

# Utjecaj bilijarne opstrukcije na koncentraciju grelina, kolecistokinina, humoralnih pokazatelja upale i nutritivni status

---

Pavić, Tajana

Doctoral thesis / Disertacija

2014

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:105:798448>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-05**



Repository / Repozitorij:

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





## Središnja medicinska knjižnica

**Pavić, Tajana (2014) *Utjecaj bilijarne opstrukcije na koncentraciju grelina, kolecistokinina, humoralnih pokazatelja upale i nutritivni status [Effect of biliary obstruction on ghrelin, cholecystokinin, inflammatory markers and nutritional status]. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.***

<http://medlib.mef.hr/2108>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tajana Pavić**

**Utjecaj bilijarne opstrukcije na  
koncentraciju grelina, kolecistokinina,  
humoralnih pokazatelja upale i nutritivni  
status**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2014

Disertacija je izrađena na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti i Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu Kliničkog bolničkog centra „Sestre milosrdnice“.

Voditelj istraživanja: prof.dr.sc. Marko Duvnjak

# Sadržaj

1	UVOD.....	1
1.1	Opstruktivski ikterus.....	1
1.1.1.	Epidemiologija i klinička slika.....	2
1.1.2.	Patofiziologija.....	4
1.2	Apetit.....	12
1.2.1.	Centralna regulacija perifernih signala.....	12
1.2.2.	Grelina.....	14
1.2.3.	Međuodnos grelina i kolecistokinina.....	16
1.3	Nutritivni status.....	17
1.3.1.	Nutritivni status bolesnika sa bilijarnom opstrukcijom.....	17
1.3.2.	Sindrom tumorske anoreksije/kaheksije.....	18
1.3.3.	Anoreksija u sklopu infekcije.....	20
1.3.4.	Anoreksija starenja.....	21
2	HIPOTEZA.....	23
3	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	24
4	ISPITANICI I METODE.....	26
4.1	Ispitanici.....	26
4.2	Mjerenja.....	28
4.2.1.	Antropometrijska mjerenja.....	28
4.2.2.	Biokemijska mjerenja.....	29
4.3	Statistička analiza.....	32
5	REZULTATI.....	34
5.1	Osnovne kliničke karakteristike ispitanika.....	34
5.2	Rezultati analize laboratorijskih parametara ispitanika i kontrolne skupine.....	38
5.3	Utjecaj težine i trajanja bilijarne opstrukcije na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	41
5.4	Utjecaj etiologije bilijarne opstrukcije na razinu grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	46
5.5	Utjecaj kolonizacije s <i>Helicobacter pylori</i> na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	49
5.6	Utjecaj općih karakteristika bolesnika na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	51
5.7	Analiza međudjelovanja grelina, kolecistokinina i upalnih pokazatelja u serumu na nutritivni status i apetit.....	62
5.8	Analiza utjecaja endoskopske bilijarne drenaže na koncentracije parametara kolestaze, hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	71
5.9	Analiza utjecaja uzimanja nutritivne potpore na razinu hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti.....	85

5.10	Analiza utjecaja biokemijskih i nutritivnih parametara na ishod bolesnika.....	87
6	RASPRAVA.....	100
7	ZAKLJUČAK.....	111
8	SAŽETAK.....	113
9	SUMMARY.....	115
10	LITERATURA.....	116
11	PRILOZI.....	134
11.1	Probir za nutritivni rizik (NRS-2002).....	134
11.2	Vizualno analogna skala za procjenu apetita.....	135
11.3	Vizualno analogna skala za procjenu jačine boli.....	135
12	ŽIVOTOPIS.....	136

# Popis oznaka i kratica

EUZ - endoskopski ultrazvuk

ERCP - endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija (engl. *Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography*)

TGR 5/M-BAR - membranski receptor za žučne kiseline spojen s G-proteinom (engl. *The G protein-coupled receptor/Membrane-type bile acid receptor*)

FXR $\alpha$  - nuklearni transkripcijski čimbenik X (engl. *Farnesoid X Receptor  $\alpha$* )

TNF- $\alpha$  – tumor-nekrotizirajući čimbenik  $\alpha$  (engl. *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* )

IL-6 - interleukin 6

IL-2 - interleukin 2

IL-8 - interleukin 8

TGF-  $\beta$  - transformirajući čimbenik rasta  $\beta$  (engl. *Transforming Growth Factor  $\beta$* )

TACE - TNF $\alpha$ -konvertirajući enzim (engl. *TNF alpha Converting Enzyme*)

NF- $\kappa$ B - nuklearni transkripcijski čimbenik kappa B (engl. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

C/EPB $\beta$  - engl. *CAAT/enhancer-binding protein  $\beta$*

AP-1 - aktivacijski protein 1 (engl. *Activator Protein 1*)

CCK - kolecistokinin (engl. Cholecystokinin)

NPY - neuropeptid Y (engl. Neuropeptide Y)

AgRP - aguti peptid (engl. Agouti-related Peptide)

POMC - proopiomelanokortinski neuronski putovi (engl. Pro-opiomelanocortin)

CART - kokainom i amfetaminom regulirani neuronski putovi (engl. *Cocaine and Amphetamine- Regulated Transcript*)

NTS - jezgra traktusa solitariusa (lat. *Nucleus Tractus Solitarii*)

PVN - paraventrikularna jezgra (lat. *Nucleus Paraventricularis*)

LHA - lateralna hipotalamička area

PFA - perifornikalna area

GHS-R - receptor sekretagoga hormona rasta (engl. *Growth Hormone Secretagogue Receptor*)

GOAT - grelin O - acetiltransferaza

PIF - čimbenik indukcije proteolize (engl. *Proteolysis-inducing Factor*)

LMF - čimbenik mobilizacije lipida (engl. *Lipid Mobilizing Factor*)

BMI - indeks tjelesne mase (engl. *Body Mass Index*)



# 1 UVOD

## 1.1 Opstruktivski ikterus

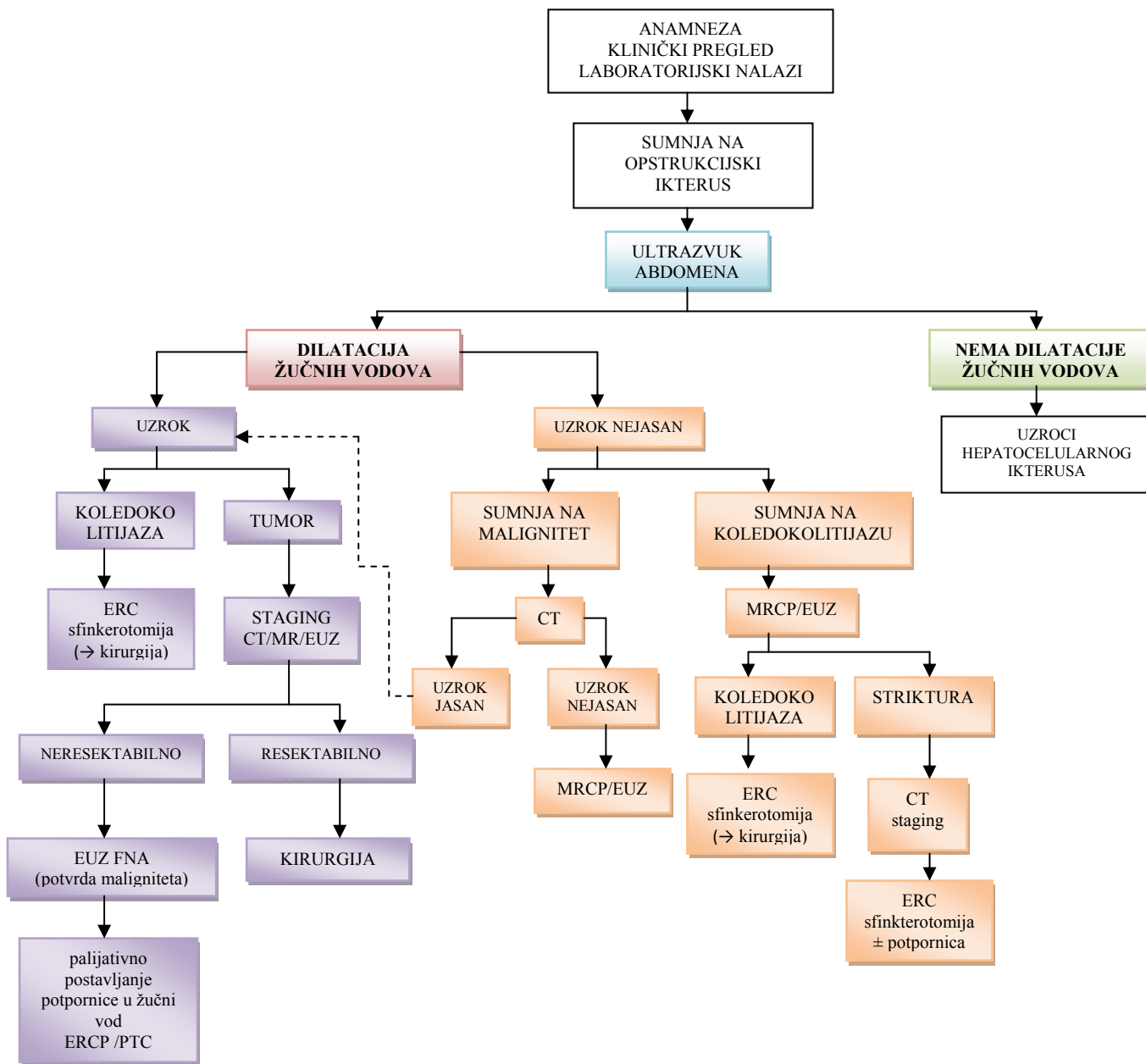
Bolesti bilijarnog sustava čine važan dio morbiditeta opće populacije. Žutica (ikterus), kao najuočljiviji znak bolesti jetre ili bilijarnog sustava, je stanje koje karakterizira žuto obojenje kože, sklera i sluznica kao rezultat povišene koncentracije bilirubina u serumu. Bilirubin je završni produkt razgradnje hema. Većina bilirubina (70-80%) nastaje razgradnjom hemoglobina iz eritrocita, dok se ostatak proizvodi razgradnjom hemoproteina jetre, kao što su katalaze ili citokrom oksidaze. Bilirubin je hidrofoban i potencijalno toksičan spoj koji cirkulira u plazmi vezan za albumin. Za eliminaciju bilirubina potrebna je njegova konverzija u vodotopive konjugate u jetri nakon čega slijedi sekrecija u žuč. U zdravog odraslog čovjeka dnevna produkcija bilirubina iznosi oko 4 mg/kg (oko 0,5 mmol u osobe mase 70 kg). Žuč je kompleksna, lipidima bogata micelarna otopina koja se sastoji od vode, elektrolita, žučnih kiselina, fosfolipida, kolesterola i žučnih pigmenata, čiji se dnevni volumen procjenjuje na 500-600 mL. Dominantna sastavnica žuči su žučne kiseline (67%) i njihova uloga u jetri i probavnom sustavu je višestruka. One su glavni čimbenik u regulaciji stvaranja i lučenja žuči budući da njihov aktivni transport u kanalikule generira osmotski tok vode neophodan za tijek žuči i sekreciju fosfolipida, kolesterola i bilirubina. Stvaranje žuči je neophodno za normalnu razgradnju i apsorpciju lipida, homeostazu kolesterola i izlučivanje ksenobiotika, lijekova i teških metala topivih u mastima, a i preduvjet je za normalno funkcioniranje jetre. Svaki poremećaj u sintezi žuči, njenom izlučivanju ili enterohepatičkoj cirkulaciji dovodi do značajnih učinaka na fiziološke procese u cijelom organizmu, a jedan od najčešćih uzroka je upravo opstrukcija žučnih vodova (1).

### **1.1.1 Epidemiologija i klinička slika**

Učestalost bilijarne opstrukcije je otprilike 5 slučajeva na 1000 stanovnika (1). Bolesnici s bilijarnom opstrukcijom čine heterogenu skupinu čije stanje izaziva niz benignih i malignih bolesti koje dovode do opstrukcije intra ili ekstrahepatalnih žučnih vodova. Najčešći uzrok bilijarne opstrukcije je koledokolitijaza koju tipično izazivaju žučni kamenci iz žučnog mjehura koji migriraju u glavni žučovod i okludiraju ili izazivaju samo parcijalnu opstrukciju ampule Vateri. Od benignih uzroka treba spomenuti i suženja žučnih vodova (najčešće jatrogena), kronični pankreatitis i primarni sklerozirajući kolangitis. Uzroci maligne bilijarne opstrukcije najčešće su tumori gušterače, karcinom žučnog mjehura, karcinom žučnih vodova, metastaze u portalnoj regiji jetre i uvećanje limfnih čvorova periportalne regije. Kliničkom slikom dominira žutilo kože i sklera, tamnija mokraća, svrbež kože, moguć je febrilitet i bolovi u trbuhu. U laboratorijskim nalazima registrira se pretežno konjugirana hiperbilirubinemija uz povišenje serumske alkalne fosfataze i transaminaza u različitim opsezima, uz moguću detekciju upalnih pokazatelja. U dijagnostičkom algoritmu nakon anamneze, kliničkog pregleda i laboratorijskih nalaza u pravilu slijedi ultrazvuk abdomena kojim se prikazuje dilatacija intra ili ekstrahepatalnih žučnih vodova uz moguću vizualizaciju i uzroka opstrukcije (žučni kamenci, povećani limfni čvorovi, promjene gušterače u smislu kroničnog pankreatitisa i dr.).

MSCT abdomena, endoskopski ultrazvuk (EUZ) i MR abdomena su dijagnostičke metode kojima se u najvećem broju slučajeva otkriva razlog bilijarne opstrukcije (Slika 1.1.1). Endoskopska retrogradna kolangiografija/kolangiopankreatografija (ERCP) je terapijska metoda izbora; ovisno o lokaciji i etiologiji opstrukcije nakon sfinkterotomije može uslijediti ekstrakcija konkremenata, balon dilatacija suženja ili postavljanje potpornica u žučni vod (1).

Slika 1.1.1 Dijagnostičko-terapijski postupnik u opstrukcijskom ikterusu



### 1.1.2 Patofiziologija

Opstrukcija žučnog voda, parcijalna ili potpuna, može biti akutni prolazni događaj, kao što je većinom u slučaju koledokolitijaze, ili može nastati sporo kao što je u slučaju tumora ili benignih fibroznih striktura. Kronicitet problema, broj epizoda žutice i kolangitisa, stupanj opstrukcije i prisustvo bakterija u žuči određuju tip i težinu komplikacija koje mogu uslijediti. Bez obzira na etiologiju, zbog kontinuirane sekrecije žuči u hepatocitima, opstrukcija žučnog voda povećava tlak u proksimalnim dijelovima žučnog stabla na vrijednosti od normalnih 7-15 cm H<sub>2</sub>O na 18 - 30 cm H<sub>2</sub>O prekidajući tako stanične veze između hepatocita i stanica žučnih vodova (2). Kada se dosegne tlak od 25 cm H<sub>2</sub>O, komponente žuči i bakterija, ako su prisutne, slobodno prolaze u jetrene sinusoidne i dalje u sistemske cirkulacije. Bilijarna opstrukcija je rizični faktor za razvoj komplikacija koje mogu uzrokovati nakupljeni toksični spojevi u žuči (bilirubin, žučne kiseline), endotoksini, bakterijska translokacija, modulacija upalne kaskade i otpuštanja citokina, redukcija celularnog imuniteta, te poremećeni nutritivni status (3-8).

Osim uloge u resorpciji masti i vitamina, žučne kiseline (kolna, kenodeoskikolna, deoksikolna i litokolna kiselina) su bitne signalne molekule čija je homeostaza putem enterohepatičke cirkulacije vrlo precizno regulirana zbog toga što su gotovo sve žučne kiseline citotoksične. Povišena koncentracija žučnih kiselina u jetri i serumu direktno rezultira oštećenjem jetre koje vodi ka proliferaciji žučnih vodova, fibrozi i cirozi jetre. Mehanizam jetrenog oštećenja, prema novim spoznajama, odvija se pokretanjem upalnog odgovora i stanične nekroze uslijed oksidativnog stresa (9). Osim toga, žučne kiseline imaju utjecaj na metabolizam glukoze suprimirajući glukoneogenezu u jetri, te inducirajući sintezu glikogena i sekreciju inkretina. Zanimljivo je da povećavaju potrošnju energije u smeđem masnom tkivu i skeletnim mišićima putem TGR5/M-BAR receptora čiji su ligandi (10). Najnovija istraživanja sugeriraju vezu

žučnih kiselina i nastanka karcinoma. Jedan od odgovornih signalnih putova je nuklearni transkripcijski faktor X (FXR $\alpha$ ) koji se dovodi u vezu s nastankom malignoma hepatobilijarnog i probavnog trakta (11). Povišena koncentracija žučnih kiselina u serumu ima značajne učinke i na imunološki sustav. Kenodeoksikolna, deoksikolna i ursodeoksikolna kiselina smanjuju fagocitnu aktivnost makrofaga i Kupfferovih stanica, inhibiraju mitogenezu i proliferaciju limfocita, te produkciju interleukina 2 (IL-2) (12-14). Prisustvo žučnih kiselina u lumenu crijeva povezana je sa brojnim pozitivnim učincima na normalno funkcioniranje crijevne barijere. Osim što inhibiraju rast određenih bakterija kao Bacteroides, Clostridia, Lactobacillus i Streptococcus, imaju i trofični učinak na sluznicu crijeva povećavajući gustoću resica i održavajući integritet međustaničnih veza enterocita (15).

U brojnim animalnim i kliničkim studijama potvrđeno je prisustvo endotoksina u portalnoj i sistemske cirkulaciji bolesnika sa bilijarnom opstrukcijom (16-19). Endotoksin je lipopolisaharidna sastavnica stjenke Gram-negativnih bakterija. Odsustvo žučnih soli u crijevu rezultira promjenama u bakterijskoj flori i prerastanjem Gram-negativnih bakterija, a izostanak njihovog emulzificirajućeg učinka povećava količinu endotoksina u crijevu. Povećana intestinalna permeabilnost smatra se jednim od ključnih čimbenika za bakterijsku translokaciju u mezenterijske limfne čvorove, portalnu cirkulaciju i jetru (20, 21), a smanjenja fagocitna aktivnost Kupfferovih stanica u jetri omogućava širenje endotoksina u sistemske cirkulaciju. Endotoksini započinju kaskadu patofizioloških događanja u brojnim organskim sustavima, od dobro poznate aktivacije sustava komplementa i koagulacijskog sustava, do recentno istraživane sinteze citokina (22, 23).

### **1.1.2.1. Citokini**

U eksperimentalnim modelima bilijarna opstrukcija povezana je s povećanom sintezom upalnih citokina: tumor-nekrotizirajući čimbenik  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukinom 6 (IL-6) i interleukinom 8 (IL-8) (24, 25). Recentna studija Badgera i suradnika pokazala je da postoji pretjerani proinflamatorni i antiinflamatorni odgovor citokina na portalnu endotoksemiju u životinja s opstruktivskom žuticom, ali da u konačnici dominira antiinflamatorni odgovor na inicijalnu aktivaciju proinflamatornih medijatora (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10), što može rezultirati imunosupresijom i povećanim rizikom od infekcija (26)

#### **1.1.2.1.1. IL-6**

IL-6 se smatra najboljim pokazateljem upale i prediktorom morbiditeta kod bolesnika s opstruktivskom žuticom (24, 27, 28). Godine 1986.g. klonirana je komplementarna DNA koja kodira B-stanični stimulirajući faktor 2, danas poznat kao IL-6 (29). Humani IL-6 građen je od 212 aminokiselina uključujući i signalni peptid od 28 aminokiselina, a gen koji ga kodira nalazi se na kromosomu 7p21. Danas je poznato da je IL-6 pleotropni citokin koji ima široki raspon bioloških aktivnosti u imunoregulaciji, hematopoezi, upali i onkogenezi (30). IL-6 dominantno proizvode monociti i makrofagi nakon stimulacije Toll-like receptora (TLR), odnosno transkripcijskih faktora NF- $\kappa$ B, C/EPB $\beta$  i AP-1 infektivnim ili neinfektivnim agensima. U jetri IL-6 inducira sintezu širokog spektra reaktanata akutne faze upale kao što je C-reaktivni protein (CRP), serumski amiloid A (SAA), fibrinogen, haptoglobin i alfa-1-antikimotripsin, ali i smanjuje produkciju fibronektina, albumina i transferina (31). U koštanoj srži IL-6 promovira maturaciju megakariocita i otpuštanje trombocita u krv. IL-6 ima ulogu i u stečenoj imunosti promovirajući diferencijaciju T i B limfocita. Bitno je istaknuti da je IL-6,

zajedno sa transformirajućim faktorom rasta  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ), neophodan u diferencijaciji naivnih CD-4 pozitivnih T limfocita u Th17, dok inhibira diferencijaciju regulatornih T limfocita. Narušavanje ove ravnoteže može dovesti do sloma imunološke tolerancije i razvoja autoimunih ili kroničnih upalnih bolesti (32). Povišene serumske koncentracije IL- 6 utvrđene su u trinaest različitih tipova karcinoma, između ostalih u kolorektalnom, karcinomu želuca i gušterače, uz snažnu pozitivnu vezu između koncentracije citokina i veličine tumorske mase i progresije bolesti (33). IL-6 ima i kritičnu ulogu u stanicama centralnog i perifernog živčanog sustava – opet u dualnoj maniri - participira u neurogenezi, ali i u odgovoru zrelih neurona u normalnim uvjetima i nakon različitih noksi (34). Između ostalog IL-6 je uključen u kontrolu tjelesne mase, hranjenja i potrošnju energije. Centralno djelujući IL-6 smanjuje razinu masnog tkiva povećavajući potrošnju energije, najvjerojatnije na razini hipotalamusa u glodavaca (35) i ljudi (36). Nadalje, u više studija dokazano je da se varijanta promotora humanog gena IL-6 koja dovodi do smanjenje produkcije IL-6 povezuje s povećanom tjelesnom masom i smanjenjem potrošnje energije (37, 38).

#### **1.1.2.1.2. TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$  identificiran je 1975.g kao glikoprotein induciran endotoksinom koji je uzrokovao hemoragijsku nekrozu sarkoma transplantiranog u miša (39). Humani TNF- $\alpha$  kloniran je 1985.g (40) i od tada je njegova uloga dokazana u raznolikim upalnim i malignim stanjima. TNF- $\alpha$  dominantno proizvode aktivirani makrofagi i T limfociti kao pro-TNF, protein veličine 26 kDa eksprimiran na staničnoj membrani ili kao topiva varijanta veličine 17 kDa, nakon što ga razgradi TNF $\alpha$ -konvertirajući enzim (TACE). Iako su stanice monocitno-makrofagne linije glavni izvor TNF- $\alpha$ , mastociti, T i B limfociti, neutrofili, endotelne stanice, glatke mišićne i srčane stanice, fibroblasti i osteoklasti mogu ga također proizvoditi. Djeluje

putem najmanje dva različita receptora koji zajedno čine TNF receptorsku (TNFR) superfamiliju. Iako je afinitet za TNF receptor 2 (TNFR-2) pet puta veći nego za TNF receptor 1 (TNFR-1), putem ovog potonjeg odvija se većina biološke aktivnosti TNF- $\alpha$  (41). Glavna razlika između ova dva receptora je domena smrti (od *death domain* DD) koja je prisutna samo na TNFR-1 (42). Aktivacija TNFR djeluje na staničnu proliferaciju, preživljenje, diferencijaciju i apoptozu. Ove biološke aktivnosti dio su povoljnog učinka koji se odvija u domaćinu tijekom upale, kao i protektivnog imunološkog odgovora u zaraznim bolestima i tijekom organogeneze i održavanja limfnih struktura u organizmu. S druge strane, TNF- $\alpha$  ima štetne učinke po domaćina u sepsi, sindromu vrućice, kaheksiji i autoimunim bolestima (43). Dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je da je TNF- $\alpha$  jedan od kritičnih medijatora prirodene i stečene imunosti koji ima centralno mjesto u započinjanju upalne reakcije uključujući poticanje produkcije kemokina, drugih citokina, aktivacije i ekspresije adhezijskih molekula i stimulacije rasta (44), a povišene serumske i tkivne vrijednosti koreliraju sa težinom upale (45). Narušavanje ravnoteže u stvaranju TNF- $\alpha$  poticaj je za nastanak određenih kroničnih upalnih bolesti, što dokazuju pozitivni terapijski učinci nakon njegove neutralizacije kod bolesnika s upalnim bolestima crijeva ili reumatoidnim artritismom. Obzirom da su se u novije vrijeme ponovo aktualizirane paralele između kronične upale i karcinogeneze, ne čudi stoga da se TNF- $\alpha$  ponovo našao u fokusu interesa. Danas postoje znatni dokazi da je TNF- $\alpha$  uključen u promociju i progresiju kako eksperimentalnih, tako i karcinoma u ljudi, putem aktivacije transkripcijskih kompleksa NF- $\kappa$ B i AP-1 (46). TNF- $\alpha$  je snažan imunostimulatorni citokin koji istodobno posjeduje i sistemske i lokalne učinke na mikrookoliš tumora. Povišene serumske koncentracije TNF- $\alpha$  opisane su u osam različitih tipova karcinoma (karcinom pluća ne-malih stanica, karcinom dojke, kolorektalni karcinom, karcinom prostate, kronična limfocitna leukemija, maligni melanom, non-Hodgkin limfom i



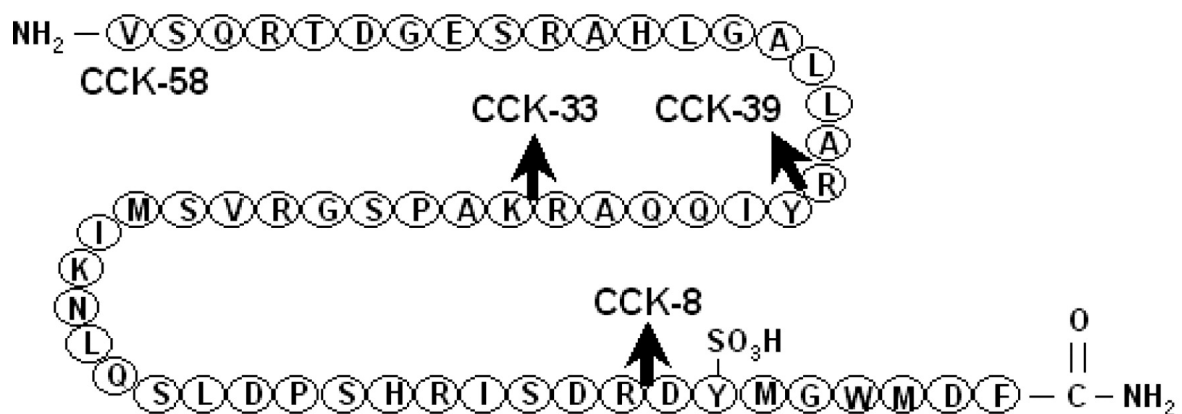
karcinom želuca) (33). Recentna istraživanja pokazuju da TNF- $\alpha$  može inducirati depleciju masnog tkiva, i to stimulacijom lipolize i inhibicijom lipoprotein lipaze (47, 48). U ljudskim adipocitima jedan od najvažnijih mehanizama stimulacije lipolize putem TNF- $\alpha$  odvija se aktivacijom NF $\kappa$ B puta (49). Anorektični učinak TNF- $\alpha$  postiže direktno u centralnom živčanom sustavu prolazeći krvno-moždanu barijeru. TNF- $\alpha$  ovisno o dozi suprimira uzimanje hrane bilo da se daje centralno ili periferno (50). Mehanizam djelovanja vezuje se uz učinke na neuralnu aktivnost ventromedijalnih jezgara i lateralne hipotalamičke regije (51).

