno prethodi pubertetskom povećanju LH i estradiola u djevojčica te da je potrebna određena granična razina (treshold) leptina za ulazak u pubertet što potvrđuje permisivnu ulogu leptina za početak puberteta. Stoga, ako je ta ključna razina energetske zaliha i određena koncentracija leptina postignuta ranije, pubertet će također početi ranije. Uz leptin, i drugi mehanizmi u debljini mogu doprinijeti ranijem ulasku u pubertet kao što su hiperinzulinemija i inzulinska rezistencija te višak estrogena (255). Povezanost debljine i puberteta kod dječaka nije dovoljno jasna (258). Za razliku od istraživanja među djevojkama, koja skoro jednoznačno pokazuju da je debljina povezana s ranijim pubertetom, skoro da i nema istraživanja koja bi potvrdila istu povezanost i kod dječaka. Jedan od razloga zašto nema toliko podataka za dječake je taj što kod dječaka ne postoji događaj u pubertetu, tako jasan i točno definiran, kao što je menarha kod djevojaka. Takva istraživanja su većinom anketna, a za precizno utvrđivanje razvoja puberteta, trebalo bi obuhvatiti tjelesni pregled zdravstvenog djelatnika, što takva istraživanja čini puno teže provedivima.

Za razliku od ranijeg ulaska u pubertet kod debljine, kasniji ulazak u pubertet nalazimo u uvjetima perzistentne negativne energetske ravnoteže kao što su anoreksija nervosa i dugotrajno naporno vježbanje. U tim stanjima razine grelina su povišene i, obzirom da grelin inhibira lučenje GnRH, pretpostavka je da bi grelin mogao biti jedan od hormona odgovornih za supresiju reproduktivne osi u tim stanjima (238, 259).

Tijekom puberteta naglašen je povećan apetit i unos hrane (241). No naprotiv, povećani apetit i unos hrane tijekom puberteta nisu povezani s povećanjem, nego sa smanjenjem grelina. Pretpostavlja se da tijekom puberteta postoji povećana osjetljivost na grelin za stimulaciju apetita (241).

Pubertet ima ključnu ulogu i u koštanom razvoju te uz veliki porast tjelesne visine i mase dolazi i do velikog porasta koštane mase. Spolni hormoni i hormon rasta su ključni hormoni odgovorni za povećanje koštane mase i koštane gustoće tijekom puberteta i do kraja adolescencije se koštana masa udvostruči (260), no istražuje se i uloga grelina. Istraživanja na životinjama su pokazala da grelin stimulira razvoj kosti povećavajući broj osteoblasta (125). Istraživanja među dječacima su pokazala da grelin nema direktni utjecaj na metabolizam kosti, odnosno da je njegova uloga u stvaranju koštane mase kod dječaka indirektna preko testosterona (261). Rezultati istraživanja među djevojkama su pokazali da grelin utječe na gustoću koštane mase neovisno o estradiolu (262).

1.6. Dosadašnja istraživanja

Većina dosadašnjih istraživanja o grelinu i PYY i uhranjenosti su presječne i intervencijske studije, manji broj su prospektivne kohortne studije, a najmanji broj istraživanja su longitudinalne studije.

Većina prospektivnih studija o grelinu i PYY je provedena kao intervencijske studije među odraslom populacijom, u kontroliranim uvjetima pozitivne ili negativne energetske ravnoteže. To su uglavnom intervencijski programi mršavljenja kod debljine ili pak programi normalizacije tjelesne mase kod anoreksije. Vrlo mali broj longitudinalnih istraživanja je proveden u fiziološkim uvjetima sa spontanim promjenama tjelesne mase među djecom u pubertetu. Do sada nije provedeno longitudinalno istraživanje kod djece u fiziološkim uvjetima sa mjerenjem oba hormona na početku i na kraju istraživanja.

Prospektivne studije

Intervencijske studije i programi mršavljenja kod djece

Unatoč tome što grelin uzrokuje povećanje apetita i unos hrane, presječne studije među djecom i odraslima su pokazale niže razine grelina kod debljine.

Provedeno je mnogo kohortnih studija među djecom i odraslima u kojima se ispitala promjena grelina kod debljine tijekom različitih intervencija mršavljenja i većina istraživača je našla porast grelina nakon mršavljenja (56, 71, 78-80, 218, 224). Manji broj istraživanja nije pokazao promjene u razini grelina nakon mršavljenja (219, 221, 225), dok je u jednoj studiji zabilježen pad razine grelina nakon smanjenja tjelesne mase (202).

Neki istraživači smatraju da je upravo povećanje grelina nakon gubitka tjelesne mase odgovorno za nemogućnost održavanja smanjene mase nakon mršavljenja (138, 221). Povećanje grelina djeluje kao kompenzacijski mehanizam koji uzrokuje promjenu apetita i energetske potrošnju. Stoga je moguće da više koncentracije grelina natašte postignute mršavljenjem, odašilju veće

signale gladi i potiče unos hrane, što utječe na to da se teže postigne i održava željena manja tjelesna masa, odnosno da vrlo brzo dolazi do vraćanja na staru tjelesnu težinu.

Da bi se ispitale promjene grelina u mršavljenju među djecom i adolescentima, provedena su istraživanja s različitom metodologijom i različitim rezultatima.

Vos i suradnici su proveli istraživanje među debelom djecom (srednja dob 13,3 godine) koja su sudjelovala u tromjesečnom multidisciplinarnom programu za smanjenje tjelesne mase. Nakon tri mjeseca došlo je do značajnog smanjenja debljine (značajno smanjenje ITM SDS) i do značajnog porasta grelina, dok nije došlo do značajnih promjena u razini PYY (79). Martos Moreno i suradnici su proveli istraživanje među debelom djecom u predpubertetu (srednja dob 8,9 godina) koji su sudjelovali u osamnaestomjesečnom programu mršavljenja baziranom na principu bihevioralne psihoterapije. Analizirane su razine ukupnog i aktivnog grelina. Na početku istraživanja nađena je negativna korelacija ukupnog i aktivnog grelina s ITM SDS. Nakon postignutog mršavljenja (smanjenje za 1 SDS) došlo je do porasta i ukupnog grelina i aktivnog grelina, no nakon daljnjeg mršavljenja (smanjenje za 2 SDS) došlo je do daljnjeg porasta samo ukupnog grelina, dok se aktivni grelin vratio na bazalne vrijednosti (80). Nije potpuno jasno zašto je došlo do različitog odgovora ukupnog i aktivnog grelina. Mogući razlog je aktivnost GOAT enzima nakon značajnog gubitka tjelesne mase ili pak kitovi za određivanje razine ukupnog grelina koji moguće mjere i produkte raspadanja aktivnog grelina.

Kelishadi i suradnici su proveli randomiziranu kontroliranu studiju među 100 pretila predpubertetske djece prekomjerne tjelesne mase (srednja dob 7,7 godina) u trajanju od godine dana s ciljem ispitivanja kratkoročnih i dugoročnih promjena grelina nakon smanjenja tjelesne mase. Ispitanici su sudjelovali u šestomjesečnom programu za smanjenje debljine (jedna grupa u programu promjene prehrane, druga grupa u programu promjene tjelesne aktivnosti), nakon čega su bili praćeni narednih šest mjeseci bez intervencije. Šestomjesečni program mršavljenja je završilo 92 djece, a cijelu studiju u trajanju od godine dana 87 djece. Na početku istraživanja

nađena je negativna korelacija grelina s opsegom struka, omjerom tj. visina / tj. masa, ITM, krvnim tlakom, inzulinom, trigliceridima i LDL kolesterolom. Nakon 6 mjeseci, obje grupe su značajno smanjile tjelesnu masu, došlo je do značajnog smanjenja ITM i ITM SDS, te do značajnog porasta grelina. Veličina promjene grelina značajno je korelirala s veličinom promjene ITM. U razdoblju od narednih šest mjeseci ispitanici su povratili svoju prvotnu tjelesnu masu te se grelin vratio na početne vrijednosti (56). Kelishadi pretpostavlja da grelin ne regulira dugoročnu energetska ravnotežu kod pretila djece jer unatoč tomu što grelin raste kao odgovor na gubitak mase, također se i vraća na bazične vrijednosti s porastom mase. Ti rezultati upućuju da je taj efekt prolazan, odnosno da za vrijeme mršavljenja razina grelina raste kada pretila osoba uđe u stanje negativne energetske ravnoteže, no kada se energetska ravnoteža stabilizirana, grelin se vraća na prvotne niže vrijednosti.

Reinehr smatra da određeni programi smanjenja tjelesne mase, specifični po vrsti intervencije, rezultatima i trajanju, ne uzrokuju kompenzatorno povišenja grelina što smatra ključnim da bi se dugoročno uspješno održati smanjenu tjelesnu masu. Proveli su istraživanje među 37 debele djece (dob 10 godina) koji su sudjelovali u tzv. Obeldicks programu, što je jednogodišnji program mršavljenja koji se bazira na tjelesnoj aktivnosti, edukaciji o prehrani i bihevioralnoj terapiji djece i roditelja. Na početku istraživanja ukupni grelin je bio značajno niži kod pretila djece u odnosu na kontrolnu grupu. Nije bilo razlike u razini grelina između dječaka i djevojčica, niti između prepubertetske i pubertetske djece. Nakon godine dana 16 djece je postiglo značajan gubitak tjelesne mase (smanjenje ITM SDS ≥ 0.5), značajno smanjenje inzulina, leptina, te povećanje adioponektina, no nije došlo do promjene u razini grelina. Kod djece koja nisu postigla značajan gubitak mase, nije došlo do promjene u razinama hormona, uključujući i grelin (221).

Longitudinalna istraživanja

Određivanje grelina u prospektivnim studijama u slobodnim uvjetima (eng. free-living conditions) među djecom u rastu i razvoju, omogućuje ispitati ima li grelin prediktivnu vrijednost

za moguće promjene tjelesne mase. Vrlo malo takvih longitudinalnih studija bez intervencije je ispitivalo imaju li razlike u koncentracijama grelina ulogu u razvoju debljine kod djece. Dosadašnja istraživanja daju oprečne rezultate, neki istraživači su pretpostavili da više razine grelina imaju prediktivnu vrijednost i da mogu predvidjeti budući rast u tjelesnoj masi.

Prvu takvu prospektivnu studiju u slobodnim uvjetima proveli su Bunt i suradnici među djecom etničke skupine Pima Indijanaca u kojoj je ispitivan odnos grelina i budućeg prirasta u tj. masi, visini i uhranjenosti (263). Proveli su prospektivno istraživanje među 40 djece (većinom debele, dob 10 godina) s vremenom praćenjem od 1,7 godina. Prvo mjerenje je uključivalo određivanje hormona grelina i antropometrijska mjerenja, a drugo mjerenje samo antropometrijska mjerenja. Oni su pretpostavili da će djeca s višim razinama grelina u početnom mjerenju nakon praćenja od 1-2 godine imati veći prirast u tj. masi i uhranjenosti. No istraživanje nije potvrdilo njihovu hipotezu. Na početku istraživanja grelin je bio niži kod debele djece, ali se nije pokazalo da nezavisno predviđa buduću promjenu tj. visine, mase niti promjenu uhranjenosti.

Butte i sur su proveli veliko longitudinalno istraživanje, Viva la Familia studija, među djecom iz još jedne etničke skupine povećanog rizika za razvoj pretilosti, u latinoameričkoj populaciji (264). Ispitanici su bili braća i sestre regrutirani iz 319 obitelji s najmanje jednim debelim djetetom kao uvjetom za sudjelovanje u studiji. Istraživali su sociodemografske, metaboličke i bihevioralne prediktore povećanja tj. mase kroz godinu dana. Na početku istraživanja sudjelovalo je 1030 djece, a studiju je nakon godine dana završilo 879 djece. Djeca su bila u dobi od 4-19 godina, većinom debeli (51,8%). Na početku istraživanja obavljena su antropometrijska i biokemijska mjerenja, a nakon godine dana obavljena su samo antropometrijska mjerenja. Osim djetetovog ITM statusa i majčinog ITM kao nezavisnih pozitivnih prediktora za povećanje tjelesne mase, od metaboličkih faktora nađena je pozitivna korelacija između inzulina, leptina, T3 i povećanja tjelesne mase, te negativna korelacija između grelina i povećanja tjelesne mase (kg/godina).

Velika prospektivna populacijska studija „The Rancho Bernardo Study“ provedena je među starijom populacijom u kojoj je čest neželjen gubitak tjelesne mase i apetita. Langenberg i suradnici su istraživali da li u toj populaciji grelin utječe na promjene tjelesne mase. U istraživanju je na početku studije sudjelovalo 1317 osoba (60 - 91 godina) i 209 ljudi na zadnjem praćenju (srednje vrijeme praćenja 11,9 godina za najstariju grupu, 6,3 godine za najmlađu grupu, medijan praćenja 4,7 godina). I u ovom istraživanju su biokemijska mjerenja, uključujući hormon grelin, rađena samo na početku istraživanja. Pokazalo se da početni grelin nije povezan s promjenom tjelesne mase što upućuje na to da grelin ne predviđa buduću promjenu ITM više od utjecaja postojećeg stanja uhranjenosti (265).

Još su rjeđe longitudinalne studije u kojima su u fiziološkim uvjetima praćene promjene PYY kroz vrijeme i u kojima se ispitala uloga PYY u dugoročnoj energetske homeostazi. Guo i suradnici su proveli takvu prospektivnu studiju među odraslima u kojoj su ispitali povezanost PYY s promjenama u tjelesnoj masi i prvi pokazali da je PYY moguće uključen u dugoročnu regulaciju tjelesne mase. Njihova hipoteza je bila da su više bazalne i postprandijalne koncentracije povezane s manjim porastom u tjelesnoj masi, prvenstveno zbog anoreksigeničkog učinka PYY. Rezultati Guove studije su pokazali da je najviša vrijednost postprandijalnog PYY povezana s promjenama u tjelesnoj težini, no da unatoč tomu, bazalne koncentracije PYY nisu povezane s prirastom u težini nakon praćenja (154).

1.7. Svrha rada

Utvrđivanje povezanosti hormona sitosti i gladi sa stanjem uhranjenosti u dječjoj dobi i longitudinalno praćenje istih hormona što će omogućiti:

- bolje razumijevanje razlika u regulaciji sitosti i gladi u dječjoj dobi te posljedično razvoju pretilosti
- bolje razumijevanje individualnih razlika u patofiziologiji pretilosti
- prepoznavanje osoba pod rizikom za razvoj pretilosti i komorbiditeta, te kvalitetnije i učinkovitije zdravstveno odgojne mjere u prevenciji srčanožilnih bolesti

2. HIPOTEZA

- Koncentracija hormona grelina i PYY u krvi negativno korelira sa stanjem uhranjenosti u djece.
- Koncentracije grelina i PYY nakon godinu dana korelira s promjenom ITM (Δ ITM).
- Djeca s nižom koncentracijom u krvi ukupnog grelina i PYY su deblja i više će se udebljati kroz godinu dana od djece s normalnom ili višom koncentracijom istih hormona.

3. CILJEVI RADA

- I. Odrediti koncentracije hormona grelina i PYY u djece školske dobi.
- II. Odrediti odnos hormona grelina i PYY.
- III. Utvrditi postoji li povezanost koncentracije hormona s drugim antropološkim mjerama (tjelesna visina, opseg struka, opseg bokova, potkožno masno tkivo), razvojem puberteta te životnim navikama.
- IV. Utvrditi razlike po spolu.
- V. Utvrditi povezanost grelina i PYY s početnim stanjem uhranjenosti te s promjenama u tjelesnoj masi i uhranjenosti nakon godinu dana.
- VI. Istražiti može li početna koncentracija hormona grelina i PYY predvidjeti promjenu ITM.
- VII. Istražiti dovodi li promjena stupnja uhranjenosti do promjene koncentracije grelina i PYY.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

Randomizirani uzorak djece jednog godišta (godina rođenja 1994.) s područja preventivne skrbi Službe za školsku i sveučilišnu medicinu, odsjek Novi Zagreb - Siget. Randomizacija je provedena pomoću statističkog paketa SAS 9.0, tako da se uz podatak koliko je učenika u svakom razredu generirao redni broj učenika iz određenog razreda te su se podatci usporedili s imenikom. Uzorak je također stratificiran prema spolu.

Za odabir uzorka korišteni su podatci iz Službe za školsku i sveučilišnu medicinu, odsjek Novi Zagreb- Siget koja raspolaže preventivnim zdravstvenim kartonima sve djece koja pohađaju pripadajuće osnovne škole. U školskoj godini 2007/2008, u školama navedenog područja bilo je upisano ukupno 754 (377 muških i 377 ženskih) učenika rođenih 1994.godine. U pojedinim školama bio je sljedeći broj djece rođenih 1994. godine : OŠ Savski Gaj - 136 učenika, OŠ Odra - 31 učenik, OŠ Stjepan Benceković - 14 učenika, OŠ Ivo Andrić - 70 učenika, OŠ Većeslav Holjevac - 64 učenika, OŠ Trnsko - 86 učenika, OŠ Klara - 68 učenika, OŠ Brezovica - 115 učenika, OŠ Lučko - 102 učenika, OŠ Braće Radić - 68 učenika.

Potrebni broj ispitanika, njih 83, određen je s ciljem određivanja vrijednosti grelina i PYY unutar 20% od vrijednosti očekivanih temeljem odgovarajućih literaturnih podataka (10, 12, 40, 41, 136, 138, 139) te željenu razinu značajnosti od 5% prema niže navedenoj formuli.

$$N = \frac{(z_{1-\alpha/2})^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

N je broj ispitanika, z je z vrijednost uz alfa=5%, d je 20% te je sigma standardna devijacija iz dosadašnjih ispitivanja.

4.2. Metode

Istraživanje je obuhvaćalo liječnički pregled, vađenje krvi za određivanje koncentracije hormona grelina i PYY i upitnik za roditelje i djecu.

Pregled je obavio liječnik školske medicine i obuhvaćao je antropološka mjerenja: tjelesnu visinu, tjelesnu masu, opseg struka, opseg bokova, debljinu kožnog nabora tricepsa, debljinu subskapularnog kožnog nabora i utvrđivanje stadija puberteta. Pregled je proveden u prostoru ambulante školske medicine, poštujući privatnost djeteta. Visina djeteta je mjerena na zidnom stadiometru, a masa na baždarenoj digitalnoj vazi (Secca tip 710, broj 907212). Visina i tjelesna masa su mjerene u tri uzastopna mjerenja, na najbližu vrijednost od 0.1 cm, odnosno 100 grama, a srednja vrijednost od tri mjerenja je uzeta za analizu. Ispitanicu su bili odjeveni u donje rublje i u čarapama. Stanje uhranjenosti djeteta je utvrđeno prema SZO i IOTF percentilnim krivuljama ITM-a specifičnim za dob i spol. SZO centilne krivulje ITM-e za djecu u dobi od 5 do 19 godine koriste parametre standardne devijacije kojima se povećana tjelesna masa definira kao +1 SD (ekvivalent za ITM=25.4kg/m² s 19 godina za dječake i ITM=25.0kg/m² s 19 godina za djevojke) a debljina kao +2 SD (ekvivalent ITM=30kg/m² s 19 godina za oba spola) (181). IOTF referentne vrijednosti kreirane su prema vrijednostima ITM za povećanu tjelesnu masu i debljinu kod odraslih u dobi od 18 godina (179).

Opseg struka i bokova su mjereni mjernom trakom na najbližu vrijednost od 0.1 cm, uzastopno tri puta te je srednja vrijednost uzeta za analizu. Opseg struka je mjereno na sredini između najnižeg rebra i cresta iliače, na kraju normalnog ekspirija u stojećem položaju ispitanika. Opseg bokova je mjereno na najširem dijelu bokova ispitanika.

Mjerenje debljine kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora je provedeno kaliperom (Holtain Skinfold Caliper, Holtain Ltd, UK), uzastopno tri puta, na najbližu vrijednost od 0.2 mm, a za analizu je uzeta srednja vrijednost od tri mjerenja.

Stadij razvoja puberteta određen je prema Tanner i Marshal klasifikaciji. Dječacima je mjeran volumen testisa prema Prader orhidometru (266-268), a djevojčice su dale iskaz o prvoj menstruaciji.