#### **1.1.2.1.3. IL-6 i TNF- $\alpha$ u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom**

U studijama na bolesnicima sa bilijarnom opstrukcijom postoje oprečni podaci. Nekoliko autora je dokazalo da su koncentracije IL-6 povišene u bolesnika s malignom i benignom bilijarnom opstrukcijom, a da imaju tendenciju pada uspostavom bilijarne drenaže, tumačeći to pretpostavkom da ovi bolesnici razvijaju protuupalni odgovor koji modulira obrambene mehanizme i rezultira anergijom i povećanom podložnošću infekcijama (52-54). Kimmings i suradnici su pak pokazali da bilijarna opstrukcija uzrokuje promjene u cirkulirajućem IL-8 i proteinima koji vežu endotoksin, ali ne i TNF- $\alpha$  i IL-6, te da se njihove vrijednosti nisu značajnije promijenile niti nakon bilijarne drenaže (55). Padillo i suradnici su utvrdili povišene vrijednosti TNF- $\alpha$  samo u bolesnika s malignom bilijarnom opstrukcijom (56). Nakon parenteralnog davanja ovi citokini inhibiraju hranjenje što sugerira njihovu ulogu u nastanku anoreksije (57). Točni mehanizmi kojima periferni citokini moduliraju neurokemijske mehanizme odgovorne za ravnotežu energije tek se trebaju utvrditi (58).

### 1.1.2.2. Kolecistokinin

Eksperimentalni (59) i klinički modeli (60-63) doveli su u vezu regulaciju razine kolecistokinina (CCK) u plazmi sa prisustvom žučnih kiselina, proteaza i masti u lumenu dvanaesnika. CCK je hormon koji luče I-stanice locirane u duodenumu i jejunumu kao mješavina peptida sa različitim brojem aminokiselina (od 83 do 5) (64). U ljudskoj plazmi dominiraju CCK-58, CCK-33, CCK-22 i CCK-8, a karakterizira ih kratko vrijeme poluživota od 1-2 min (65). CCK se sintetizira i u centralnom živčanom sustavu, primarno u obliku CCK-8 (66).



Slika 1.1.2.2. Primarna struktura kolecistokinina (CCK). Modificirano prema 67.

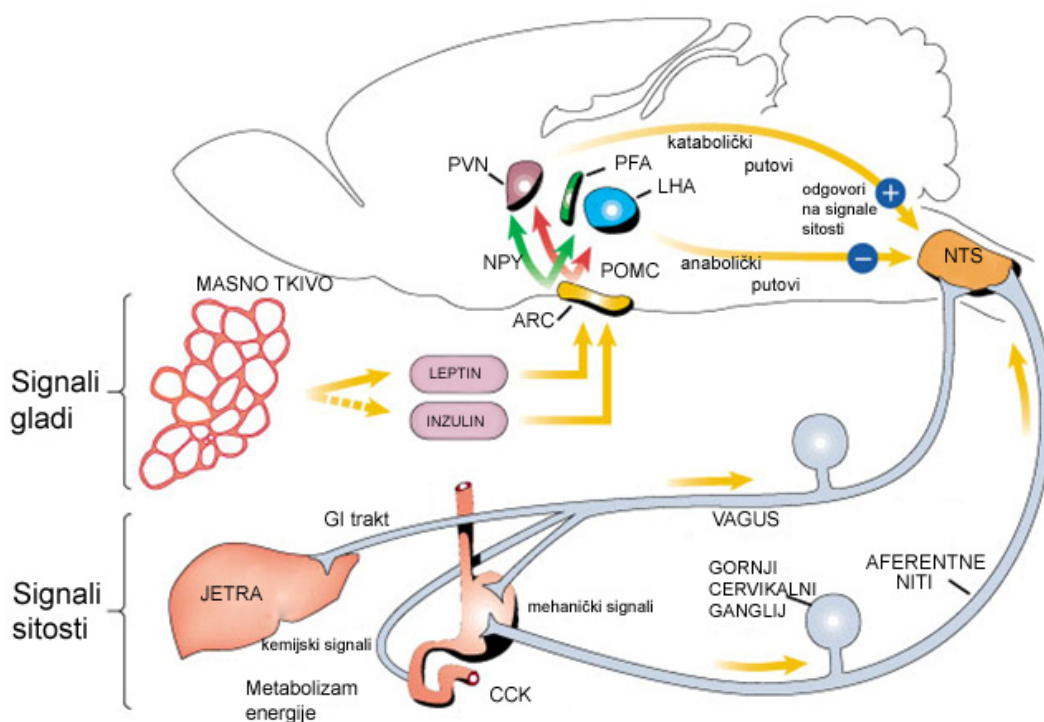
Iako je primarno otkriven kao crijevni hormon koji kontrolira kontrakcije žučnog mjehura i egzokrinu sekreciju gušterače, sve je jasniji njegov biološki značaj kao transmitera u centralnom i perifernom živčanom sustavu. Učinci CCK odvijaju se putem dva receptora:

CCK-1 (lokaliziran u probavnom sustavu) kojim se posreduje kontrakcija žučnjaka, relaksacija Odijevog sfinktera, sekrecija gušterače, usporavanje pražnjenja želuca i inhibicija lučenja želučane kiseline (68) i CCK-2 (dominantno lokaliziran u centralnom živčanom sustavu) (69). CCK je prvi intestinalni hormon za koji je dokazano da ima anoreksigena svojstva u životinja (70) i ljudi (71). Dugolančane masne kiseline kao produkt hidrolize masti u dvanaesniku stimuliraju lučenje endogenog CCK, a on prenosi informacije o sitosti preko CCK-1 receptora na vagalnim aferentnim nitima čiji signali se obrađuju preko centralnog melanokortinskog sustava (72). Iako je kontrola sitosti putem CCK kratkoročna, odnosno rezultat je smanjenja količine obroka i energetske unosa, sve je više dokaza da CCK ima ulogu u dugoročnoj regulaciji ravnoteže energije (68). Kronična administracija CCK protutijela ili antagonista CCK-1 receptora rezultira povećanjem tjelesne mase glodavaca, bez značajnijeg povećanja unosa hrane (73). Tri objavljene studije u kojim se određivala koncentracija CCK u bolesnika s opstruktivnim ikterusom iznijele su različite rezultate. Miyasaka i suradnici i Padillo i suradnici pokazali su da bolesnici sa opstruktivnim ikterusom imaju povišene vrijednosti CCK u plazmi, dok Koop i suradnici nisu utvrdili razliku u vrijednosti CCK u bolesnika sa malignom bilijarnom opstrukcijom i kontrolnoj skupini (59, 74, 75). Do sada su objavljena dva rada u kojima je dokazana povezanost povišenih vrijednosti CCK u plazmi sa smanjenim kalorijskim unosom i lošijim nutritivnim statusom bolesnika sa bilijarnom opstrukcijom (75, 76). U animalnom modelu na štakorima kojima je podvezan glavni žučovod dokazano je da specifični antagonist CCK receptora (L-364,718) povećava unos hrane u usporedbi sa kontrolnom skupinom (77), no slične studije na ljudima ne postoje.

## 1.2 Appetit

### 1.2.1 Centralna regulacija perifernih signala

Zadnjih desetljeća brojna istraživanja dovela su do otkrića različitih gastrointestinalnih peptida odgovornih za kontrolu gladi i sitosti. Hipotalamus, kao mjesto integracije humoralno posredovanih informacija koje reflektiraju metaboličko stanje organizma, najvažnija je poveznica endokrinog sa središnjim živčanim sustavom. Periferni signali koji sadrže informacije o statusu energije i uhranjenosti pristižu u hipotalamus gdje se integriraju i obrađuju, te posljedično reguliraju daljnji unos i potrošnju energije. Središnje mjesto hipotalamičkih regulatornih neuroveza je nukleus arkuatus gdje su u međudjelovanju dvije specifične grupe neurona sa nasuprotnim učincima na potrošnju energije. Na grupi neurona u medijalnom nukleusu arkuatusu izraženi su neuropeptid Y (NPY) i aguti peptid (AgRP), a njihova stimulacija potiče unos hrane i povećanje tjelesne mase. Nasuprot tome, neuroni u lateralnom dijelu nukleusa arkuatusa koji sadrže pro-opiomelanokortinom (POMC)/kokainom i amfetaminom regulirane neuronske putove (CART) inhibiraju unos hrane i smanjuju tjelesnu masu (78, 79). Ravnoteža u aktivnosti ovih neuronskih mreža neophodna je za održavanje tjelesne mase (Slika 2).



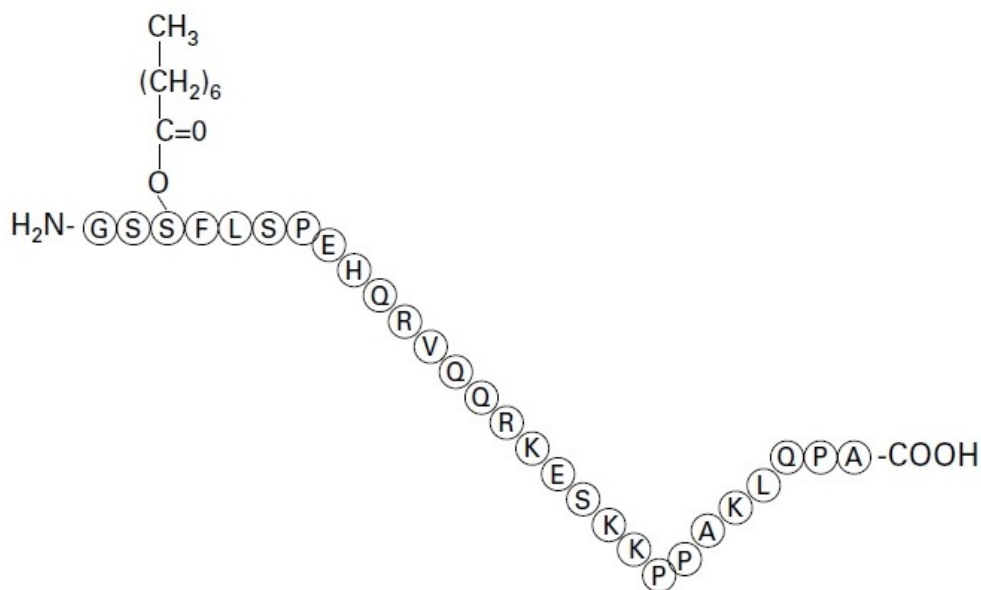
Slika 1.2.1. Neuroanatomski model međudjelovanja perifernih signala s centralnim autonomnim neuronskim mrežama putem kojih se regulira unos hrane. Modificirano prema 78.

Stražnji dijelovi mozga također su odgovorni za regulaciju sitosti. Nucleus tractus solitarii (NTS) i area postrema – sastavnice dorzalnog vagalnog kompleksa – koji primaju impulse iz vagalnih aferentnih niti i cirkulirajućih čimbenika, povezani su s hipotalamičkim jezgrama, ali mogu i samostalno odgovarati na periferne signale kada su veze sa višim dijelovima mozga prekinute (79). Povratni odgovor periferije na hipotalamičke signale je izuzetno kompleksan. Neki cirkulirajući čimbenici, uključujući i hormone koji se luče u crijevu, imaju direktni pristup nukleusu arkuatusu; leptin je prototip takvog hormona (80). S druge strane, neki periferni čimbenici, od kojih je do sada najviše istraživano upravo CCK, indirektno pristupaju hipotalamusu preko aferentnih vagalnih neurona i aktivacije NTS-a. Samo za manji broj

čimbenika postoji dokaz o direktnom i indirektnom pristupu hipotalamusu - jedan od njih je grelin.

### 1.2.2. Grelin

Do danas jedini poznati periferni peptid sa centralnim djelovanjem koji stimulira apetit je grelin (81). Grelin je otkriven 1999.g kao endogeni ligand za receptor sekretagoga hormona rasta (GHS-R) (81). Primarno se sintetizira kao preprohormon od 117 aminokiselina čijim se cijepanjem dobiju dvije molekule grelina – jedna veličine 28 aminokiselina (C-terminal Arg) i druga veličine 27 aminokiselina (C-terminal Pro). U posttranslacijskoj obradi odvija se acetilacija na mjestu serina pomoću enzima grelin O-acetiltransferaze (GOAT); acetilirani peptid građen od 28 aminokiselina je dominantna aktivna inačica enzima (82). (Slika 3)



Slika 1.2.2. Struktura humanog acetiliranog (1-28) grelina. Varijanti od 27 aminokiselina nedostaje arginin na C-terminalnom kraju. Deacetilirani grelin nema n-oktanoil ostatak na poziciji serina 3. Modificirano prema 83.

Većinu cirkulirajućeg grelina izlučuju X/A stanice u oksintičkim žlijezdama fundusa želuca, dok se manje količine sintetiziraju u tankom crijevu, prednjoj hipofizi, gušterači, plućima, limfocitima, bubrezima, placenti, testisima, jajnicima i mozgu (82). Razina grelina u plazmi je visoka tijekom gladovanja, značajno se smanjuje tijekom hranjenja i raste prije započinjanja obroka, što ga karakterizira kao potencijalnog inicijatora hranjenja (84). Učinci grelina odvijaju se najvećim dijelom putem aktivacije receptora GHSR-1a koji je u velikom broju prisutan u hipotalamusu i hipofizi (85). Egzogeni grelin, osim što stimulira sekreciju hormona rasta, izrazito potiče uzimanje hrane (86, 87). Oreksigeni efekti grelina posredovani su dominantno centralnim mehanizmima preko NPY/AgRP neurona u hipotalamičkom nukleus arkuatusu, iako postoje dokazi da može djelovati i indirektno putem dorzalnog vagalnog kompleksa u moždanom deblu i preko mezolimbičkog dopaminergičkog sustava (87-89). Osim što stimulira uzimanje hrane u ljudi, ali i brojnim drugim vrstama, grelin sudjeluje i u dugotrajnom održavanju ravnoteže energije. Kronična administracija grelina u glodavaca rezultira prolongiranom hiperfagijom i povećanjem tjelesne mase (86, 87). Kod ljudi grelin povećava intracitoplazmatsku akumulaciju lipida što vodi ka povećanju tjelesne mase (90). Vrijednosti grelina niske su u pretilih, povišene u mršavih, a izrazito visoke u osoba sa kaheksijom uzrokovanom različitim stanjima (anoreksija nervosa, karcinom, kronično zatajenje srca), što se smatra odgovorom prilagodbe (91-93). S druge strane, osobe sa Prader-Willi indromom imaju povišene vrijednosti grelina u plazmi čak i prije nego postanu adipozne (94). S obzirom da je GHSR-1a široko rasprostranjen u mozgu, i u drugim moždanim regijama je dokazana aktivnost nakon injekcije grelina (88, 95), pa se stoga može pretpostaviti da postoje i drugi, za sada još neistraženi, mehanizmi koji posreduju njegove raznolike učinke. Osim njegove uloge u kontekstu održavanja homeostaze energije, grelin je uključen u regulaciju više intestinalnih i ekstraintestinalnih funkcija (povećanje

gastrointestinalnog motiliteta, utjecaj na sekreciju želučane kiseline, smanjenje sekrecije inzulina, smanjenje krvnog tlaka, inhibicija apoptoze u kardiomiocitima, anksiogeneza i konsolidacija memorije) (96). Ne čudi stoga što su ove osobine urodile idejom da spojevi na bazi grelina mogu imati terapijske koristi u stanjima pothranjenosti koji su rezultat različitih subakutnih i kroničnih bolesti (82).

### **1.2.3. Međudnos grelina i kolekistokinina**

Recentna istraživanja fokusiraju se na otkrivanje interakcije grelina i drugih humoralnih faktora uključenih u regulaciju apetita. Budući da je oreksigeni učinak grelina također djelomično posredovan vagalnim aferentnim nitima, Date i suradnici utvrdili su da periferna injekcija CCK sprečava smanjenu aktivnost želučanih vagalnih aferentnih signala koje inducira grelin (97). Također, dokazano je da prethodna ili simultana injekcija CCK suprimira povećano uzimanje hrane nakon periferne administracije grelina (95, 98). Sukladno tome, značajno povećanje neuronske aktivnosti nukleusa arkuatusa nakon periferne aplikacije grelina smanjuje se nakon aplikacije CCK (98, 99). Podaci o utjecaju CCK na lučenje grelina su oprečni. Dvije studije dokazale su da egzogeni CCK suprimira izlučivanje grelina u zdravih ispitanika (100, 101), dok su dvije studije na animalnim modelima pokazale da administracija CCK povećava sekreciju grelina u želucu (102, 103). Može se zaključiti da postoje dokazi koji govore u prilog funkcionalnog antagonizma grelina i CCK na uzimanje hrane, no njihovo točno međudjelovanje tijekom sekrecije oba peptida još treba utvrditi (96). Do danas ne postoje istraživanja kojima bi se odredio utjecaj bilijarne opstrukcije na razinu grelina i njegovo ponašanje nakon korekcije kolestaze, uz analizu međudjelovanja čimbenika tumorske i/ili upalne anoreksije. Od 2000.godine provedeno je nekoliko kliničkih studija na



ljudima koje su imale zadaću procijeniti terapijski učinak grelina na apetit i uzimanje hrane. Rezultati tih studija konzistentno pokazuju da intravensko davanje aciliranog grelina, bilo u formi bolusa, bilo kontinuirane infuzije, dovodi do povećanog apetita i unosa hrane u zdravih dobrovoljaca (91, 104, 105), bolesnika s malignomima (106-109), plućnom kaheksijom (110, 111) i terminalnom bubrežnom insuficijencijom (112, 113). U fazi I kliničkog ispitivanja na zdravim dobrovoljcima oralni analog grelina RC-1291 doveo je do povećanja u tjelesnoj masi, bez nuspojava ovisnih o dozi (114). Za sada obećavajuća uloga grelina u terapiji kaheksije tek se treba jasno definirati kliničkim studijama na specifičnim populacijama bolesnika.

### **1.3 Nutritivni status**

Možemo reći da je nakon disanja nutritivni proces druga vitalna funkcija u sisavaca, budući da mu je zadaća transformirati unesenu hranu u nutrijente koji se mogu apsorbirati duž probavnog trakta do svih tjelesnih stanica. Ovaj proces ovisi o brojnim čimbenicima i kao što je djelomično pokazano, oni su dio kompleksnog regulatornog sustava koji uključuje hormonske, živčane i imunološke komponente. Održanje optimalnog nutritivnog statusa rezultat je učinkovite integracije signala koji ukazuju na postojeće energetske zalihe i dostupnu energiju iz netom uzete hrane (115).

#### **1.3.1. Nutritivni status bolesnika sa bilijarnom opstrukcijom**

Malnutricija je česta u bolesnika sa opstrukcijskim ikterusom. Više od 50% bolesnika prezentira se nekim od oblika proteinsko-kalorijske malnutricije koja je povezana sa većim mortalitetom i duljim hospitalnim boravkom nakon intervencije (116, 117). Značajan broj

bolesnika sa opstruktivskim ikterusom zahtijeva kirurški zahvat, a dokazano je da su malnutricija i ikterus neovisno povezani sa značajnim morbiditetom nakon operativnog zahvata (118-120). Kontrolirane opservacijske studije dokazale su da prepoznavanje i liječenje nutritivnog deficita poboljšava ishod operativnog zahvata (121, 122). Padillo i suradnici objavili su podatak da više od dvije trećine bolesnika sa bilijarnom opstrukcijom ima neadekvatni kalorijski unos, bez obzira na etiologiju bolesti (75). Iako je gubitak tjelesne mase najizrazitiji u bolesnika s malignom etiologijom bolesti, bilijarna opstrukcija samostalno dovodi do malnutricije multiplim mehanizmima koji uključuju smanjeni unos hrane (75, 123), oštećenu apsorpciju masti i u masti topljivih nutrijenata, te nazočnost supkliničke ili kliničke bilijarne infekcije (124). Relativni doprinos svakog od ovih faktora u nastanku malnutricije teško je odrediti. Intenzitet i trajanje bilijarne opstrukcije mogu se dovesti u vezu sa razvojem malnutricije, a ta činjenica upućuje da odsustvo žuči u dvanaesniku može inducirati sintezu medijatora anoreksije.

### **1.3.2. Sindrom tumorske anoreksije/kaheksije**

Tijekom nekoliko prošlih desetljeća postignut je znatni napredak u ranom otkrivanju malignih bolesti i učinkovitosti antineoplastične terapije koji je doveo do produženog preživljenja bolesnika. U skladu s time suportivna skrb koja pozitivno utječe na kvalitetu života, nutritivni status, a u konačnici i preživljenje, postaje izuzetno značajna, iako često zanemarena, sastavnica skrbi za ove bolesnike. Tumorski rast povezan je sa mnogobrojnim metaboličkim i neurokemijskim promjenama koje vode ka sindromu anoreksije/kaheksije. Tumorski sindrom anoreksije/kaheksije učestalo je prisutan među bolesnicima sa malignim bolestima (prema nekim podacima čak do 80%) i jedan je od najčešćih uzroka njihove smrti (125). Anoreksija se definira kao gubitak apetita, dok kaheksija rezultira progresivnim gubitkom mišićnog i

masnog tkiva. Iako se anoreksija i kaheksija često pojavljuju zajedno, stupanj gubitka tjelesne mase ne može se u potpunosti pripisati smanjenom unosu hrane. Gubitak mišićne mase u bolesnika sa malignim bolestima odvija se i u slučajevima normalnog unosa hrane, a mišićna proteoliza može se detektirati i prije nego što nastupi gubitak tjelesne mase (126). Anoreksija per se dovodi do smanjenog uzimanja hrane i posljedičnog gubitka tjelesne mase, a udružena sa kaheksijom ima sinergistički učinak na kvalitetu života, morbiditet i smrtnost (127). Značajne metaboličke promjene koje se odvijaju tijekom tumorskog rasta posredovane su brojnim čimbenicima uključujući faktor indukcije proteolize (PIF) koji uzrokuje razgradnju proteina u skeletnim mišićima (128) i faktor mobilizacije lipida (LMF) koji potiče razgradnju masnog tkiva (129). Dok ove čimbenike izlučuje tumor, drugi, kao što su proinflamatorni citokini TNF- $\alpha$ , IL-1 i IL-6, luče se kao posljedica interakcije domaćina i tumora (50). Sve je više dokaza da je tumorska anoreksija multifaktorijalna u svom nastanku i da uključuje većinu hipotalamičkih neuronskih signalnih putova koji moduliraju unos energije, međutim, precizni neurokemijski mehanizmi još se istražuju. Jedna je od prihvaćenih teorija da tumorsku anoreksiju posreduje nemogućnost hipotalamusa da adekvatno odgovori na periferne signale koji ukazuju na deficit energije (130). Ključnu ulogu u ovoj „hipotalamičkoj rezistenciji“ čini se da imaju citokini, koji aktiviraju POMC/CART, a inhibiraju NPY/AgRp neuronske putove. Postoje i dokazi da citokini povećavaju serotonergičku aktivnost u hipotalamusu koja doprinosi stalnoj aktivaciji POMC/CART neurona (114). Povišene serumske koncentracije IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  utvrđene su u bolesnika sa različitim karcinomima i njihova koncentracija korelira sa progresijom tumora (131). Nedvojbeni dokazi za direktnu povezanost citokina i anoreksije nedostaju zato što su biološki učinci citokina najvećim dijelom posredovani parakrinim i autokrinim mehanizmima, tako da cirkulirajuće koncentracije ne moraju nužno odražavati njihovu ulogu u specifičnim biološkim

odgovorima, već samo sugerirati utjecaj (127, 131). Taj utjecaj bi se upravo mogao ostvarivati preko hiperaktivacije POMC/CART sustava (130). Hanada i suradnici dokazali su da su vrijednosti grelina u serumu i njegove mRNA u želucu miševa s melanomom povišene, ali je njihovo uzimanje hrane bilo smanjeno (132). Razina grelina u serumu bolesnika sa karcinomom pluća ne razlikuju se od onih kontrolne skupine, međutim značajno su povišene u bolesnika sa razvijenom kaheksijom u odnosu na one bez kaheksije (133). Rezultati životinjskih i studija na ljudima sugeriraju da povećana koncentracija grelina u bolesnika sa tumorskom kaheksijom može predstavljati kompenzatorni mehanizam kataboličko-anaboličke neravnoteže koja se ne može korigirati zbog poremećaja u hipotalamičkoj regulaciji (127). Fiziološki značaj razine grelina u serumu i njegove korelacije sa težinom pothranjenosti stoga još nije do kraja utvrđen. Do sada je objavljeno samo jedno istraživanje prema kojem bolesnici sa malignom, u odnosu na one sa benignom bilijarnom opstrukcijom, imaju izrazitiji gubitak apetita i tjelesne mase (116).

### **1.3.3. Anoreksija u sklopu infekcije**

Anoreksija se javlja i tijekom upalnih stanja kao dio odgovora akutne faze koja se očituje u promjenama u imunološkim, endokrinim, metaboličkim i neurološkim funkcijama, što sve ima zajednički cilj inhibiciju proliferacije i širenja infektivnog agensa. Iako u početku može imati povoljne učinke za domaćina (jer se čuva energija koja bi se trošila za traženje hrane i njen metabolizam, a smanjuje se i dostupnost mikronutrijenata iz hrane neophodnih za rast nekih patogena) (134), dugotrajna anoreksija kompromitira sposobnost obrane domaćina i odgađa oporavak (58). Brojne studije ponovo su dokazale da citokini IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  imaju vodeću ulogu i u anoreksiji u sklopu infekcije (135-139). Ipak, adaptivni i kompenzatorni mehanizmi često limitiraju jednoznačnu povezanost između genskog produkta

i anoreksije u životinja kojima nedostaje gen za određeni citokin ili citokinski receptor, a taj učinak je najvjerojatnije posljedica preklapanja i sinergističkih međudnosa koji reguliraju citokine (140).

#### **1.3.4. Anoreksija starenja**

Starenje je povezano sa smanjenjem unosa energije. Danas postoje dokazi da je smanjeni unos energije fiziološki učinak procesa starenja i u tu svrhu se koristi termin „anoreksija starenja“ (141). Većina tog procesa najvjerojatnije je posljedica smanjene potrošnje energije koja je također normalni dio starenja (142), no u mnogih pojedinaca ta ravnoteža biva narušena u korist smanjenog unosa energije, što u konačnici vodi ka gubitku tjelesne mase. Ono što je u starijoj populaciji zabrinjavajuće je to što se taj gubitak tjelesne mase odvija nerazmjerno na račun mišićnog tkiva. Progresivna deplecija mišićnog tkiva započinje u četvrtom desetljeću života, a najizrazitija je nakon 60.god – 2% godišnje (142). Sarkopenija je povezana sa metaboličkim, fiziološkim i funkcionalnim oštećenjima koje vode ka povećanom riziku od padova, nepokretnosti i pothranjenosti (143). Uzroci anoreksije starenja nisu u potpunosti istraženi. Trenutni dokazi sugeriraju da je ona posljedica kombinacije smanjene senzorne percepcije probavnog trakta, supresije opioidne modulacije tijekom hranjenja, posebice u žena, i povećanja anoreksigenih učinaka CCK (144). Većina studija na ljudima pokazala je da su vrijednosti CCK u plazmi povišene u zdravih starijih naspram mlađih ispitanika (145-147), i pothranjenih starijih, naspram normalno uhranjenih starijih i mlađih ispitanika (148). Također postoje dokazi da se osjetljivost na anoreksigene učinke CCK povećava u starijoj dobi. U studiji koja je ispitivala učinke iv. infuzije CCK-8 na apetit i uzimanje hrane u starijih i mlađih zdravih ispitanika, dokazano je da je supresija uzimanja hrane bila dvostruko veća u

starijih (149). Isto tako postoje neki dokazi da je starija dob povezana sa smanjenom koncentracijom grelina u serumu (150, 151), čime bi se barem djelomično mogla objasniti anoreksija starenja. Starenje se također povezuje sa određenom razinom upale, koja uzrokuje ili pojačava značajni broj kroničnih medicinskih stanja. Jedan od citokina najčešće identificiranih u patogenezi sindroma povezanih sa starenjem je upravo IL-6; njegove vrijednosti rastu u starijoj životnoj dobi. Ako je disregulacija IL-6 direktna posljedica fiziološkog procesa starenja, a ne samo pratilac nekih paralelnih patoloških zbivanja, tada bi modulacija proizvodnje ili učinaka IL-6 mogla ponuditi izuzetno korisne terapijske mogućnosti u starijoj dobi (152).

## **2 HIPOTEZA**

Osnovna pretpostavka ovog istraživanja temelji se na opservaciji iz svakodnevne prakse da opstruktivski ikterus ima negativni učinak na nutritivni status bolesnika neovisno o etiologiji bilijarne opstrukcije, te da nutritivni parametri imaju važnu ulogu u ishodu liječenja ovih bolesnika. Obzirom na proturječne rezultate vrlo malog broja istraživanja u kojima je određivana koncentracija hormona koji reguliraju apetit u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom i njihovo ponašanje nakon korekcije kolestaze, uz analizu međudjelovanja medijatora tumorske, odnosno upalne anoreksije, smatrali smo da je od znanstvenog interesa istražiti utjecaj čimbenika koji reguliraju apetit i nutritivni status bolesnika prije i nakon rezolucije bilijarne opstrukcije.

Na temelju tih opservacija postavili smo slijedeće hipoteze:

1. Bilijarna opstrukcija utječe na razinu grelina, kolecistokinina, upalnih pokazatelja, apetit i nutritivni status bolesnika s opstruktivskim ikterusom.
2. Endoskopska bilijarna drenaža pozitivno utječe na razinu hormona koji reguliraju apetit, upalnih citokina i nutritivni status bolesnika.

### **3 CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Primarni cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj opstruktivskog ikterusa na vrijednosti hormona koji reguliraju apetit i nutritivni status bolesnika prije i nakon rješavanja bilijarne opstrukcije.

Specifični ciljevi istraživanja su :

1. utvrditi razinu grelina, kolecistokinina i upalnih pokazatelja u bolesnika s opstruktivskim ikterusom, te odrediti njihov apetit i stanje uhranjenosti
2. istražiti utjecaj težine, trajanja i etiologije bilijarne opstrukcije, *Helicobacter pylori* infekcije i općih karakteristika bolesnika na razinu grelina, kolecistokinina i upalnih pokazatelja
3. analizirati međudjelovanje navedenih hormonskih i biokemijskih parametara na nutritivni status i apetit bolesnika
4. analizirati utjecaj endoskopske unutarnje bilijarne drenaže na razinu hormona koji reguliraju apetit, upalnih pokazatelja, apetit i uhranjenost bolesnika.

### **ZNANSTVENI DOPRINOS**

Znanje o ulozi probavnog sustava u kontroli unosa hrane i regulaciji tjelesne mase povećava se gotovo svakodnevno. Iako smo svjedoci značajnog napretka u razumijevanju složenosti ovog sustava i neurohormonalnih putova koji reguliraju homeostazu energije, postoji još veliki broj neodgovorenih pitanja, primarno što se tiče peptidergičkih kontrolnih mehanizama. Ovim istraživanjem svakako očekujemo nove spoznaje o regulaciji apetita budući da u literaturi ne postoje istraživanja u kojima je određivan utjecaj bilijarne opstrukcije na koncentraciju grelina i njegovo ponašanje nakon korekcije kolestaze, uz međudjelovanje



čimbenika tumorske i/ili upalne anoreksije. Rezultati ovog istraživanja, kroz procjenu utjecaja opstruktivnog ikterusa na koncentracije hormona koji reguliraju apetit i nutritivni status bolesnika, mogu doprinijeti boljem razumijevanju međudjelovanja hormonskih i upalnih parametara na nutritivni status. Dobivene informacije mogu poslužiti u identifikaciji medijatora podobnih za terapijsku primjenu u pothranjenih bolesnika.

## 4 ISPITANICI I METODE

### 4.1 Ispitanici

Ovo je prospektivno ispitivanje u koje je uključeno ukupno 73 bolesnika s opstruktivnim ikterusom, hospitaliziranih na Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu, kojima je u cilju rješavanja bilijarne opstrukcije planirana endoskopska bilijarna drenaža. U istraživanje su uključene 3 skupine bolesnika: prvu skupinu čine bolesnici s opstruktivnim ikterusom benigne etiologije, drugu skupinu bolesnici s opstruktivnim ikterusom maligne etiologije, a kontrolnu skupinu čine zdravi dobrovoljci koji po općim karakteristikama (dobi i spolu) odgovaraju ispitivanim skupinama.

Uključeni su bolesnici s koncentracijom bilirubina većom od 35  $\mu\text{mol/L}$  i proširenjem intra i/ili ekstrahepatalnih žučnih vodova tijekom pregleda ultrazvukom. Bolesnici sa akutnim pankreatitisom, kliničkom slikom akutnog kolangitisa, bilijarnom sepsom i nebilijarnom patologijom koja onemogućava adekvatni unos hrane, te drugim kroničnim bolestima koje dovode do malnutricije nisu uključeni u ispitivanje. Bolesnici kojima se nije uspjela osigurati adekvatna bilijarna drenaža ili su razvili komplikaciju nakon ERCP-a (akutni pankreatitis, akutni kolangitis, hemodinamski značajno krvarenje, perforacija), bili su isključeni iz ispitivanja.

Nakon postavljanja dijagnoze opstruktivskog ikterusa i dobivanja pismenog informiranog pristanka bolesnika za sudjelovanje u ispitivanju, ujutro nakon 10-satnog gladovanja bolesnicima se odredio apetit (vizualno analogna skala za glad), antropometrijska mjerenja [tjelesna masa (TT), tjelesna visina (TV), indeks tjelesne mase (BMI), postotak masnog tkiva] i nutritivni probir (Nutritional Risk Screening 2002 – NRS 2002) u sklopu određivanja nutritivnog statusa, te koncentracija grelina i kolecistokinina, TNF- $\alpha$  i IL-6. Svim

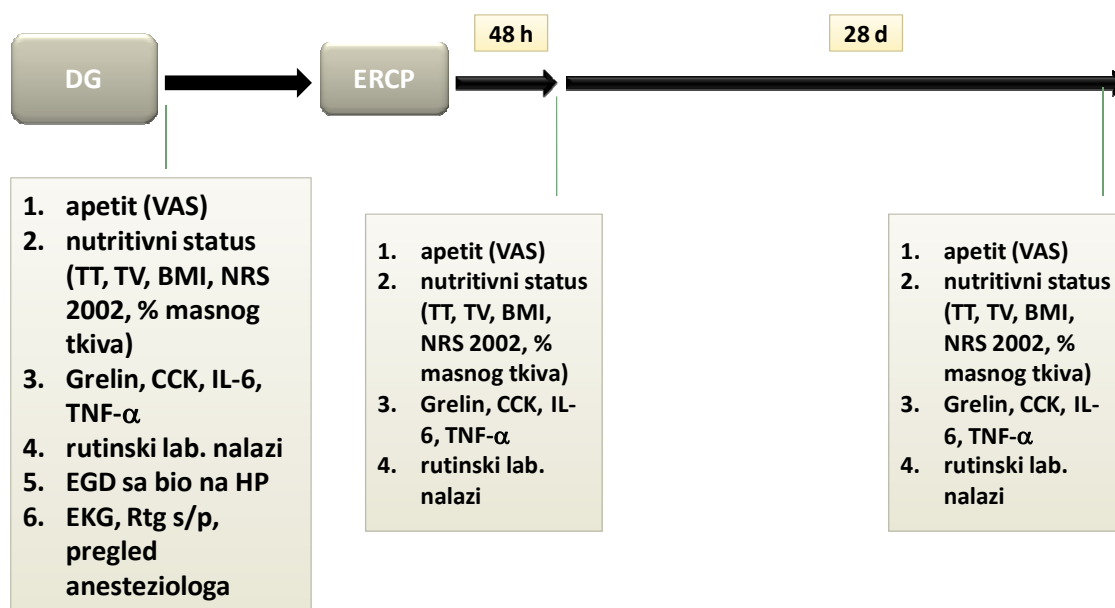
bolesnicima je učinjena standardna priprema za endoskopsku retrogradnu kolangiopankreatografiju (ERCP) koja uključuje rutinske laboratorijske nalaze (KKS, CRP, SE, AST, ALT, bilirubin, AF, GGT, kreatinin, GUK, elektroliti, Ca, amilaze u serumu i urinu, elektroforeza proteina, lipidogram, parametri koagulacije), ezofagogastroduodenoskopiju (EGD) kojom prilikom su uzeti uzorci za određivanje prisutnosti kolonizacije s *Helicobacter pylori*, zatim elektrokardiogram (EKG), Rtg srca i pluća, te ispunjavanje anesteziološkog upitnika i pristanka za anesteziju uz pregled anesteziologa. Bolesnicima je učinjen ERCP kao standardna metoda za rješavanje bilijarne opstrukcije. U kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji bolesnicima je uz pomoć endoskopa sa lateralnom optikom (Olympus duodenoskop TJF 160 R ) selektivno kanulirana papila Vateri i prikazano bilijarno i/ili pankreasno stablo (ovisno o etiologiji bilijarne opstrukcije i tehničkim mogućnostima). Nakon utvrđivanja uzroka opstrukcije proveden je adekvatan endoskopski zahvat za njezino rješavanje, koji podrazumijeva sfinkterotomiju i ekstrakciju konkremenata dormia košaricom ili balonom u slučaju koledokolitijaze, dilataciju stenoza balonom ili implantaciju endobilijarne proteze u slučaju maligne opstrukcije. Četrdeset osam sati nakon uspješne unutarnje bilijarne drenaže ponovljeno je određivanje nutritivnog statusa, apetita, biokemijskih parametara i hormona. Dvadeset osam dana nakon uspješne unutarnje bilijarne drenaže ponovljeno je određivanje nutritivnog statusa, koncentracije apetita, biokemijskih parametara i hormona.

U kontrolnu skupinu uključeno je 40 zdravih ispitanika koji prema dobi i spolu odgovaraju ispitanicima s opstrukcijskim ikterusom.

Svi ispitanici upoznati su sa protokolom i svrhom istraživanja, a prije uključivanja potpisali su suglasnost za sudjelovanje u istraživanju. Istraživanje je provedeno u skladu s etičkim načelima i Deklaracijom iz Helsinkija iz 2000.godine. Istraživanje je provedeno na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti i Klinici za onkologiju i

nuklearnu medicinu KBC „Sestre milosrdnice“. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva KBC „Sestre milosrdnice“ i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## METODOLOGIJA I PLAN ISTRAŽIVANJA



## 4.2. Mjerenja

### 4.2.1. Antropometrijska mjerenja

Tjelesna masa je određivana u laganoj odjeći pomoću prenosne elektroničke vage (Seca, Njemačka).

Tjelesna visina je mjerena portabilnim stadiometrom (Seca 220, Njemačka).

Tjelesna masa i visina su korištene u izračunu indeksa tjelesne mase ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Za probir nutritivnog rizika korišten je alat Nutritional Risk Screening 2002 - NRS 2002.

Prema njemu nutritivni rizik se izračunava zbrajanjem 0-3 boda u ovisnosti o odstupanju od

normale u nutritivnom statusu, te 0-3 boda prema težini bolesti, uz dodavanje 1 boda bolesnicima koji su stariji od 70 godina. Bolesnici sa zbrojem  $\geq 3$  smatraju se da su u nutritivnom riziku i zahtijevaju nutritivnu potporu (153) (Prilog 11.1). Bolesnici za koje smo utvrdili da su pothranjeni dobili su nutritivnu potporu u vidu komercijalnih oralnih nutritivnih suplemenata u dozi od 440 do 480 mL dnevno (720-880 kcal dnevno) kroz 28 dana. Za bolesnike s malignom bolesti nutritivna potpora nastavljena je i nakon tog perioda.

Apetit – osjećaj gladi od strane svakog ispitanika ocjenjivan je pomoću vizualno analogne skale (VAS) koja se sastoji od horizontalne linije duljine 10 cm. Početak linije, odnosno 0, predstavlja osjećaj potpunog odsustva gladi, dok broj 10 predstavlja osjećaj najveće gladi. Ispitanici su zamoljeni da stave oznaku preko linije na mjesto koje odgovara njihovom osjećaju gladi u tom trenutku (Prilog 11.2)

Bol – osjet boli ocjenjivan je pomoću vizualno analogne skale (VAS) koja se sastoji od horizontalne linije duljine 10 cm. Početak linije, odnosno 0, predstavlja stanje bez ikakvog osjeta boli, dok broj 10 predstavlja osjećaj najjače boli. Ispitanici su zamoljeni da stave oznaku preko linije na mjesto koje odgovara njihovom osjećaju boli u tom trenutku. (Prilog 11.3)

#### **4.2.2. Biokemijska mjerenja**

Svakom je ispitaniku uzeta je venska krv iz kubitalne vene natašte u jutarnjim satima (između 7:00 i 7:30) i u standardnim uvjetima.

Kompletna krvna slika (KKS) analizirana je na automatskom hematološkom brojaču (hematološki analizator Beckman Coulter HmX ).

Rutinske laboratorijske pretrage iz seruma [kalij (K), natrij (Na), klor (Cl), glukoza (GUK), kreatinin, bilirubin, laktat-dehidrogenaza (LDH), aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), gama-glutamilttransferaza (GGT), alkalna fosfataza (AF), ukupni kolesterol, trigliceridi, LDL, C reaktivni protein (CRP), kalcij (Ca)] analizirane su uporabom originalnih reagensa (Beckman Coulter International S. A.) za sve parametre. Sve analize izvođene su pomoću analitičkog sustava na automatskom analizatoru AU 2700 (Beckman 40 Coulter International S. A.).

Venska krv je sakupljana u EDTA epruvete hladene ledom koje sadrže 1000 jedinica aprotinina/mL krvi za određivanje CCK i grelina. Plazma je odvojena centrifugiranjem (1000 okretaja/min kroz 15 min na 4°C) 10 min od sakupljanja i pohranjena na -70°C do analize.

CCK – CCK je određivan u plazmi ispitanika kvantitativnom ELISA metodom (engl. *sandwich enzyme immunoassay*) komercijalnim humanim CCK kitom (Cusabio). Protutijelom specifičnim za humani CCK obložene su radne pločice – standardi i uzorci plazme ispitanika pipetiraju se u bunariće, a sve količine prisutnog CCK se vežu na imobilizirano protutijelo. Nakon što se ukloni sva nevezana supstanca, dodaje se protutijelo specifično za CCK na koje je vezan biotin, a potom se nakon ispiranja dodaje peroksidaza na koju je vezan avidin. Nakon ponovnog ispiranja nevezanog reagensa, u bunariće se dodaje otopina supstrata nakon čega se razvija boja intenzitet koje je proporcionalan količini vezanog CCK u inicijalnom koraku. Ova metoda ima visoku osjetljivost i specifičnost za detekciju humanog CCK. Nije zabilježena značajna križna osjetljivost ili interferencija između humanog CCK i analoga. Raspon mjerenja za CCK je od 60 – 800 pg/mL. Minimalna detektabilna količina humanog CCK je tipično manja od 20 pg/mL.

Grelin – grelin je određivan metodom radioimunoeseja (RIA) komercijalnim kompletom (DIAsource ImmunoAssays S.A.). Za određivanje humanog grelina koristi se poliklonsko

zečje protutijelo visoke specifičnosti. Grelin se određuje kvantitativno. Kalibratori su načinjeni od rekombinantnog grelina, 125I-Tracer sa C-terminalnog peptida (AS 15 – 28) i prethodno sintetiziranog tirozina. Križna reaktivnosti s proteinima kao što su inzulin ili hormon rasta nije uočena. Raspon mjerenja za grelin je od 200 – 6400 pg/mL.

IL-6 – IL-6 je određivan u serumu ispitanika ECLIA metodom (engl. *electrochemiluminescence immunoassay*) komercijalnim IL-6 kitom (Roche Diagnostics GmbH, D-68305 Mannheim, Germany). Uzorci su analizirani na automatskom analizatoru Roche cobas e 411. U prvom koraku 30 $\mu$ L seruma pacijenta inkubirano je na 37 $^{\circ}$ C s monoklonskim IL-6-specifičnim protutijelom obilježenim biotinom i monoklonskim IL-6-specifičnim protutijelom obilježenim kompleksom rutenija. Kroz inkubaciju od 9 minuta protutijela formiraju sendvič kompleks s antigenom iz seruma. U drugom koraku dodane su mikročestice obložene streptavidinom koje se vežu na protutijelo obilježeno biotinom. Po završetku druge inkubacije od 9 minuta, reakcijska smjesa koja sadrži imuni kompleks transportirana je u mjernu ćeliju u kojoj se mikročestice magnetski hvataju na površinu elektrode. Tom prilikom nevezane tvari uklonjene su pranjem uporabom ProCell-a. Primijenjeni napon na elektrodama potaknuo je emisiju kemiluminescencije, tj. došlo je do emitiranja svjetlosti količina koje je izravno proporcionalna visini IL-6 u serumu ispitanika. Koncentracija IL-6 u pg/mL određena je na temelju standardne krivulje koja je nastala mjerenjem poznate koncentracije antigena (IL-6 CalSet). Raspon mjerenja za IL-6 je od 1,5 – 5000 pg/mL.

TNF- $\alpha$  - TNF- $\alpha$  u serumu ispitanika određivan je CLIA metodom (engl. *chemiluminescence immunoassay*) rađena na automatskom analizatoru Immulite<sup>®</sup>1000 sistem (IMMULITE 1000 System, Siemens Medical) uporabom komercijalnog kompleta Immulite 1000 TNF- $\alpha$  (Diagnostic Products Corporation) koji uključuje TNF- $\alpha$  test jedinice, TNF- $\alpha$  supstrat i TNF-

$\alpha$  reagens, te TNF- $\alpha$  kalibratore. Analitička metoda zasniva se na imuno-kemiluminiscenciji koja koristi selektivno vezanje protutijela koja inkorporiraju markere da bi izazvala mjerljivi signal. Immulite sustav koristi antitijelima obložene plastične kuglice kao čvrstu fazu, alkalnu fosfatazu kao reagens i supstrat kao kemiluminiscentni enzim. Svaka kuglica je smještena u vlastitu testnu jedinicu koja služi kao reaktor za imunološku reakciju, inkubaciju i pranje, te proces i razvoj signala. Nakon inkubacije od 60 min na 37°C, slijedi detekcija signala, tj. mjerenje intenziteta emitirane svjetlosti. Koncentracija TNF- $\alpha$  u pg/mL određuje se na temelju standardne krivulje koja je nastala mjerenjem antigena poznate koncentracije. Raspon mjerenja za TNF- $\alpha$  je od 1,7 – 1000 pg/mL.

*Helicobacter pylori* – prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije utvrđeno u histološkom preparatu bioptata želučane sluznice. Tijekom ezofagoduodenoskopije u sklopu pripreme za ERCP ispitanicima su uzeti bioptati sluznice želuca sa tipičnih mjesta za određivanje kolonizacije s *Helicobacter pylori* koja je određivana histokemijskim bojenjem metodom po Gimesi. U slučaju negativnog histološkog nalaza kolonizacije s *H.pylori* uz anamnestički podatak o uzimanju inhibitora protonske pumpe ili antagonista H<sub>2</sub> receptora, ispitanicima je mjesec dana po prestanku uzimanja istih lijekova određen antigen *H.pylori* u stolici standardnim komercijalnim testom prema imunokromatografskoj metodi (Diaquick, Dialab). Ispitanicima u kontrolnoj skupini određivan je antigen na *H.pylori* u stolici istom metodom.

### **4.3. Statistička analiza**

Analizom snage testa za ANOVU (3 ponavljana mjerenja) sa slijedećim parametrima: snaga testa od 90%,  $\alpha$  razina značajnosti od 0,05 i učinak veličine uzorka od 0,2 s pretpostavljenom korelacijom između mjerenja od 0,5 dobiven je ukupni uzorak ispitivane skupine od 55



ispitanika. Dodatnom analizom za nezavisni t-test (razlika između ispitivane i kontrolne skupine) pod istim uvjetima, utvrđeno je da kontrolnu skupinu čine 40 zdravih ispitanika. Analiza je provedena programom G\*Power for Windows 3.1.2.

Podaci su prikazani tablično i grafički. Učinjena je analiza normaliteta distribucije Smirnov-Kolmogorovljevim testom, i shodno dobivenim rezultatima primijenjeni su odgovarajući parametrijski, odnosno neparametrijski testovi. Kvantitativne vrijednosti su prikazane aritmetičkim sredinama i pripadajućim standardnim devijacijama, odnosno medijanima i interkvartilnim rasponima, ako vrijednosti ne slijede normalnu distribuciju. Kontinuirane varijable dvaju grupa uspoređivane su Mann-Whitney testom, a više grupa Kruskal-Wallis testom. Razlike u kvantitativnim vrijednostima između pojedinih mjerenja analizirane su ANOVOM za ponavljana mjerenja ili Friedmanovim testom. Logističkom regresijom napravljen je multivarijantni model predikcije utjecaja kliničkih odrednica i koncentracije grelina, kolecistokinina i upalnih pokazatelja na apetit i nutritivni status. Sve P vrijednosti manje od 0,05 se smatraju značajnima. U analizi je korištena statistička podrška MedCalc for Windows, verzija 11.3.1 ([www.medcalc.be](http://www.medcalc.be)).

## 5 REZULTATI

### 5.1 Osnovne kliničke karakteristike ispitanika

U istraživanje je inicijalno uključeno 73 bolesnika s opstruktivnim ikterusom, od kojih su njih 55 zadovoljili sve kriterije ispitivanja. Razlozi isključivanja 18 bolesnika su bili sljedeći: u 6 bolesnika nije se uspjela učiniti adekvatna unutarnja bilijarna drenaža, 5 bolesnika je razvilo postproceduralni pankreatitis, 6 bolesnika nije došlo na kontrolni pregled, a jednom bolesniku je unutar 28 dana transplantirana jetra. Analizirano je 55 bolesnika - od toga su njih 34 imali benignu etiologiju (28 bolesnika s koledokolitijazom, 5 s kroničnim pankreatitisom, 1 sa benignom postupalnom stenozom završnog koledokusa), a njih 21 malignu etiologiju bolesti (14 bolesnika s adenokarcinomom glave gušterače, 1 bolesnik s karcinoidom glave gušterače, 2 bolesnika s kolangiokarcinomom račvišta žučnih vodova, 4 bolesnika s malignom limfadenopatijom portalne regije). Bilijarna sfinkterotomija i ekstrakcija konkrementa iz glavnog žučovoda učinjena je u 28 bolesnika, kod 22 bolesnika je postavljena plastična potpornica u glavni žučovod (Soehendra Tannenbaum 10F, 5-9 cm; Cook Medical), a kod 5 bolesnika s malignom bolesti postavljena je samoekspandirajuća bilijarna potpornica u glavni žučovod (promjer 10 mm, 6-8 cm; Endoflex). Kontrolnu skupina činilo je 13 žena i 27 muškaraca koji po spolu i dobi odgovaraju ispitivanoj skupini. Osnovne kliničke karakteristike i usporedba bolesnika prema skupinama i kontrola prikazane su u Tablici 5.1.

Tablica 5.1. Osnovne kliničke karakteristike bolesnika

Parametri			Bolesnici s benignim opstruktivskim ikterusom n=34	Bolesnici s malignim opstruktivskim ikterusom n=21	Kontrolna skupina n=40	p vrijednost
Spol	Ženski	broj bolesnika (%)	12 (35%)	9 (43%)	13 (32%)	
	Muški	broj bolesnika (%)	22 (65%)	12 (57%)	27 (68%)	
Dob (g)	medijan (25.-75.percentila)		55,0 (43,0-67,0)	66,0 (60,5-83,0)	55,0 (43,0-67,0)	
	raspon (min.-maks.)		33-84	55-88	39-90	
Dijagnoze	Koledokolitijaza	broj bolesnika (%)	28 (82%)			
	Neoplazma glave gušterače adenokarcinom karcinoid	broj bolesnika (%)		14 (67%) 1 (5%)		
	Kronični pankreatitis	broj bolesnika (%)	5 (15%)			
	Maligna limfadenopatija karcinom želuca karcinom dojke karcinom pluća	broj bolesnika (%)		2 (9%) 1 (5%) 1 (5%)		
	Kolangiokarcinom	broj bolesnika (%)		2 (9%)		
	Stenozirajući papilitis	broj bolesnika (%)	1 (3%)			
Trajanje bilijarne opstrukcije (d)	medijan (25.-75.percentila)		10,0 (5,0-20,2)	14,0 (10,0-21,0)	NA	0,045*
Tjelesna masa (kg)	medijan (25.-75.percentila)		80,5 (73,5-92,0)	61,0 (46,0-75,8)	72,5 (63,0-75,4)	0,001*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	medijan (25.-75.percentila)		26,9 (23,7-28,7)	21,8 (17,0-24,0)	25,8 (22,9-27,9)	0,002**
Gubitak tjelesne mase (%)	medijan (25.-75.percentila)		3,8 (0,0-7,6)	12,0 (8,1-18,0)	0,0 (0,0-0,0)	< 0,001**
Masno tkivo (%)	medijan (25.-75.percentila)		24,0 (22,0-25,3)	19,0 (13,0-24,0)	29,5 (27,0-32,0)	< 0,001**
NRS 2002	medijan (25.-75.percentila)		2,5 (0,0-3,3)	4,0 (3,5-5,0)	0,0 (0,0-0,0)	< 0,001**
NRS 2002	<3	broj bolesnika (%)	17 (50%)	2 (9,5%)	38 (95%)	
	≥3	broj bolesnika (%)	17 (50%)	19 (90,5%)	2 (5%)	
Apetit (VAS)	medijan (25.-75.percentila)		4,0 (2,8-6,3)	3,0 (2,0-6,0)	4,0 (2,0-5,0)	0,641**
Bol (VAS)	medijan (25.-75.percentila)		0,0 (0,0-1,3)	1,0 (0,0-2,5)	0,0 (0,0-0,0)	0,001**
Helicobacter pylori +	broj bolesnika (%)		12 (35,2%)	8 (38,1%)	3 (7,5%)	0,005**
Pušenje	broj bolesnika (%)		15 (44,1%)	0 (0%)	7 (17,5%)	< 0,001**

\*Mann-Whitney U test (usporedba benigne i maligne skupine)

\*\*Kruskal-Wallis test (razlika između svih triju skupina)

Vidljivo je da je u obje ispitivane skupine bilo više muškaraca nego žena (65% prema 35% u skupini s benignim opstruktivskim ikterusom i 57% prema 43% u skupini s malignim opstruktivskim ikterusom). Ispitanici s benignom etiologijom bolesti bili su najvećim dijelom srednje (medijan 55, raspon 43-67 godina), dok su oni u malignoj skupini bili većinom starije životne dobi (medijan 66, raspon 60,5-83 godine). U skupini bolesnika s malignom etiologijom bolesti uočeno je duže trajanje bilijarne opstrukcije prije postavljanja dijagnoze (medijan 14 dana prema 10 dana u benignoj skupini,  $p=0,045$ ). Također, bolesnici s malignom etiologijom bolesti očekivano su imali značajno manju tjelesnu masu (medijan 61 kg prema 80,5 kg;  $p=0,001$ ), BMI (medijan 21,8  $\text{kg/m}^2$  prema 26,9  $\text{kg/m}^2$ ;  $p=0,001$ ) i postotak masnog tkiva (medijan 19% prema 24%;  $p=0,007$ ), a postotak gubitka tjelesne mase bio je veći (medijan 12% prema 3,8%;  $p<0,001$ ) nego u skupini bolesnika s benignom etiologijom bolesti. Ne čudi, stoga, da je značajno više bolesnika u malignoj skupini bilo pothranjeno u odnosu na one u benignoj (90,5% prema 50%;  $p<0,001$ ). Razina apetita prema analogno-vizualnoj skali nije se značajno razlikovala u obje skupine (medijan 3,0 prema 4,0;  $p=0,771$ ). Razina boli, koja bi mogla utjecati na apetit, također se nije bitnije razlikovala među dvjema skupinama bolesnika (medijan 1,0 u malignoj prema 0,0 u benignoj skupini;  $p=0,119$ ). Statistički značajna razlika što se tiče statusa kolonizacije s *H.pylori* u obje skupine bolesnika nije uočena (35,2% *H.pylori* pozitivnih bolesnika u benignoj prema 38,1% u malignoj skupini;  $p=0,834$ ). Pušača je bilo značajnije više u skupini bolesnika s benignom etiologijom bolesti (44,1% prema 0%;  $p<0,001$ ).