Roditelji i djeca su ispunili upitnik od nekoliko skupina pitanja; pitanja vezana za obiteljsku anamnezu rizika za srčanožilne bolesti, pitanja o prehranbenim navikama djeteta, pitanja o tjelesnoj aktivnosti i sjedalačkom ponašanju djeteta te dnevnik prehrane djeteta. Pitanja su bila s ponuđenim odgovorima ili su zahtijevala upisivanje traženih podataka. Dijete je dobilo pismene upute o vođenju dnevnika prehrane, koje je vodilo kroz tri dana, dva dana tokom radnog tjedna i jedan dan za vikend. Nakon što je ispunio dnevnik prehrane, vratio ga je u školsku ambulantu. Upitnik je u drugoj fazi istraživanja imao dodatno pitanje: „Je li se nešto značajno promijenilo u tvom načinu prehrane ili tjelesnoj aktivnosti kroz prošlu godinu? 1.da 2.ne. Ako DA, navedi što:“ Sva djeca su pristupila vađenju krvi koje je obavljeno u prostorima ambulante za školsku i sveučilišnu medicinu. Prema protokolu i preporukama istraživača (269, 270), vađenje krvi se obavilo ujutro natašte. Djeca su dobila usmenu i pismenu uputu da dan prije istraživanja nakon večere više ne jedu te da ujutro dođu na tašte prije konzumacije hrane i pića. Krv je vađena iz kubitalne vene, volumen 5,0 ml u prethodno ohlađene epruvete. Uzorci krvi su se držali na ledu do obavljanja centrifuge (4°C), nakon čega je serum bio zaleđen (na - 60°C) i pohranjen bez odleđivanja do obavljanja analize. Na toj temperaturi bez ciklusa odleđivanje i ponovnog zaleđivanje hormoni su se pokazali stabilni i nekoliko godina. Za određivanje koncentracije grelina i koncentracije PYY koristili su se komercijalni RIA testovi. Za određivanje ukupnog humanog grelina korišten je RIA test Phoenix Pharmaceuticals, Belmont, CA. Za određivanje ukupnog humanog PYY korišten je RIA test Linco Research, St. Charles, MO (danas Millipore, Billerica MA).

4.3. Dizajn istraživanja

Istraživanje je provedeno kao prospektivna studija s vremenom praćenja od jedne godine.

Istraživanje je uključivalo dva mjerenja: inicijalno mjerenje (2007. godina) i mjerenje nakon godinu dana (2008. godina). Prilikom oba mjerenja koristile su se istovjetne metode. U periodu između dva mjerenja nije bila provedena nikakva intervencija.

Istraživanje je proveo tim školske medicine Službe za školsku i sveučilišnu medicinu Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar u školskoj ambulanti Službe za školsku i sveučilišnu medicinu, odjel Novi Zagreb – Siget. Analiza hormona se obavila u Zavodu za kliničku biokemiju KBC Zagreb (Wizard 1470, Wallat).

Roditelji su pismeno i usmenu obavješteni o načinu i svrsi istraživanja, dokumentom o obavješćivanju potencijalnog ispitanika te dokumentom o informiranom pristanku. Ispitanici i njihovi roditelji su detaljno usmeno i pismeno informirani o istraživanju te su pismeno potvrdili dobrovoljno sudjelovanje. Dobili su dokument o suglasnosti obaviještenog ispitanika, u kojem su upoznati sa svrhom istraživanja, procesom istraživanja, koristi od novih otkrića, opisom pretraga te mogućim rizicima i neugodnostima prilikom istraživanja, prvenstveno za vrijeme vađenja krvi. Također su bili upoznati s povjerljivošću podataka i dobrovoljnim sudjelovanjem te mogućnošću prestanka sudjelovanja u istraživanju u bilo kojem trenutku.

Učenici su pozvani da jedno jutro u pratnji roditelja dođu u školsku ambulantu na tašte, gdje se provodilo istraživanje. Roditelji i djeca su zajedno ispunili upitnik koji nije bio anonimn te su ga potpisanog predali medicinskoj sestri. Upitnik je uložen u preventivni zdravstveni karton svakog djeteta kako bi se podatci mogli koristiti za obradu zajedno s ostalim podacima iz kartona i medicinske dokumentacije (opći podaci djeteta i roditelja, datum rođenja, porodna masa i dužina itd.). Nakon ispunjavanja upitnika dijete je pristupilo liječničkom pregledu i vađenju krvi te je nakon toga bilo pušteno kući sa zahvalom na sudjelovanju i podsjetnikom na ponovno ispitivanje za godinu dana.

Godinu dana nakon inicijalnog istraživanja sva djeca i roditelji bili su ponovno pozvani na završno istovjetno istraživanje u kojem je ponovno obavljeno anketiranje, liječnički pregled i vađenje krvi.

4.4. Statistička analiza

Provedena je deskriptivna analiza podataka.

Distribucije kvantitativnih varijabli su testirane na normalnost raspodjele Kolmogorov-Smirnovljevim testom i Shapiro-Wilk testom, a homogenost varijance Lidmanovim testom. Razlike među grupama ispitala su se, ovisno o prirodi podataka, parametrijskim (t-test, ANOVA) odnosno neparametrijskim testovima (Mann-Whitney ili Kruskal-Wallis).

Ovisno o prirodi podataka, povezanost i smjer povezanosti između ITM i grelina i PYY na početku istraživanja i za godinu dana, ispitala su se Pearsonovim koeficijentom korelacije (parametrijski test), odnosno Spermanovim testom korelacije ranga (neparametrijski test).

Postojanje razlike u učestalosti pojedinih nezavisnih stanja i/ili pojava istražile su se χ^2 testom i po potrebi Fisherovim egzaktnim testom.

Za analizu odnosa između promjena ITM (z-skora) i koncentracije grelina i PYY koristila se linearna regresijska analiza.

Statistički značajnom smatraju se vrijednosti empirijske razine značajnosti p od 0.05 ($p < 0.05$).

U analizi podataka bio je korišten programski paket SAS 9.0.

4.5. Etička načela

U provođenju istraživanja poštovala su se sva načela etičnosti, uz odobrenje etičke komisije za provođenje istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar. Istraživanje se provelo uz informirani pristanak roditelja/skrbnika djeteta. Ispitanici su dobrovoljno sudjelovali u istraživanju te su mogli prekinuti sudjelovanje u bilo kojem trenutku istraživanja.

5. REZULTATI

5.1. Deskripcija glavnih varijabli u prvom mjerenju (T1)

Broj djece koji je sudjelovao u istraživanju je prikazan u Tablici 1. U istraživanju je u prvom mjerenju (T1) sudjelovalo 100 djece (56 djevojčica i 44 dječaka). Drugom mjerenju (T2) nakon godine dana odazvalo se 83 djece (45 djevojčica i 38 dječaka), a odustalo je 11 djevojčica i 6 dječaka. Nema značajne razlike u razini grelina ($t = 1.54$, $p = 0.127$), PYY ($t = -0.26$, $p = 0.789$), uhranjenosti ($t = 0.36$, $p = 0.717$) i spolu (hi-kvadrat = 0.630, $ss = 1$, $p = 0.427$) između ispitanika koji su sudjelovali u oba mjerenja i završili istraživanje i onih koji nisu završili istraživanje.

Tablica 1. Broj ispitanika

Ispitanici	Prvo mjerenje (T1)	Drugo mjerenje (T2)
Djevojčice N (%)	56 (56)	45 (54,2)
Dječaci N (%)	44 (44)	38 (45,8)
Ukupno	100	83

Dob ispitanika u prvom i drugom mjerenju prikazana je u Tablici 2. Srednja dob ispitanika na početku istraživanja je 13,3 godina ($M = 13,3 \pm 0,33$, medijan = 13,3).

Tablica 2. Dob ispitanika

Točka mjerenja	Dob ispitanika					
	Prosjek	SD	Medijan	Minimum	Maksimum	Raspon
T1 (godine)	13,34	0,326	13,37	12,73	14,07	1,34
T2 (godine)	14,44	0,285	14,46	13,84	14,96	1,12

Uhranjenost ispitanika prema kriterijima IOTF-a i SZO-a prikazana je u Tablici 3 i Tablici 4.

Prema kriterijima IOTF-a, 6% ispitanika je pothranjeno, 75% je normalne tjelesne mase i 19% je prekomjerne tjelesne mase (15% povećane tjelesne mase i 4% debelo). Prema kriterijima SZO-a, jedno dijete je pothranjeno, 76% djece je normalne tjelesne mase i 23% prekomjerne tjelesne mase (19% povećane tjelesne mase i 4% debelo) Prema IOTF-u manje djece je prekomjerne tjelesne mase, a više pothranjene u odnosu prema kriterijima SZO-a, no zbog prevelikog broja ćelija koje imaju frekvenciju 0, nisu bili zadovoljeni uvjeti za računanje χ^2 testa i značajnosti razlika.

Tablica 3. Uhranjenost ispitanika po spolu prema IOTF-u

Ispitanici	Uhranjenost				Ukupno
	Pothranjena	Normalna	Povećana tjelesna težina	Debljina	
Djevojčice N (%)	2 (3,6)	43 (76,8)	9 (16,1)	2 (3,6)	56
Dječaci N (%)	4 (9,1)	32 (72,7)	6 (13,6)	2 (4,6)	44
Ukupno	6	75	15	4	100

Tablica 4. Uhranjenost ispitanika po spolu prema SZO-u

Ispitanici	Uhranjenost				Ukupno
	Pothranjena	Normalna	Povećana tjelesna težina	Debljina	
Djevojčice N (%)	1 (1,7)	42 (75)	11 (19,6)	2 (3,5)	56
Dječaci N (%)	0	34 (77,2)	8 (18,1)	2 (4,5)	44
Ukupno	1	76	19	4	100

Pubertetski razvoj ispitanika prema Tanneru je prikazan u Tablici 5. Postoji značajna razlika u razvoju puberteta između dječaka i djevojčica ($\chi^2 = 22.09$, $p = 0.0001$). Najveći broj djevojčica (87,4%) je u stadiju puberteta III i IV po Tanneru, dok je najveći broj dječaka u stadiju II i III po Tanneru (66,1%).

Tablica 5. Stadij pubertetskog razvoja ispitanika prema Tanneru

Ispitanici	Stadij puberteta po Tanneru				
	I	II	III	IV	V
Djevojčice N (%)	1 (1,8)	2 (3,6)	17 (30,4)	32 (57,1)	4 (7,1)
Dječaci N (%)	4 (9)	13 (29,6)	16 (36,7)	10 (22,7)	1 (2,3)
Ukupno	5	15	33	42	5

Koncentracije hormona grelina i PYY i antropometrijska mjerenja ispitanika (zbirni prikaz djevojčice i dječaci) prikazana su u Tablici 6. Debljina subskapularnog kožnog nabora jedino odstupa od normalne distribucije. U Tablici 7. prikazana su antropometrijska mjerenja i koncentracije hormona grelina i PYY zasebno za dječake i djevojčice.

Tablica 6. Biokemijska i antropometrijska mjerenja svih ispitanika u prvom mjerenju

Varijabla	Aritmetiča sredina	SD	Minimum	Maksimum	Kolmogorov-Smirnovljevi Z	P
Grelin (pg/ml)	1038,10	263,51	484,90	1730,00	0,57	0,894
PYY (pg/ml)	102,01	28,82	60,10	231,00	1,14	0,144
ITM (kg/m ²)	19,90	3,40	13,76	33,33	1,30	0,067
ITM Z-SCORE	0,20	1,08	-3,07	3,12	0,54	0,930
Visina (cm)	163,20	7,96	144,00	183,50	0,51	0,957
Masa (kg)	53,31	11,26	30,30	97,70	0,66	0,772
Opseg struka (cm)	69,63	7,90	54,10	102,40	1,21	0,105
Opseg bokova (cm)	87,99	8,91	68,40	115,10	0,73	0,661
Nabor tricepsa (mm)	16,93	7,40	6,50	41,10	1,13	0,155
Subskapularni nabor (mm)	13,69	7,75	5,50	38,50	1,71	0,006
Porodajna masa (g)	3408,04	540,29	2170,00	4500,00	0,77	0,599

Tablica 7. Biokemijska i antropometrijska mjerenja u prvom mjerenju prema spolu

Varijabla	Dječaci		Djevojčice	
	Aritmetička sredina	SD	Aritmetička sredina	SD
Grelin (pg/ml)	1047,92	274,02	1029,77	259,65
PYY (pg/ml)	99,32	22,96	104,16	32,81
ITM (kg/m ²)	19,42	3,46	20,27	3,34
ITM Z-SCORE	0,16	1,14	0,24	1,04
Visina (cm)	163,32	9,70	163,11	6,36
Masa (kg)	52,19	12,29	54,18	10,42
Opseg struka (cm)	70,03	8,79	69,32	7,19
Opseg bokova (cm)	84,71	8,11	90,57	8,73
Nabor tricepsa (mm)	14,23	7,41	19,06	6,72
Subskapularni nabor (mm)	11,44	8,02	15,46	7,11
Porodajna masa (g)	3476,43	599,02	3355,82	490,00

Koncentracije hormona grelina i PYY prikazane su u Tablici 8.

Hormon grelin: srednja vrijednost (pg/ml) \pm sd = 1038,10 \pm 263,5, medijan = 1011,05. Nema razlike između dječaka i djevojčica ($t = -0.32$, $ss = 96$, $p = 0,746$) u razini grelina.

Hormon PYY: srednja vrijednost (pg/ml) \pm sd = 102,01 \pm 28,8, medijan = 97,1. Nema razlike između dječaka i djevojčica (Mann-Whitney $U = 1140,0$, $p = 0,622$) u razini PYY.

Tablica 8. Koncentracije hormona grelina i PYY u prvom mjerenju

Hormon	Aritmetička sredina	Medijan	Minimum	Maksimum	SD
Grelin (pg/ml)	1038,1	1011,05	484,9	1730	263,51
PYY (pg/ml)	102,01	97,10	60,1	231	28,82

5.2. Korelacije i regresijske analize biokemijskih i antropometrijskih mjerenja

Povezanost hormona grelina i PYY

Nema povezanosti između hormona grelina i PYY u početnoj točki mjerenja ($r = -0,04$, $p = 0,725$). Regresijskom analizom nije utvrđena povezanost na način da koncentracija grelina u početnoj točki mjerenja predviđa PYY nakon godinu dana praćenja ($R = 0,031$; $\text{Adj. } R^2 = 0,012$; $p = 0,780$), niti je objašnjen statistički značajan dio varijance promjene u PYY (T1-T2) na temelju početne koncentracije PYY ($R = 0,048$; $\text{Adj. } R^2 = 0,010$; $p = 0,669$). Također, nije utvrđena povezanost na način da koncentracija PYY u početnoj točki predviđa grelin nakon godinu dana praćenja ($R = 0,028$; $\text{Adj. } R^2 = 0,001$; $p = 0,800$).

Povezanost hormona grelina i PYY s antropometrijskim mjerenjima, porođajnom masom, razvojem puberteta te životnim navikama.

Povezanost koncentracije grelina s antropometrijskim mjerenjima, porođajnom masom i pubertetom prikazana je u Tablici 9. U tablici su prikazani rezultati analize među svim ispitanicima (djevojke i dječaci zbirno) u početnom mjerenju. Koncentracija grelina statistički značajno negativno korelira s tjelesnom masom ($r = -0,27$; $p = 0,007$), opsegom struka ($r = -0,27$; $p = 0,006$), opsegom bokova ($r = -0,23$; $p = 0,021$), kožnim naborom tricepsa ($r = -0,29$; $p = 0,003$) i kožnim subskapularnim naborom ($r = -0,25$; $p = 0,012$), a ne korelira s tjelesnom visinom ($r = -0,12$; $p = 0,222$). Što je veća tjelesna masa, opseg struka, opseg bokova, debljina kožnog nabora tricepsa i debljina kožnog subskapularnog nabora, to je manja koncentracija grelina.

Koncentracija grelina nije povezana s porođajnom masom ($r = -0,02$; $p = 0,876$).

Koncentracija grelina je značajno negativno povezana sa stadijem puberteta ($r = -0,25$; $p = 0,012$). Što je veći stadij razvoja puberteta to je manja koncentracija grelina.

Tablica 9. Povezanost koncentracije grelina s antropometrijskim mjerenjima, porođajnom masom i pubertetom u početnom vremenu

Varijabla	Koeficijent korelacije	P
Tjelesna masa	-0,27	0,007
Tjelesna visina	-0,12	0,222
Opseg struka	-0,27	0,006
Opseg bokova	-0,23	0,021
Kožni nabor tricepsa	-0,29	0,003
Subskapularni kožni nabor	-0,25	0,012
Porodajna masa	-0,02	0,876
Stadij puberteta	-0,25	0,012

Povezanost koncentracije grelina sa životnim navikama prikazana je u Tablici 10.

Životne navike ispitane su upitnikom (u prilogu), serijom pitanja poput: „*Koliko komada voća je JUČER pojelo Vaše dijete?*“, S ponuđenim odgovorima: *niti jedan, jedan do dva, tri do četiri, pet ili više puta.*“ Analizom je ispitano postoji li razlika u prosječnoj razini hormona između podskupina djece koji su odgovorili s npr. *a, b, c ili d* na pitanja o životnim navikama.

Koncentracija grelina ne korelira niti sa jednom životnom navikom.

Tablica 10. Povezanost koncentracije grelina sa životnim navikama

Varijabla	Test	P
Broj obroka	$F_{(4,96)}=0,55$	0,647
Doručak	K-W $\chi^2=1,99$	0,369
Voće	$F_{(3,88)}=1,61$	0,193
Povrće	$F_{(2,88)}=0,43$	0,655
Brza hrana	$F_{(3,88)}=0,37$	0,755
Crveno meso	$F_{(2,88)}=1,03$	0,362
Riba	$F_{(1,88)}=0,30$	0,583
Slatkiši	$F_{(3,88)}=0,30$	0,823
Slane grickalice	$F_{(1,88)}=0,56$	0,639
Zaslađena pića	$F_{(3,88)}=0,06$	0,981
Treniranje u sportskom klubu	$F_{(1,88)}=0,30$	0,587
Tjedni trening	$F_{(3,57)}=0,60$	0,616
Rekreativna sportska aktivnost	$F_{(2,88)}=0,38$	0,687
TV ili računalne igrice	$F_{(3,88)}=0,69$	0,563

Povezanost koncentracije PYY s antropometrijskim mjerenjima prikazana je u Tablici 11. Koncentracija hormona PYY ne korelira niti s jednom antropometrijskom mjerom, za sve $p > 0,05$.

Koncentracija PYY ne korelira s porođajnom masom ($r = - 0,02$; $p = 0,822$), niti sa stadijem puberteta ($r = - 0,05$; $p = 0,640$).

Tablica 11. Povezanost koncentracije PYY s antropometrijskim mjerenjima

Varijabla	Koeficijent korelacije	p
Tjelesna visina	-0,20	0,847
Tjelesna masa	-0,04	0,689
Opseg struka	-0,04	0,678
Opseg bokova	-0,06	0,574
Kožni nabor tricepsa	-0,02	0,862
Subskapularni kožni nabor	-0,08	0,425
Porodajna masa	-0,02	0,822
Stadij puberteta	0,05	0,640

Povezanost koncentracije PYY sa životnim navikama prikazana je u Tablici 12. Statistički je značajna povezanost PYY sa tjelesnom aktivnošću, pri čemu je veća prosječna razina PYY što je učestalije bavljenje nekom sportskom aktivnošću ($p = 0,04$); (anketno pitanje: *Koliko puta tjedno se baviš nekom sportskom aktivnošću više od 30 min, šetnja, vožnja biciklom, rolanje, trčanje, igranje vani?*). Kod onih koji treniraju neki sport nađena je značajna povezanost PYY sa učestalošću treninga; oni koji treniraju 4 i više puta tjedno imaju veću razinu PYY od onih koji treniraju jednom tjedno ($p = 0,026$).

Tablica 12. Povezanost koncentracije PYY sa životnim navikama

Varijabla	Test	P
Broj obroka	$F_{(3,90)}=1,23$	0.305
Doručak	$F_{(2,90)}=0,35$	0.705
Voće	$F_{(3,90)}=0,45$	0.715
Povrće	$F_{(2,90)}=0,71$	0.496
Brza hrana	$F_{(3,90)}=2,31$	0.082
Crveno meso	$F_{(2,90)}=2,28$	0.108
Riba	$F_{(2,90)}=0,39$	0.536
Slatkiši	$F_{(3,90)}=0,15$	0.930
Slane grickalice	$F_{(1,90)}=0,66$	0.557
Zaslađena pića	$F_{(3,90)}=0,82$	0.404
Treniranje u sportskom klubu	$F_{(1,90)}=0,70$	0.405
Tjedni trening	$F_{(3,58)}=3,32$	0.026
Rekreativna sportska aktivnost	K-W $\chi^2=1,99$	0.040
TV ili računalne igrice	$F_{(1,90)}=0,66$	0.578

Povezanost hormona grelina i PYY s uhranjenošću

Koncentracija grelina prema stupnju uhranjenosti prema IOTF-u prikazana je u Tablici 13, a prema SZO u Tablici 14. Koncentracija grelina je povezana s uhranjenošću prema oba kriterija, prema ITOF kriteriju ($F_{(3,93)} = 3,17$; $p = 0,027$) i SZO kriteriju ($F_{(2,98)} = 84,88$, $p < 0,001$). Prosječna koncentracija grelina niža je u skupini povećane tjelesne mase i debelih u odnosu na normalno uhranjenu djecu. Koncentracija grelina je negativno povezana s ITM z skorom ($r = -0,25$; $p = 0,011$), što znači da su niže koncentracije grelina u djece s većim ITM z skorom.

Tablica 13. Koncentracija grelina prema stupnju uhranjenosti prema IOTF-u

Stupanj uhranjenosti prema IOTF-u	Grelin (pg/ml)					ITM zscore prosjek
	Aritmetička sredina	SD	Standardna Pogreška	-95% CI	+95% CI	
Pothranjeno	1195,70	324,5	132,4	855,1	1536,3	-1,59
Normalno	1059,48	267,5	31,3	997,1	1121,9	-,03
Povećana tjelesna masa	934,19	172,8	46,1	834,4	1033,9	1,56
Debljina	768,23	116,8	58,4	582,3	954,1	2,68

Tablica 14. Koncentracija grelina prema stupnju uhranjenosti prema SZO

Stupanj uhranjenosti prema SZO	Grelin (pg/ml)					ITM zscore prosjek
	Aritmetička sredina	SD	Standardna pogreška	-95% CI	+95% CI	
Normalno	1066,07	278,2	32,3	1001,6	1130,5	-,20
Povećana tjelesna masa	971,36	184,5	43,5	879,6	1063,1	1,47
Debljina	768,22	116,8	58,4	582,3	954,1	2,68

*jedan ispitanik je prema kriterijima SZO u kategoriji pothranjenih, ali obzirom da nije bilo moguće računati prosjeke i raditi daljnje analize s tim ispitanikom kao zasebnom podskupinom, izuzet je iz prikaza i definiran kao nedostajuća vrijednost

Koncentracija PYY prema stupnju uhranjenosti prema IOTF-u prikazana je u Tablici 15., a prema SZO u Tablici 14. Koncentracija PYY nije povezana s uhranjenošću, niti prema IOTF kriteriju (Kruskal Wallis $\chi^2 = 6,95$; $p = 0,073$), niti prema SZO kriteriju ($F_{(2,97)} = 2,24$; $p = 0,112$). Dakle skupine djece prema uhranjenosti međusobno se ne razlikuju statistički značajno u prosječnoj razini koncentracije PYY.

Također nema povezanosti PYY i ITM z scora ($r = -0,02$; $p = 0,786$).

Tablica 15. Koncentracija PYY prema stupnju uhranjenosti prema IOTF-u

Uhranjenost prema ITOF-u	PYY (pg/ml)					ITM zscore Prosjek
	Prosjek	Minimum	Maksimum	25% percentila	75% percentila	
Pothranjeno	103,0	61,6	116,0	81,3	104,0	-1,59
Normalno	97,1	60,1	231,0	87,2	116,0	-,038
Povećana tjelesna masa	98,7	64,8	197,0	86,3	128,0	1,56
Debljina	72,6	61,8	84,8	64,1	81,7	2,68

Tablica 16. Koncentracija PYY prema stupnju uhranjenosti prema SZO

Uhranjenost prema SZO	PYY (pg/ml)					ITM zscore Prosjeck
	Prosječna vrijednost	SD	Standardna pogreška	-95% CI	+95% CI	
Normalno	102,4	27,8	3,2	96,0	108,8	-0,20
Povećana tjelesna masa	105,8	33,2	7,6	89,8	121,8	1,47
Debljina	72,9	10,6	5,3	56,0	89,8	2,68

*jedan ispitanik je prema kriterijima SZO u kategoriji pothranjenih, ali obzirom da nije bilo moguće računati prosjeke i raditi daljnje analize s tim ispitanikom kao zasebnom podskupinom, izuzet je iz prikaza i definiran kao nedostajuća vrijednost

5.3. Prospektivne analize nakon vremena praćenja od jedne godine

Promjene koncentracija hormona grelina i PYY nakon godinu dana

U Tablicama 17 i 18 prikazane su prosječne vrijednosti praćenih varijabli grelina i PYY u dvije točke mjerenja, T1 i T2, u razmaku od godinu dana, s ciljem provjere statističke značajnosti razlika u dvije točke mjerenja. T-testovi za zavisne uzorke kojima se provjerava statistička značajnost u analizu uzimaju samo one ispitanike koji imaju izmjerene vrijednosti u obje točke mjerenja (zbog osipanja ispitanika, manji je ukupni uzorak, odnosno N=83). Sve prospektivne analize su rađene na broju ispitanika od 83 (koji su sudjelovali u oba mjerenja).

Gledajući promjenu svake varijable u drugom mjerenju u odnosu na početno, (korišten je t-test za zavisne uzorke), nakon praćenja dolazi do statistički značajnog smanjenja grelina (T = 4,68; p < 0,001). Nakon praćenja nema značajne promjene u razini PYY (T = 1,18; p = 0,239).

Tablica 17. Promjena koncentracije grelina

Točka mjerenja	Grelin (pg/ml)		
	Aritmetička sredina	SD	Standardna pogreška aritmetičke sredine
T1	1056,75	272,2	30,2
T2	901,87	331,4	36,8

Tablica 18. Promjena koncentracije PYY

Točka mjerenja	PYY (pg/ml)		
	Aritmetička sredina	SD	Standardna pogreška aritmetičke sredine
T1	101,65	29,7	3,3
T2	97,46	23,5	2,6

Promjene uhranjenosti ispitanika nakon godine dana

Promjene uhranjenosti ispitanika prema IOTF kriteriju, SZO kriteriju i promjena ITM zscora prikazane su u Tablicama 19, 20 i 21. Nakon godine dana nije došlo do značajne promjene u uhranjenosti djece niti prema IOTF kriteriju ($p = 0,250$), niti prema ITM zscoru prema SZO kriterijima ($p = 0,514$), niti je došlo do značajne promjene ITM zscora ($p = 0,514$)

Tablica 19. Promjena uhranjenosti ispitanika prema ITOF-u

Uhranjenost prema ITOF	Točka mjerenja							
	T1				T2			
	dječaci		djevojčice		dječaci		djevojčice	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Pothranjeni	2	5	2	4	1	3	1	2
Normalni	28	74	35	78	29	76	37	82
Povećana tj. masa	6	16	6	13	6	16	6	13
Debeli	2	5	2	4	2	5	1	2
Ukupno	38	100	45	100	38	100	45	100

Tablica 20. Promjena uhranjenosti ispitanika prema SZO

Uhranjenost prema SZO	Točka mjerenja							
	T1				T2			
	dječaci		djevojčice		dječaci		djevojčice	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Pothranjeni	0	0	1	2	0	0	1	2
Normalni	28	74	34	76	29	76	36	80
Povećana tj. masa	8	21	8	18	7	18	7	16
Debeli	2	5	2	4	2	5	1	2
Ukupno	38	100	45	100	38	100	45	100

Tablica 21. Promjena ITM z-scora

Točka mjerenja	ITM z-score			
	N	Aritmetička sredina	SD	Std. pogreška aritm. sredine
T1	83	0,22	1,1	0,1
T2	83	0,19	1,0	0,1

Promjene u antropometrijskim mjerama nakon godine dana

Promjene u antropometrijskim parametrima prikazane su u Tablici 22. Nakon godine dana praćenja, kod ispitanika je došlo do značajnog povećanja tjelesne visine, tjelesne mase, opsega struka i opsega bokova te do značajnog smanjenja debljine kožnog nabora tricepsa. Nije došlo do značajne promjene u debljini subskapularnog kožnog nabora.

Tablica 22. Promjene antropometrijskih mjerenja

Antropometrijska mjerenja	T1 (M+/- SD)	T2 (M+/- SD)	t/Z/ χ^2	P
Visina (cm)	163,2 ± 7,9	167,8 ± 7,9	-12,85	0,001
Masa (kg)	53,3 ± 11,2	58,3 ± 11,5	7,32	<0,001
Opseg struka (cm)	69,6 ± 7,8	71,3 ± 7,8	4,07	<0,001
Opseg bokova (cm)	87,9 ± 8,9	90,6 ± 7,9	6,03	<0,001
Nabor tricepsa (mm)	16,9 ± 7,3	15,7 ± 7,3	3,53	0,001
Subskapularni nabor (mm)	13,6 ± 7,7	13,5 ± 7,3	0,69	0,484

Promjena pubertetskog razvoja nakon godine dana

Nakon godine dana došlo je do značajne promjene u razvoju puberteta ispitanika ($p < 0,001$), značajan broj djece je napredovao u pubertetskom razvoju i prešli su u viši stadij puberteta (Tablica 23). Statistički je značajna povezanost veličine promjene puberteta i spola; veća promjena u pubertetskom razvoju nastala je kod dječaka ($\chi^2 = 14,76$; $p < 0,001$). Više dječaka doživljava promjenu puberteta za 2 stadija razvoja po Tanneru i manje ih je bez promjene u pubertetskom razvoju nakon godine dana (Tablica 24).

Tablica 23. Razvoj puberteta u prvom i drugom mjerenju

Vrijabla		Stadij puberteta po Tanneru u drugom mjerenju (T2)				Ukupno
		II	III	IV	V	
Stadij puberteta po Tanneru u prvom mjerenju (T1)	I	4	0	0	0	4
	II	1	3	9	0	13
	III	0	1	27	0	28
	IV	0	0	16	18	34
	V	0	0	0	4	4
Ukupno		5	4	52	22	83

Tablica 24. Veličina promjene stadija puberteta prema spolu

Spol	Nema promjene (0)	Promjena za jedan stadij po Tanneru (1)	Promjena za dva stadija po Tanneru (2)
Djevojčice N (%)	19 (42,2)	25 (55,6)	1 (2,2)
Dječaci N (%)	4 (10,5)	26 (68,4)	8 (21,1)
Ukupno	23	51	9

5.4. Analiza utjecaja pojedinih parametara na promjenu koncentracije grelina

Kako se pokazalo da nakon praćenja od godine dana kod ispitanika nije došlo do statistički značajne promjene u koncentraciji hormona PYY, u daljnjoj obradi analizirao se utjecaj promatranih parametara na promjenu grelina s ciljem pronalaženja faktora koji najviše utječu na promjenu grelina.

Prvo su napravljene univarijatne analize, a zatim analize varijance s ponovljenim mjerenjima koje su izbor za longitudinalan nacrt istraživanja jer uzimaju u obzir tzv. "within" varijancu, odnosno da se radi o istim ispitanicima u dvije točke vremena.

Tablica 25 prikazuje koeficijente korelacije početnih antropometrijskih mjerenja i varijable „promjena grelina“ (tj. razlika grelina T1-T2), pri čemu pozitivne vrijednosti znače da je došlo do smanjenja grelina u T2 u odnosu na T1, a negativne vrijednosti znače da je došlo do porasta grelina u T2. Obzirom da u dvije točke mjerenja dolazi do značajnog sniženja grelina, kako je prethodno prikazano, promjena grelina u pravilu je smanjenje grelina.

Promjena grelina je statistički značajno povezana s tjelesnom visinom, tjelesnom težinom, opsegom bokova i debljinom subskapularnog kožnog nabora u početnom mjerenju. Radi se o slabij negativnoj povezanosti (-0,25 do -0,36), što znači da do manje promjene (manjeg smanjenja) grelina dolazi kod djece koja su u početnom mjerenju imala veće vrijednosti tjelesne visine, tjelesne mase, opsega bokova i debljine subskapularnog kožnog nabora. Što je veća početna tjelesna visina, tjelesna masa, opseg bokova i debljina kožnog nabora to je manja promjena grelina nakon godine dana.

Tablica 25. Korelacija promjene koncentracije grelina i početnih antropometrijskih mjerenja

Varijabla	Koeficijent korelacije	P
ITM zscore	-0,03	0,798
Tjelesna visina (cm)	-0,36	0,001
Tjelesna masa (kg)	-0,25	0,025
Opseg struka (cm)	-0,11	0,311
Opseg bokova (cm)	-0,29	0,009
Kožni nabor tricepsa (mm)	-0,18	0,102
Subskapularni nabor (mm)	-0,26	0,015

Zatim je učinjena multivarijatna regresijska analiza u kojoj je Zavisna Varijabla (ZV) promjena grelina, a Nezavisne Varijable (NV) početna mjerenja gore navedenih varijabli. Pokazalo se da nijedna varijabla nije statistički značajna na način da samostalno objašnjava promjenu grelina, već je objašnjen statistički značajan dio varijance promjene grelina ukupnim modelom ($R^2 = 0,283$; $F = 3,544$; $p = 0,002$).

Obzirom da ovaj gore navedeni model, u kojem su nezavisne varijable početne antropometrijske varijable, ne pokazuje samostalni doprinos niti jednog od tih prediktora, izračunata je dodatna analiza gdje su kao potencijalni prediktori uključene promjene antropometrijskih mjerenja (T2-T1 za svaku varijablu). U Tablici 26 prikazane su korelacije promjene grelina i promjena antropometrijskih mjerenja. Promjena grelina je značajno povezana s promjenom ITM zscora, promjenom tjelesne mase, promjenom tj. visine, promjenom opsega struka i promjenom debljine subskapularnog kožnog nabora. Korelacije su niske do umjerene i pozitivnog smjera, što znači da

kod djece kod koje je došlo do veće promjene antropometrijskih vrijednosti dolazi i do veće promjene koncentracije grelina.

Tablica 26. Korelacija promjene koncentracije grelina i promjena antropometrijskih mjerenja

Promjena varijable (T2-T1)	Koeficijent korelacije	P
ITM z score	0,35	0,001
Tjelesna visina (cm)	0,44	0,000
Tjelesna masa (kg)	0,49	0,000
Opseg struka (cm)	0,33	0,003
Opseg bokova (cm)	0,26	0,021
Kožni nabor tricepsa (mm)	0,09	0,402
Subskapularni nabor (mm)	0,17	0,130

Multivarijatna regresijska analiza promjene grelina na temelju promjene antropometrijskih vrijednosti između dvije točke mjerenja prikazana je u Tablici 27. U ovom modelu multivarijatne regresijske analize, zavisna varijabla je promjena grelina kroz vrijeme, a nezavisne varijable su promjene antropometrijskih parametara. Značajni prediktori promjene grelina su promjena ITM zskora, promjena visine i promjena opsega bokova ($R = 0,614$; $R^2 = 0,376$; Adjusted $R^2 = 0,317$; $F = 6,297$; $p < 0,001$) koji zajedno objašnjavaju 38% varijance kriterija. Najveći doprinos objašnjenju promjene grelina ima promjena tjelesne visine, zatim promjena opsega bokova pa promjena ITM z skora.

Tablica 27. Regresijska analiza promjene grelina i promjene antropometrijskih mjerenja.

Varijabla	Beta	t	P
Δ ITM z score	0,43	2,51	0,014
Δ visina	0,57	4,77	0,000
Δ masa	-0,17	-1,68	0,098
Δ opseg struka	0,14	1,03	0,308
Δ opseg bokova	-0,51	-3,22	0,002
Δ nabor tricepsa	0,16	1,28	0,205
Δ subskapularni nabor	0,03	0,21	0,837

Δ = delta, promjena varijable između dvije točke mjerenja

Odnos između dobi i promjene grelina pokazuje da dob predviđa promjenu koncentracije grelina na način da je vjerojatnije da netko mlađe dobi ima veći pad grelina i nižu koncentraciju grelina na kraju praćenja ($r = -0,30$ i $p = 0,008$).

Kad se u multivarijatnu regresijsku analizu kao potencijalni prediktor uključi i spol i dob i promjena stadija puberteta, vidljivo je da model objašnjava značajan dio varijance promjene grelina ($R = 0,662$; $R^2 = 0,438$; Adjusted $R^2 = 0,358$; $F = 6,297$; $p < 0,001$) te da ostaju statistički značajni i dalje prethodno utvrđeni prediktori (promjena ITM zscorea, promjena visine i promjena opsega bokova), ali se i dob izdvaja svojim samostalnim doprinosom objašnjenju promjene grelina (mlađi ispitanici na početku istraživanja imaju veću promjenu grelina). Analiza je prikazana u Tablici 28.

Tablica 28. Regresijska analiza promjene grelina i promjene antropometrijskih mjerenja, uključujući promjenu puberteta, spol i dob.

Varijabla	Beta	t	P
Δ ITM z score	0,59	3,29	0,002
Δ visina	0,48	2,75	0,008
Δ masa	-0,16	-1,57	0,120
Δ opseg struka	0,12	0,89	0,372
Δ opseg bokova	-0,61	-3,84	0,000
Δ nabor tricepsa	0,18	1,46	0,148
Δ subskapularni nabor	-0,05	-0,39	0,697
Spol	-0,13	-0,98	0,357
Dob T1	-0,28	-2,64	0,010
Δ puberteta	-0,09	-0,74	0,465

Δ = delta, promjena varijable između dvije točke mjerenja

Promjena grelina u odnosu na pubertetski razvoj u početnom vremenu

Prosječne vrijednosti grelina u vremenu T1 i T2 obzirom na stadij puberteta u T1, uz kontrolu utjecaja spola prikazane su u Tablici 29 i Slici 1.

Tablica 29. Prosječne vrijednosti grelina obzirom na stadij puberteta u početnom mjerenju (T1)

Stadij puberteta u vremenu T1 (po Tanneru)	Grelina (pg/ml)	Prosjek	Std.pogreška	-95%CI	+95%CI	Δgrelina
Tanner I	T1	1129,6	133,7	863,2	1396,0	-400.1
	T2	729,5	165,1	400,5	1058,4	
Tanner II	T1	1263,3	77,7	1108,4	1418,2	-277.1
	T2	986,2	95,9	794,9	1177,4	
Tanner III	T1	1048,4	50,1	948,6	1148,2	-137.1
	T2	911,3	61,8	788,,1	1034,6	
Tanner IV	T1	989,1	48,7	892,0	1086,1	-112.3
	T2	876,8	60,2	756,9	996,6	
Tanner V	T1	912,3	133,0	647,3	1177,3	22.4
	T2	934,7	164,2	607,5	1261,9	

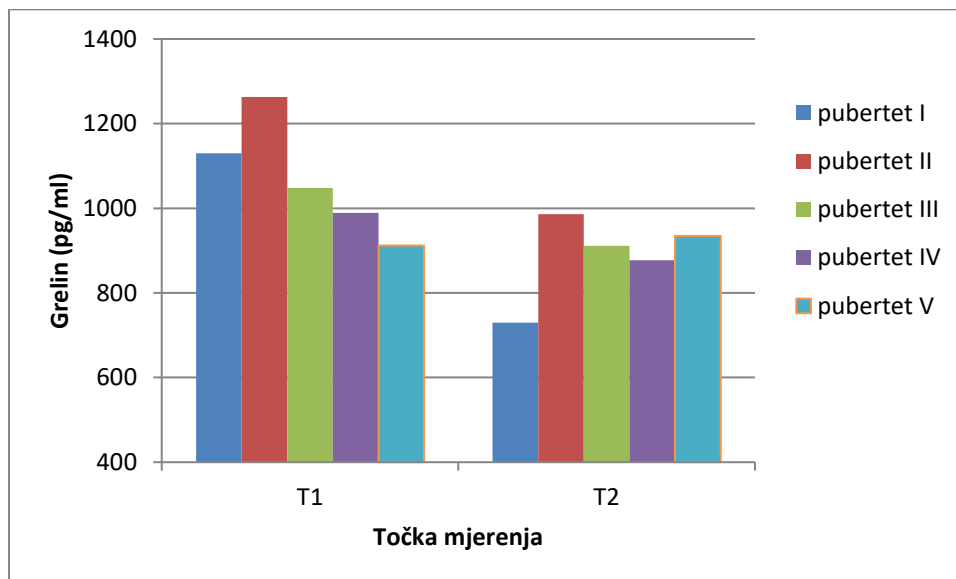
Δ = delta, promjena varijable između dvije točke mjerenja

Kako bi se provjerio utjecaj puberteta na promjenu grelina, izračunata je ANOVA s ponovljenim mjerenjem na jednom faktoru. Zavisna varijabla je grelin kao ponovljeno mjerenje, odnosno grelin kroz vrijeme, dakle u obje točke mjerenja u skladu s longitudinalnim nacrtom, a nezavisna varijabla je stadij puberteta. Pokazuje se da dolazi do statistički značajnog smanjenja grelina ($F_{(1,76)} = 17,219$; $p < 0,001$) u drugom mjerenju. Također je statistički značajna interakcija razine grelina kroz vrijeme sa stadijem puberteta na početku istraživanja ($F_{(4,76)} = 3,142$, $p = 0,019$). U stadijima puberteta Tanner I i II je najveći pad grelina između dva mjerenja. Najmanji pad

grelina je u stadiju Tanner IV, dok u stadiju Tanner V nije došlo do smanjenja grelina nakon godinu dana. Dakle, u nižim stadijima puberteta dolazi do veće promjene grelina kroz vrijeme.

Slika 1 pokazuje promjenu grelina kroz vrijeme u svakom stadiju puberteta po Tanneru (interakcija puberteta i grelina).

Slika 1. Prosječne vrijednosti grelina obzirom na stadij puberteta u početnom mjerenju (T1)



U Tablici 30 prikazana je interakcija grelina kroz vrijeme i veličine promjene puberteta. Analiza pokazuje da je značajna interakcija grelina kroz vrijeme i promjene puberteta koja je kod djece nastala nakon godine dana ($F_{(2,78)} = 4,102$; $p = 0,020$).