U odnosu na kontrolnu skupinu, kod ispitanika s benignom i malignom etiologijom bilijarne opstrukcije uočen je značajni gubitak tjelesne mase ukupno i u postotku ( $p<0,001$ ), niži BMI ( $p=0,002$ ) i postotak masnog tkiva ( $p<0,001$ ), te više vrijednosti NRS 2002 koje upućuju na pothranjenost ( $p<0,001$ ). Razina apetita nije se značajno razlikovala u ispitivanoj i kontrolnoj

skupini (medijan 4 prema 4;  $p = 0,374$ ). Razina boli prema vizualno analognoj skali bila je očekivano viša u ispitivanoj skupini ( $p < 0,001$ ). Kolonizacija s *H.pylori* bila je značajno češća u ispitivanoj skupini (36,7% prema 7,5%;  $p = 0,005$ ), kao i anamnestički podatak o aktivnom pušenju (44,1% prema 0%;  $p < 0,001$ ).

## 5.2 Rezultati analize laboratorijskih parametara ispitanika i kontrolne skupine

U Tablici 5.2. prikazane su usporedbe vrijednosti laboratorijskih parametara bolesnika s malignom i benignom bilijarnom opstrukcijom, te kontrolne skupine. Možemo vidjeti da je za većinu testiranih parametara uočena statistički značajna razlika između skupine bolesnika s opstruktivskim ikterusom i kontrolne skupine. Među parametrima upale jedino u broju leukocita nije nađena značajna razlika među skupinama. Parametri kolestaze su očekivano bili značajno viši (bilirubin, ALT, AST, GGT, AF), a parametri sintetske funkcije jetre (albumin, kolesterol) značajno niži u ispitivanoj skupini u odnosu na kontrolu. Od analiziranih hormona koji kontroliraju apetit, u ispitivanoj skupini dokazali smo značajno više vrijednosti grelina u serumu. Uočene su više vrijednosti CCK u serumu ispitanika s bilijarnom opstrukcijom, što bismo i mogli očekivati obzirom na povišene parametre kolestaze, no ta razlika nije dostigla statističku značajnost. Vrijednosti IL-6 i TNF- $\alpha$ , zajedno s C-reaktivnim proteinom i brzinom sedimentacije eritrocita, bile su značajno više u ispitivanoj skupini.

Prilikom usporedbe obje skupine ispitanika s bilijarnom opstrukcijom dobiveni su nešto drugačiji podaci. Među parametrima upale jedino se vrijednost CRP-a pokazala statistički značajnom i to na način da je CRP bio značajno viši u bolesnika s benignom bilijarnom opstrukcijom ( $p=0,001$ ), dok se vrijednosti IL-6 i TNF- $\alpha$  nisu bitno razlikovale u odnosu na etiologiju bolesti. Među parametrima kolestaze izdvajaju se jedino vrijednosti serumskog bilirubina koje su bile značajno više u bolesnika s malignom etiologijom bolesti (medijan 85,3 prema 270;  $p<0,001$ ), dok se vrijednosti AST, ALT, GGT, i AF nisu značajno razlikovale u obje skupine. Vrijednosti albumina i kolesterola također se nisu značajno razlikovale u obje ispitivane skupine. Obzirom na etiologiju bilijarne opstrukcije vrijednosti CCK opet nisu

pokazale značajnu razliku među skupinama, a isto tako niti vrijednosti grelina u serumu ispitanika.

Tablica 5.2 Laboratorijski parametri bolesnika s malignom i benignom bilijarnom opstrukcijom i kontrolne skupine

Parametar	Bolesnici s benignim opstruktivskim ikterusom		Bolesnici s malignim opstruktivskim ikterusom		p*	Kontrolna skupina		p**
	n=34		n=21			n=40		
	srednja vrijednost ± SD	medijan (25-75.percentila)	srednja vrijednost ± SD	medijan (25-75.percentila)		srednja vrijednost ± SD	medijan (25-75.percentila)	
CRP (mg/L)	17,96 ± 19,73	13,1 (6,6-19,6)	7,23 ± 4,06	6,3 (2,9-11,3)	0,001	3,1 ± 3,0	2,3 (0,9-3,4)	<0,001
SE (mm)	28,7 ± 21,9	25 (13,0-31,5)	26,7 ± 13,1	25 (12,0-41,0)	NS	10,9 ± 11,2	6,5(4-13,2)	<0,001
L (x10 <sup>9</sup> )	6,9 ± 2,4	6,7 (4,9-8,9)	5,8 ± 1,8	6,7 (3,9-7,0)	NS	6,2 ± 1,0	5,9 (5,5-7,2)	NS
Hb (g/L)	137,3 ± 16,6	141 (123,8-147,0)	123,8 ± 12,1	125 (113,5-134,5)	0,002	144,3 ± 13,4	140 (135,0-156,5)	<0,001
Trombociti (x10 <sup>9</sup> )	218,7 ± 52,4	220 (197,2-248,3)	196,1 ± 85,6	178 (113,5-289,5)	NS	237,9 ± 52,4	241 (188,5-289)	0,042
Bilirubin (µmol/L)	111,2 ± 68,8	85,3 (51,9-183,3)	252,8 ± 124,5	270 (145-359,8)	<0,001	12,9 ± 3,7	12,1 (10,7-14,0)	<0,001
AST (U/L)	172,5 ± 132,8	123 (84,0-212,3)	156,4 ± 85,8	155,0 (78,0-186,0)	NS	20,5 ± 5,3	19,0 (18,0-23,8)	<0,001
ALT (U/L)	364,0 ± 276,6	337,5 (84,8-547,5)	284,9 ± 230,7	232 (114-355,5)	NS	17,7 ± 5,5	16,0 (14,0-21,8)	<0,001
GGT (U/L)	543,9 ± 422,9	448 (333,8-602,8)	745,6 ± 804,3	396,0 (243,5-892,5)	NS	20,4 ± 5,7	18,0 (16,0-25,8)	<0,001
AF (U/L)	323,8 ± 128,9	287,5 (261,8-418,5)	368,1 ± 205,9	281,0 (243,5-434,0)	NS	77,3 ± 22,1	83,5 (63,5-94,3)	<0,001
GUK (mmol/L)	5,9 ± 1,4	5,8 (5,2-6,7)	6,9 ± 1,5	6,7 (6,3-7,6)	0,006	5,2 ± 0,6	5,3 (4,8-5,6)	<0,001
Kreatinin (µmol/L)	101,7 ± 31,8	89,0 (82,0-110,5)	110,8 ± 35,9	105,0 (80,5-123,5)	NS	88,4 ± 16,1	84,5 (76,0-104,0)	0,032
Ca (mmol/L)	22,3 ± 0,1	2,3 (2,2-2,5)	2,3 ± 0,2	2,4 (2,3-2,4)	NS	2,4 ± 0,1	2,4 (2,3-2,4)	NS
LDH (U/L)	205,9 ± 73,1	187,5 (152,8-213,5)	210,7 ± 47,5	196,0 (175,0-232,5)	NS	164,9 ± 31,1	158,0 (147,3-188,0)	0,004
Kolesterol (U/L)	5,6 ± 1,5	5,2 (4,9-6,8)	6,2 ± 1,9	5,4 (4,7-8,4)	NS	6,2 ± 0,9	6,0 (5,5-6,6)	0,033
Trigliceridi (mmol/L)	1,9 ± 0,9	1,9 (1,1-2,3)	2,8 ± 1,2	2,4 (1,9-3,1)	0,005	1,3 ± 0,3	1,3 (1,1-1,6)	<0,001
Albumin (g/L)	37,1 ± 4,5	37,8 (32,9-41,0)	36,3 ± 3,5	36,0 (33,1-39,3)	NS	43,1 ± 1,6	43,0 (42,0-44,1)	<0,001
GRELIN (pg/mL)	1928,9 ± 1074,9	1449,5 (1124,5-2398,8)	2509,1 ± 1934,5	1646,0 (1010,0-4179,0)	NS	639,9 ± 297,6	533,5 (368,5-931,5)	<0,001
CCK (pg/mL)	316,4 ± 210,6	291,7 (160,9-411,7)	229,1 ± 153,1	191,0 (142,6-218,5)	NS	183,8 ± 118,7	153,1 (72,3-262,4)	NS
IL-6 (pg/mL)	12,7 ± 11,7	7,0 (5,0-18,3)	10,8 ± 6,3	9,0 (8,0-11,0)	NS	3,7 ± 3,0	2,5 (2,0-4,0)	<0,001
TNF-α (pg/mL)	11,3 ± 4,8	11,0 (8,0-12,0)	12,1 ± 2,7	12,0 (10,5-14,5)	NS	6,2 ± 1,6	6,0 (5,0-7,0)	<0,001

\*Mann-Whitney U test (usporedba benigne i maligne skupine)

\*\*Kruskal-Wallis test (razlika između svih triju skupina)

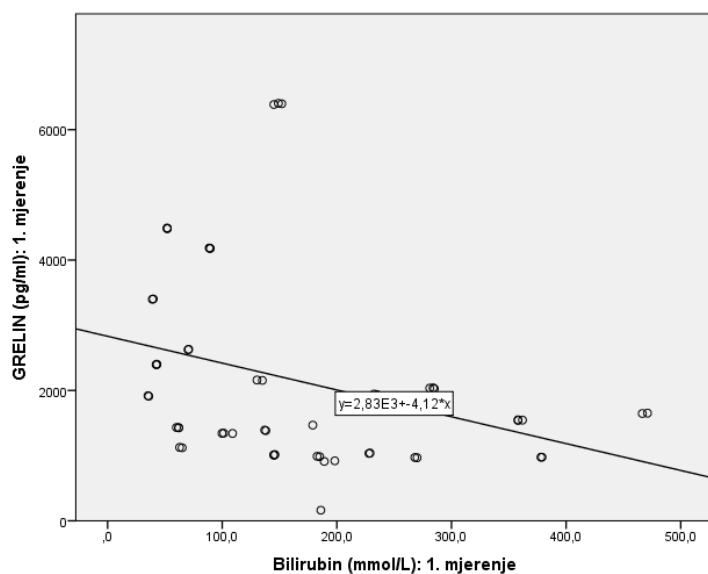


### 5.3 Utjecaj težine i trajanja bilijarne opstrukcije na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

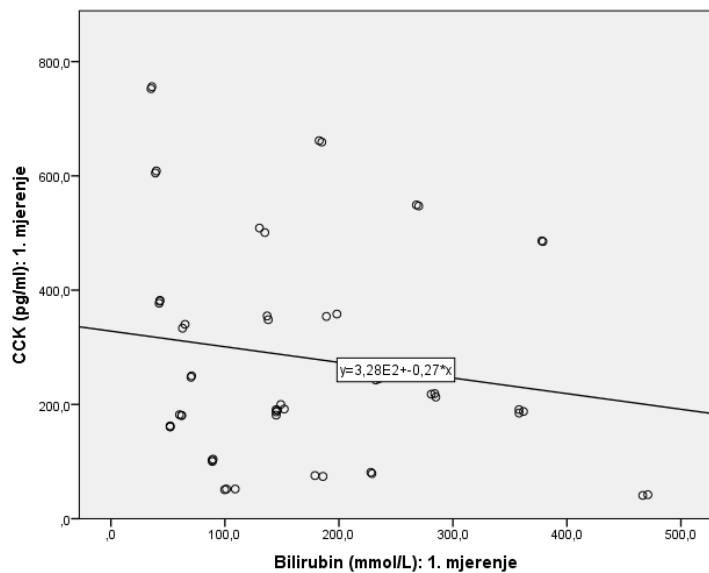
Da bismo istražili utjecaj težine, trajanja i etiologije bilijarne opstrukcije, infekcije *Helicobacter-om pylori* i općih karakteristika bolesnika na razinu grelina, kolecistokinina i upalnih pokazatelja učinjena je korelacija ispitivanih vrijednosti u bolesnika s opstrukcijskim ikterusom.

Za vrijednost serumskog bilirubina, kao parametar kojim najčešće procjenjujemo težinu bilijarne opstrukcije, dokazali smo negativnu povezanost s koncentracijom grelina u serumu, dok s vrijednostima CCK u serumu nije utvrđena značajna korelacija, što je grafički prikazano na Slikama 5.3.1. i 5.3.2.

Slika 5.3.1. Korelacija koncentracije bilirubina u serumu s koncentracijom grelina u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $r_s = -0,424$ ;  $p=0,001$ )

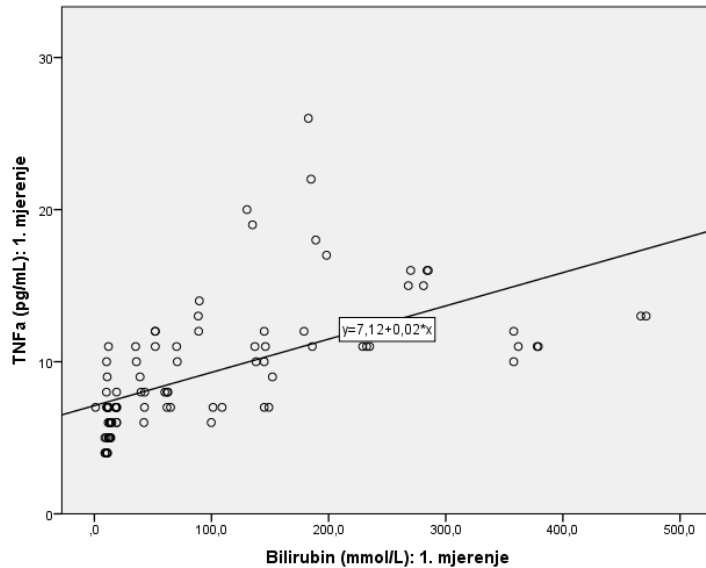


Slika 5.3.2. Korelacija koncentracije bilirubina u serumu s koncentracijom CCK u serumu u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $r_s = -0,153$ ;  $p=0,263$ )



Među parametrima upale pozitivna korelacija s težinom bilijarne opstrukcije uočena je samo za TNF- $\alpha$  (Slika 5.3.3.), dok s IL-6 ( $r_s = 0,246$ ;  $p = 0,071$ ), C-reaktivnim proteinom ( $r_s = 0,066$ ;  $p = 0,631$ ), brzinom sedimentacije eritrocita ( $r_s = 0,199$ ;  $p = 0,146$ ) i ukupnim brojem leukocita ( $r_s = -0,197$ ;  $p = 0,150$ ) nije bilo povezanosti.

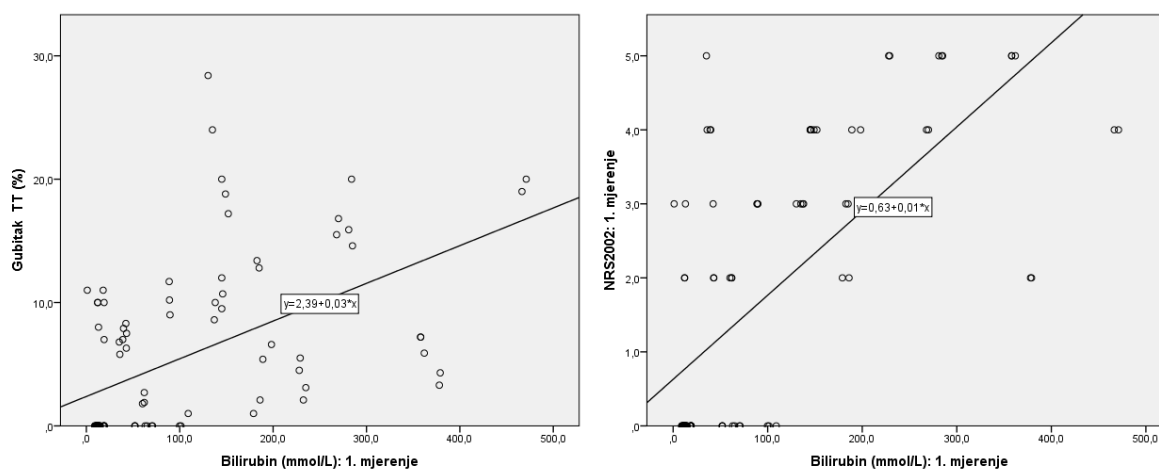
Slika 5.3.3. Korelacija koncentracije bilirubina u serumu s koncentracijom TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $r_s = 0,486$ ,  $p < 0,001$ )



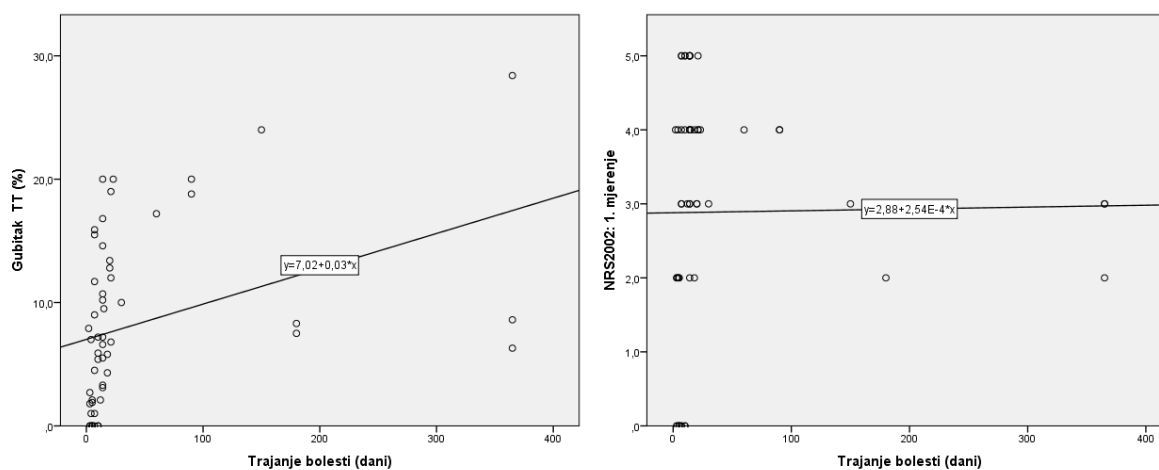
Nije utvrđena značajna povezanost između težine bilijarne opstrukcije i razine apetita prema vizualno-analognj skali ( $r_s = - 0,068$ ,  $p = 0,621$ ).

Od nutritivnih parametra uočena je pozitivna povezanost između težine i trajanja bilijarne opstrukcije i gubitka na tjelesnoj masi (%), te nutritivnog rizika (NRS 2002), što je grafički prikazano na Slici 5.3.4. i 5.3.5.

Slika 5.3.4. Korelacija koncentracije bilirubina u serumu s gubitkom na tjelesnoj masi ( $r_s = 0,367$ ;  $p=0,006$ ) i vrijednostima NRS 2002 ( $r_s = 0,480$ ,  $p<0,000$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



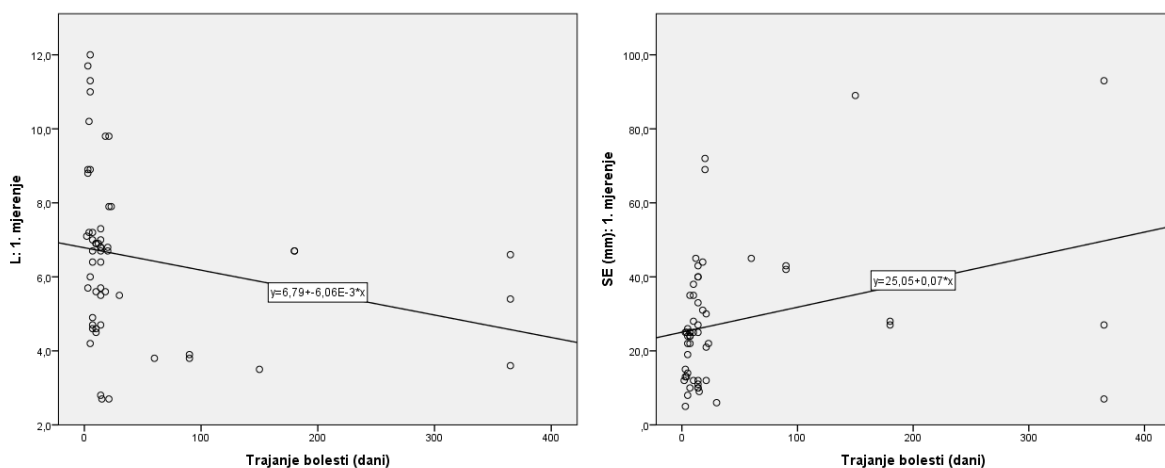
Slika 5.3.5. Korelacija trajanja bolesti s gubitkom na tjelesnoj masi ( $r_s = 0,642$ ;  $p<0,001$ ) i vrijednostima NRS 2002 ( $r_s = 0,324$ ;  $p=0,016$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



BMI ( $r_s = -0,138$ ,  $p=0,313$ ), postotak masnog tkiva ( $r_s = -0,077$ ,  $p=0,577$ ), ukupni kolesterol ( $r_s = 0,043$ ,  $p=0,738$ ) i vrijednost albumina u serumu ( $r_s = -0,244$ ,  $p=0,072$ ) nisu pokazali povezanost sa razinom bilirubina u serumu.

Nije uočena povezanost između trajanja bilijarne opstrukcije i koncentracije grelina u serumu ( $r_s = 0,066$ ;  $p = 0,634$ ), CCK ( $r_s = 0,352$ ;  $p=0,058$ ), IL-6 ( $r_s = 0,124$ ;  $p = 0,369$ ), TNF- $\alpha$  ( $r_s = 0,142$ ;  $p = 0,301$ ), razine apetita ( $r_s = 0,087$ ;  $p = 0,528$ ), BMI ( $r_s = -0,135$ ;  $p = 0,327$ ), postotka masnog tkiva ( $r_s = -0,105$ ;  $p = 0,448$ ) i vrijednosti albumina ( $r_s = -0,144$ ;  $p = 0,293$ ). Među upalnim parametrima utvrđena je pozitivna korelacija trajanja bolesti s brzinom sedimentacije eritrocita, a negativna s vrijednostima leukocita, što je grafički prikazano na Slici 5.3.7.

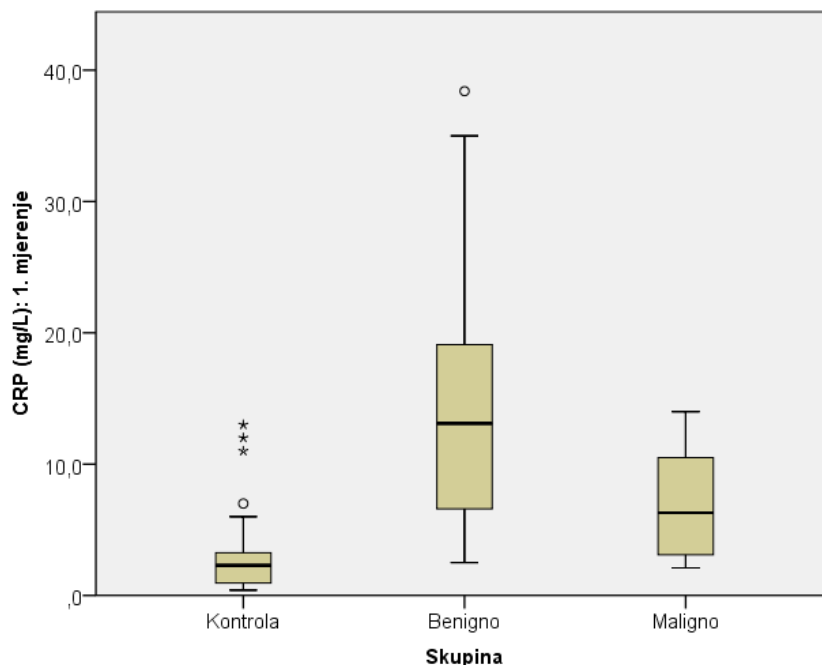
Slika 5.3.7. Korelacija trajanja bolesti s koncentracijom leukocita u serumu ( $r_s = -0,431$ ;  $p=0,001$ ) i brzinom sedimentacije eritrocita ( $r_s = 0,378$ ;  $p=0,004$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



#### 5.4 Utjecaj etiologije bilijarne opstrukcije na razinu grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

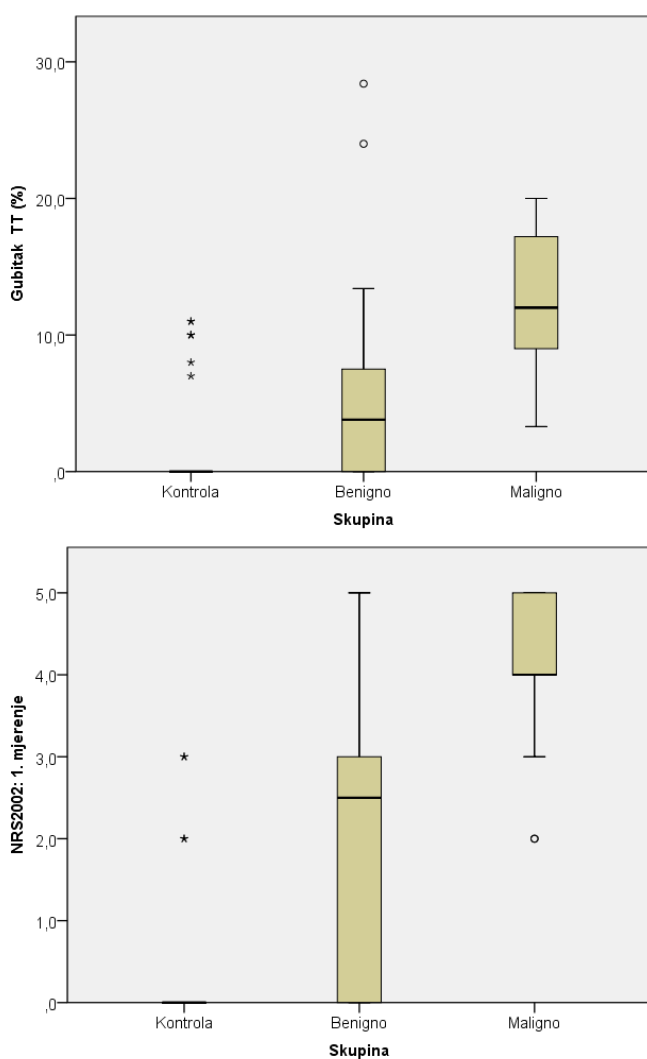
Analizom korelacije između etiologije bilijarne opstrukcije i razine hormona koji reguliraju apetit nismo uočili povezanost benigne ili maligne etiologije bolesti s koncentracijom grelina ( $\tau_b = 0,050$ ;  $p = 0,720$ ), niti CCK ( $\tau_b = -0,172$ ;  $p = 0,209$ ). Koncentracije IL-6 ( $\tau_b = 0,104$ ;  $p = 0,450$ ) i TNF- $\alpha$  ( $\tau_b = 0,246$ ;  $p = 0,070$ ) također nisu pokazale povezanost s etiologijom bolesti, a od upalnih pokazatelja jedino je za CRP uočena značajna negativna korelacija kod bolesnika s malignom bilijarnom opstrukcijom, što je prikazano grafički na Slici 5.4.1.

Slika 5.4.1. Korelacija etiologije bilijarne opstrukcije i koncentracije C reaktivnog proteina u serumu ( $\tau_b = -0,435$ ;  $p = 0,001$ ) bolesnika s bilijarnom opstrukcijom

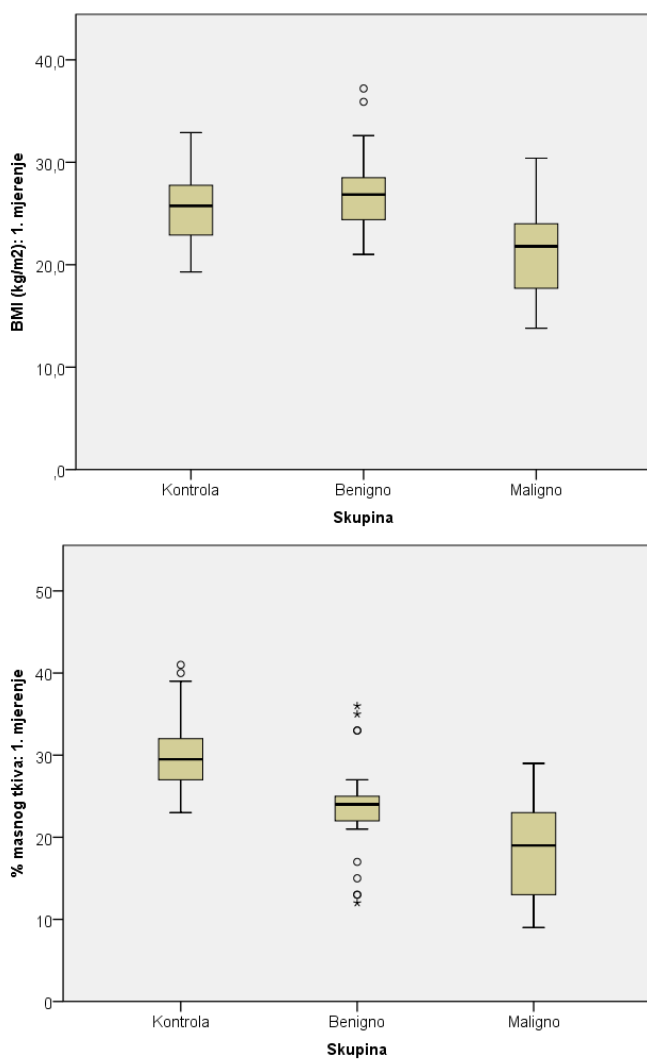


Kod bolesnika s malignom etiologijom bolesti očekivano su registrirani lošiji nutritivni parametri, pa je tako dokazana i korelacija s većim gubitkom tjelesne mase i višim rizikom pothranjenosti (Slika 5.4.2.). Sukladno tome, maligna etiologija bolesti povezana je s nižim indeksom tjelesne mase i postotkom masnog tkiva bolesnika (Slika 5.4.3)

Slika 5.4.2. Korelacija etiologije bilijarne opstrukcije s gubitkom tjelesne mase ( $\tau_b = 0,581$ ;  $p < 0,001$ ) i vrijednostima NRS 2002 ( $\tau_b = 0,517$ ;  $p < 0,001$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



Slika 5.4.3. Korelacija etiologije bilijarne opstrukcije s BMI ( $\tau_b = -0,433$ ;  $p = 0,001$ ) i postotkom masnog tkiva ( $\tau_b = -0,369$ ;  $p = 0,006$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



Iako se s obzirom na lošije nutritivne parametre mogla očekivati i povezanost s nižim vrijednostima albumina u serumu bolesnika s malignom etiologijom bolesti, ista nije dokazana ( $\tau_b = -0,098$ ;  $p=0,477$ ).

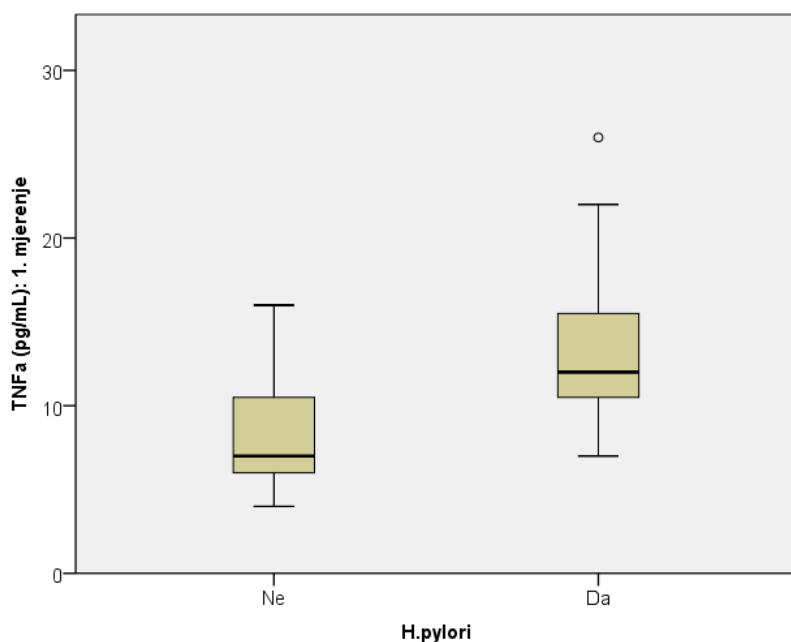
Također, maligna etiologija bolesti nije bila značajno povezana s nižom razinom apetita ( $\tau_b = -0,040$ ;  $p=0,774$ ).



## 5.5 Utjecaj kolonizacije s *Helicobacter pylori* na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

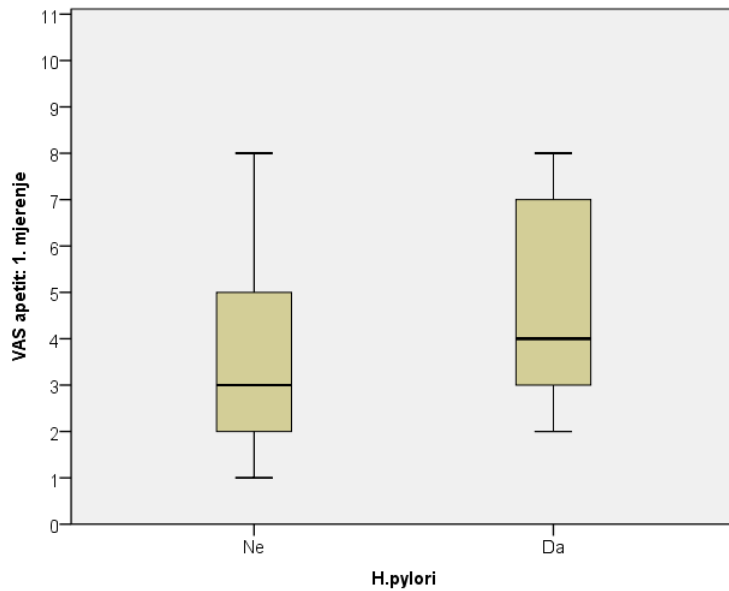
Analizom dobivenih rezultata nismo uočili utjecaj kolonizacije s *Helicobacter pylori* na koncentraciju hormona koji reguliraju apetit (grelin  $\tau_b = -0,152$ ;  $p=0,267$ ; CCK  $\tau_b = 0,136$ ;  $p=0,323$ ). Od upalnih parametara samo je TNF- $\alpha$  pokazao pozitivnu korelaciju u slučaju kolonizacije s *H.pylori*, što je prikazano na Slici 5.5.1.

Slika 5.5.1. Korelacija *Helicobacter pylori* kolonizacije i koncentracije TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $\tau_b = 0,396$ ;  $p=0,003$ ).

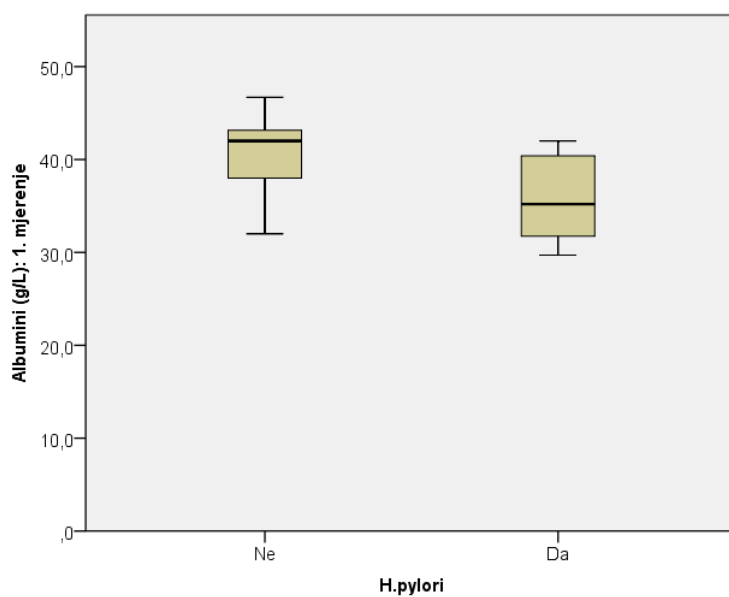


Zanimljivo je da je kolonizacija s *H.pylori* bila povezana s većom razinom apetita, što je prikazano na Slici 5.5.2. Od ostalih analiziranih parametara u slučaju *H.pylori* kolonizacije uočena je negativna korelacija s razinom albumina u serumu, što je prikazano na Slici 5.5.3.

Slika 5.5.2. Korelacija *Helicobacter pylori* kolonizacije i razine apetita u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $\tau_b = 0,356$ ;  $p=0,008$ ).



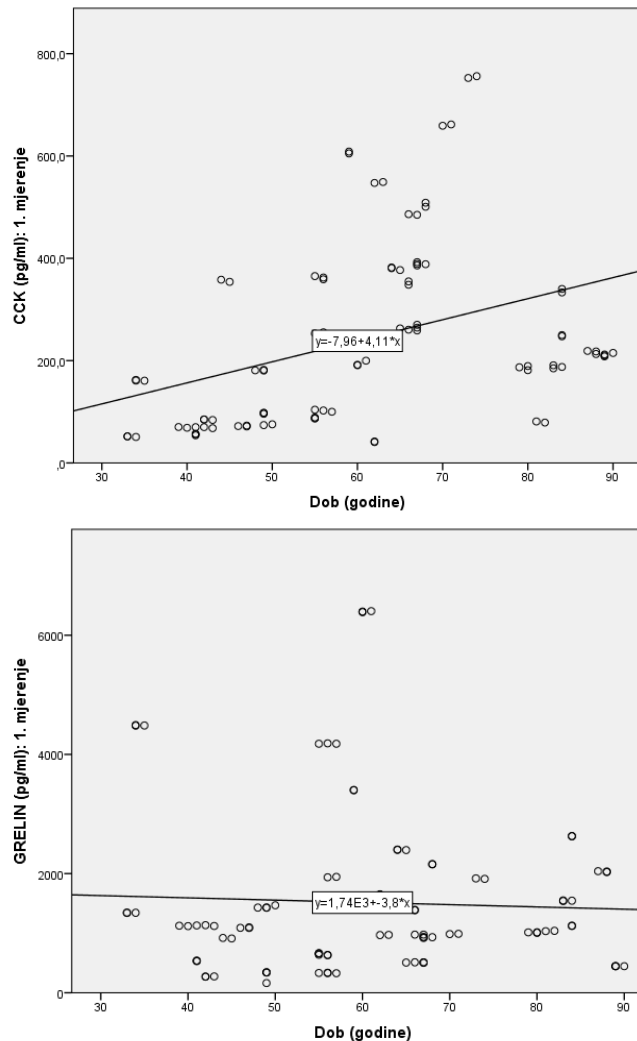
Slika 5.5.3. Korelacija *Helicobacter pylori* kolonizacije i koncentracije albumina u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom ( $\tau_b = -0,342$ ;  $p=0,011$ )



## 5.6 Utjecaj općih karakteristika bolesnika na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

Od općih karakteristika bolesnika korelirali smo dob, spol, prisustvo boli, pušenje i komorbiditet. Utvrđena je povezanosti dobi s koncentracijom CCK u serumu, i to u pozitivnom smislu, ali za grelin nije utvrđena korelacija s godinama života (Slika 5.6.1.)

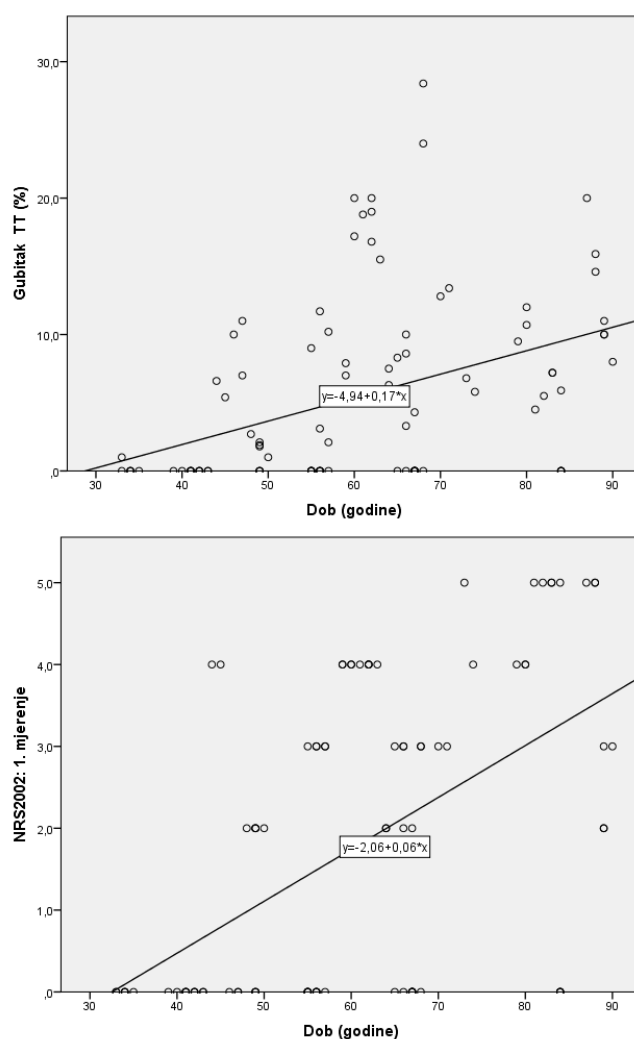
Slika 5.6.1. Korelacija dobi s koncentracijom CCK ( $r_s = 0,354$ ;  $p = 0,008$ ) i grelina ( $r_s = -0,104$ ;  $p = 0,451$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



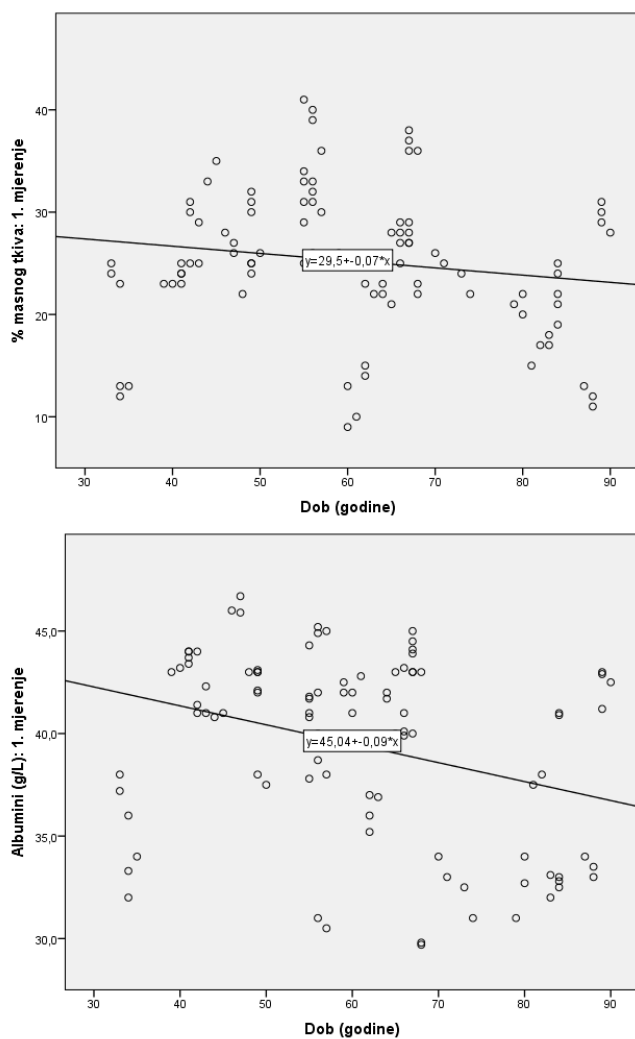
Upalni pokazatelji nisu dosegli značajnu razinu korelacije s dobi ispitanika (IL-6  $r_s = 0,230$ ;  $p=0,091$ ; TNF- $\alpha$   $r_s = 0,180$ ;  $p=0,189$ ; CRP  $r_s = - 0,105$ ;  $p=0,444$ ).

S obzirom na poznatu činjenicu da se lošiji nutritivni pokazatelji češće registriraju u starijoj dobi, to je potvrđeno i u našoj populaciji bolesnika. U višoj životnoj dobi je potvrđena povezanost s većim gubitkom tjelesne mase i većim rizikom pothranjenosti, odnosno s manjim postotkom masnog tkiva i vrijednostima albumina u serumu ispitanika (Slika 5.6.2. i 5.6.3)

Slika 5.6.2. Korelacija dobi s gubitkom tjelesne mase ( $r_s = 0,304$ ;  $p=0,024$ ) i vrijednostima NRS 2002 ( $r_s = 0,454$ ;  $p=0,001$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



Slika 5.6.3. Korelacija dobi s postotkom masnog tkiva ( $r_s = -0,309$ ;  $p = 0,022$ ) i koncentracijom albumina ( $r_s = -0,346$ ;  $p = 0,010$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



U svrhu preciznije analize dobnih skupina, podijelili smo ispitivanu populaciju u odnosu na relevantne parametre na one mlađe i starije od 65 godina. Usporedbom ovih podataka najvećim dijelom smo potvrdili već dobivene rezultate. U populaciji starijoj od 65 godina vrijednosti serumskog CCK su bile značajno veće (medijan 263,0 prema 101,1;  $p < 0,001$ ), dok

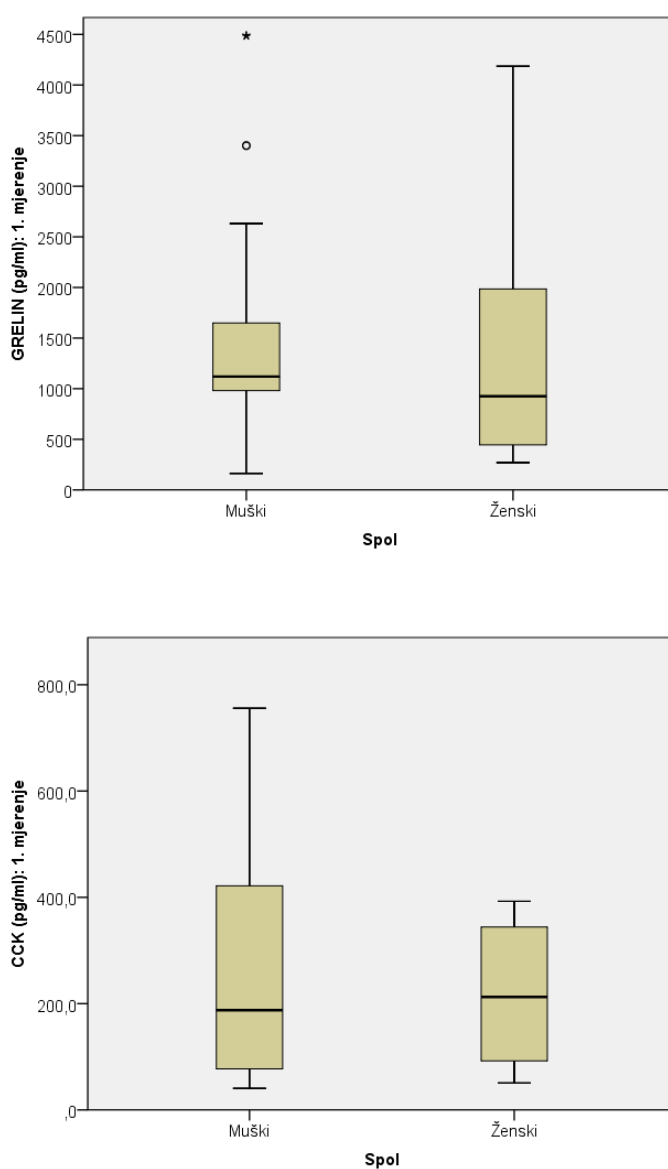
se vrijednosti grelina IL-6, TNF- $\alpha$  i CRP nisu značajno razlikovale od onih mlađih od 65 godina. Razina apetita također se nije značajno razlikovala, dok su lošiji nutritivni parametri opet bili na strani onih starijih od 65 godina; u ovoj skupini gubitak tjelesne mase je bio veći (medijan 6,8 prema 0,0; p=0,350) kao i NRS 2002 (medijan 3,0 prema 0,0; p=0,004), a vrijednosti albumina su bile niže (medijan 39,9 prema 41,8; p=0,090) nego u onih mlađih od 65 godina. Rezultati su prikazani u Tablici 5.6.1.

Tablica 5.6.1. Usporedba koncentracije grelina i kolecistokinina u serumu, upalnih pokazatelja, apetita i parametara uhranjenosti u ispitanika mlađih i starijih od 65 godina

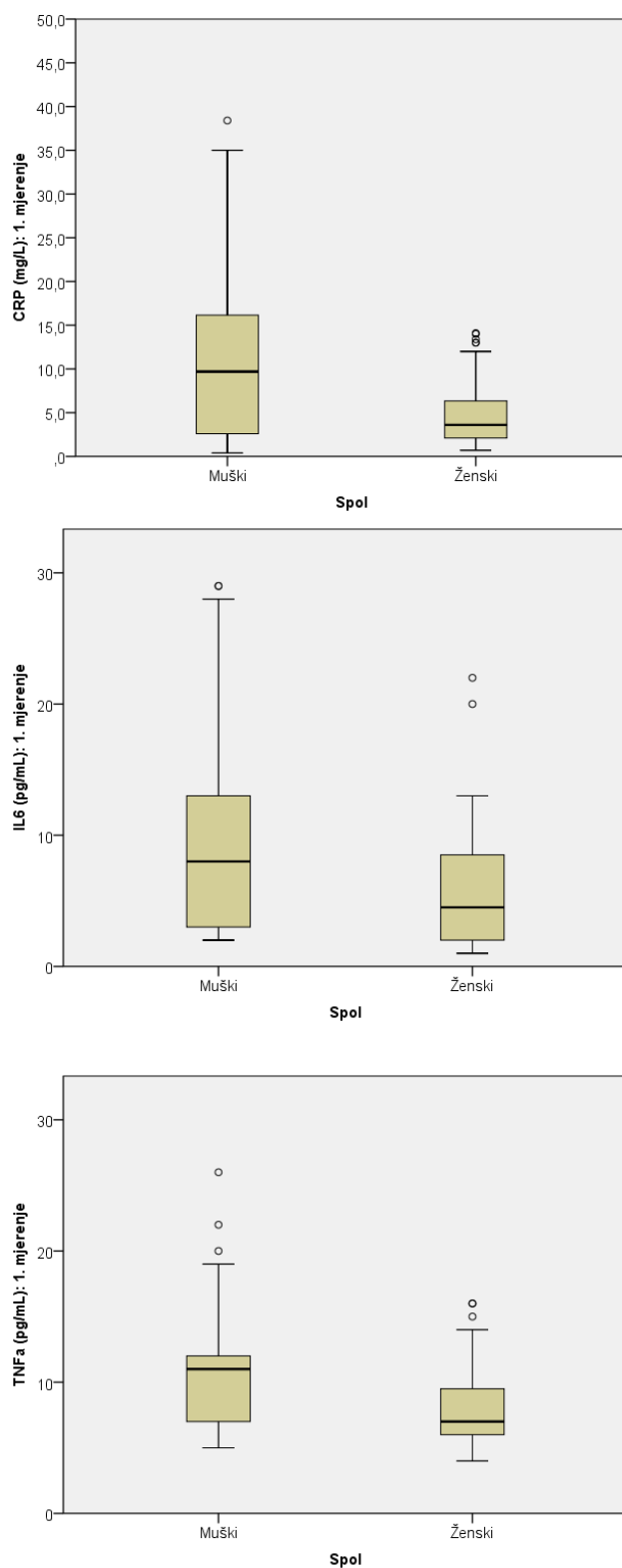
Parametar	Ispitanici < 65 god. n=56	Ispitanici $\geq$ 65 god. n=39	p vrijednost
	medijan (25.-75.percentila)	medijan (25.-75.percentila)	
Gubitak TT (%)	0,0 (0,0 – 7,38)	6,8 (0,0 – 10,7)	<b>0,035</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,8 (21,5 -29,18)	24,8 (23,7 – 27,3)	0,683
NRS 2002	0,0 (0,0 – 3,0)	3,0 (0,0 – 4,0)	<b>0,004</b>
% masnog tkiva	25,0 (23,0 – 31,0)	25,0 (21,0 – 28,0)	0,217
VAS apetit	3,0 (2,0 – 5,0)	4,0 (3,0 – 6,0)	0,061
CRP (mg/L)	3,6 (2,1 – 12,0)	6,1 (3,0 – 13,2)	0,258
Bilirubin (mmol/L)	39,4 (11,4 – 107,1)	70,8 (14,0 – 228,0)	<b>0,026</b>
Albumin (g/L)	41,8 (38,0 – 43,1)	39,9 (33,0 -43,0)	<b>0,009</b>
GRELIN (pg/mL)	1119,5 (561,8 – 1943,3)	1015,0 (920,0 – 1911,0)	0,916
CCK (pg/mL)	101,3 (71,6 -250,9)	263,0 (210,2 – 389,0)	<b>&lt;0,001</b>
IL-6 (pg/mL)	5,0 (2,0 – 9,8)	7,0 (3,0 – 11,0)	0,163
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	7,0 (6,25 -11,0)	10,0 (6,0 – 12,0)	0,152

Utvdili smo da koncentracije hormona koji reguliraju apetit ovise o spolu. Za muški spol smo dokazali da je povezan s većom razinom grelina u serumu, dok se CCK nije značajno razlikovao u odnosu na spol (Slika 5.6.4.). Humoralni pokazatelji upale demonstrirali su izvrsnu korelaciju sa spolom – uočili smo da je muški spol povezan s višim koncentracijama IL-6, TNF- $\alpha$  i CRP (Slika 5.6.5).