Postoji trend većeg pada grelina s većom promjenom puberteta, značajno je veći pad grelina kod onih ispitanika koji su napredovali u pubertetu u odnosu na one koji nisu promijenili stupanj puberteta ($N = 21$), kod njih nema značajne promjene grelina ($t = 0,93$; $p = 0,365$). Kod djece koja imaju najveći porast u razvoju puberteta (za dva stadija) postoji trend pada u promjeni razine grelina (1222,4 vs. 845,6) ali nije dostignuta razina statističke značajnosti, moguće zbog malog broja ispitanika ($N=9$).

Tablica 30. Interakcija grelina kroz vrijeme i veličina promjene stadija puberteta (0,1,2)

Promjena stadija puberteta	N	Grelin (pg/ml)			
		T1		T2	
		Aritmetička sredina	Standardna devijacija	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
Bez promjene (0)	21	1105,14	288,9	1055,16	343,9
Promjena za jedan stupanj (1)	51	1007,58	247,3	848,68	290,3
Promjena za dva stupnja (2)	9	1222,43	312,7	845,66	438,6
Ukupno	81	1056,75	272,3	901,87	331,4

Interakcija promjene grelina i veličine promjene stadija puberteta po spolu prikazana je u Tablici 31 i Slici 2. Analiza kovarijance (ANCOVA) učinjena je sa spolom kao kovarijantom kako bi se kontrolirao njegov utjecaj i dobio „čišći“ utjecaj stadija puberteta. Na ovaj način utvrđeno je kako i dalje postoji značajno smanjenje grelina ($F_{(1,75)} = 10,85$; $p = 0,002$), no stadij puberteta nije više značajan čimbenik ($F_{(1,76)} = 1,14$; $p = 0,346$), kao niti interakcija grelina sa stadijem puberteta ($F_{(4,75)} = 1,74$; $p = 0,151$). Radi se o tome da je pubertet značajno povezan sa spolom u početnom mjerenju: najveći broj djevojaka je u stadiju puberteta III i IV po Tanneru (87,4%), dok je najveći broj dječaka u stadiju II i III po Tanneru (66,1%); (hi kvadrat = 22,09; $p = 0,00019$). U drugom mjerenju nema značajne razlike u razvoju puberteta prema spolu, najveći broj djevojaka (93,3%) i dječaka (84,2%) je u stadiju puberteta IV i V prema Tanneru.

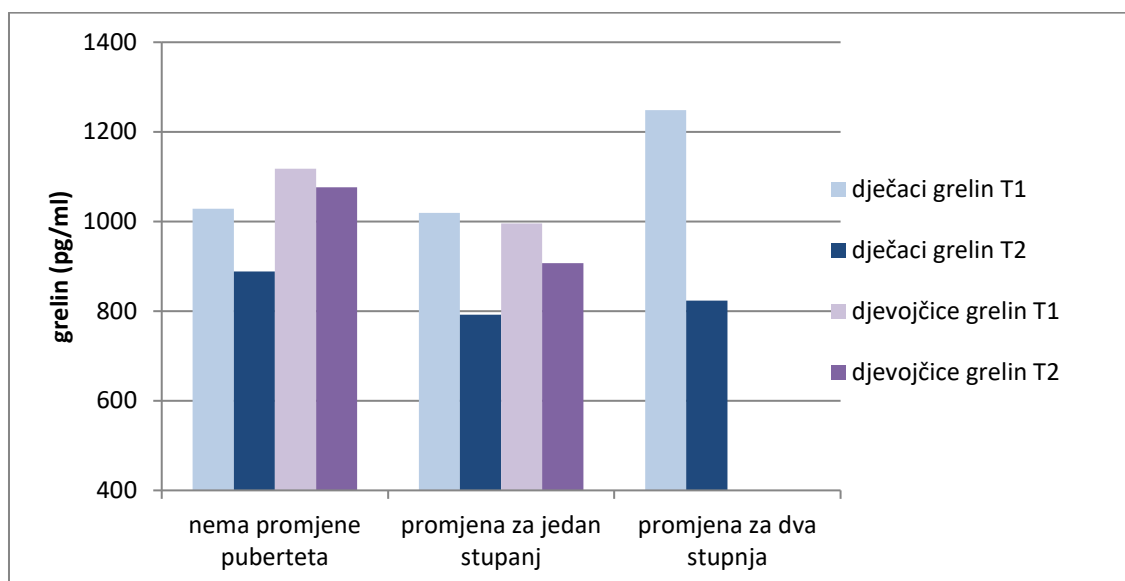
Tablica 31. Interakcija promjene grelina i veličina promjene stadija puberteta prema spolu.

Promjena stadija puberteta		Grelin (pg/ml)			
		dječaci		djevojčice	
		T1	T2	T1	T2
Bez promjene (0)	Prosjek	1028,63	888,23	1117,89	1076,22
	Standardna devijacija	313,66	383,31	292,29	330,08
	N	3	4	18	19
Promjena za jedan stupanj	Prosjek	1018,88	792,34	995,84	907,27
	Standardna devijacija	245,56	264,52	253,71	309,27
	N	26	26	25	25
Promjena za dva stupnja	Prosjek	1248,18	823,44		
	Standardna devijacija	323,97	463,51	.	.
	N	8	8	1*	1

*samo je jedna djevojčica s promjenom puberteta za 2 stupnja te nije prikazana analiza

Prosječne razine grelina u obje točke mjerenja, obzirom na spol i promjenu puberteta prikazane su na Slici 2. Kod dječaka je veći pad grelina ukupno u odnosu na djevojčice i to neovisno kolika je promjena stadija puberteta. Najviši početni grelin imaju dječaci s kasnijom najvećom promjenom puberteta, odnosno promjena puberteta je najveća kod onih s najvišim grelinom u početnom mjerenju. Kod djevojaka je ukupno manji pad grelina, no pad je također veći ukoliko je nastala promjena puberteta. Ali za razliku od dječaka početni grelin je veći kod djevojaka kod kojih nije došlo do promjene puberteta.

Slika 2. Prosječne razine grelina u obje točke mjerenja, obzirom na spol i promjenu puberteta



*samo je jedna djevojčica s promjenom puberteta za 2 stupnja te nije prikazana grafički

Interakcija grelina i uhranjenosti

Razine grelina u početnom i završnom vremenu obzirom na spol i uhranjenost prikazane su u Tablici 32 i na Slici 3. Rezultati trosmjernje analize varijance s ponovljenim mjerenjem na jednom faktoru, pri čemu su dva nezavisna faktora spol i uhranjenost, pokazuju da interakcija koncentracije grelina kroz vrijeme i spola nastavlja biti statistički značajna, ($F_{(3,77)} = 6,21$; $p = 0,015$). Stupanj uhranjenosti također utječe na koncentraciju grelina ($F_{(1,77)} = 6,55$; $p = 0,013$) na način da ispitanici povećane tjelesne mase i debeli (zbrojeni u jednu potkategoriju) imaju statistički značajno nižu početnu koncentraciju grelina u odnosu na pothranjene i normalno uhranjene (zbrojeni u jednu potkategoriju).

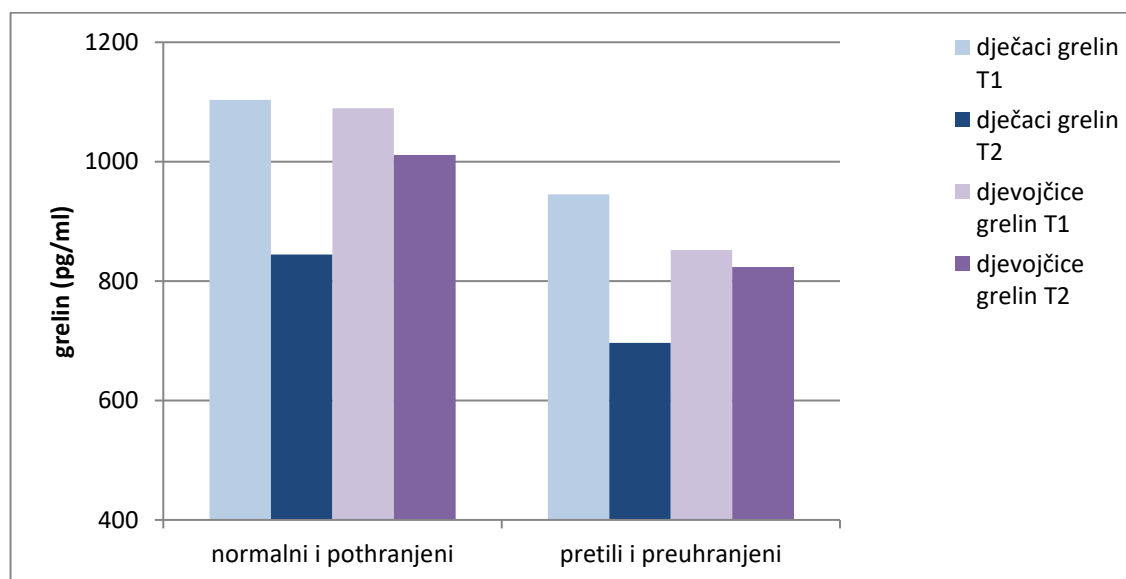
Sam spol opet nije značajan faktor ($F_{(1,77)} = 0,42$; $p = 0,517$), niti njegova interakcija s uhranjenošću ($F_{(1,77)} = 0,17$; $p = 0,679$), kao niti interakcija grelina sa uhranjenošću ($F_{(1,77)} = 0,14$; $p = 0,711$).

Zaključno, do pada koncentracije grelina dolazi i kod normalno uhranjenih/pothonjenih i kod povećane tjelesne mase/debelih, u oba slučaja pad je izraženiji kod dječaka u odnosu na djevojčice, s tim da je nešto manji pad kod debelih ($p = 0,013$).

Tablica 32. Prosječni grelin u T1 i T2 obzirom na spol i uhranjenost

Spol	Uhranjenost	Grelin	Aritmetička sredina (standardna greška)	-95,0%CI	+95,0%CI
Muški	Pothranjeni i normalni	T1	1103,4 (49,1)	1005,5	1201,3
		T2	844,6 (59,4)	726,3	962,8
	Povećana tjelesna masa i debljina	T1	945,3 (93,6)	758,9	1131,7
		T2	696,6 (113,1)	471,4	921,7
Ženski	Pothranjeni i normalni	T1	1089,4 (44,1)	1001,5	1177,2
		T2	1011,1 (53,3)	904,9	1117,2
	Povećana tjelesna masa i debljina	T1	852,1 (93,6)	665,7	1038,4
		T2	823,5 (113,1)	598,3	1048,6

Slika 3. Prosječni grelin u T1 i T2 obzirom na spol i uhranjenost



Razlike po spolu

Antropometrijska mjerenja u oba vremena kod dječaka i djevojčica prikazana su u Tablici 33.

Postoji značajna razlika po spolu u sljedećim varijablama: visina T2 je veća kod dječaka, dok je opseg bokova (oba mjerenja), debljina kožnog nabora tricepsa (oba mjerenja) te subskapularni nabor (T1) manji kod dječaka nego kod djevojčica.

Tablica 33. Razlike između dječaka i djevojčica u antropometrijskim mjerenjima

Varijabla	Djevojčice Aritmetička sredina (SD)	Dječaci Aritmetička sredina (SD)	t	df	p
Dob T1 (godine)	13,3 (0,3)	13,2 (0,31)	1,94	99	0,055
Dob T2 (godine)	14,4 (0,3)	14,3 (0,3)	1,65	81	0,103
Grelin T1 (pg/ml)	1029,77 (259,65)	1047,92 (274,02)	0,334	95	0,746
Grelin T2 (pg/ml)	976,97 (324,62)	812,58 (321,01)	-2,443	81	0.017
PYY T1 (pg/ml)	104,16 (32,81)	99,32 (22,96)	-0,829	95	0,622
PYY T2 (pg/ml)	100,19 (25,17)	94,3 (21,37)	-0,951	81	0,394
ITM T1 (kg/m ²)	20,2 (3,3)	19,4 (3,5)	1,25	98	0,214
ITM T2 (kg/m ²)	20,7 (3,2)	20,5 (3,6)	0,21	81	0,832
ITM zscore T1	0,24 (1,0)	0,15 (1,1)	0,38	98	0,706
ITM zscore T2	0,13 (0,9)	0,26 (1,1)	-0,55	81	0,578
Porodajna masa (g)	3355,8 (489,9)	3476,4 (599,0)	-1,09	95	0,278
Visina T1 (cm)	163,1 (6,4)	163,3 (9,7)	-0,13	98	0,900
Visina T2 (cm)	165,3 (6,2)	170,7 (8,9)	-3,23	81	0,002
Masa T1 (kg)	54,1 (10,4)	52,1 (12,3)	0,87	98	0,384
Masa T2 (kg)	56,7 (9,7)	60,3 (13,3)	-1,41	81	0,163
Opseg struka T1 (cm)	69,3 (7,2)	70,0 (8,8)	-0,44	98	0,659
Opseg struka T2 (cm)	70,1 (6,7)	72,8 (8,8)	-1,58	81	0,119
Opseg bokova T1 (cm)	90,5 (8,7)	84,7 (114,7)	3,44	98	0,001
Opseg bokova T2 (cm)	92,0 (7,7)	88,9 (117,5)	1,85	81	0,067

Triceps nabor T1 (mmm)	19,0 (6,7)	14,2 (7,4)	3,41	98	0,001
Triceps nabor T2 (mm)	18,6 (6,0)	12,3 (7,4)	4,27	81	0,000
Subskapularni nabor T1 (mm)	15,4 (7,1)	11,4 (8,0)	2,65	98	0,009
Subskapularni nabor T2 (mm)	14,8 (6,2)	12,01 (8,3)	1,76	81	0,082

Promjene u antropometrijskim mjerenjima nakon godina dana po spolu prikazane su u Tablici 34. Kod djevojčica je nakon godine dana došlo je do značajne promjene u tjelesnoj visini, tjelesnoj masi i opsegu bokova (sve $p < 0,001$). Kod dječaka je došlo do značajne promjene u tjelesnoj visini, tjelesnoj masi, opsegu struka, opsegu bokova, i debljini kožnog nabora tricepsa (sve $p < 0,001$). Promjene su značajno veće kod dječaka (vrijednosti p prikazane u tablici).

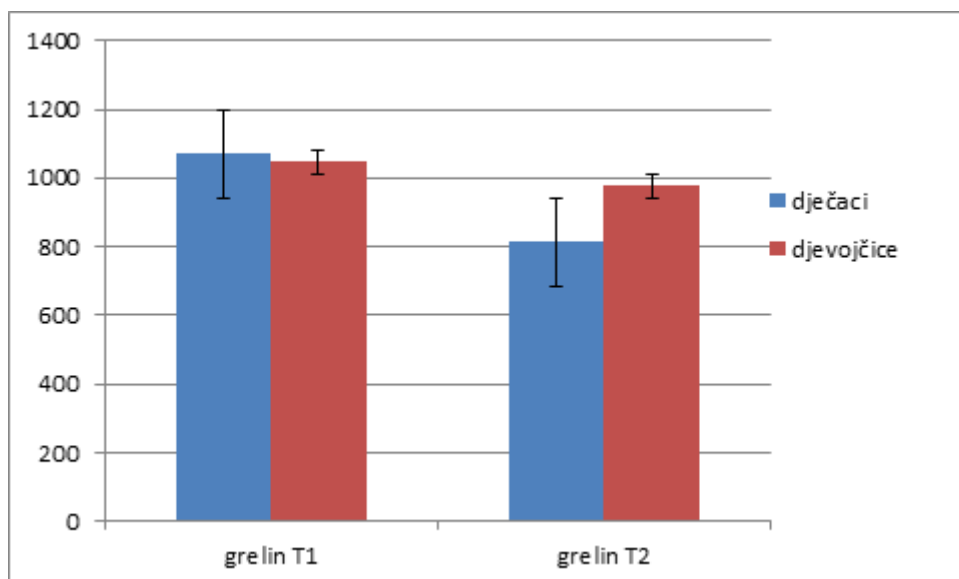
Tablica 34. Razlika između dječaka i djevojčica u promjeni antropometrijskih mjera nakon godine dana

Promjena	Djevojčice Aritmetička sredina (SD)	Dječaci Aritmetička sredina (SD)	t	df	p
Δ ITM zscore	-0,04 (0,41)	-0,01 (0,3)	-0,35	81	0,728
Δ Visina (cm)	2,6 (2,1)	7,5 (2,7)	-9,27	81	0,000
Δ Masa (kg)	3,07 (3,5)	7,3 (3,1)	-5,77	81	0,000
Δ Opseg struka (cm)	0,4 (3,1)	2,1 (2,4)	-2,08	81	0,040
Δ Opseg bokova (cm)	1,9 (3,8)	3,6 (8,9)	-2,32	81	0,023
Δ Triceps nabor (mm)	-0,3 (2,4)	-1,8 (2,7)	2,47	81	0,016
Δ Subskapularni nabor (mm)	-0,7 (2,7)	-0,08 (2,4)	-1,15	81	0,252

Δ = delta, promjena varijable između dvije točke mjerenja

Razlika između dječaka i djevojčica u razini grelina prikazana je na Slici 4. Spolne razlike u koncentraciji grelina obzirom na točku mjerenja ispitane su dvosmjernom analizom varijance s ponovljenim mjerenjem na jednom faktoru. ANOVA pokazuje statistički značajnu promjenu u razini koncentracije grelina kroz period praćenja ($F_{(1,79)} = 26,41$; $p < 0,001$), a također pokazuje i interakciju spola i koncentracije hormona praćene kroz vrijeme ($F_{(1,79)} = 8,73$; $p = 0,004$), što znači da u početnom mjerenju nema razlike između dječaka i djevojčica, dok godinu dana kasnije dječaci imaju statistički značajno manju prosječnu koncentraciju grelina. Vrijednosti grelina značajno opadaju nakon godine dana u oba spola (oba $p < 0,05$), ali kod dječaka statistički značajno više opadaju nego kod djevojčica. Sam spol nije statistički značajan faktor ($F_{(1,79)} = 1,447$; $p = 0,233$) što znači da se prosječne razine grelina ne razlikuju statistički značajno po spolu u jednoj točki mjerenja. Također kad se promatraju promjene grelina kroz vrijeme, vidljivo je da se promjena odvija na sličan način kod oba spola (dolazi do pada grelina). Međutim utvrđeno je da nakon vremena praćenja postoji veći pad prosječne razine grelina kod dječaka.

Slika 4. Razlika između dječaka i djevojčica u razini grelina



Spolne razlike u koncentraciji PYY obzirom na točku mjerenja ispitane su dvosmjernom analizom varijance s ponovljenim mjerenjem na jednom faktoru. Nije pronađen statistički značajan utjecaj niti jednog faktora: PYY se ne smanjuje s vremenom ($F_{(1,80)} = 1,33$; $p = 0,252$), spol nema značajan glavni efekt ($F_{(1,80)} = 2,15$; $p = 0,146$), niti je značajna interakcija dvaju faktora ($F_{(1,80)} = 0,09$; $p = 0,769$).

Dječaci i djevojčice se međusobno ne razlikuju u koncentraciji PYY niti se koncentracija PYY u drugom mjerenju mijenja različito obzirom na spol.

Razlike između dječaka i djevojčica prema pubertetskom razvoju

Na početku istraživanja postoji statistički značajna razlika u razvoju pubertetu prema spolu: najveći broj djevojaka je u stadiju puberteta III i IV po Tanneru (87,4%), dok je najveći broj dječaka u stadiju II i III po Tanneru (66,1%); ($\chi^2 = 22,09$; $p = 0,00019$). Nakon godine dana nema statistički značajne razlike u razvoju puberteta između djevojaka i mladića ($\chi^2 = 2,64$; $p = 0,449$).

Promjena u razvoju puberteta nakon godine dana je prikazana u Tablici 35. Kod 72,2% djece je došlo do promjene u pubertetskom razvoju. Promjena puberteta je značajnija kod dječaka nego kod djevojčica; kod 89,4% dječaka je došlo do promjene u razvoju puberteta, a kod djevojčica u 57,7% slučajeva ($\chi^2 = 14,76$; $p = 0,0006$).

Tablica 35. Veličina promjene stadija puberteta prema spolu

Ispitanici	Bez promjene (0)	Promjena za jedan stupanj (1)	Promjena za dva stupnja (2)
Ženski N (%)	19 (42,2)	25 (55,6)	1 (2,2)
Muški N (%)	4 (10,5)	26 (68,4)	8 (21,1)
Ukupno	23	51	9

Razlike između dječaka i djevojčica prema uhranjenosti

Nema razlike u uhranjenosti prema IOTF-u između dječaka i djevojčica na početku istraživanja ($\chi^2 = 1,46$; $p = 0,691$), nakon praćenja ($\chi^2 = 2,73$; $p = 0,604$), niti u promjeni u stupnju uhranjenosti nakon godine dana ($\chi^2 = 1,74$; $p = 0,419$).

Povezanost grelina i PYY s početnim stanjem uhranjenosti te s promjenama u tjelesnoj težini i uhranjenosti nakon godinu dana

Koncentracija hormona grelina u krvi negativno korelira sa stanjem uhranjenosti ($r = -0,29$; $p = 0,004$) i s ITM zscorem ($r = -0,25$; $p = 0,012$). Djeca prekomjerne tjelesne mase, odnosno višeg ITM zscora, imaju niže razine grelina u krvi.