Slika 5.6.4. Korelacija spola i koncentracije grelina ( $\tau_b = 0,335$ ;  $p = 0,012$ ) i CCK ( $\tau_b = -0,100$ ;  $p = 0,467$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



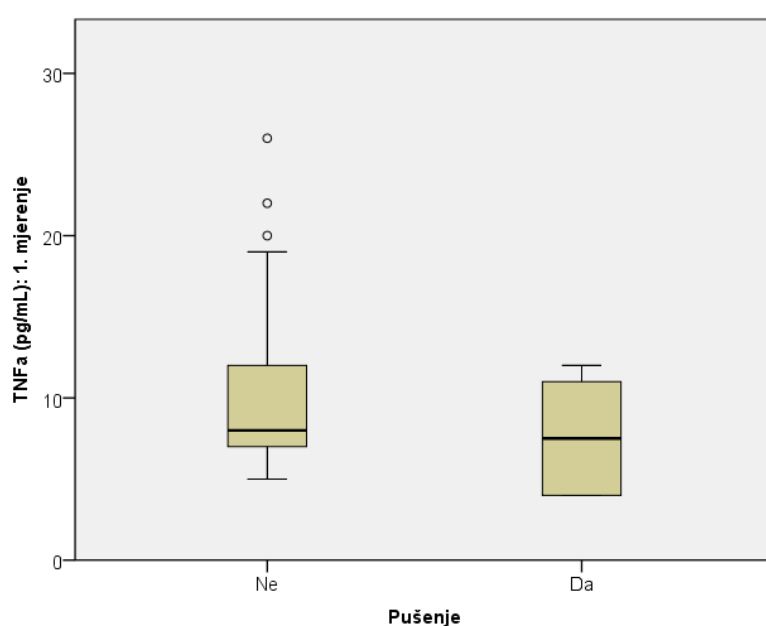
Slika 5.6.5. Korelacija spola i koncentracije IL-6 ( $\tau_b = -0,371$ ;  $p=0,005$ ), TNF- $\alpha$  ( $\tau_b = -0,341$ ;  $p=0,011$ ) i CRP ( $\tau_b = -0,502$ ;  $p=0,000$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom





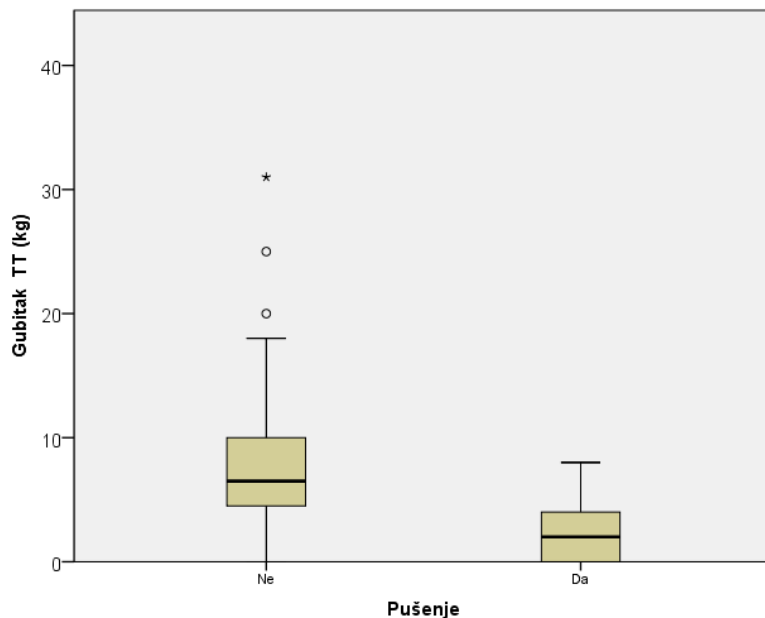
Što se tiče utjecaja pušenja, dobiveni su djelomično kontroverzni rezultati. Pušenje nije imalo utjecaja na koncentraciju niti jednog od hormona koji reguliraju apetit (grelin  $\tau_b = 0,198$ ;  $p=0,147$ ; CCK  $\tau_b = - 0,105$ ;  $p=0,444$ ), ali su uočene niže koncentracije TNF- $\alpha$  u pušača (Slika 5.6.6.)

Slika 5.6.6. Korelacija pušenja i koncentracije TNF- $\alpha$  ( $\tau_b = - 0,379$ ;  $p=0,004$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



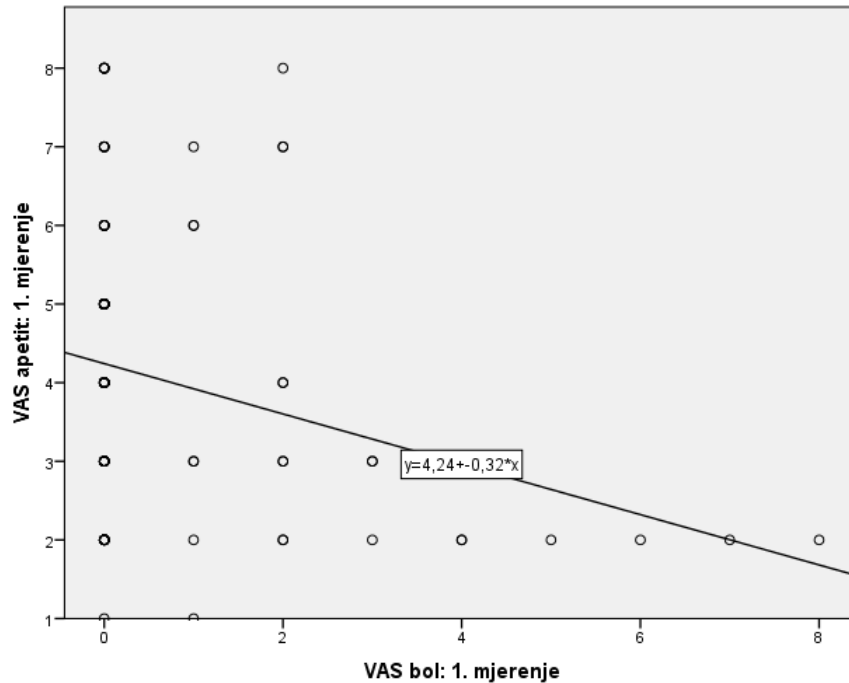
U pušača je također registriran manji postotak gubitka na tjelesnoj masi ( $\tau_b = - 0,521$ ;  $p<0,001$ ) (Slika 5.6.7.). Obzirom da u skupini bolesnika s malignom etiologijom bolesti nije registriran niti jedan pušač, učinjena je podanaliza samo za bolesnike s benignom etiologijom, no i u ovoj skupini je potvrđeno da je postotak gubitka tjelesne mase u nepušača bio značajno veći nego u onih koji su pušili (medijan 6,3% prema 1,9%;  $p=0,047$ ).

Slika 5.6.7. Korelacija pušenja i gubitka tjelesne mase ( $\tau_b = -0,521$ ;  $p < 0,001$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



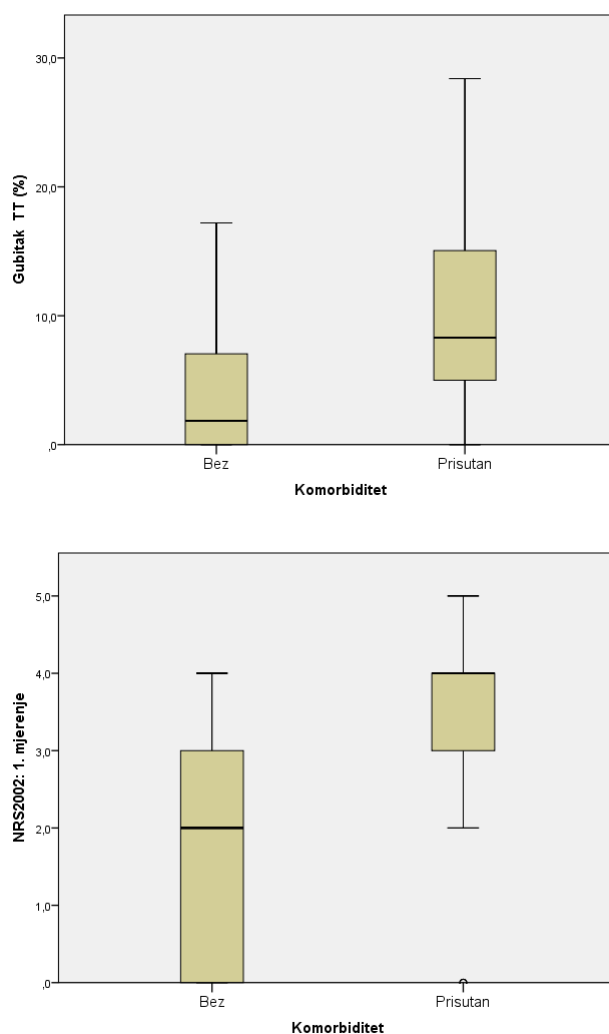
Jedan od rijetkih parametara za koji smo utvrdili da je povezan sa razinom apetita je bilo prisustvo boli. Razina boli prema vizualno analognoj skali je očekivano bila u negativnoj korelaciji s razinom apetita, što je grafički prikazano na Slici 5.6.7.

Slika 5.6.7. Korelacija razine boli s razinom apetita prema vizualno analognoj skali ( $r_s = -0,306$ ;  $p=0,023$ ) u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



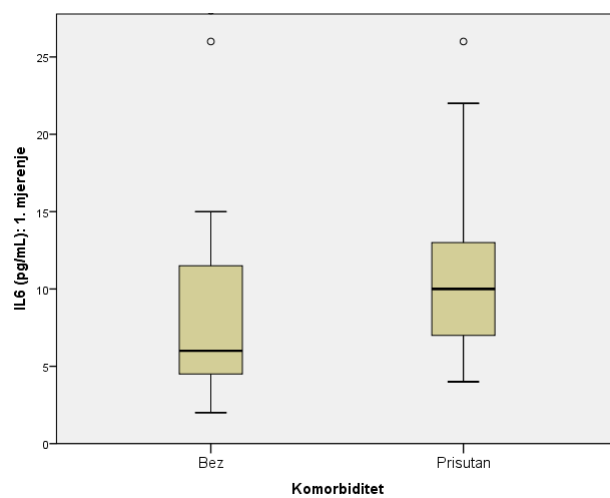
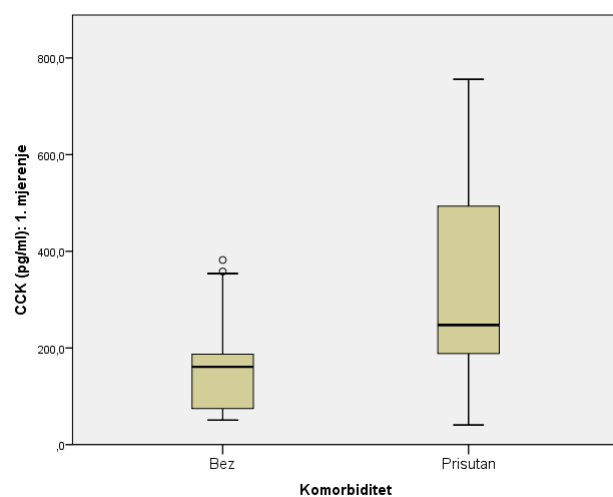
Bolesnici s dodatnim komorbiditetom u anamnezi imali su očekivano veći gubitak tjelesne mase (medijan 8,3% prema 1,9%;  $p=0,003$ ) i više vrijednosti NRS 2002 (medijan 4 prema 2;  $p=0,001$ ) (Slika 5.6.8).

Slika 5.6.8. Korelacija prisutnosti komorbiditeta s postotkom gubitka tjelesne mase (medijan 8,3% prema 1,9%;  $p=0,003$ ) i vrijednostima NRS 2002 (medijan 4 prema 2;  $p=0,001$ )



Koncentracije bilirubina u serumu su također bile više u bolesnika koji su imali dodatni komorbiditet (medijan 146,0  $\mu\text{mol/L}$  prema 94,4  $\mu\text{mol/L}$  ;  $p=0,048$ ). Od hormona koji reguliraju apetit zabilježene su značajno više koncentracije CCK u serumu onih s dodatnim komorbiditetom (medijan 247,6  $\text{pg/mL}$  prema 160,9  $\text{pg/mL}$ ;  $p=0,001$ ), a isto je uočeno za koncentracije IL-6 (medijan 10  $\text{pg/mL}$  prema 6  $\text{pg/mL}$ ;  $p=0,036$ ) što je grafički prikazano na Slici 5.6.9.

Slika 5.6.9. Korelacija prisutnosti komorbiditeta i koncentracije CCK (medijan 247,6 pg/mL prema 160,9 pg/mL;  $p=0,001$ ) i IL-6 (medijan 10 pg/mL prema 6 pg/mL;  $p=0,036$ ) u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom

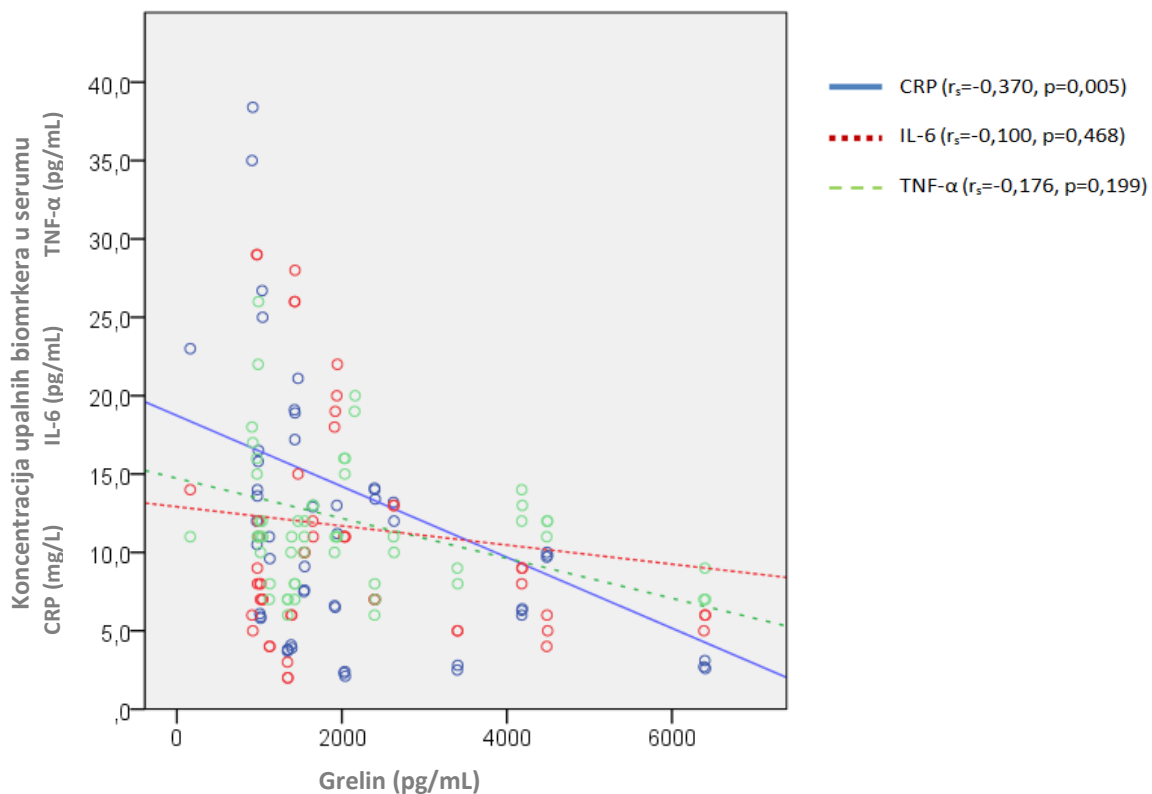


## 5.7 Analiza međudjelovanja grelina, kolekistokinina i upalnih pokazatelja u serumu na nutritivni status i apetit

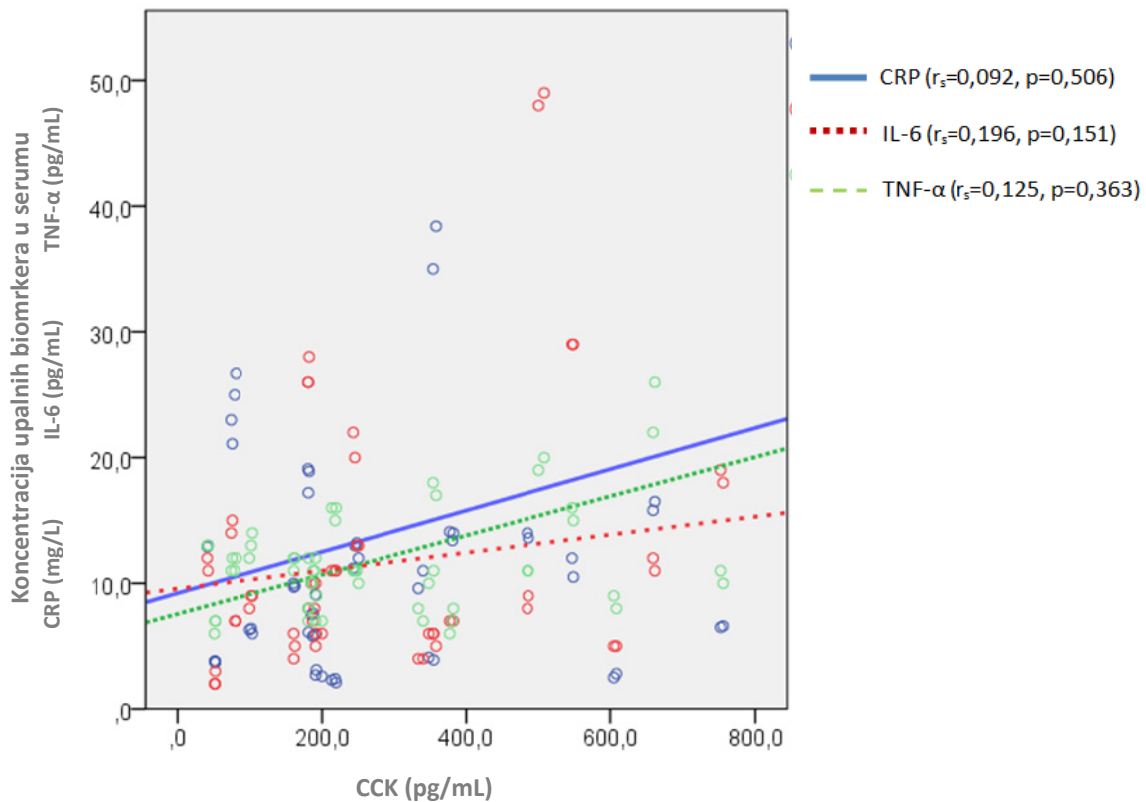
U ovom dijelu dodatno smo analizirali međudjelovanje hormona koji reguliraju apetit i upalnih pokazatelja na nutritivni status i apetit bolesnika.

Od ispitivanih humoralnih pokazatelja upale jedino je za vrijednost CRP-a uočena statistički značajna negativna korelacija s koncentracijom grelina u serumu ( $r_s = -0,370$ ,  $p = 0,005$ ), dok za CCK nije dokazana povezanost s pokazateljima upale (Slika 5.7.1 i 5.7.2).

Slika 5.7.1. Korelacija koncentracije CRP, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu s koncentracijom grelina u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



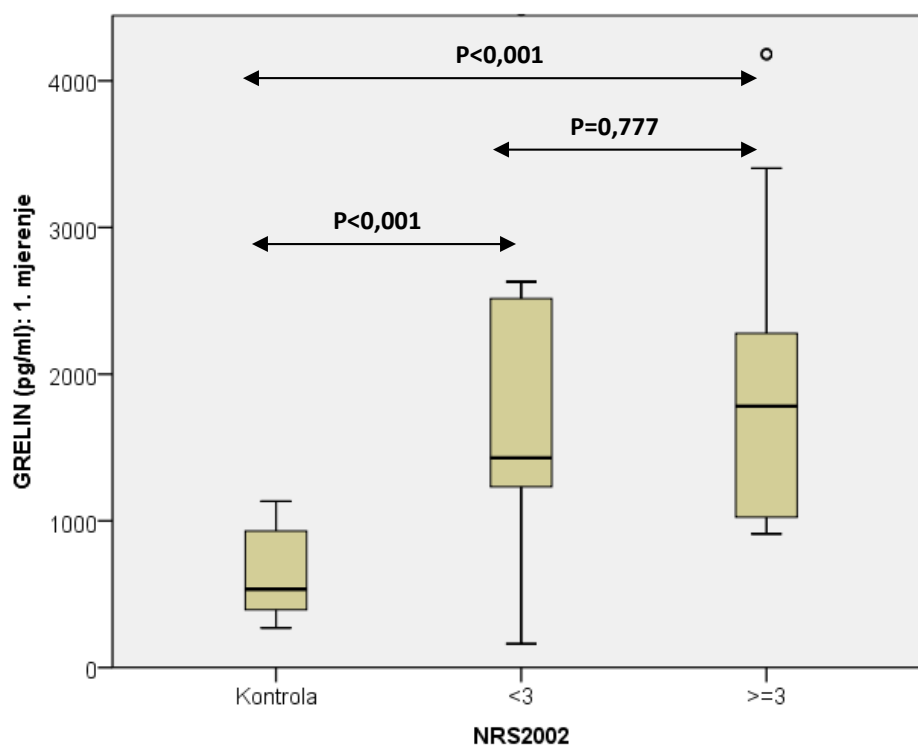
Slika 5.7.2. Korelacija koncentracije CRP, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu sa koncentracijom CCK u serumu bolesnika s bilijarnom opstrukcijom



Koncentracije hormona koji reguliraju apetit i humoranih pokazatelja upale dodatno su uspoređene u skupini pothranjenih bolesnika i onih koji nisu bili u nutritivnom riziku (Mann-Whitney test). Koncentracije grelina u serumu nisu se značajno razlikovale među pothranjenim bolesnicima i onima s urednim nutritivnim statusom. Koncentracije CCK u serumu također se nisu značajno razlikovale u obje skupine bolesnika, no uočene su značajno više vrijednosti CCK u serumu pothranjenih bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu. (Slika

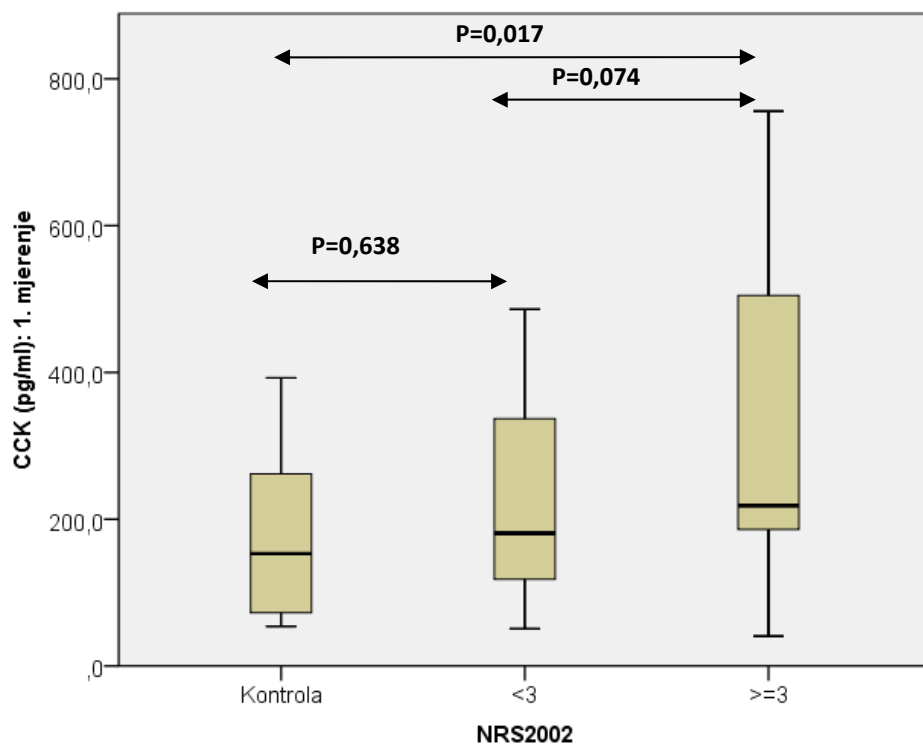
5.7.3 i 5.7.4.) Od upalnih pokazatelja jedino je koncentracija TNF- $\alpha$  u serumu pothranjenih bolesnika bila značajno veća nego u onih koji nisu bili u nutritivnom riziku. (Slika 5.7.5, 5.7.6 i 5.7.7.)

Slika 5.7.3 Medijan i interkvartilni raspon koncentracije grelina u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) s bilijarnom opstrukcijom

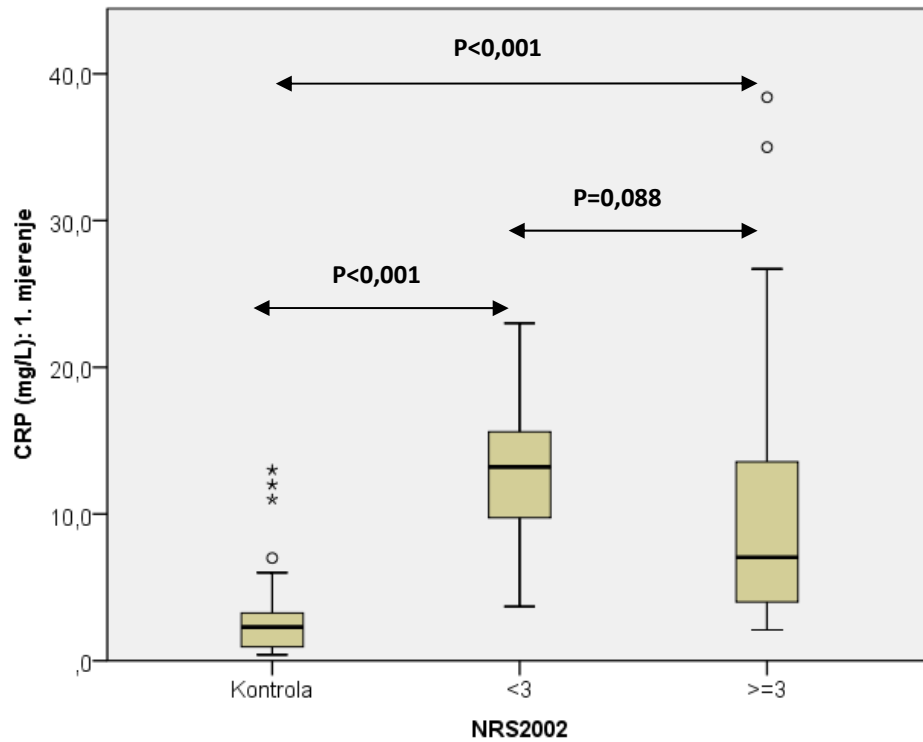




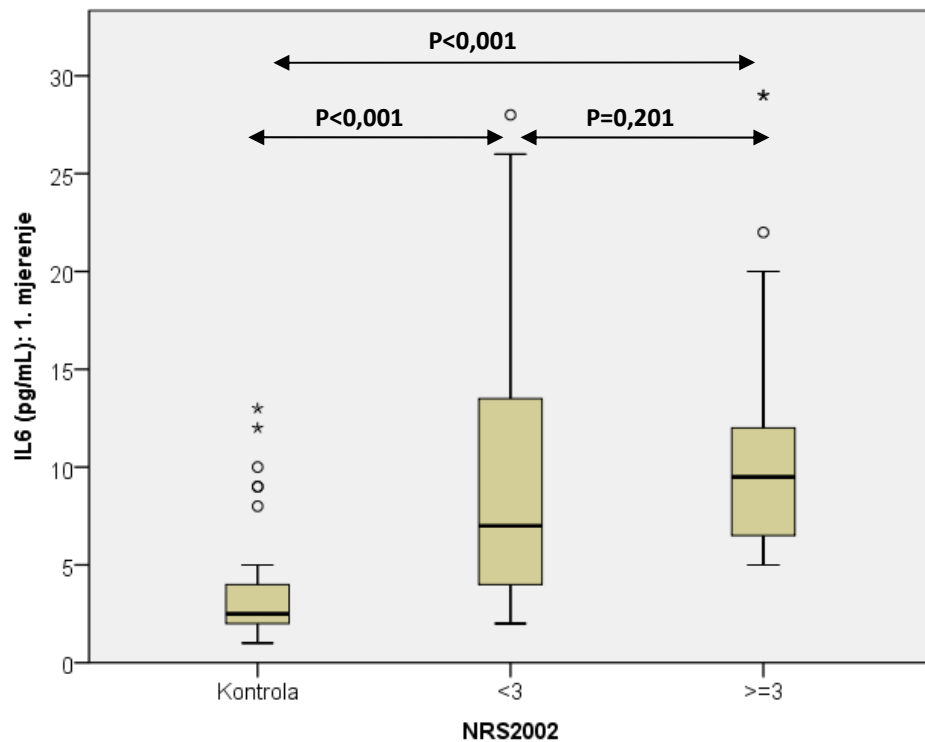
Slika 5.7.4 Medijan i interkvartilni raspon koncentracije CCK u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) s bilijarnom opstrukcijom



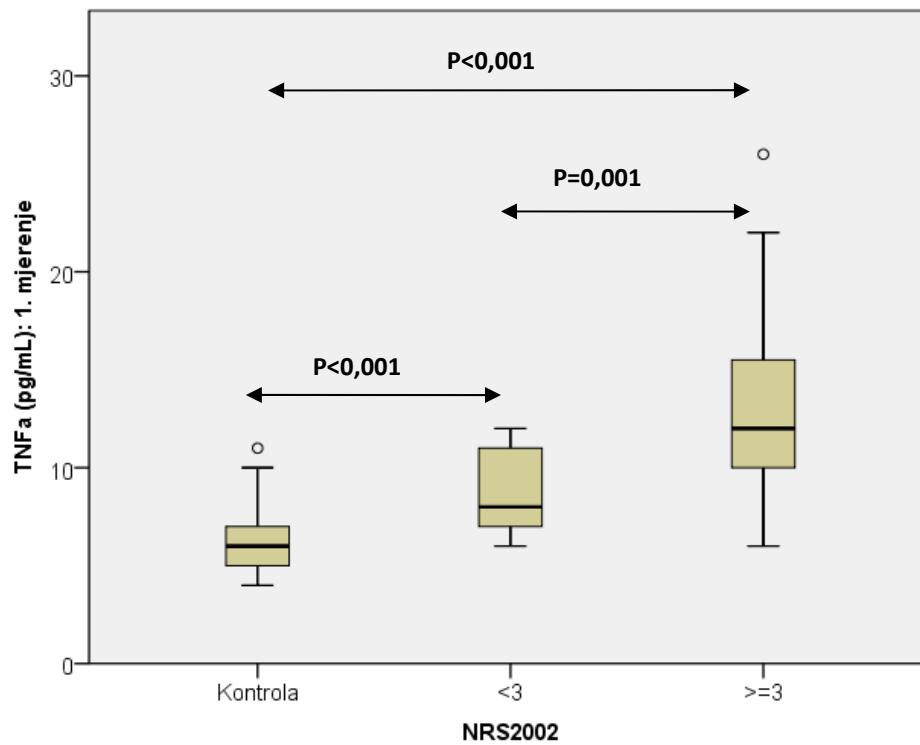
Slika 5.7.5 Medijan i interkvartilni raspon koncentracije CRP u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) s bilijarnom opstrukcijom



Slika 5.7.6 Medijan i interkvartilni raspon koncentracije IL-6 u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) s bilijarnom opstrukcijom



Slika 5.7.6 Medijan i interkvartilni raspon koncentracije TNF- $\alpha$  u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) s bilijarnom opstrukcijom



Korelacijska analiza upalnih i hormonskih pokazatelja s nutritivnim parametrima prikazana je u Tablici 5.7.1

Tablica 5.7.1. Korelacija upalnih i hormonskih pokazatelja u serumu sa nutritivnim parametrima u bolesnika s opstruktivnim ikterusom (n=55)

Spearmanov koeficijent korelacije		CRP (mg/L) 1. mjerjenje	IL6 (pg/mL) 1. mjerjenje	TNF $\alpha$ (pg/mL) 1. mjerjenje	GRELIN (pg/ml) 1. mjerjenje	CCK (pg/ml) 1. mjerjenje
Gubitak TT (%)	rho	-0,210	0,263	0,438	0,120	0,242
	P	0,124	0,052	<b>0,001</b>	0,385	0,075
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	rho	0,638	0,310	0,024	-0,342	0,411
	P	<b>0,000</b>	<b>0,021</b>	0,861	<b>0,011</b>	<b>0,002</b>
NRS2002	rho	-0,236	0,193	0,355	-0,057	0,142
	P	0,083	0,157	<b>0,008</b>	0,682	0,302
% masnog tkiva	rho	0,313	0,136	0,069	-0,348	0,289
	P	<b>0,020</b>	0,324	0,617	<b>0,009</b>	<b>0,033</b>
Albumini (g/L)	rho	0,002	-0,384	-0,461	-0,024	-0,026
	P	0,987	<b>0,004</b>	<b>0,000</b>	0,861	0,848
Kolesterol (U/L)	rho	-0,162	0,054	-0,212	0,209	0,355
	P	0,238	0,696	0,121	0,125	<b>0,008</b>

Iz tablice je vidljivo da su bolesnici s višim koncentracijama TNF- $\alpha$  imali značajno veći gubitak tjelesne mase. Zanimljivo je da su bolesnici s višim vrijednostima indeksa tjelesne mase i postotka masnog tkiva imali značajno više koncentracije CRP-a u serumu. Isto tako pozitivna korelacija indeksa tjelesne mase uočena je s koncentracijama IL-6 i CCK u serumu, dok značajna negativna korelacija postoji s koncentracijom grelina u serumu. Slično vrijedi i za postotak masnog tkiva - bolesnici s višim postotkom masnog tkiva imali su značajno niže koncentracije grelina, a više koncentracije CCK u serumu. Koncentracija serumskog albumina pokazala je negativnu korelaciju s koncentracijom IL-6 i TNF- $\alpha$ , dok je za ukupni kolesterol uočena pozitivna korelacija s koncentracijom CCK u serumu.

Kao što se dalo naslutiti iz dosadašnjih rezultata, značajna korelacija između razine apetita i ispitivanih upalnih i hormonskih pokazatelja u serumu nije utvrđena. Podaci su prikazani u Tablici 5.7.2.

Tablica 5.7.2. Korelacija upalnih i hormonskih pokazatelja u serumu sa razinom apetita (VAS) (n=55)

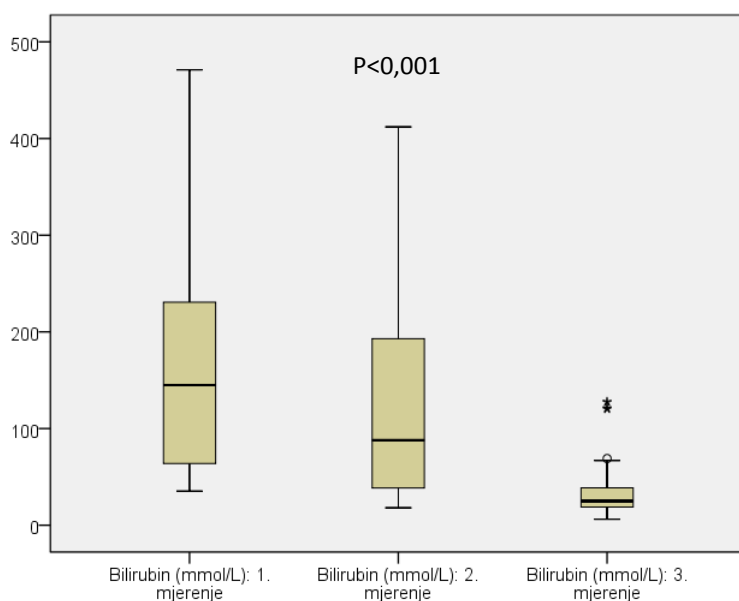
		<b>VAS apetit 1. mjerenje</b>
CCK (pg/ml)	rho	-0,121
	P	0,379
CRP (mg/L)	rho	0,047
	P	0,733
IL6 (pg/mL)	rho	0,039
	P	0,776
TNFa (pg/mL)	rho	0,037
	P	0,786
GRELIN (pg/ml)	rho	0,027
	P	0,847

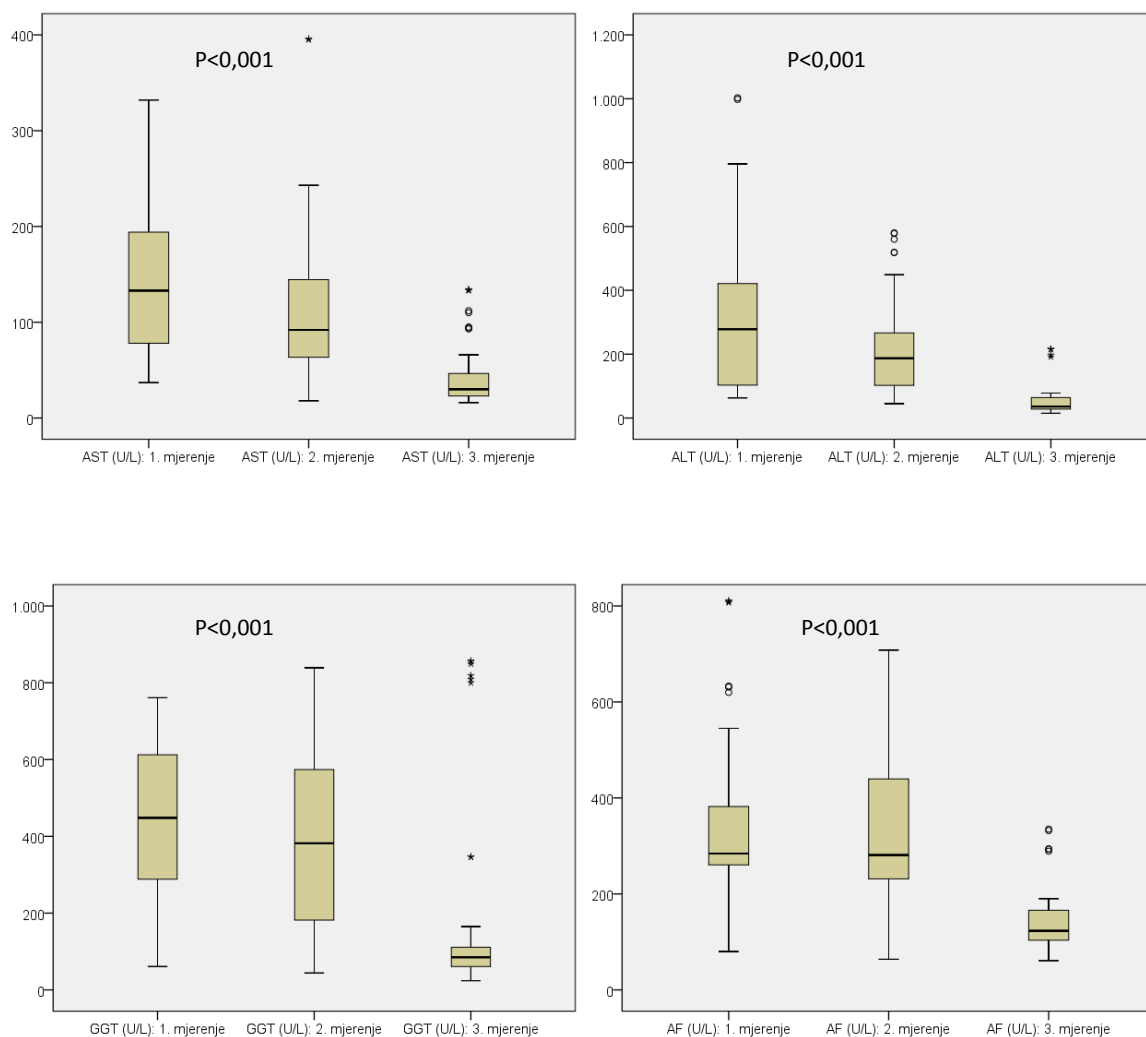
## 5.8 Analiza utjecaja endoskopske bilijarne drenaže na koncentracije parametara kolestaze, hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

Da bismo analizirali utjecaj unutarnje bilijarne drenaže na koncentracije parametara kolestaze, hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i nutritivni status, bolesnicima je četrdeset osam sati i dvadeset osam dana nakon uspješno izvedene intervencije ponovljeno određivanje nutritivnog statusa, razine apetita, biokemijskih parametara i hormona. Razlike u vrijednostima između pojedinih mjerenja analizirane su Friedmanovim testom.

Kao što smo i očekivali bilijarna drenaža pozitivno je utjecala na smanjenje svih kolestatskih parametara uključujući bilirubin, AST, ALT, GGT i AF što je grafički prikazano na Slici 5.8.1

Slika 5.8.1. Kretanje koncentracije bilirubina, AST, ALT, GGT i AF u serumu kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)

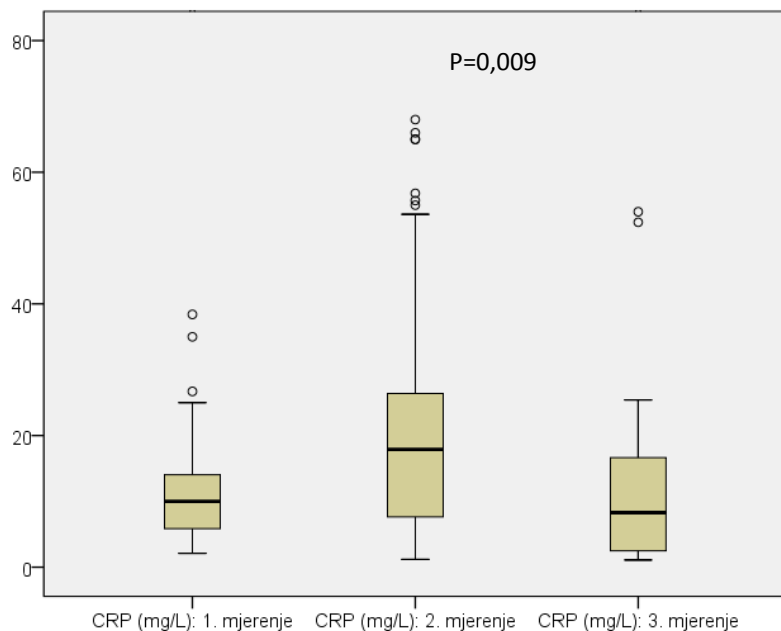




Što se tiče upalnih parametara, jedino je za CRP dokazana značajna razlika u dinamici u odnosu na sva tri mjerenja – nakon 48 sati došlo je do značajnog povišenja vrijednosti CRP u serumu u odnosu na početne vrijednosti, da bi se nakon 28 dana ta razina značajno smanjila u odnosu na drugo mjerjenje, ali i početno (Slika 5.8.2). Koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  nisu pokazali značajnu dinamiku nakon bilijarne drenaže (Slika 5.8.3.).

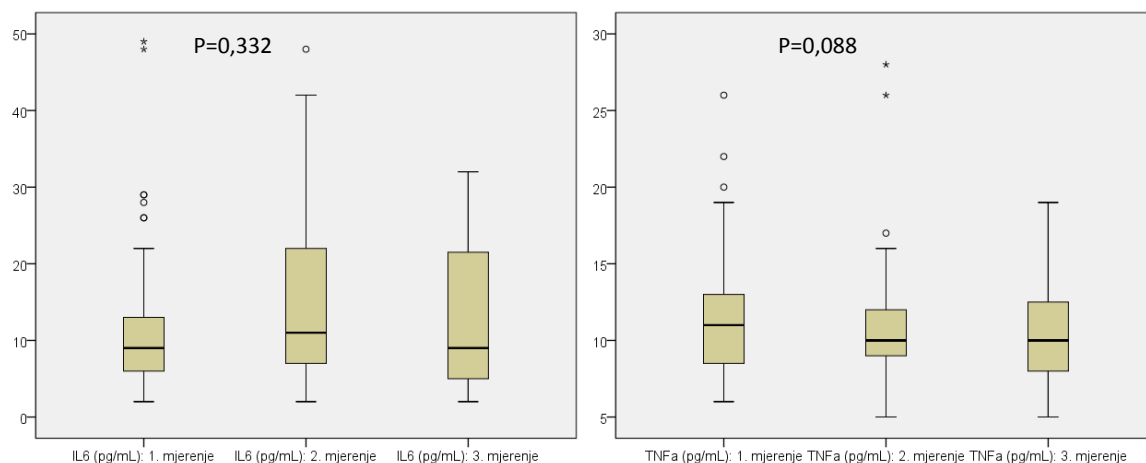


Slika 5.8.2. Kretanje koncentracije CRP u serumu kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)



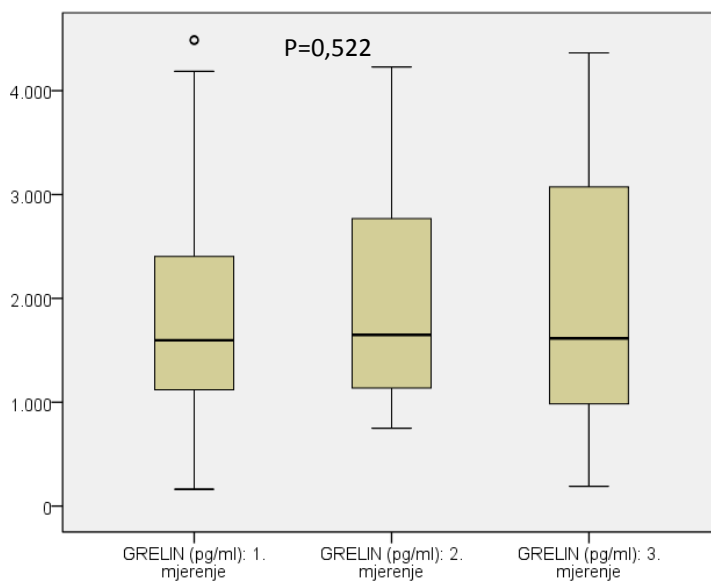
Skupina		Percentiles		
		25th	50th	75th
Bolesnici	CRP (mg/L): 1. mjerjenje	5,800	10,000	14,100
	CRP (mg/L): 2. mjerjenje	5,900	17,900	26,800
	CRP (mg/L): 3. mjerjenje	2,500	8,300	17,300

Slika 5.8.3. Kretanje koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)

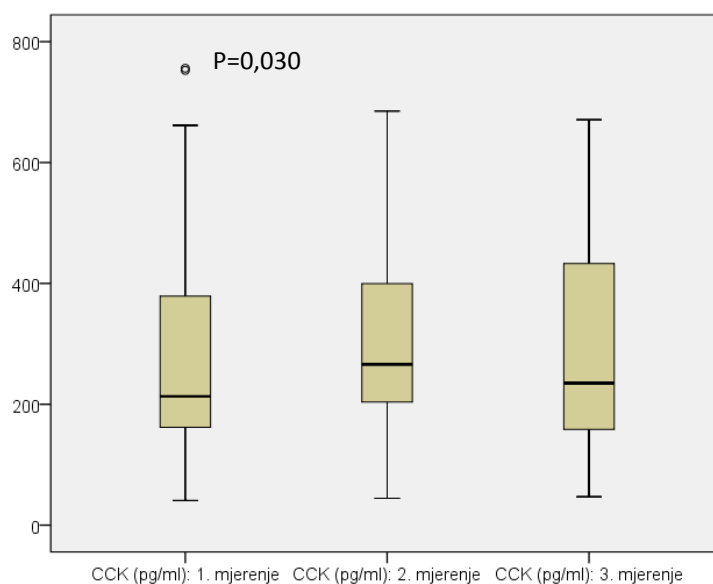


Za koncentracije grelina također nismo uočili značajnu dinamiku u kretanju nakon bilijarne drenaže (Slika 5.8.4). Postoji značajna razlika u dinamici CCK u odnosu na sva tri mjerenja - nakon 48 sati došlo je do značajnog povišenja vrijednosti CCK u serumu, ali nakon 28 dana ta vrijednost se spustila u odnosu na prethodnu, koja je opet bila viša u odnosu na početnu (Slika 5.8.5).

Slika 5.8.4. Kretanje koncentracije grelina u serumu kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)



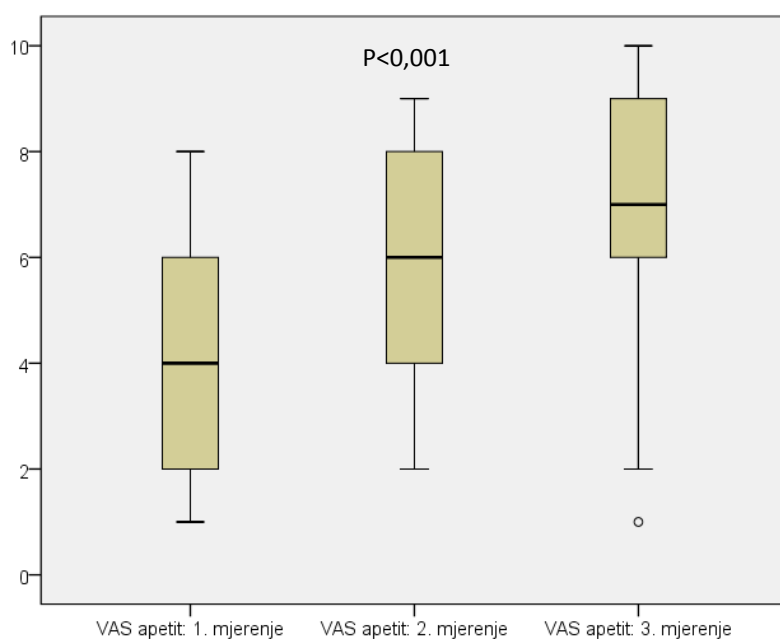
Slika 5.8.5. Kretanje koncentracije CCK u serumu kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)



Skupina		Percentiles		
		25th	50th	75th
Bolesnici	CCK (pg/ml): 1. mjerjenje	161,000	213,000	380,700
	CCK (pg/ml): 2. mjerjenje	203,000	266,000	400,500
	CCK (pg/ml): 3. mjerjenje	158,000	235,000	433,000

Uspoređujući kretanje apetita prema vizualno analognoj skali Naposljetku smo utvrdili značajno povećanje razine apetita nakon uspostave bilijarne drenaže (Slika 5.8.6.)

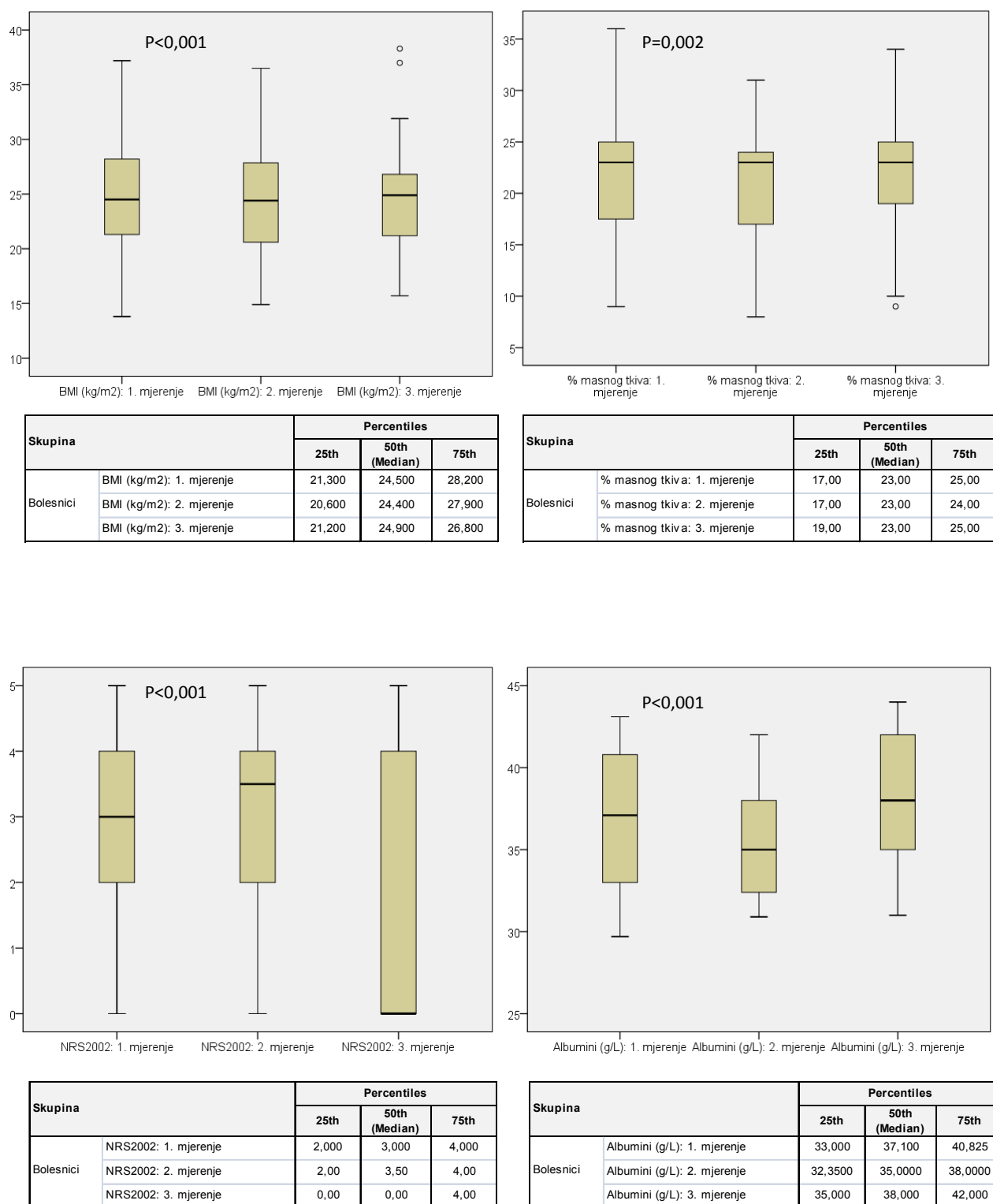
Slika 5.8.6. Kretanje razine apetita (VAS) kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)



Skupina		Percentiles		
		25th	50th	75th
Bolesnici	VAS apetit: 1. mjerenje	2,00	4,00	6,00
	VAS apetit: 2. mjerenje	4,00	6,00	8,00
	VAS apetit: 3. mjerenje	6,00	7,00	9,00

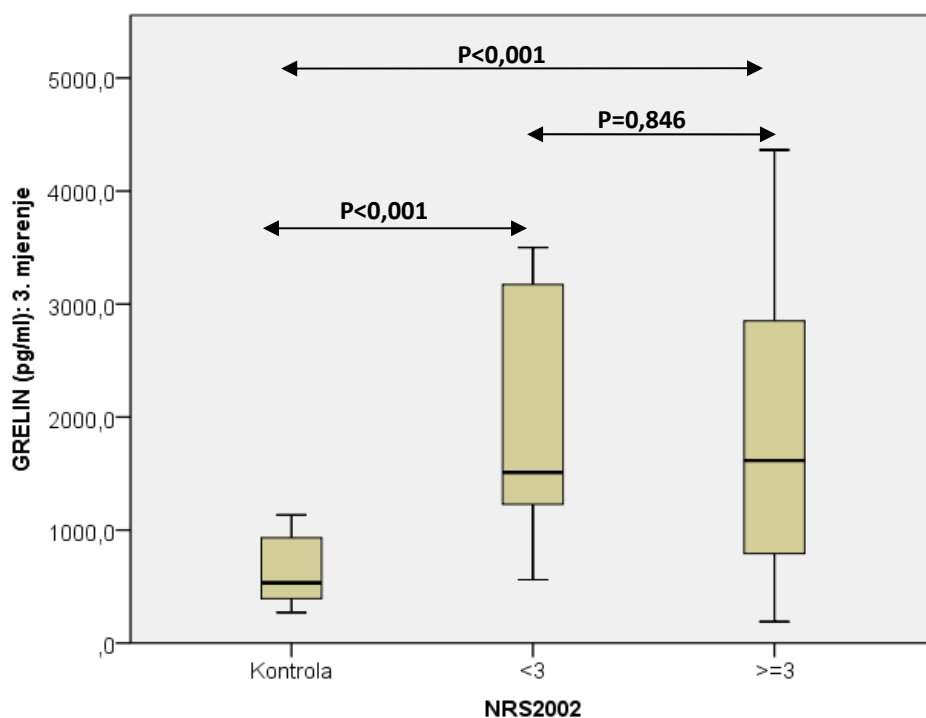
Također, svi parametri uhranjenosti (BMI, postotak masnog tkiva, NRS 2002, albumini u serumu) pokazali su značajnu dinamiku u smislu poboljšanja nakon uspostave bilijarne drenaže (Slika 5.8.7.)