Koncentracija hormona PYY ne korelira sa stanjem uhranjenosti ($p = 0,645$) niti s ITM zscorem ($p = 0,598$).

Inicijalne koncentracije grelin i PYY nisu povezane s promjenom uhranjenosti (Δ ITM zscore), ($p = 0,371$; $p = 0,169$), niti s promjenom tjelesne mase (Δ kg) ($p = 0,589$; $p = 0,632$) nakon godine dana.

Svi navedeni koeficijenti korelacije i značajnosti navedene su u Tablici 36.

Tablica 36. Korelacije početnih vrijednosti hormona grelina i PYY sa stanjem uhranjenosti, ITM zscorem na početku i s promjenama nakon godine dana (u tablici prikazane *r* i *p* vrijednosti)

Varijabla		PYY T1	Grelin T1	Promjena uhranjenosti	Δ ITM zscora	Δ težina	uhranjenost T1	ITM zscore T1
PYY T1	P	1,00	0,08	-0,12	0,08	0,05	-0,05	-0,05
	r		0,458	0,292	0,463	0,633	0,645	0,598
Grelin T1	P	0,08	1,00	0,05	0,10	0,06	-0,29	-0,25
	r	0,458		0,643	0,354	0,590	0,004	0,012
Promjena uhranjenosti	P	-0,12	0,05	1,00	0,03	-0,19	-0,01	-0,02
	r	0,292	0,643		0,809	0,080	0,924	0,857
Δ ITM zscora	P	0,08	0,10	0,03	1,00	0,74	-0,21	-0,48
	r	0,463	0,354	0,809		0,000	0,054	0,000
Δ težine	P	0,05	0,06	-0,19	0,74	1,00	-0,08	-0,19
	r	0,633	0,590	0,080	0,000		0,439	0,075
uhranjenost T1	P	-0,05	-0,29	-0,01	-0,21	-0,08	1,00	0,76
	r	0,645	0,004	0,924	0,054	0,439		0,000
ITM z score T1	P	-0,05	-0,25	-0,02	-0,48	-0,19	0,76	1,00
	r	0,598	0,012	0,857	0,000	0,075	0,000	

Predviđa li početna koncentracija hormona grelina i PYY promjenu uhranjenosti?

U regresijskoj analizi u kojoj je zavisna varijabla promjena ITM zscora, a nezavisne varijable početna mjerenja grelina i PYY, pokazalo se da niti jedan hormon ne predviđa samostalno promjenu u ITM z scoru ($R = 0,183$; $R^2 = 0,034$; $p = 0,264$).

U modelu u kojem je zavisna varijabla ITM zscore T2, pokazalo se da je grelin značajan prediktor za budući ITM zscore (T2) ($R = 0,306$; $R^2 = 0,093$; $p = 0,07$), ali objašnjava samostalno 9% varijance zavisne varijable.

Dovodi li promjena stupnja uhranjenosti do promjene koncentracije grelina i PYY?

Promjena stupnja uhranjenosti dovodi do promjene koncentracije grelina. Ta povezanost je statistički granično značajna ($p = 0,055$). Razlog što se nije pokazala statistička značajnost je mali broj djece ($N=4$) kod kojih se promijenio stupanj uhranjenosti nakon godine dana praćenja. Dvoje djece je smanjilo stupanj uhranjenosti, dvoje djece je povećalo stupanj uhranjenosti, dok je kod većine djece stupanj uhranjenosti ostao isti pa se ne može detaljnije analizirati postoje li razlike u promjeni koncentracije grelina između onih kod kojih je došlo i kod kojih nije došlo do značajnog porasta ITM. Multivarijatna analiza (Tablica 27) je pokazala da je promjena ITM zskora značajan prediktor promjene grelina.

6. RASPRAVA:

Ovo prospektivno istraživanje je provedeno u fiziološkim uvjetima među djecom u dobi od 13-14 godina s vremenom praćenja od jedne godine. Rezultati su pokazali da kod djece nakon jedne godine dolazi do značajnog pada u razini ukupnog grelina, a da ne dolazi do značajne promjene u razini ukupnog PYY hormona. Istraživanje je također pokazalo da razina grelina negativno korelira s ITM z skorom i da je niža kod djece prekomjerne tjelesne mase, no da nema povezanosti između razine PYY i uhranjenosti.

Negativna korelacija grelina i ITM-a je u skladu s rezultatima većine ostalih istraživanja koja su pokazala da je koncentracija grelina natašte niža kod djece prekomjerne tjelesne mase u odnosu na djecu normalne tjelesne mase (42, 43, 71, 150, 218). Nenalaženje povezanosti PYY i uhranjenosti je također u skladu s većinom drugih istraživanja, ali ne sa svima, jer istraživanja koja su provedena da bi se ispitaio odnos PYY i uhranjenosti nisu dala tako jednoznačne rezultate kao istraživanja grelina i uhranjenosti. Najveći broj studija pokazuje sličnu razinu PYY u debelih i normalno uhranjenih osoba (37, 150, 165, 221, 222, 262, 271), dok samo mali broj istraživača nalazi negativnu korelaciju PYY i ITM-a i niže razine PYY u debljini (138). Lomenick i suradnici su u svom istraživanju među 32 djece (7-11 godina) našli pozitivnu korelaciju PYY i tj. mase, ITM-a, ITM z skora, odnosno više razine PYY kod prekomjerne tj.mase. Moguće objašnjenje je da povezanost PYY i uhranjenosti postaje značajna tek u starijoj dobi gdje istraživanja pokazuju negativnu korelaciju PYY i debljine, stoga su potrebna daljnja istraživanja među dječjom populacijom za razjašnjavanja diskrepancije u ovim rezultatima i utvrđivanja uloge PYY u debljini.

Različiti su rezultati istraživanja povezanosti grelina i PYY s dobi, spolom, pubertetom, tjelesnom visinom, tjelesnom težinom i ostalim antropometrijskim mjerenjima.

Ovo istraživanje je pokazalo značajnu negativnu povezanost grelina i tjelesne mase, opsega struka, opsega bokova, debljine kožnog nabora tricepsa i debljine subskapularnog kožnog

nabora, dok nije nađena povezanost hormona PYY niti s jednim antropometrijskim mjerenjem. Prema tome, hipoteza ovog rada da koncentracija hormona grelina i PYY u krvi negativno korelira sa stanjem uhranjenosti u djece se potvrđuje za hormon grelin, dok se ne potvrđuje za hormon PYY.

I druga istraživanja su pokazala negativnu korelaciju grelina s tjelesnom masom (43, 150, 272), tjelesnom visinom (240, 242, 263) opsegom struka, opsegom bokova i postotkom masnog tkiva (272). Negativnu korelaciju grelina i tjelesne visine prvi je našao Bunt u istraživanju među djecom u dobi od 10 godina i pretpostavio da se radi o negativnoj povratnoj sprezi grelina i hormona rasta, odnosno da je niži grelin posljedica više razine hormona rasta kod više djece, što je i za očekivati kod djece koja ulaze u pubertet. Ovo istraživanje nije pokazalo korelaciju grelina s tjelesnom visinom, ukazujući da grelin ne stimulira direktno rast u visinu što potvrđuju i drugi istraživači (43, 150, 241, 272). Razlog može biti veća dob djece u ovom istraživanju (srednja dob 13,3 godine) jer je negativna povezanost grelina i tjelesne visine opisana kod mlađe djece (10 godina) što je i u skladu s činjenicom da se razina hormona rasta povećava kako djeca ulaze u pubertet (273). Velike varijacije u brzini rasta tijekom različitih stadija puberteta mogle bi objasniti zašto su neke korelacije značajne, a neke ne. Pomerants je u svom istraživanju među 60 dječaka normalne tjelesne mase (dob 10-18 godina) našao povezanost grelina i tjelesne visine samo kod dječaka u stadiju puberteta II i III prema Tanneru, ali ne i u stadijima I, IV i V. Nakon provedene multivarijatne regresijske analize pokazao je da su tjelesna visina, među antropometrijskim parametrima, i testosteron, među biokemijskim parametrima, glavni prediktori koncentracije grelina kod dječaka različitog stadija puberteta (242).

Ovaj rad nije pokazao razlike u razini PYY između dječaka i djevojčica što je u skladu s rezultatima drugih istraživanja među djecom slične dobi (39, 218, 221). Za razliku od toga, rezultati analize ovisnosti razine grelina o spolu razlikuju se u početnom i završnom mjerenju. U inicijalnom mjerenju, u kojemu je srednja dob ispitanika 13,3 godine, postoje značajne razlike u

razvoju puberteta između dječaka i djevojčica. U toj dobi je više dječaka u nižim stadijima puberteta u odnosu na djevojčice, no istovremeno u toj dobi nema razlike u razini grelina između dječaka i djevojčica. U drugom mjerenju nakon godine dana (srednja dob 14,4 godine) više dječaka je napredovalo u pubertetskom razvoju i dostiglo djevojčice u pubertetskom razvoju te više ne nalazimo razlike u razvoju puberteta između dječaka i djevojčica. No upravo u toj starijoj dobi, kada više nemamo razlike u pubertetu između dječaka i djevojčica, nalazimo značajne razlike u razini grelina između djevojčica i dječaka, odnosno niže razine grelina kod dječaka. Razloge nalazimo u tome što je, u ovoj dobi u kojoj su ispitanici praćeni, bilo znatno više dječaka u nižim stadijima puberteta i znatno više ih je napredovalo u pubertetskom razvoju kroz godinu dana od djevojčica. Tijekom jedne godine praćenja djece te dobi (13,3 godina) više dječaka je prolazilo kroz promjene u pubertetu, a jedna od tih promjena u tom razdoblju je i veći pad grelina kod dječaka, pa tako u završnom mjerenju nalazimo statistički značajno niži grelin kod dječaka nego kod djevojčica. Na osnovu tih rezultata možemo zaključiti da je upravo skok u pubertetskom razvoju moguće doveo do značajnog pada grelina. Bellone je u svojoj studiji kod još mlađe djece ($9,0 \pm 2,7$ godina) pokazao da nije bilo razlike u razini grelina po spolu (38). Isti autori su u drugom istraživanju među 140 djece šireg raspona dobi (srednja dob $9,7 \pm 4,1$ godina) iznova pokazali da nema razlike u razini grelina između dječaka i djevojčica, no potvrdili su da je grelin niži kod debljine i kod onih u pubertetu u odnosu na normalno uhranjenu i predpubertetsku djecu (240).

Prethodna istraživanja među djecom i adolescentima u fiziološkim uvjetima, u kojima se istraživao grelin u odnosu na stadij puberteta djece, su sva presječna i ne razjašnjavaju u potpunosti fiziološke interakcije između spolnih hormona i grelina u pubertetskom razvoju. Neka istraživanja pokazuju da grelin negativno korelira i s testosteronom i s estrogenom te da razina grelina pada i kod dječaka i kod djevojčica (241, 274).

Prema dostupnim podacima, naše istraživanje je prvo prospektivno istraživanje provedeno u fiziološkim uvjetima na randomiziranom uzorku djece iste godine rođenja u kojem smo ispitivali razinu hormona na početku istraživanja i nakon praćenja od godine dana, s ciljem da se ispituju promjene razina hormona grelina i PYY u istoj populaciji. Obzirom da se pokazalo se da je koncentracija grelina negativno povezana sa stadijem puberteta ($r = -0,25$; $p = 0,012$) odnosno da je koncentracija grelina manja što je stadij puberteta veći, rezultati upućuju na značajnu ulogu grelina u razvoju puberteta. Dodatno smo analizirali utjecaj puberteta na prospektivnu promjenu grelina nakon godine dana te se pokazalo da je značajna interakcija razine grelina kroz vrijeme sa stadijem puberteta; kako se povećava stadij puberteta, tako su niže koncentracije grelina. To je u skladu s ostalim rezultatima presječnih istraživanja među djecom koja su također pokazala da grelin pada s dobi i razvojem puberteta, odnosno da je viši u predpubertetu nego u kasnijim stadijima puberteta (240, 243, 261, 274). Analizirajući promjene po spolu, pokazalo se da su promjene grelina puno veće kod muškog spola odnosno da je pad grelina u pubertetu više naglašen kod dječaka. Park sa suradnicima i Jurimea sa suradnicima su na temelju svojih presječnih istraživanja zaključili da kod djevojaka ne dolazi do pada grelina u pubertetu te da, za razliku od mladića, kod njih razina grelina ostaje relativno konstantna za vrijeme puberteta (53, 195).

Obzirom da je vrijeme praćenja u ovom istraživanju godina dana, kod većine djece je došlo do značajnih promjena u razvoju puberteta, odnosno 72,2% ispitanika je prešlo u viši stadij puberteta. Stoga je analizirana i magnituda promjene pubertetskog razvoja (veličina promjene puberteta u stadijima po Tanneru: 0 = nema promjene puberteta, 1 = promjena puberteta za 2 stadij, ili 2 = promjena puberteta za dva stadija). Kod određenog broja djece, većinom djevojaka, nije došlo do promjene puberteta i ta su djeca i nakon godinu dana ostala u istom stadiju pubertetskog razvoja, dok je kod druge djece došlo do napredovanja za jedan, odnosno dva stadija pubertetskog razvoja po Tanneru. Postoji trend većeg pada grelina s većom promjenom

puberteta. Značajno je veći pad grelina kod djece koja su napredovala u pubertetskom razvoju od onih koji nakon godinu dana praćenja nisu promijenili stupanj puberteta (N= 21); kod njih nema značajne promjene grelina nakon godine dana (1105,1 vs. 1055,1; $t = 0,93$; $p = 0,365$). Kod djece koja su u ovom istraživanju imala najveći porast u razvoju puberteta kroz godinu dana (za dva stadija po Tanneru) također postoji trend pada u promjeni razine grelina (1222,4 vs. 845,6) ali razina značajnosti nije statistički dostignuta, što možemo razjasniti malim brojem tih ispitanika (N=9).

Bellone je proveo istraživanje među 140 djece srednje dobi 9,7 godina u kojoj je također našao da grelin ovisi o dobi te je, grupirajući ispitanike prema pubertetu u dvije grupe, našao da je grelin viši u predpubertetu nego u pubertetu, neovisno o spolu (240). Presječna studija provedena među djecom u ranom pubertetu (Tanner I i Tanner II) je također pokazala da je grelin viši u stadiju puberteta Tanner I (275).

Pomerantes i suradnici su proveli istraživanje među 60 zdravih dječaka normalne tjelesne mase u dobi od 10-18 godina koje su prema razvoju puberteta podijelili u 3 grupe: Grupa 1 (Tanner I), Grupa 2 (Tanner II i III) i Grupa 3 (Tanner IV i V). Cilj istraživanja bio je ispitati povezanost grelina i antropometrijskih mjera te hormona leptina, testosterona i inzulina. Nađeno je da razvojem puberteta grelin značajno pada, a testosteron raste, dok se leptin i inzulin značajno ne mijenjaju. U tom su istraživanju prvi pokazali direktnu povezanost između grelina i testosterona, s jedne strane porast spolnih hormona, a s druge strane pad grelina kod dječaka te zaključili da negativna korelacija između grelina i testosterona upućuje na to da je grelin najviše pod utjecajem testosterona i da ima ulogu u pubertetskom razvoju kod dječaka (242). Njihovi rezultati su pokazali da je u grupi najvišeg pubertetskog razvoja (Grupa 3 = Tanner IV i V) grelin 40% niži nego u predpubertetskoj grupi, što je u skladu s još nekim istraživanjima koja su pokazala pad grelina od 30-50% tijekom puberteta (217, 241, 271).

Slično istraživanje proveo je i Jurimae među 60 normalno uhranjenih mladića u dobi od 10-18 godina, podijeljeni prema istom načelu u tri grupe pubertetskog razvoja. Rezultati su pokazali da je grelin niži u grupama 2 i 3 u odnosu na grupu 1, dok između grupa 2 i 3 nije bilo razlike u koncentraciji grelina (276).

Kako bi ispitao da li je pad grelina u pubertetu uzrokovan porastom spolnih hormona, Lebenthal je proveo istraživanje među 34 djece niskog rasta (visina ≤ 10 centila) u predpubertetu (dob 8 - 12,5 godina) kojoj je kratkotrajno (2, odnosno 10 dana) davan testosteron odnosno estrogen. Kod dječaka, primjena testosterona je dovela do porasta testosterona u rasponu pubertetskih vrijednosti ($23,7 \pm 7,1$ nmol/l) i do povećanja IGF-1 te do značajnog smanjenja grelina i leptina. Kod djevojčica je već drugi dan nakon davanja estrogena došlo do suprafizioloških koncentracija estradiola ($1313,8 \pm 438,0$ pmol/l), no unatoč tomu nije došlo do promjene u razini grelina, leptina niti IGF-1. U ovoj studiji je pokazano da je farmakološki uzrokovan porast spolnih hormona povezan s padom grelina samo kod dječaka, što bi također potvrdilo da je grelin manje osjetljiv na promjene u koncentracijama estrogena (121).

Dosadašnja istraživanja ukazuju da bi hormoni grelin i PYY mogli biti uključeni u dugotrajnu regulaciju tjelesne mase. Kada interpretiramo rezultate prospektivnih istraživanja grelina i PYY, treba imati na umu da su to većinom eksperimentalne studije s određenim oblikom intervencije u kontroliranim uvjetima (redukcijske dijetе, povećana tjelesna aktivnost, psihoterapija). Druge longitudinalne studije, u kojima nije bilo intervencije, nisu tako brojne i većinom su provedene među specifičnom grupom ispitanika, bilo da se radi o specifičnoj etničkoj skupini s povećanom prevalencijom pretilosti ili među ispitanicima specifičnih životnih navika (npr. sportašima). Prema našim saznanjima, do sada nije provedena niti jedna longitudinalna studija praćenja razine grelina i PYY među djecom u pubertetu randomiziranog uzorka u slobodnim uvjetima, što je najveći znanstveni doprinos ovog istraživanja.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da u inicijalnom mjerenju grelin negativno korelira s mjerenim parametrima za procjenu uhranjenosti; s tjelesnom masom, ITM-om, ITM z skorom, opsegom struka, opsegom bokova, debljinom kožnog nabora tricepsa i subskapularnim kožnim naborom čime smo potvrdili hipotezu da grelin negativno korelira sa stanjem uhranjenosti u djece. No analizirajući povezanost početnih mjerenja grelina i PYY i promjene ITM z skora, pokazalo se da niti jedan hormon ne predviđa samostalno promjenu u ITM z skor, ali se pokazalo da je grelin značajan prediktor za budući ITM z skor.

Ovakve rezultate podupire i studija Bunta i suradnika (263) koja pokazuje da ne postoji direktna povezanost između grelina i promjene mase i visine kod djece nakon godine dana te zaključuje da grelin ne predviđa budući rast u visinu i masu. Oni su u svom istraživanju postavili hipotezu oprečnu od hipoteze našeg istraživanja. Hipoteza njihovog istraživanja je bila da će se djeca s višim grelinom više udebljati i imati veći prirast mase nakon praćenja od 1,7 godina, unatoč tome što je grelin snižen u pretilost. Pretpostavili su da povišeni grelin dovodi do većeg apetita i unosa hrane. Metodologija istraživanja bila je takva da je na početku istraživanja mjerena tjelesna masa, tjelesna visina, postotak masnog tkiva, grelin, inzulin i glukoza natašte, a na kraju istraživanja mjerena je samo tjelesna masa i visina. Na početku istraživanja, grelin je negativno korelirao s tj. visinom, tj. masom, postotkom masnog tkiva i inzulinom, no nakon provedene multivarijantne regresijske analize grelin je ostao nezavisna negativna determinanta samo za tjelesnu visinu, a ne i za tjelesnu masu i ITM. Analizirajući koncentracije grelina na početku istraživanja i antropometrijska mjerenja nakon praćenja, u univarijantnoj analizi nađeno je da grelin na početku istraživanja negativno korelira s visinom i masom nakon praćenja, te s promjenom u masi i ITM-u. No u multivarijantnoj regresijskoj analizi nije bilo nikakve povezanosti: tjelesna masa, visina niti ITM nakon praćenja nisu bili povezani s početnim vrijednostima grelina.

Butte i suradnici su u svom longitudinalnom istraživanju u trajanju od godinu dana, također našli da grelin na početku istraživanja negativno korelira s povećanjem tjelesne mase u kilogramima

kroz godinu dana (264). Još jedno longitudinalno istraživanje, ali među odraslom populacijom (265) je provedeno s ciljem ispitivanja može li grelin predvidjeti budući porast u tjelesnoj težini odnosno uhranjenosti, no pokazalo se također da grelin ne predviđa budući porast u tjelesnu masu.

Treba napomenuti da je limitirajući čimbenik u tri prethodno navedene longitudinalne studije, Bunta, Buttea i Langenberga, taj što je razina grelina kod ispitanika mjerena samo na početku istraživanja, a nije mjerena nakon vremena praćenja, tako da ne možemo zaključivati o promjenama grelina nakon vremena praćenja. Zbog toga se ne može isključiti mogućnost da promjena koncentracije hormona uz prateću promjenu tjelesne mase (povećanje ili gubitak) može biti značajna u regulaciji tjelesne mase.

Također, istraživanje Bunta je rađeno u specifičnoj etničkoj skupini Pima Indijanaca, većinom (75%) pretile djece te nije uzeto u analizu pubertetski razvoj djeteta i promjena u razvoju puberteta nakon vremena praćenja.

Obzirom da su u našem istraživanju biokemijska mjerenja rađena u obje faze istraživanja, moguće je analizirati promjene hormona koje nastaju u fiziološkim uvjetima kod djece u pubertetu. Tako rezultati pokazuju da nakon godine dana dolazi samo do značajnog smanjenja u razini hormona grelina, dok se razina hormona PYY nakon godine dana nije značajno promijenila. Promjena grelina je značajno pozitivno povezana s promjenom ITM zscora, promjenom tjelesne mase, promjenom tjelesne visine, promjenom opsega struka i promjenom subskapularnog kožnog nabora. Korelacije su niske do umjerene ($r = 0.26 - 0.49$) i pozitivnog smjera što znači da je kod djece kod koje je došlo do većih promjena, u ovom slučaju povećanja tjelesne visine, tjelesne mase, opsega struka i promjene debljine subskapularnog kožnog nabora, došlo do veće promjene razine hormona, u ovom slučaju smanjenja grelina.

Ovakvi rezultati slabe povezanosti hormona i buduće promjene tjelesne mase sugeriraju da razina tih hormona prati individualnu putanju tjelesne mase ili prateće metaboličke promjene, više nego

što ih regulira, te da je utjecaj hormona koji reguliraju apetit kao što su grelin i PYY na buduću tjelesnu masu ograničen postojećom putanjom tjelesne mase. Naše istraživanje je također pokazalo da niti grelin niti PYY ne predviđaju samostalno promjenu ITM zskora, kao varijablu promjene uhranjenosti.

Jedino longitudinalno istraživanje koje je pratilo promjene PYY u fiziološkim uvjetima bez intervencije proveo je Guo sa suradnicima (154). U istraživanju je sudjelovalo 29 odraslih osoba (srednja dob 31+-1,4; ITM 30+-1,3), kojima su u bazalnom mjerenju, uz antropometrijska mjerenja, određivali PYY natašte i postprandijalno. U ponovljenom mjerenju nakon praćenja od 11 mjeseci je sudjelovalo 16 osoba i tada su izvršena samo antropometrijska mjerenja. Njihovi rezultati odgovaraju rezultatima našeg istraživanja u kojemu PYY nije povezan s promjenom tjelesne mase nakon godine dana. No pokazali su da su najviše vrijednosti postprandijalnog PYY povezane s manjim prirastom u tjelesnoj masi. Takva nedosljednost u rezultatima može biti posljedica nekoliko nedostataka: prvo, određivan je ukupni PYY, to bi moglo imati utjecaj obzirom da u stanju natašte dominira PYY 1-36, a postprandijalno PYY3-36, drugo, mali obuhvat u drugom mjerenju, i treće, većina ispitanika je bila pretila.

Naše istraživanje je pokazalo statistički značajnu povezanost PYY sa tjelesnom aktivnošću, dok nije pokazalo povezanost grelina i tjelesne aktivnosti. Pokazalo se da je razina PYY veća kod onih koji se bave tjelesnom aktivnošću; da je veća razina PYY što je učestalije bavljenje sportskom aktivnošću, bilo nekom slobodnom sportskom aktivnošću kao što je vožnja biciklom, trčanje, rolanje, ili pak aktivno treniranje u nekom sportskom klubu. Istraživanje koje također pokazuje da tjelesna aktivnost povećava hormon PYY proveli su Jones i suradnici (169) uz objašnjenje da umjerena aerobna tjelesna aktivnost prolazno suprimira glad i unos hrane.

Naše istraživanje nije pokazalo povezanost grelina i tjelesne aktivnosti, dok su rezultati drugih istraživanja o utjecaju tjelesne aktivnosti na koncentracije grelina raznoliki. Većina istraživanja koja pokazuju da dugotrajna tjelesna aktivnost povećava razinu grelina su ona u kojima je

tjelesna aktivnost provođena kao mjera mršavljenja te je istovremeno došlo i do gubitka tjelesne mase (52-54). Stoga je ključna stavka u interpretaciji rezultata istraživanja o utjecaju vježbanja na grelin, diferencijacija utjecaja vježbanja per se na hormone, odnosno utjecaj vježbanja kao dio programa mršavljenja koji sa sobom nosi energetske deficit. Smatra se da redovita tjelesna aktivnost povećava grelin da bi stimulirala apetit i povećala unos hrane kako bi se pokrila povećana potrošnja energije. No apetit i unos hrane su povećani u pubertetu neovisno o bavljenju tjelesnom aktivnošću, a većina istraživanja pokazuje da je pubertet povezan sa smanjenjem grelina, a ne povećanjem. Nekoliko istraživanja provedeno među djecom sportašima u razdoblju puberteta je pokazalo da je povećana energetska potrošnja povezana sa povišenim grelinom. Jurimae 2007 je proveo istraživanje među djevojkama (dob 11-16 godina) i našao da tjelesno aktivne djevojke imaju značajno više razine grelina od tjelesno neaktivnih djevojaka, neovisno o stadiju pubertetskog razvoja (53). Isti tim istraživača je proveo istraživanje među muškim plivačima (dob 10-16 godina) i našao da sportaši imaju značajno više razine grelina, ali samo u višim stadijima puberteta, dok u predpubertetu (Tanner I) nema razlike u razini grelina između sportaša i nesportaša (277). Nenalaženje povezanosti dijelom možemo objasniti time što su ispitanici praćeni u fiziološkim uvjetima, sa spontanom promjenama tjelesne mase kao dio rasta i razvoja kroz pubertet, a ne sa promjenama u tjelesnoj masi kao posljedici pozitivne energetske ravnoteže. Također, u ovom istraživanju mjeren je ukupni grelin, a ne njegove frakcije. U istraživanju među muškim adolescentima o utjecaju vježbanja na grelin i na apetit, zaključeno je da vježbanje ne utječe na ukupnu koncentraciju grelina, ali da acilirani grelin značajno raste nakon vježbanja (54). Zašto postoje te razlike još nije sasvim jasno, ali jedan od razloga se svakako nameće individualne promjene u razini hormona koji reguliraju apetit. Stoga su potrebne daljnje studije za razumijevanje kako životne navike i bavljenje tjelesnom aktivnošću utječe na regulaciju hormona PYY i grelina te njihovu ulogu u pretilosti djece i adolescenata (169).

Unatoč tomu što su neke studije pokazale da je porođajna masa povezana s grelinom, ovo istraživanje nije potvrdilo tu povezanost, već je samo potvrdilo povezanost grelina i sadašnje uhranjenosti. Studije koje su uistinu pokazale povezanost grelina i porođajne mase provedene su među dojenčadi i mlađom djecom, ili preuhranjenom djecom, dok je ovo istraživanje provedeno među djecom u pubertetu, većinom normalne uhranjenosti. Iniquez je utvrdio da dojenčad male porođajne mase, koja imaju veći prirast u masi u prvoj godini života, imaju više razine grelina i smatra da je povišeni grelin u toj dobi mogući trajni oreksinogeni signal koji doprinosi postnatalnom zamahu „catchup“ rastu i nakupljanju masnog tkiva u kasnijim godinama (196). Darendeliler je u svom istraživanju potvrdio da mlađa djeca (srednja dob 4,4 godine) normalne tjelesne mase rođena s velikom porođajnom težinom imaju niži grelin od djece normalne porođajne mase (194), dok je Park našao da je kod preuhranjene djece u dobi od 9-10 godina, porođajna masa negativno povezana s grelinom i inzulinskom rezistencijom, odnosno da preti djeca rođena s niskom porođajnom težinom imaju kasnije povećanu razinu grelina i inzulinsku rezistenciju (195). Smatra se da ovakvi rezultati podastiru dokaze da porođajna masa treba biti jedan od značajnih podataka iz osobne anamneze i čimbenik u donošenju odluke za liječenje komplikacija izazvanih debljinom u dječjoj dobi.

Ovo istraživanje nije pokazalo povezanost razine grelina i PYY. Prva studija koja je pokazala pozitivnu korelaciju između PYY i grelina provedena je u novorođenčadi (155). Nađena je značajno viša koncentracija PYY u terminske novorođenčadi nego u nedonoščadi te negativna korelacija s gestacijskom dobi i antropometrijskim mjerama (porođajna masa, tjelesna masa, tjelesna dužina, ITM, opseg glave) te su autori pretpostavili da postoji zajednički modulator za sintezu/lučenje oba peptida ili da svaki pojedini regulira sintezu/lučenje drugog peptida (155). Daljnja istraživanja su potrebna za razjašnjavanje mehanizma tog odnosa.

Srednja vrijednost koncentracije grelina u ovom istraživanju je $1038,1 \pm 263,51$ pg/ml, a PYY je $102,01 \pm 28,82$ pg/ml i slične su onima objavljenim u literaturi kod djece slične dobi. Treba

napomenuti da koncentracije grelina koje su objavljene u literaturi jako variraju ovisno u testovima koji se koriste. Koncentracije grelina se prikazuju u pg/ml ili u pmol/l (jednadžba za konverziju je: $\text{pmol/l} = \text{pg/ml} \times 0.296$). Vrijednosti za grelin kod normalne uhranjene djece se kreću od $687,38 \pm 481,43$ do $1358,47 \pm 401,15$ pg/ml, te od 612 ± 143 do $1102,09 \pm 366,10$ pg/ml za djecu prekomjerne mase (79, 278, 279). Dva najčešće korištena komercijalna testa (Linco, Saint Charles, Mo., USA i Phoenix, Belmont, Calif., USA) za određivanje ukupnog grelina znaju dati vrlo različite rezultate, stoga kada se kritički evaluiraju rezultati istraživanja, treba imati u vidu da je vrlo teško komparirati apsolutne vrijednosti grelina objavljene u različitim studijama (271). Podaci o koncentracijama PYY u dječjoj i adolescentnoj nisu toliko različiti kao za grelin, vrijednosti PYY se u većini studija ne razlikuju prema uhranjenosti i kreću se od $90,2 \pm 34,6$ do 130 ± 9 pg/ml.

U ovom istraživanju smo mjerili ukupni grelin i ukupni PYY. Makar je većina cirkulirajućeg grelina neacilirani oblik koji se smatra neaktivnim oblikom, većina studija je ispitala razine ukupnog grelina, dok je manji broj ispitivao razinu aktivnog, aciliranog grelina i neaciliranog oblika i to su većinom male studije među adolescentima s vrlo malim brojem ispitanika (54). Jedina veća studija provedena među 140 djece, (srednja dob $9,7 \pm 4,1$ godine) (240), pokazala je da su razine i aktivnog i neaktivnog oblika grelina niže kod debelih. Martos–Moreno je proveo istraživanje među pretilom predpubertetskom djecom u kojemu je ispitivao aktivni i ukupni grelin nakon mršavljenja, te potvrdio da su i aktivni i ukupni grelin niži kod debelih i negativno koreliraju s ITM-om, te da omjer aktivnog i ukupnog grelina ostaje isti i u uvjetima smanjenja tjelesne mase uzrokovane redukcijским dijetama (80). Stoga se mjerenje ukupnog grelina u ovom istraživanju smatra prikladnim. Istraživanja su potvrdila da je ukupni PYY dobar marker za PYY3-36 i da nema razlike u ukupnom PYY i aktivnom PYY 3-36, kako u bazalnim tako i u postprandijalnim vrijednostima (58).

7. ZAKLJUČCI:

Zaključci prospektivnog istraživanja provedenog među 100 djece srednje dobi 13,3 godina, s vremenom praćenja od jedne godine (83 djece drugo mjerenje), s ciljem određivanja koncentracije hormona grelina i PYY u dječjoj dobi, ispitivanja povezanosti ispitivanih hormona s antropometrijskim izmjerama, pubertetom i životnim navikama te utvrđivanje promjena u mjerenim varijablama kroz godinu dana i analiza povezanosti.

Grelina je značajno negativno povezan sa stupnjem uhranjenosti i sa zsorom ITM. Koncentracija grelina je niža kod djece povećane tjelesne mase i debelih u odnosu na normalno uhranjenu djecu. Koncentracija PYY nije povezana s uhranjenosti.

Kod djece u dobi od 13-14 godina, nakon godine dana praćenje u fiziološkim uvjetima, došlo je do značajnog pada hormona grelina, dok nije bilo značajne promjene hormona PYY.

Promjena grelina je značajno pozitivno povezana s promjenom ITM zscora, promjenom tjelesne mase, promjenom tjelesne visine, promjenom opsega struka i promjenom subskapularnog kožnog nabora. Kod djece koja imaju veće promjene antropometrijskih izmjera: te povećanja tjelesne mase, tjelesne visine, opsega struka i debljine subskapularnog kožnog nabora i povećanja zscora ITM, došlo je i do većeg pada koncentracije grelina.

Promjena grelina je povezana s uhranjenošću. Do pada koncentracije grelina dolazi i kod normalno uhranjenih/pothranjenih i kod onih povećane tjelesne mase/debelih, u oba slučaja pad je izraženiji kod dječaka u odnosu na djevojčice, s tim da je nešto manji pad kod debelih.

Promjena grelina je povezana s pubertetom. Kako se povećava stadij puberteta, tako su niže koncentracije grelina.

Promjena grelina je povezana s dobi. Mlađi ispitanici imaju veći pad razine grelina nakon godine dana.

8. SAŽETAK

Cilj: Odrediti koncentracije hormona grelina i PYY, ispitati povezanost razine hormona s antropometrijskim mjerenjima, pubertetom i životnim navikama te analizirati početnu razinu hormona i uhranjenosti djece te razine hormona i uhranjenosti nakon godinu dana.

Materijali i metode: Randomizirani uzorak djece jednog godišta s područja odsjeka Službe za školsku i sveučilišnu medicinu Novi Zagreb, 100 djece (56 Ž i 44 M, srednja dob 13.3 godine).

Metode: liječnički pregled i antropometrijska mjerenja, određivanje hormona grelina i PYY te upitnik o životnim navikama. Analizirano modelima multivarijatne logističke regresije prema spolu.

Rezultati: Koncentracija grelina značajno negativno korelira s ITM z skorom ($r = -0,25$, $p = 0,011$), tjelesnom masom ($r = -0,27$; $p = 0,007$), opsegom struka ($r = -0,27$; $p = 0,006$), opsegom bokova ($r = -0,23$; $p = 0,021$), kožnim naborom tricepsom ($r = 0,29$; $p = 0,003$) i subskapularnim naborom ($r = -0,25$; $p = 0,003$). Koncentracija grelina značajno negativno korelira sa stadijem razvoja puberteta. Koncentracija PYY nije povezana s uhranjenošću, antropometrijskim mjerenjima niti stadijem puberteta. Nakon godinu dana došlo je do značajnog smanjenja grelina, dok se razina PYY nije značajno promijenila.

Zaključak: Koncentracija grelina je niža kod djece povećane tjelesne mase i debelih u odnosu na normalno uhranjenu djecu, dok koncentracija PYY nije povezana s uhranjenosti. Nakon godine dana praćenje u fiziološkim uvjetima, došlo je do značajnog pada hormona grelina, dok nije bilo značajne promjene hormona PYY.

Ključne riječi: grelin, PYY, djeca, uhranjenost, debljina, pubertet

9. SUMMARY

Title: Changes in ghrelin and PYY and weight status in children after a one year follow up

Nina Petričević

Year: 2016

Aim: To investigate ghrelin and PYY levels, their association with anthropometric measures, puberty and living habits, and to evaluate hormone levels and weight status at the beginning and after a one year follow up.

Materials and methods: Sample of 100 children (56 female, 44 male, mean age 13,3 years) selected by a randomized procedure of children born on specific year from the area of school health service Siget, Novi Zagreb. Methods: physical exam and anthropometric measures, ghrelin and PYY hormone analysis and questionnaire on living habits. Data were analysed by multivariate logistic regression models by gender.

Results: We found negative correlation between ghrelin and BMI z score ($r = -0,25$, $p = 0,011$), body weight ($r = -0,27$; $p = 0,007$), waist circumference ($r = -0,27$; $p = 0,006$), hip circumference ($r = -0,23$; $p = 0,021$), triceps skinfold thickness ($r = 0,29$; $p = 0,003$) and subscapular skinfold thickness ($r = -0,25$; $p = 0,003$). Ghrelin correlates negatively with puberty. PYY levels are not correlated with weight status, anthropometric measurements or puberty. Ghrelin levels are significantly lower after a one year follow up, and there is no change in PYY levels.

Conclusion: Ghrelin is lower among overweight and obese children and PYY does not correlate with weight status. After a one year follow up in free living conditions, there is significant change in ghrelin levels (significantly lower) and no change in PYY levels.

Keywords: ghrelin, PYY, children, weight status, obesity, puberty

10. POPIS LITERATURE

1. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS i sur. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50(8):1714–1719.
2. Nakazato M, Murakami N, Date Y i sur. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001;409:194-198.
3. Tschöop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000;407(6806):908–913.
4. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ i sur. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 2002;418(6898):650-654.
5. 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(6762):656–660.
6. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12:118-122.
7. Davenport AP, Bonner TI, Foord SM i sur. International Union of Pharmacology. LVI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev* 2005; 57:541-546
8. Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the cytransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 2008;132:387-396.
9. Stengel A, Keire D, Goebel M i sur. The RAPID method for blood processing yields new insight in plasma concentrations and molecular forms of circulating gut peptides. *Endocrinology* 2009;150:5113-5118.
10. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translation processing. *J Biol Chem*. 2003;278:64-70.

11. Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y i sur. Des-acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 2006;147:2306-2314.
12. Dzaja A, Dalal MA, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, Schuld A. Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286:E963-E967.
13. Yildiz BO, Suchard MA, Wong ML, McCann SM, Licino J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10434-10439.
14. Cummings DE, Schwartz MW. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annual Review of Medicine* 2003;54:453–471.
15. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL i sur. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest.* 2001;24:RC19-RC21.
16. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C i sur. Meal intake similarly reduces circulating concentrations of octanoyl and total ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2004;27(5):RC12-5.
17. Frecka JM, Mattes RD. Possible entrainment of ghrelin to habitual meal patterns in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294(3):G699–G707.
18. Date Y, Kojima M, Hosoda H i sur. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000;141:4255-4261.
19. Takachi K, Doki Y, Ishikawa O i sur. Postoperative ghrelin levels and delayed recovery from body weight loss after distal or total gastrectomy. *J Surg Res* 2006;130:1-7.
20. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T i sur. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4753-4758.

21. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;279:909-913.
22. Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M i sur. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002;23:531-536.
23. Date Y, Murakami N, Kojima M i sur. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275(2):477-480..
24. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K i sur. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000;486:213-216.
25. Volante M, Allia E, Fulcheri E i sur. Ghrelin in fetal thyroid and follicular tumors and cell lines: expression and effects on tumor growth. *Am J Pathol* 2003; 162: 645-654.
26. Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE i sur. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:400-409.
27. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M 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;86:881:887.
28. Gualillo O, Caminos J, Blanco M i sur. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001;142:788-794.
29. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA 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.
30. Malik S, McGlone F, Bedrossian D, Dagher A. Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. *Cell Metabolism* 2008;7(5):400–409.
31. Venkova K, Greenwood-Van Meerveld B. Application of ghrelin to gastrointestinal diseases. *Curr Opin Investig Drugs* 2008;9(10):1103–1107.

32. Cowley MA, Smith RG, Diano S *et al*. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003;37(4):649–661.
33. Andrews ZB, Liu ZW, Wallingford N *et al*. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature* 2008;454(7206):846–851.
34. Olszewski PK, Li D, Grace MK, Billington CJ, Kotz CM, Levine AS. Neural basis of orexigenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides* 2003;24(4):597–602.
35. Anderson GH, Moore SE. Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans. *J Nutr* 2004;134:974S–979S.
36. Halton TL, Hu FB. The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: a critical review. *J Am Coll Nutr* 2004;23:373–385.
37. Lomenick JP, Melguizo MS, Mitchell SL, Summar ML, Anderson JW. Effects of meals high in carbohydrate, protein, and fat on ghrelin and peptide YY secretion in prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:4463-4471.
38. Bellone S, Rapa A, Vivenza D *et al*. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 2002;25:RC13-15.
39. Lomenick JP, Clasey JL, Anderson JW. Meal-related changes in ghrelin, peptide YY, and appetite in normal weight and overweight children. *Obesity* 2008;16(3):547-552.
40. Roth CL, Bongiovanni KD, Gohlke B, Woelfle J. Changes in dynamic insulin and gastrointestinal hormone secretion in obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; 23:1299-1309.
41. Lanyi E, Csernus K, Erhardt E *et al*. Plasma levels of acylated ghrelin during an oral glucose tolerance test in obese children. *J Endocrinol Invest* 2007;30:133-137.
42. Baldelli R, Bellone S, Castellino N *et al*. Oral glucose load inhibits circulating ghrelin levels to the same extent in normal and obese children. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64(3):255-9.

43. Bacha F, Arslanian SA. Ghrelin suppression in overweight children: a manifestation of insulin resistance? *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2725-2730.
44. Maffeis C, Bonadonna RC, Consolaro A i sur. Ghrelin, insulin sensitivity and postprandial glucose disposal in overweight and obese children. *Eur J Endocrinol* 2006;154(1):61–8.
45. Mittelman SD, Klier K, Braun S, Azen C, Geffner M, Buchanan TA. Obese adolescents show impaired meal responses of the appetite-regulating hormones ghrelin and PYY. *Obesity* 2010;18(5):918-925.
46. Dall R, Kanaley J, Hansen TK i sur. Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 2002;147:65–70.
47. Kraemer RR , Durand RJ , Acevedo EO i sur. Rigorous running increases growth hormone and insulin-like growth factor-I without altering ghrelin. *Exp Biol Med* 2004; 229:240–246.
48. Schmidt A, Maier C, Schaller G i sur. Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations. *Horm Metab Res* 2004; 36:174–177.
49. Martins C, Morgan LM, Bloom SR i sur. Effects of exercise on gut peptides, energy intake and appetite. *J Endocrinol* 2007;193:251–258.
50. Ueda SY, Yoshikawa T, Katsura Y i sur. Changes in gut hormone levels and negative energy balance during aerobic exercise in obese young males. *J Endocrinol* 2009;201:151–159
51. Rigamonti AE , Agosti F , De Col A i sur. Changes in plasma levels of ghrelin, leptin and other hormonal and metabolic parameters following standardized breakfast, lunch and physical exercise before and after a multidisciplinary weight-reduction intervention in obese adolescents. *J Endocrinol Invest* 2010;33(9):633-9.
52. Erdmann J , Tahbaz R , Lippl F i sur. Plasma ghrelin levels during exercise effects of intensity and duration. *Regul Pept* 2007;143:127–135.
53. Jurimae J, Cicchella A, Jurimae T i sur. Regular physical activity influences plasma ghrelin concentration in adolescent girls. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(10):1736-41.

54. Mackelvie KJ, Meneilly GS, Elahi D, Wong AC, Barr SI, Chanoine JP. Regulation of appetite in lean and obese adolescents after exercise: role of acylated and desacyl ghrelin. *J Clin Endocrinol metab* 2007;92(2):648-654.
55. Foster-Schubert KE, McTiernan A, Frayo RS i sur. Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:820-825.
56. Kelishadi R, Hashemipourt M, Mohammadifard N, Alikhassy H, Adeli K. Short- and long-term relationships of serum ghrelin with changes in body composition and the metabolic syndrome in prepubescent obese children following two different weight loss programmes. *Clin Endocrinol* 2008;69:721-729.
57. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K i sur. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(9):4552–4555.
58. Malag´on MM, Luque RM, Ruiz-Guerrero E i sur. Intracellular signaling mechanisms mediating ghrelin-stimulated growth hormone release in somatotropes. *Endocrinology* 2003;144(12):5372–5380.
59. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N i sur. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4908-4911.
60. Popovic V, Miljic D, MicicD i sur. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(7):3450–3453.
61. Arvat E, Maccario M, di Vito L 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(3):1169–1174.
62. Date Y, Murakami N, Toshinai K i sur. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002;123:1120-1128.

63. Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM. Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 2003;144(12):5184–5187.
64. Correa-Silva SR, Nascif SO, Lengyel AMJ. Decreased GH secretion and enhanced ACTH and cortisol release after ghrelin administration in Cushing's disease: comparison with GH-releasing peptide-6 (GHRP-6) and GHRH. *Pituitary* 2006;9(2):101–107.
65. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 2001;50(7–12):2438–2443.
66. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K i sur. Rapid publication ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001;50(2):227–232.
67. Wren AM, Small CJ, Abbott CR i sur. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001;50(7–12):2540–2547.
68. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA i sur. Ghrelin enhances appetite and increase food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992-5995.
69. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T i sur. Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res* 2003;9(2):774–778.
70. Wolf I, Sadetzki S, Kanely H i sur. Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon. *Cancer* 2006;106(4):966-73
71. Soriano-Guillen L, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *J Pediatr* 2004;144:36-42.
72. Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM. Overfeeding-induced weight gain suppresses plasma ghrelin levels in rats. *J Endocrinol Invest* 2006;29(10):863–868.
73. Ukkola O, Poykko SM, Kesaniemi YA. Low plasma ghrelin concentration is an indicator of the metabolic syndrome. *Ann Med* 2006;38:274–279.

74. Palik E, Baranyi E, Melczer Z i sur. Elevated serum acylated (biologically active) ghrelin and resistin levels associate with pregnancy-induced weight gain and insulin resistance. *Diabetes Res Clin Prac* 2007;76(3):351–357.
75. Barber TM, Casanueva FF, Karpe F i sur. Ghrelin levels are suppressed and show a blunted response to oral glucose in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008;158:511–516.
76. Hosojima H, Togo T, Odawara T i sur. Early effects of olanzapine on serum levels of ghrelin, adiponectin and leptin in patients with schizophrenia. *J Psychopharmacol* 2006;20(1):75–79.
77. Purnell JQ, Cummings D, Weigle DS. Changes in 24- h area-under-the-curve ghrelin values following diet-induced weight loss are associated with loss of fat-free mass, but not with changes in fat mass, insulin levels or insulin sensitivity. *Int J Obes* 2007;31(2):385–389.
78. Hansen TK, Dall R, Hosoda H i sur. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;56(2):203-6.
79. Vos RC, Pijl H, Wit JM i sur. The effect of multidisciplinary lifestyle intervention on the pre- and postprandial plasma gut peptide concentrations in children with obesity. *ISRN Endocrinol* 2011;2011:353756
80. Martos-Moreno GA, Barrios V, Martinez G, Hawkins F, Argente J. Acylated ghrelin levels in pre-pubertal obese children at diagnosis and after weight reduction: Effect of oral glucose ingestion. *J. Endocrinol. Invest* 2011;34:117-123.
81. Kraemer RR, Castracane VD. Exercise and humoral mediators of peripheral energy balance: ghrelin and adiponectin. *Exp Biol Med* 2007;232(2):184–194.
82. Nakai Y, Hosoda H, Nin H i sur. Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2003;149:R1-R3.
83. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E i sur. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001;145(5):669–671.

84. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ i sur. Elevated plasma ghrelin levels in Prader Willi syndrome. *Nat Med* 2002;8:643-644.
85. Giménez-Palop O, Giménez-Pérez G, Mauricio D i sur. A lesser postprandial suppression of plasma ghrelin in Prader-Willi syndrome is associated with low fasting and a blunted postprandial PYY response. *Clinical Endocrinology* 2007;66:198–204.
86. Asakawa A, Inui A, Kaga T i sur. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001;120(2):337-345.
87. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N i sur. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276(3):905–908.
88. Levin F, Edholm T, Schmidt PT i sur. Ghrelin stimulates gastric emptying and hunger in normal-weight humans. *J Clin Endocrinol Metabol* 2006;91:3296–3302.
89. Sangiao-Alvarellos S, Vázquez MJ, Varela L i sur. Central ghrelin regulates peripheral lipid metabolism in a growth hormone-independent fashion. *Endocrinology* 2009;150(10):4562–4574.
90. Lim CT, Kola B, Korbonits M. The ghrelin/GOAT/ GHS-R system and energy metabolism. *Rev Endocr Metab Disord* 2011;12(3):173–186.
91. Tong J, Prigeon RL, Davis HW i sur. Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes* 2010;59: 2145-2151.
92. Briggs DI, Andrews ZB. A recent update on the role of ghrelin in glucose homeostasis. *Current Diabetes Reviews* 2011;7(3):201–207.
93. Verhulst PJ, Depoortere I. Ghrelin's second life: from appetite stimulator to glucose regulator. *World J Gastroenterol* 2012;18:3183–3195.
94. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002;107:63-69.

95. Broglio F, Arvat E, Benso A i sur. Ghrelin, a natural gh secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol and Metabo* 2001;86(10):5083–5086.
96. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM i sur. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(8):3997–4000.
97. Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M i sur. Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;281(5):1220–1225.
98. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C i sur. Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. *Diabetes* 2002;51:2911-2914.
99. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP i sur. The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E313-E316.
100. Pacifico L, Poggiogalle E, Constantino 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;161:861-870.
101. Stepień M, Rosniak-Bak K, Paradowski 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.
102. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M i sur. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:R1483-R1487.
103. Mizia-Stec K, Zahorska-Markiewicz B, Olszanecka-Glinianowicz M i sur. Ghrelin as a potential blood pressure reducing factor in obese women during weight loss treatment. *Endokrynol Pol* 2008; 59:207–211

104. Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y i sur. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2004;110(24) 3674–3679.
105. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS i sur. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004;114(1):57–66.
106. Xia Q, Pang W, Pan H, Zheng Y, Kang JS, Zhu SG. Effects of ghrelin on the proliferation and secretion of splenic T lymphocytes in mice. *Regul Pept* 2004; 122(3):173–178.
107. Karmiris K, Koutroubakis JE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:100–105.
108. Deboer MD. Use of ghrelin as a treatment for inflammatory bowel disease: mechanistic considerations. *International Journal of Peptides* 2011; Article ID 189242, 8 pages.
109. Warzecha Z, Ceranowicz P, Dembinski A i sur. Therapeutic effect of ghrelin in the course of cerulein induced acute pancreatitis in rats. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(4): 419–427.
110. Cobanoglu N, Galip N, Dalkan C, Bahceciler NN. Leptin, ghrelin and calprotectin: inflammatory markers in childhood asthma? *Multidiscip Respir Med* 2013;8(1):62.
111. Chorny A, Anderson P, Gonzalez-Rey E, Delgado M. Ghrelin protects against experimental sepsis by inhibiting high-mobility group box 1 release and by killing bacteria. *J Immunol* 2008; 80(12):8369–8377.
112. Baatar D, Patel K, Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2011;340(1): 44–58.
113. Tsuchimochi W, Kyoraku I, Yamaguchi H i sur. Ghrelin prevents the development of experimental diabetic neuropathy in rodents. *Eur J Pharmacol* 2013;702:187–193.

114. Pacifico L, Anania C, Osborn JF i sur. Long-term effects of *Helicobacter pylori* eradication on circulating ghrelin and leptin concentrations and body composition in prepubertal children. *Eur J Endocrinol* 2008;158:323–332.
115. Navarro VM, Kaiser UB. Metabolic influences on neuroendocrine regulation of reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013;20(4):335-41.
116. Fernandez-Fernandez R, Martini AC, Navarro VM i sur. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2006;254-255:127-132.
117. Fern´andez-Fern´andez R, Tena-Sempere M, Aguilar E, Pinilla L. Ghrelin effects on gonadotropin secretion in male and female rats. *Neuroscience Letters* 2004;362(2):103–107.
118. Lebrethon MC, Aganina A, Fournier M, Gerard A, Parent AS, Bourguignon JP. Effects of in vivo and in vitro administration of ghrelin, leptin and neuropeptide mediators on pulsatile gonadotrophin-releasing hormone secretion from male rat hypothalamus before and after puberty. *J Neuroendocrinol* 2007;19:181-188.
119. Benso A, Calvi E, Gramaglia E i sur. Other than growth hormone neuroendocrine actions of ghrelin. *Endocrine Development* 2013;25:59–68.
120. Gil-Campos M, Aguilera CM, Canete R, Gil A. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Br J Nutr* 2006;96:201-26.
121. Lebenthal Y, Gat-Yablonski G, Shtauf B, Padoa A, Phillip M, Lazar L. Effect of sex hormone administration on circulating ghrelin levels in peripubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:328-331.
122. Pagotto U, Gambineri A, Pelusi C i sur. Testosterone replacement therapy restores normal ghrelin in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4139–4143.
123. Gambineri A, Pagotto U, Tschöp M i sur. Anti-androgen treatment increases circulating ghrelin levels in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2003;26:629–634.

124. Fukushima N, Hanada R, Teranishi H i sur. Ghrelin directly regulates bone formation. *J Bone Miner Res* 2005;20(5):790–798.
125. Maccarinelli G, Sibilia V, Torsello A i sur. Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J Endocrinol* 2005;184:249–56.
126. Nass R, Pezzoli SS, Oliveri MC i sur. Effects of an oral ghrelin mimetic on body composition and clinical outcomes in healthy older adults: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2008;149:601-611.
127. Yamamoto K, Takiguchi S, Miyata H i sur. Reduce plasma ghrelin levels on day 1 after esophagectomy: a ew predictor of prolonged systemic inflammatory response syndrome. *Surg Today* 2013;43:48-54.
128. Biagini G, Torsello A, Marinelli C i sur. Beneficial effects of desacyl-ghrelin, hexarelin and EP-80317 in models of status epilepticus. *Eur J Pharmacol* 2011;670:130-136.
129. Diano S, Farr SA, Benoit SC i sur. Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nat Neurosci* 2006;9:381-388.
130. Carlini VP, Perez MF, Salde E, Schiöth HB, Ramirez OA, de Barioglio SR. Ghrelin induced memory facilitation implicates nitric oxide synthase activation and decrease in the threshold to promote LTP in hippocampal dentate gyrus. *Physiol Behav* 2010;101:117-123.
131. Monteiro MP. Anti-ghrelin vaccine for obesity: a feasible alternative to dieting? *Expert Rev Vaccines* 2011;10:1363-1365.
132. Bochicchio G, Charlton P, Pezzullo JC, Kosutic G, Senagore A. Ghrelin agonist TZP 101/ulimorelin accelerates gastrointestinal recovery independently of opioid use and surgery type: covariate analysis of phase 2 data. *World J Surg* 2012;36:39-45.
133. Gualillo O, Lago F, Dieguez C. Introducing GOAT: a target for obesity and anti-diabetic drugs? *Trends Pharmacol Sci* 2008;29:398-401.

134. Tatemoto K, Mutt V. Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. *Nature* 1980;285(5764):417–418.
135. Ekblad E, Sundler F. Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. *Peptides* 2002;23(2):251–261.
136. Grandt D, Schimiczek M, Beglinger C i sur. Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36. *Regular Pept.* 1994;5;51(2):151-9.
137. Eberlein GA, Eysselein VE, Schaeffer M i sur. A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY(3-36) and PYY(1-36). *Peptides* 1989;10(4):797–803.
137. Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin SJB, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ. Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology* 2006;147:3-8.
138. Roth CL, Enriori PJ, Harz K, Woelfe J, Cowley MA, Reinehr T. Peptide YY is a regulator of energy homeostasis in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6386-6391.
139. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 1985;89(5):1070–1077.
139. Sloth B, Due A, Larsen TM i sur. The effect of a high-MUFA, low glycaemic index diet and a low-fat diet on appetite and glucose metabolism during a 6-month weight maintenance period. *Br J Nutr* 2009;101:1846–58.
140. Alvarez Bartolome M, Borque M, Martinez-Sarmiento J i sur. Peptide YY secretion in morbidly obese patients before and after vertical banded gastroplasty. *Obes. Surg* 2002;12:324–327.

141. Gardiner JV, Jayasena CN, Bloom SR. Gut hormones: a weight off your mind. *J Neuroendocrinol* 2008;20:834-841.
142. Vincent RP, le Roux CW. The satiety hormone peptide YY as a regulator of appetite. *J Clin Pathol* 2008;61:548-52.
143. Schwartz MW, Morton GJ. Keeping hunger at bay. *Nature* 2002;418:595-597.
144. Nonaka N, Shioda S, Niehoff ML, Banks WA. Characterization of blood-brain barrier permeability to PYY3-36 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:948-953.
145. Koda S, Date Y, Murakami N i sur. The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology* 2005;146(5):2369-2375.
146. Wynne K, Stanley S, Bloom S. The gut and regulation of body weight. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(6):2576-2582.
147. Batterham RL, Heffron H, Kapoor S, Chivers JE, Chandarana K, Herzog H, Le Roux CW, Thomas EL, Bell JD, Withers DJ. Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab* 2006;4(3):223-33.
148. Helou N, Obeid O, Azar ST, Hwalla N. Variation of postprandial PYY3-36 response following ingestion of differing macronutrient meals in obese females. *Ann Nutr Metab* 2008;52:188 - 95.
149. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM i sur. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Eng J Med* 2003;349(10):941-948.
150. Stock S, Lechner P, Wong AC i sur. Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2161-2168.
151. Essah PA, Levey JR, Sistrun SN, Kelly SM, Nestler JE. Effect of macronutrient composition on postprandial peptide YY levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4052-5.

152. Misra M, Tsai PM, Mendes N, Miller KK, Kibanski A. Increased carbohydrate induced ghrelin secretion in obese vs. normal weight adolescent girls. *Obesity* 2009;17:1689–95.
153. Batterham RL, Bloom SR. The gut hormone peptide YY regulates appetite. *Ann N Y Acad Sci* 2003;994:162-8.
154. Guo Y, Ma L, Enriori PJ, Koska J i sur. Physiological evidence for the involvement of peptide YY in the regulation of energy homeostasis in humans. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:1562–1570.
155. Sihanidou T, Mandyla H, Vounatsou M, Anagnostakis D, Papassotiriou I, Chrousos GP. Circulating peptide YY concentrations are higher in preterm than full-term infants and correlate negatively with body weight and positively with serum ghrelin concentrations. *Chem* 2005;51:2131–7.
156. Kim B-J, Carlson OD, Jang H-J, Elahi D, Berry C, Egan J. Peptide YY is secreted after oral glucose administration in a gender-specific manner. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6665-6671.
157. Misra M, Miller K, Tsai P i usr. Elevated peptide YY levels in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(3):1027–1033.
158. Pfluger PT, Kampe J, Castaneda TR i sur. Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY3-36. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(2):583–588.
159. Le Roux CW, Ghatgei MA, Gibbs JS, Bloom SR. The putative satiety hormone PYY is raised in cardiac cachexia associated with primary pulmonary hypertension. *Heart* 2005;91(2):241–242.
160. Bizzarri C, Rigamonti AE, Luce A i sur. Children with Prader-Willi syndrome exhibit more evident mealinduced responses in plasma ghrelin and peptide YY levels than obese and lean children. *Eur J Endocrinol* 2010;162:499–505.

161. Stoeckel LE, Weller RE, Giddings M, Cox JE. Peptide YY levels are associated with appetite suppression in response to long-chain fatty acids. *Physiol Behav* 2008;93: 289–295.
162. MacFarlane A, Kinsman R, Read NW, Bloom SR. The ileal brake: ileal fat slows small bowel transit and gastric emptying in man. *Gut*. 1983;24:A471.
163. Adrian TE, Smith HA, Calvert SA, Aynsley-Green A, Bloom SR. Elevated plasma peptide YY in human neonates and infants. *Pediatr Res* 1986;20:1225–7.
164. Berseth CL, Nordyke CK, Valdes MG, Furlow BL, Go VL. Responses of gastrointestinal peptides and motor activity to milk and water feedings in preterm and term infants. *Pediatr Res* 1992;31(6):587-90.
165. Chen X1, Du X, Zhu J, Xie L, Zhang Y, He Z. Correlations of circulating peptide YY and ghrelin with body weight, rate of weight gain, and time required to achieve the recommended daily intake in preterm infants. *Braz J Med Biol Res*. 2012;45(7):656-64.
166. Siahianidou T, Mandyla H, Militsi H, Papassotiriou I, Chrousos G. Peptide YY (3-36) represents a high percentage of total PYY immunoreactivity in preterm and full-term infants and correlates independently with markers of adiposity and serum ghrelin concentration. *Pediatr Res* 2007;62:200–3.
167. Broom DR , Batterham RL , King JA i sur. Influence of resistance and aerobic exercise on hunger, circulating levels of acylated ghrelin, and peptide YY in healthy males . *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;296:29–35.
168. Cheng MH , Bushnell D , Cannon DT i sur. Appetite regulation via exercise prior or subsequent to high-fat meal consumption. *Appetite* 2009;52:193–198.
169. Jones TE, Basilio JL, Brophy PM i sur. Long-term exercise training in overweight adolescents improves plasma peptide YY and resistin. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17: 1189 – 1195.

170. Ghitza UE, Nair SG, Golden SA i sur. Peptide YY3–36 decreases reinstatement of high-fat food seeking during dieting in a rat relapse model. *J Neurosci* 2007;27:11522–11532.
171. Vrang N, Madsen AN, Tang-Christensen M, Hansen G, Larsen PJ. PYY (3–36) reduces food intake and body weight and improves insulin sensitivity in rodent models of diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;291:R367–R375.
172. Korner J, Inabnet W, Conwell IM i sur., Differential effects of gastric bypass and banding on circulating gut hormone and leptin levels. *Obesity* 2006;14(9):1553–1561.
173. Le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL i sur. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann. Surg* 2006;243:108–114.
174. Hagan S, Niswender KD. Neuroendocrine regulation of food intake. *Pediatr Blood Cancer* 2012;58(1):149–153.
175. Berthoud HR. Homeostatic and non-homeostatic pathways involved in the control of food intake and energy balance. *Obesity* 2006;14Suppl5,197–200.
176. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Surveillance of chronic disease: risk factors: country-level data and comparable estimates.(SuRF reports; 2) (online) Available at <https://apps.who.int/infobase/Publicfiles/SuRF2.pdf>. Accessed 1 october 2014.
177. World Health Organization. Obesity. 2008. Available at: <http://www.who.int/topics/obesity/en/> [Accessed October 22, 2014].
178. Daniels SR, Khoury PR, Morrison JA. The utility of body mass index as a measure of body fatness in children and adolescents: differences by race and gender. *Pediatrics*. 1997; 99(6):804 – 807.
179. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Br Med J* 2000;320:1240-1243.

180. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM i sur. CDC growth charts: United States. *Adv Data* 2000;1-27.
181. World Health Organization. Growth reference 5-19 years. Available at: WHO. http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/index.html Accessed october 2014
182. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 2001;108,712-718.
183. Daniels SR. The consequences of childhood overweight and obesity. *Future Child* 2006;16:47-67.
184. Biro FM, Wien M. Childhood obesity and adult morbidities. *Am J Clin Nutr* 2010; 91Suppl:1499-1505.
185. World Health Organization. Obesity and overweight. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Accessed october 2014
186. Lobstein T, Frelut M-L. Prevalence of overweight among children in Europe. *Obes Rev* 2003;4:195-200.
187. Baklaic Z, Deckovic-Vukres V, Kuzman M. Croatian health service yearbook 2008. Croatian National Institute of Public Health, Zagreb
188. Parsons TJ, Power C, Logan S, Summerbelt CD. Childhood predictors of adult obesity: a systematic review. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23Suppl:1–107.
189. Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty AR i sur. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *BMJ* 2005;330:1357.
190. Ong KK. Size at birth, postnatal growth and risk of obesity. *Horm Res* 2006;65:65-9.
191. Loos RJ, Beunen G, Fagard R, Derom C, Vlietinck R. Birth weight and body composition in young adult men--a prospective twin study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1537-45.

192. Loos RJ, Beunen G, Fagard R, Derom C, Vlietinck R. Birth weight and body composition in young women: a prospective twin study. *Am J Clin Nutr* 2002;75:676-82.
193. Lekshman R, Elks CE, Ong KK. Childhood obesity. *Circulation* 2012;126(14):1770-1779.
194. Darendeliler F, Poyrazoglu S, Bas F, Sancakli O, Gokcay G. Ghrelin levels are decreased in non-obese prepubertal children born large for gestational age. *Eur J Endocrinol* 2009;160:951-6.
195. Park E. Birth weight was negatively correlated with plasma ghrelin, insulin resistance, and coenzyme Q10 levels in overweight children. *Nutr Res Pract* 2010;4(4):311-316.
196. Iñiguez G, Ong K, Peña V, Avila A, Dunger D, Mericq V. Fasting and post-glucose ghrelin levels in SGA infants: relationships with size and weight gain at one year of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5830-3.
197. Mendez-Ramirez F, Barbosa-Sabanero G, Romero-Gutierrez G, Malacara JM. Ghrelin in small-for-gestational age (SGA) newborn babies: a cross-sectional study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;70:41-6.
198. Dansinger ML, Gleason JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease reduction: a randomised trial. *JAMA* 2005;293:43-53.
199. LeBlanc ES, O'Connor E, Wtittlock PD, Patnode CD, Kapka T. Effectiveness of primary care -relevant treatments for obesity in adults: a systematic evidence review for the U. S. Preventive Services Task Force. *Ann Int Med* 2011;155:434- 447.
200. Wing RR, Tate DF, Gorin AA, Raynor HA, Fava JL. A selfregulation program for maintenance of weight loss. *N Eng J Med* 2006;355:1563-1571.
201. Chan JL, Mun EC, Stoyneva V, Mantzoros CS, Goldfine AB. Peptide YY levels are elevated after gastric bypass surgery. *Obesity* 2006;14(2):194–198.
202. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS i sur. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002;346:1623-30.

203. Couce ME, Cottam D, Esplen J, Schauer P, Burguera B. Is ghrelin the culprit for weight loss after gastric bypass surgery? A negative answer. *Obesity Surgery* 2006;16(7):870–878.
204. Mancini MC, Costa APAC, de Melo ME i sur. Effect of gastric bypass on spontaneous growth hormone and ghrelin release profiles. *Obesity* 2006;14(3):383–387.
205. Stenstrom B, Zhao CM, Tømmerås K, Arum CJ, Chen D. Is gastrin partially responsible for body weight reduction after gastric bypass? *Eur Surg Res* 2006;38:94–101.
206. Haider DG, Schindler K, Prager G i sur. Serum retinolbinding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(3):1168–1171.
207. Mingrone G, Granato L, Valera-Mora E i sur. Ultradian ghrelin pulsatility is disrupted in morbidly obese subjects after weight loss induced by malabsorptive bariatric surgery. *Am J Clin Nutr* 2006;83(5):1017–1024.
208. Kral JG, Naslund E. Surgical treatment of obesity. *Nature Clin Pract: Endocrinol. Metab* 2007;3:574-583.
209. Sjostrom L, Narbro K, Sjostrom CD i sur. Swedish Obese Subjects Study. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Eng J Med* 2007;357:741-752.
210. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care* 2010;33(10):2277–2284.
211. Cooke D, Bloom S. The obesity pipeline: current strategies in the development of anti-obesity drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:919-931.
212. Sargent BJ, Moore NA. New central targets for the treatment of obesity. *Br J Clin Pharmacol* 2009;68:852-860.
213. Rodgers RJ, Holch P, Tallett AJ. Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. *Pharmacol Biochem Behav* 2010;97:3-14.

214. Halford JCG, Boyland EJ, Blundell JE, Kirkham TC, Harrold J. Pharmacological management of appetite expression in obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2010;6:255-269.
215. Kennett GA, Clifton PG. New approaches to the pharmacological treatment of obesity: Can they break through the efficacy barrier? *Pharmacol Biochem Behav* 2010;97, 63-83.
216. Heal DJ, Gosden J, Smith SL. Regulatory challenges for new drugs to treat obesity and comorbid metabolic disorders. *Br J Clin Pharmacol* 2009;68:861-874.
217. Soriano-Guillen L, Barrios V, Chowen JA i sur. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr* 2004;144:33-5.
218. Zou CC, Liang L, Zhao ZY. Factors associated with fasting plasma ghrelin levels in children and adolescents. *World J Gastroenterol* 2008;14(5):790-794.
219. Ravussin E, Tschop M, Morales S, Bouchard C, Leihman ML. Plasma ghrelin concentration and energy balance: Overfeeding and negative balance studies in twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(9):4547-4551.
220. Patel BP, Anderson GH, Vien S, Bellissimo N, McCrindle BW, Hamilton JK.. Obesity, sex and pubertal status affect appetite hormone responses to a mixed glucose and whey protein drink in adolescents. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81(1):63-70.
221. Reinehr T, Roth CL, Alexy U, Kersting M, Kiess W, Andler W. Ghrelin levels before and after reduction of overweight due to a low-fat high-carbohydrate diet in obese children and adolescents. *Int J Obes* 2005;29:362-368.
222. Bacha F, Arslanian SA. Ghrelin and peptide YY in youth: are there race-related differences? *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3117-3122.
223. Briggs DI, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB. Diet induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology* 2010;151(10): 4745–4755.

224. Krohn K, Boczan C, Otto B i sur. Regulation of ghrelin is related to estimated insulin sensitivity in obese children. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(10):1482-7.
225. Carnier J, Lofrano MC, Prado WL i sur. Hormonal alteration in obese adolescents with eating disorder: effects of multidisciplinary therapy. *Horm Res* 2008;70:79–84.
226. Roth CL, Reinehr T. Roles of gastrointestinal and adipose tissue peptides in childhood obesity and changes after weight loss due to lifestyle intervention. *Arch pediatr Adolescmed* 2010;164(2):131-138.
227. Jackson SJ, Leahy FE, Jebb SA i sur. Frequent feeding delays the gastric emptying of a subsequent meal. *Appetite* 2007;48:199–205.
228. Speechly DP, Rogers GG, Buffenstein R. Acute appetite reduction associated with an increased frequency of eating in obese males. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23:1151–1159.
229. Stote KS, Baer DJ, Spears K i sur. A controlled trial of reduced meal frequency without caloric restriction in healthy, normal-weight, middle-aged adults. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:981–988.
230. Foster DL, Jackson LM, Padmanabhan V. Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity. *Mol Cell Endocrinol* 2006;254–255:109–119.
231. Choi JH, Yoo HW. Control of puberty: genetics, endocrinology, and environment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013;20(1):62-8.
232. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebeak NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and change after migration. *Endocr Rev* 2003;24:668-693.
233. Ahmed ML, Ong KK, Morrell DJ i sur. Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex differences and relationship to changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:899–905.

234. Clayton PE, Gill MS, Hall CM, Tillmann V, Whatmore AJ, Price DA. Serum leptin through childhood and adolescence. *Clin Endocrinol* 1997;46:727-733.
235. Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Karlberg J, Groth T. Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1195–1201.
236. Grumbach M, Styne D. Puberty: ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. *Williams textbook of endocrinology* 2003 10. izd. Philadelphia: Saunders; 2003, str 1115–1286.
237. Martini AC, Fernandez-Fernandez R, Tovar S i sur. Comparative analysis of the effects of ghrelin and unacylated ghrelin on luteinizing hormone secretion in male rats. *Endocrinology* 2006;147:2374-2382.
238. Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis. *Vitam Horm* 2008;77:285-300.
239. Cortelazzi D, Cappiello V, Morpurgo PS i sur. Circulating levels of ghrelin in human fetuses. *Eur J Endocrinol* 2003;149:111-6.
240. Bellone S, Prodam F, Savastio S i sur. Acylated and unacylated ghrelin levels in normal weight and obese children: Influence of puberty and relationship with insulin, leptin and adiponectin levels. *J. Endocrinol Invest* 2012;35:191-197.
241. Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, Westwood M, Clayton PE. Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol* 2003;59:649–654.
242. Pomerants T, Tillmann V, Jurimae J, Jurimae T. Relationship between ghrelin and anthropometrical, body composition parameters and testosterone levels in boys at different stages of puberty. *J Endocrinol Invest* 2006;29(11):962-7.
243. Wang J, Chen C, Wang RY. Influence of short- and long-term treadmill exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of obese rats. *Endocrine* 2008;33:77–83.

244. El-Eshrawy MM, Abdel Aal IA, El Hawary AK. Association of ghrelin and leptin with reproductive hormones in constitutional delay of growth and puberty. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2010;8:153
245. Kluge M1, 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(3):E448-51.
246. Roa J, García-Galiano D, Castellano JM, Gaytan F, Pinilla L, Tena-Sempere M. Metabolic control of puberty onset: New players, new mechanisms. *Mol Cell Endocrinol* 2010;324:87–94.
247. Ogata R, Matsuzaki T, Iwasa T i sur. Hypothalamic Ghrelin suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone via beta-endorphin in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 2009;90(4):364-70
248. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1023-1028.
249. Fernandez-Fernandez R, Aguilar E, Tena-Sempere M, Pinilla L. Effects of polypeptide YY(3-36) upon luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotropin secretion in prepubertal rats: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 2005;146:1403-1410.
250. Tovar SA, Seoane LM, Caminos JE i sur. Regulation of peptide YY levels by age, hormonal, and nutritional status. *Obes Res* 2004;12:1944–1950.
251. Lloyd B, Ravi P, Mendes N, Klibanski A, Misra M. Peptide YY levels across pubertal stages and associations with growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2957-2962.
252. Aksglaede L, Olsen LW, Sorensen TI, Juul A. Forty years trends in timing of pubertal growth spurt in 157,000 Danish school children. *PLoS One.* 2008;3:e2728.
253. Himes JH. Examining the evidence for recent secular changes in the timing of puberty in US children in light of increases in the prevalence of obesity. *Mol Cell Endocrinol* 2006;25:254-255:13-21.

254. Kaplowitz PB. Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics* 2008;121Suppl 3:208-217.
255. Ahmed ML, Ong KK, Dunger DB. Childhood obesity and the timing of puberty. *Trends Endocrinol. Metab* 2009;20:237-242.
256. He Q, Karlber J. BMI in childhood and its association with height gain, timing of puberty, and final height. *Pediatr Res* 2001;49:244-251.
257. Misra M, Prabhakaran R, Miller KK i sur. A. Role of cortisol in menstrual recovery in adolescent girls with anorexia nervosa. *Pediatr Res* 2006;59:598–603
258. Wagner IV, Sabin MA, Pfaffle RW i sur. Effects of obesity on human sexual development. *Nat Rev Endocrinol* 2012;8:246-254.
259. Abou Heif HM, Deif MM, Abdel Aziz HK. Effect of food restriction on ghrelin in adult male rats and its relation to male reproductive hormones. *Andrologia* 2010;42:97-105.
260. Yilmaz D, Ersoy B, Bilgin E, Gumuser G, Onur E, Pinar ED. Bone mineral density in girls and boys at different pubertal stages: relation with gonadal steroids, bone formation markers, and growth parameters. *J Bone Miner Metab* 2005;23:476–482.
261. Pomerants T, Tillmann V, Jurimae J, Jurimae T. The influence of serum ghrelin, IGF axis and testosterone on bone mineral density in boys at different stages of sexual maturity. *J Bone Miner Metab* 2007;25:193-197.
262. Misra M, Miller KK, Stewart V i sur. Ghrelin and bone metabolism in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5082-7
263. Bunt JC, Salbe AD, Tschop MH, Delparigi A, Daychild P, Tataranni PA. Cross-sectional and prospective relationships of fasting plasma grelin concentrations with anthropometric measures in Pima Indian Children. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3756-3761.
264. Butte NF, Cai G, Cole SA i sur. Metabolic and behavioral predictors of weight gain in Hispanic children: the Viva la famiia study. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1478-85.

265. Langenberg C, Bergstrom J, Laughlin GA, Barrett-Connor E. Ghrelin, adiponectin, and leptin do not predict long-term changes in weight and body mass index in older adults: longitudinal analysis of the Rancho Bernardo cohort. *Am J Epidemiol* 2005;162:1189-1197.
266. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44:291-303.
267. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970;45:13-23.
268. Prader A. Testicular size assessment and clinical importance. *Triangle* 1966; 7:240-243.
269. Grosch M, Uhr M, Kraus T. Evaluation of the comparability of commercial ghrelin assays. *Clin Chem*. 2004;50:457-458.
270. Hosoda H, Doi K, Nagaya N *et al*. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 2004;50:1077-1080.
271. Chanoine J.-P. Ghrelin in growth and development. *Horm Res* 2005;63:129-138.
272. Park HS, Lee K-U, Kim YS, Park CY. Relationships between fasting plasma ghrelin levels and metabolic parameters in children and adolescents. *Metabolism* 2005; 54:925-29.
273. Lofqvist C, Andersson E, Glander L *et al*. Reference values for IGF-I throughout childhood and adolescence: a model that accounts simultaneously for the effect of gender, age and puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5870–5876
274. Haqq AM, Farooqi IS, O’Rahilly S *et al*. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:174– 178.
275. Wang XM, Jiang YJ, Liang L, Du LZ. Changes of ghrelin following oral glucose tolerance test in children with insulin resistance. *World J Gastroenterol* 2008; 14(12):1919-1924.

276. Jurimae J, Pomerants T, Tillmann V, Jurimae T. Bone metabolism markers and ghrelin in boys at different stages of sexual maturity. *Acta Paediatrica* 2009;98:892-896.
277. Jurimae J, Cicchella A, Tillmann V i sur. Effect of pubertal development and physical activity on plasma ghrelin concentration in boys. *J Endocrinol Invest* 2009;32:18-22.
278. Sen TA, Simsek DG, Darcan S, Coker M. Ghrelin levels in children with constitutional delay of growth and puberty. *J Clin Res Ped Endo* 2010;2(3):117-121.
279. Stylianou C, Galli-Tsinopoulou A, Farmakiotis D i sur. Ghrelin and leptin levels in obese adolescents. Relationship with body fat and insulin resistance. *Hormones* 2007; 6(4):295-303.

11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1973. godine u Zagrebu, gdje sam završila osnovnu i srednju školu, 1992. godine sam upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1998. godine sam diplomirala te završila pripravnički staž i položila državni ispit. Od 2001. radim u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, u Odjelu za školsku i sveučilišnu medicinu, trenutno u ambulanti školske i sveučilišne medicine u Sigetu, Novi Zagreb te vodim savjetovalište za prehranu u Centru za mlade Zavoda.

Specijalizaciju iz školske i sveučilišne medicine završila sam 2005. godine.

Završila sam prvi i drugi stupanj edukacije iz bihevioralno-kognitivne terapije u Zagrebu.

Od 2005-2007. godine bila sam znanstveni suradnik na međunarodnom projektu Belgije, Slovenije i Hrvatske: „Implementacija i metodologija stvaranja stručno utemeljenih smjernica u zdravstvenoj zaštiti školske djece“ u okviru kojeg su nastale smjernice i priručnik „Prevention of overweight and obesity in childhood. A guideline for school health care.“

Od 2007-2008. godine sam bila predsjednica radne skupine Gradskog ureda za obrazovanje kulturu i šport grada Zagreba za izradu jelovnika u osnovnim školama grada Zagreba.

ANKETA

Lijepo Vas molimo da ispunite ovaj upitnik u sklopu istraživanja „Promjena koncentracije hormona grelina i PYY i uhranjenosti u djece nakon godine dana“ .

Tome ćemo priložiti dnevnik prehrane Vašeg djeteta kroz tri dana.

Ima li sljedećih bolesti u Vašoj OBITELJI (majka, otac, braća, sestre, bake i djedovi djeteta)

- | | | |
|----------------------------|-------|-------|
| 1. povišeni krvni tlak | 1. da | 2. ne |
| 2. srčane bolesti | 1. da | 2. ne |
| 3. moždani udar | 1. da | 2. ne |
| 4. povišene masnoće u krvi | 1. da | 2. ne |
| 5. šećerna bolest | 1. da | 2. ne |
| 6. debljina | 1. da | 2. ne |

7. Koliko puta NA DAN Vaše dijete jede (broj obroka)?

1. jedan do dva puta
2. tri puta
3. četiri puta
4. pet ili više puta

8. Koliko često Vaše dijete doručkuje kod kuće?

1. skoro svaki dan
2. povremeno
3. gotovo nikad

9. Koliko komada voća je JUČER pojelo Vaše dijete?

1. niti jedan
2. jedan do dva
3. tri do četiri
4. pet ili više

10. Koliko porcija povrća je JUČER pojelo Vaše dijete?

1. niti jednu
2. jednu do dvije
3. tri do četiri
4. pet ili više

11. Koliko puta je u PROTEKLIH 7 DANA Vaše dijete jelo hamburger, hot dog, pizzu, sendvič?

1. niti jedan put
2. jedan do tri puta
3. četiri do šest puta
4. sedam i više puta

12. Koliko puta je u PROTEKLIH 7 DANA Vaše dijete jelo crveno meso (ne piletinu)?

1. niti jedan put
2. jedan do tri puta
3. četiri do šest puta

4. sedam i više puta
13. Koliko puta je u PROTEKLIH 7 DANA Vaše dijete jelo ribu?
 1. niti jedan put
 2. jedan do tri puta
 3. četiri do šest puta
 4. sedam i više puta
 14. Koliko puta je u PROTEKLIH 7 DANA Vaše dijete jelo slatkiše (npr. keksi, čokolada)?
 1. niti jedan put
 2. jedan do tri puta
 3. četiri do šest puta
 4. sedam i više puta
 15. Koliko puta je u PROTEKLIH 7 DANA Vaše dijete jelo slane grickalice (npr. čips)?
 1. niti jedan put
 2. jedan do tri puta
 3. četiri do šest puta
 4. sedam i više puta
 16. Koliko puta je JUČER Vaše dijete pilo neki zaslađeni sok (coca-cola, voćni sok, cedevita)?
 1. niti jedan put
 2. jedan do dva puta (jedno piće/2dcl)
 3. tri do četiri puta (jedno piće/2dcl)
 4. pet i više puta (jedno piće/2dcl)
 17. Trenira/vježba li Vaše dijete u nekom sportskom klubu?
 1. da
 2. ne
 18. Ako da, koliko puta TJEDNO ima trening?
 1. jedan put
 2. dva do tri puta
 3. četiri do pet puta
 4. šest do sedam puta
 19. Koliko puta TJEDNO se bavi nekom sportskom aktivnošću više od 30min? (šetnja, vožnja bicikom, rolanje, trčanje, igranje vani)?
 1. niti jedan put
 2. jedan do tri puta
 3. četiri do šest puta
 4. sedam i više puta
 20. Koliko sati DNEVNO obično gleda televiziju i igra se na kompjutoru?
 1. manje od 1 sat/dnevno
 2. oko 1-2 sata/dnevno
 3. oko 3-4 sata/dnevno
 4. 5 i više sati/dnevno