Slika 5.8.7. Kretanje indeksa tjelesne mase, postotka masnog tkiva, vrijednosti NRS 2002 i koncentracije albumina u serumu bolesnika kod dolaska (1.mjerenje), 48 sati nakon bilijarne drenaže (2.mjerenje) i 28 dana nakon bilijarne drenaže (3.mjerenje)

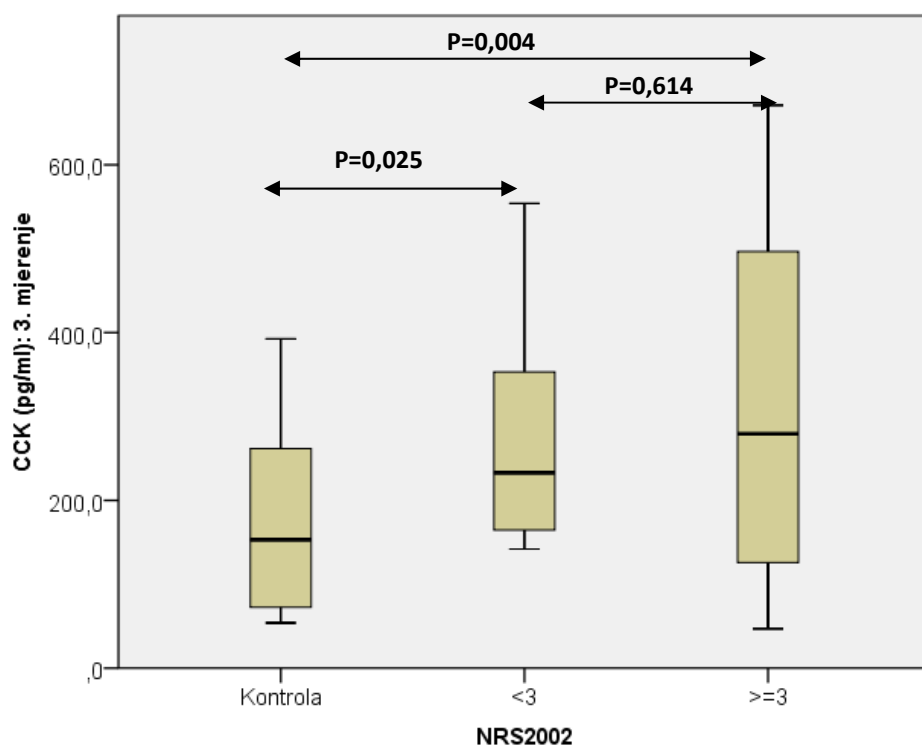


Da bismo ustanovili da li postoji razlika u vrijednostima hormona koji reguliraju apetit i pokazateljima upale u odnosu na nutritivni status bolesnika nakon rješavanja bilijarne opstrukcije, analizirani su parametri po rezoluciji kolestaze. Vidljivo je da se koncentracije grelina u serumu opet nisu značajno razlikovale među pothranjenim bolesnicima i onima s urednim nutritivnim statusom, ali su i dalje bile značajno veće u odnosu na kontrolnu skupinu (Slika 5.8.8). Koncentracije CCK također se nisu razlikovale među pothranjenim bolesnicima i onima s urednim nutritivnim statusom, ali su sada uočene značajno više koncentracije CCK u obje skupine bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu (Slika 5.8.9.) Koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  sada su bile značajno veće u serumu pothranjenih bolesnika, dok više nije bilo značajne razlika u koncentraciji TNF- $\alpha$  među kontrolnom skupinom i ispitanicima koji nisu u nutritivnom riziku (Slika 5.8.10. i 5.8.11.).

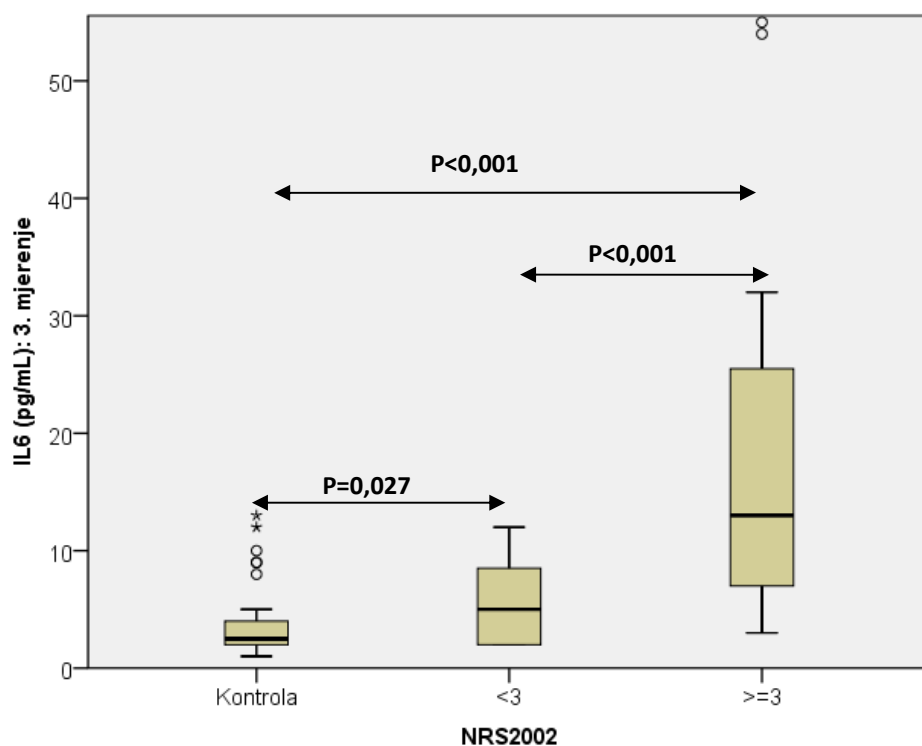
Slika 5.8.8. Medijan i interkvartilni raspon koncentracije grelina u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije



Slika 5.8.9. Medijan i interkvartilni raspon koncentracija CCK u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije

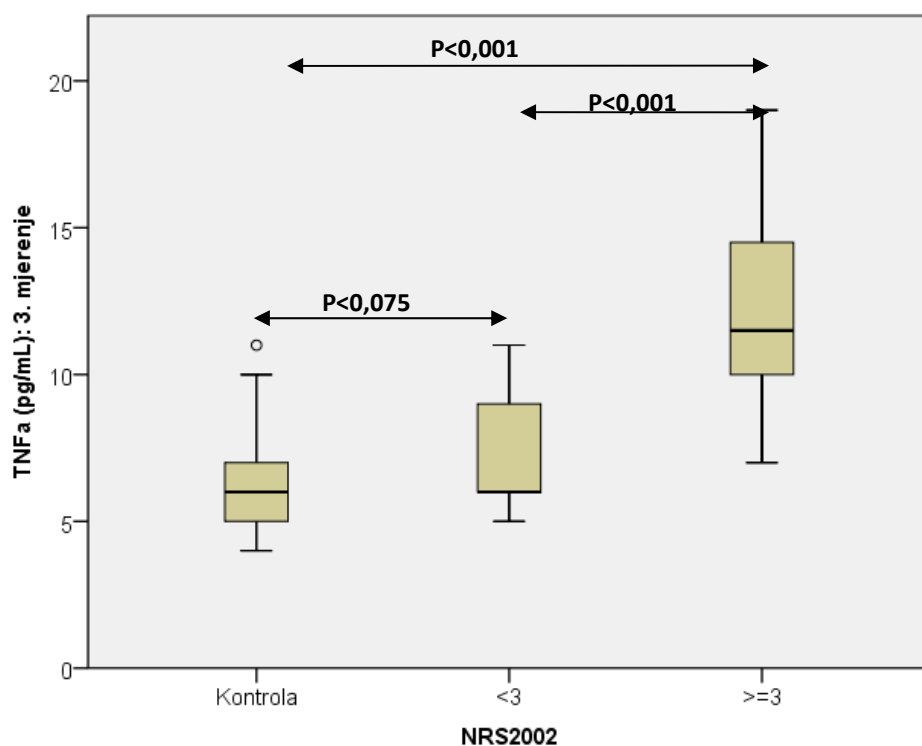


Slika 5.8.10. Medijan i interkvartilni raspon koncentracija IL-6 u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije





Slika 5.8.11. Medijan i interkvartilni raspon koncentracija TNF- $\alpha$  u serumu u kontrolnoj skupini (n=40), skupini bolesnika s urednim nutritivnim statusom (n=19) i skupini pothranjenih bolesnika (n=36) 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije



Da bismo napravili multivarijantni model predikcije utjecaja humoralnih čimbenika na apetit i nutritivni status, koristili smo logističku regresiju. Rezultati su prikazani u Tablici 5.8.1.-5.8.4.

Tablica 5.8.1. Binarni logistički model predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na pothranjenost (NRS 2002  $\geq 3$ ) na početku istraživanja

	OR	95% CI		P
		Donji	Gornji	
GRELIN (pg/ml)	1,00	1,00	1,00	0,234
CCK (pg/ml)	1,00	1,00	1,01	0,247
CRP (mg/L)	0,90	0,80	1,03	0,119
L ( $\times 10^9$ )	<b>0,57</b>	0,38	0,85	<b>0,006</b>
IL6 (pg/mL)	1,08	0,93	1,25	0,294
TNFa (pg/mL)	<b>2,03</b>	1,31	3,14	<b>0,001</b>

Iz regresijskog modela vidljivo je da veća koncentracija TNF- $\alpha$  na početku istraživanja značajno povećava vjerojatnost za pripadnost skupini koja ima NRS 2002 zbroj  $\geq 3$  i to za 2,03 puta (kontrolirano na ostale varijable u modelu). Također, veća koncentracija leukocita značajno smanjuje šansu za NRS 2002 skor  $\geq 3$  i to za 1,75 puta.

Tablica 5.8.2. Binarni logistički model predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na pothranjenost (NRS 2002  $\geq 3$ ) 48 sati nakon bilijarne drenaže

	OR	95% CI		P
		Donji	Gornji	
GRELIN (pg/ml)	1,00	1,00	1,00	0,054
CCK (pg/ml)	1,02	0,99	1,05	0,121
CRP (mg/L)	<b>0,85</b>	0,73	0,99	<b>0,041</b>
L ( $\times 10^9$ )	1,03	0,33	3,20	0,959
IL6 (pg/mL)	<b>1,88</b>	1,12	3,15	<b>0,018</b>
TNFa (pg/mL)	<b>5,01</b>	1,19	21,12	<b>0,028</b>

Rezultati analize humoralnih čimbenika 48 sati nakon uspješne bilijarne drenaže upućuju na to da veća koncentracija TNF- $\alpha$  ponovo značajno povećava šansu za pripadnost skupini koja ima NRS 2002 zbroj  $\geq 3$  i to za 5,01 puta, veća razina IL-6 za 1,88 puta, dok veća

koncentracija CRP značajno smanjuje šansu za pripadnost skupini pothranjenih bolesnika za 1,17 puta.

Tablica 5.8.3. Binarni logistički model predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na pothranjenost (NRS 2002  $\geq 3$ ) 28 dana nakon bilijarne drenaže

	OR	95% CI		P
		Donji	Gornji	
GRELIN (pg/ml)	1,00	1,00	1,00	0,326
CCK (pg/ml)	<b>0,99</b>	0,98	1,00	<b>0,007</b>
CRP (mg/L)	1,09	0,99	1,19	0,074
L ( $\times 10^9$ )	1,18	0,84	1,67	0,343
IL6 (pg/mL)	0,92	0,84	1,01	0,087
TNFa (pg/mL)	1,12	0,97	1,30	0,123

Prema vrijednostima parametara 28 dana nakon uspješne bilijarne drenaže uočeno je da veća koncentracija CCK značajno smanjuje šansu za pripadnost skupini pothranjenih za 1,01 puta.

Regresijski model predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na razinu apetita (VAS  $\geq 5$ ) na početku istraživanja i 28 dana nakon bilijarne drenaže nije pokazao statističku značajnost (P=0,151 i P=0,377).

Tablica 5.8.4. Binarni logistički model predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na razinu apetita (VAS  $\geq 5$ ) 48 sati nakon bilijarne drenaže

	OR	95% CI		P
		Donji	Gornji	
GRELIN (pg/ml)	1,00	1,00	1,00	0,185
CCK (pg/ml)	<b>0,99</b>	0,99	1,00	<b>0,032</b>
CRP (mg/L)	0,95	0,89	1,01	0,092
L ( $\times 10^9$ )	<b>0,62</b>	0,38	0,99	<b>0,045</b>
IL6 (pg/mL)	<b>1,07</b>	1,00	1,14	<b>0,043</b>
TNFa (pg/mL)	1,20	0,97	1,48	0,090

Međutim, analizom rezultata 48 sati nakon rješavanja bilijarne drenaže, vidljivo je da veća koncentracija IL-6 značajno povećava vjerojatnost za veći apetit za 1,07 puta, dok veća koncentracija leukocita i CCK značajno smanjuje šansu za bolji apetit (1,61 puta, odnosno 1,01 puta).

## 5.9 Analiza utjecaja uzimanja nutritivne potpore na razinu hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i stanje uhranjenosti

Da bismo provjerili da li uzimanje nutritivne potpore kroz 28 dana ima utjecaj na vrijednosti različitih biokemijskih parametara, upalne pokazatelje, razinu apetita i pokazatelja uhranjenosti, usporedili smo vrijednosti tih parametara među bolesnicima koji su uzimali i onih koji nisu uzimali nutritivnu potporu. Rezultati analize prikazani su u Tablici 5.9.1.

Tablica 5.9.1. Usporedba vrijednosti različitih biokemijskih parametara, upalnih pokazatelja, razine apetita i pokazatelja uhranjenosti među bolesnicima sa ili bez nutritivne potpore nakon 28 dana

	Bez nutritivne potpore N=32			Nutritivna potpora N=23			P
	25. percentila	Medijan	75. percentila	25. percentila	Medijan	75. percentila	
GRELIN (pg/ml)	1213,75	1704,50	3173,50	779,00	1277,00	2079,00	0,133
CCK (pg/ml)	155,00	193,50	420,80	187,30	323,00	579,00	0,175
CRP (mg/L)	1,80	4,60	8,38	10,80	23,00	54,00	<b>&lt;0,001</b>
L ( $\times 10^9$ )	4,93	6,75	7,20	5,10	8,40	9,30	<b>0,034</b>
IL6 (pg/mL)	3,00	6,50	10,00	8,00	14,00	32,00	<b>0,001</b>
TNF $\alpha$ (pg/mL)	6,00	8,50	10,00	10,00	12,00	18,00	<b>&lt;0,001</b>
VAS apetit	6,00	8,00	9,00	6,00	7,00	9,00	0,647
Bilirubin (mmol/L)	13,75	24,30	36,93	22,10	28,00	43,00	0,079
AST (U/L)	22,25	26,50	42,25	25,00	42,00	48,00	<b>0,047</b>
ALT (U/L)	26,25	33,00	36,75	38,00	63,00	76,00	<b>0,001</b>
GGT (U/L)	38,25	87,00	107,75	62,00	72,00	347,00	0,298
AF (U/L)	102,75	120,50	159,25	103,00	133,00	175,00	0,335
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,43	25,90	27,68	20,50	21,50	25,00	<b>0,017</b>
NRS2002	0,00	0,00	1,00	0,00	3,00	4,00	<b>0,002</b>
% masnog tkiva	18,50	24,00	26,00	19,00	22,00	24,00	0,208
Albumini (g/L)	36,60	39,00	42,00	33,20	36,00	38,00	<b>0,001</b>
Kolesterol (U/L)	4,53	5,45	6,93	4,50	4,90	6,30	0,361
TG (mmol/L)	1,20	1,45	2,38	1,20	1,30	1,50	0,430

Iz tablice je vidljivo da su bolesnici koji su uzimali nutritivnu potporu imali značajno više sve mjerene parametre upale (CRP, L, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Uzimanje nutritivne potpore nije imalo utjecaja na razinu hormona koji reguliraju apetit, niti na sam apetit prema vizualno analognoj skali. Parametri uhranjenosti BMI, serumski albumini i vrijednosti NRS 2002 bili su značajno lošiji u skupini bolesnika koji su uzimali nutritivnu potporu, što se može objasniti činjenicom da je toj skupini bolesnika nutritivna potpora i bila indicirana zbog inicijalno lošijeg nutritivnog statusa.

## 5.10 Analiza utjecaja biokemijskih i nutritivnih parametara na ishod bolesnika

Tijekom kontrolnog pregleda nakon 28 dana kod svih ispitanika zabilježeno je kliničko poboljšanje. Obzirom da su ispitivanu skupinu činili i bolesnici s nekim kroničnim i malignim bolestima, praćenje je produženo na 6 mjeseci nakon čega je uslijedila klinička procjena. Tijekom tog perioda umrlo je 8 bolesnika - svi u skupini onih s malignom bilijarnom opstrukcijom. Neposredni uzrok smrti kod jednog bolesnika bila je bronhopneumonija, kod troje bolesnika plućna embolija, jedna bolesnica je umrla 7 dana nakon operativnog zahvata hepatektomije i kod troje bolesnika se ne zna neposredni uzrok smrti. Kod preostalih 47 ispitanika kliničko stanje je bilo zadovoljavajuće.

Da bismo odgovorili na pitanje koji čimbenici utječu na ishod bolesti, usporedili smo određene biokemijske i nutritivne parametre sva tri mjerenja i analizirali njihov utjecaj na ishod bolesnika nakon 6 mjeseci praćenja. Rezultati su prikazani u Tablici 5.10.1.

Tablica 5.10.1. Korelacija biokemijskih i nutritivnih parametara sa preživljenjem bolesnika nakon 6 mjeseci praćenja

1.mjerenje	Mann-Whitney U	Z	P
Gubitak TT (%)	71,000	-2,800	,005
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	122,000	-1,576	,115
NRS2002	104,500	-2,040	,041
% masnog tkiva	162,000	-,623	,533
VAS apetit	72,500	-2,802	,005
VAS bol	141,500	-1,257	,209
CRP (mg/L)	77,500	-2,638	,008
Bilirubin (mmol/L)	117,000	-1,695	,090
AST (U/L)	158,000	-,717	,474
ALT (U/L)	172,000	-,382	,702
GGT (U/L)	118,000	-1,671	,095
AF (U/L)	106,000	-1,958	,050
Kolesterol (U/L)	157,000	-,741	,459
Albumini (g/L)	174,000	-,335	,738
GRELIN (pg/ml)	179,000	-,215	,830
CCK (pg/ml)	167,000	-,501	,616
IL6 (pg/mL)	130,000	-1,388	,165
TNFa (pg/mL)	68,500	-2,876	,004

2.mjerenje	Mann-Whitney U	Z	P
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	123,000	-1,552	,121
NRS2002	107,500	-1,903	,057
% masnog tkiva	178,000	-,240	,810
VAS apetit	117,000	-1,716	,086
VAS bol	133,500	-1,592	,111
CRP (mg/L)	141,500	-1,110	,267
Bilirubin (mmol/L)	99,000	-2,125	,034
AST (U/L)	129,500	-1,397	,162
ALT (U/L)	129,000	-1,409	,159
GGT (U/L)	114,000	-1,767	,077
AF (U/L)	121,000	-1,600	,110
Kolesterol (U/L)	161,000	-,645	,519
Albumini (g/L)	92,000	-2,299	,022
GRELIN (pg/ml)	174,000	-,244	,808
CCK (pg/ml)	132,500	-1,325	,185
IL6 (pg/mL)	103,500	-2,022	,043
TNFa (pg/mL)	78,000	-2,645	,008

3.mjerenje	Mann-Whitney U	Z	P
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	110,000	-1,863	,062
NRS2002	93,500	-2,473	,013
% masnog tkiva	104,000	-2,012	,044
VAS apetit	75,000	-2,732	,006
VAS bol	28,500	-5,462	,000
CRP (mg/L)	126,000	-1,481	,139
Bilirubin (mmol/L)	123,000	-1,552	,121
AST (U/L)	157,000	-,741	,459
ALT (U/L)	175,000	-,311	,756
GGT (U/L)	177,500	-,251	,802
AF (U/L)	184,500	-,084	,933
Kolesterol (U/L)	168,000	-,478	,633
Albumini (g/L)	74,000	-2,683	,007
GRELIN (pg/ml)	159,000	-,692	,489
CCK (pg/ml)	100,000	-2,101	,036
IL6 (pg/mL)	62,000	-3,014	,003
TNFa (pg/mL)	92,500	-2,293	,022

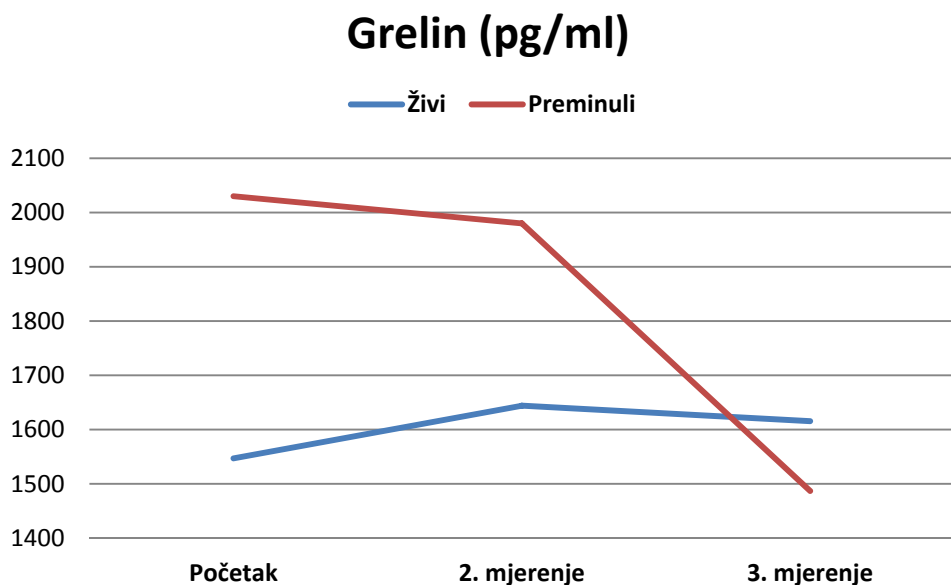
Utvdili smo da veći gubitak tjelesne mase, pothranjenost, niža razina apetita, niže koncentracije CRP-a i više koncentracije TNF- $\alpha$  u inicijalnom mjerenju pokazuju značajnu korelaciju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci. 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije pothranjenost, niži postotak masnog tkiva, niže koncentracije albumina u serumu, niža razina apetita, niže koncentracije CCK u serumu i više koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu također pokazuju značajnu korelaciju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci.

Razlike u kvantitativnim vrijednostima između pojedinih relevantnih mjerenja u odnosu na preživljenje prikazane su grafički. Možemo vidjeti da za određene parametre postoji značajna promjena u dinamici koja je registrirana kroz tri mjerenja. Kod preživjelih bolesnika zabilježene su značajno više koncentracije CCK serumu 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije u odnosu na umrle, i ta dinamika se pokazala značajnom ( $P=0,003$ ) (Slika 5.10.2).



Za grelin nije uočena značajna promjena u dinamici kretanja u odnosu na ishod (Slika 5.10.1). Koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  nakon rješavanja bilijarne opstrukcije (48 sati i 28 dana) kod preminulih bolesnika su bile značajno više i dinamika njihovog kretanja se pokazala značajnom u umrlih ( $P=0,003$  i  $P=0,010$ ) (Slika 5.10.3. i 5.10.4.). Razlika gubitka tjelesne mase u postotku bila je značajno veća kod onih koji su umrli unutar 6 mjeseci ( $P=0,005$ ) (Slika 5.10.5.). Udio masnog tkiva u ukupnoj masi bio je značajno veći kod preživjelih bolesnika i ta dinamika se pokazala značajnom ( $P<0,001$ ) (Slika 5.10.6.). Apetit je kod preživjelih bolesnika bio značajno veći nego kod umrlih i dinamika kretanja apetita je bila značajna u obje skupine bolesnika ( $P<0,001$  i  $P=0,001$ ) (Slika 5.10.7.). Dinamika kretanja skora nutritivnog rizika je također bila statistički značajna u skupini preživjelih bolesnika ( $P<0,001$ ). (Slika 5.10.8) Što se tiče utjecaja uzimanja nutritivne potpore na smrtni ishod nakon 6 mjeseci, ovdje nije uočena statistički značajna razlika među skupinama bolesnika ( $P=0,200$ ) (Slika 5.10.9).

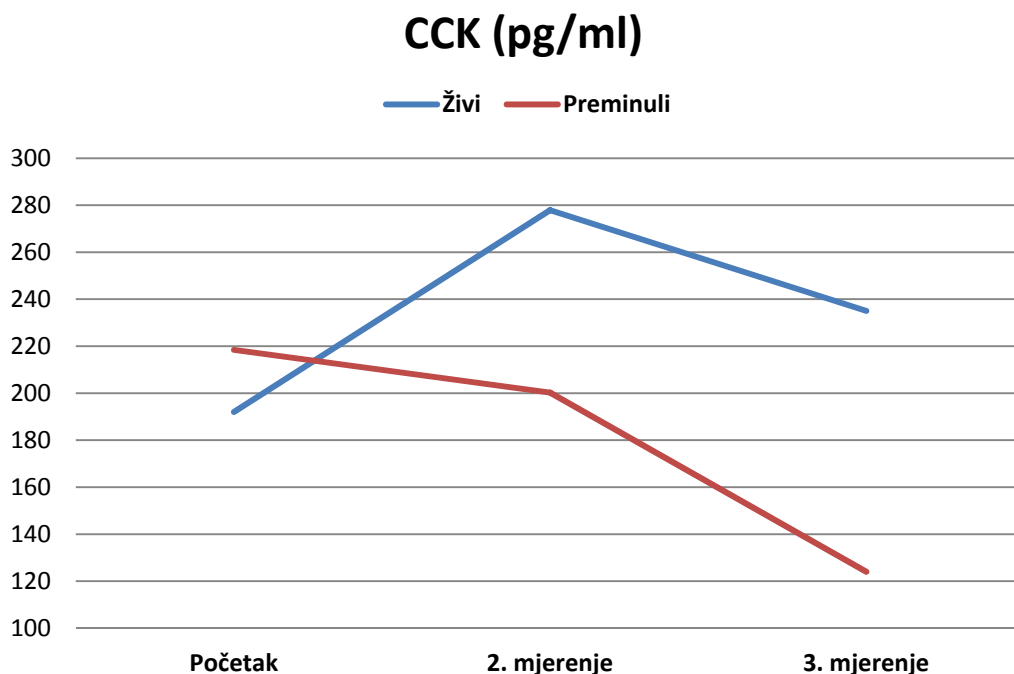
Slika 5.10.1. Razlike u pojedinim mjerenjima koncentracije grelina u serumu bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles					
		25th	50th	75th			
Živ	GRELIN (pg/ml): 1. mjerjenje	1099,75	1547,00	2459,25	Živ	N	46
	GRELIN (pg/ml): 2. mjerjenje	1137,750	1644,000	2765,000		Chi-Square	,341
	GRELIN (pg/ml): 3. mjerjenje	1147,500	1615,500	2931,250		df	2
Mrtav	GRELIN (pg/ml): 1. mjerjenje	1077,00	2030,00	3644,25	Mrtav	N	8
	GRELIN (pg/ml): 2. mjerjenje	843,000	1980,000	3908,750		Chi-Square	3,000
	GRELIN (pg/ml): 3. mjerjenje	728,250	1487,000	3074,500		df	2
						P	,223

a. Friedman Test

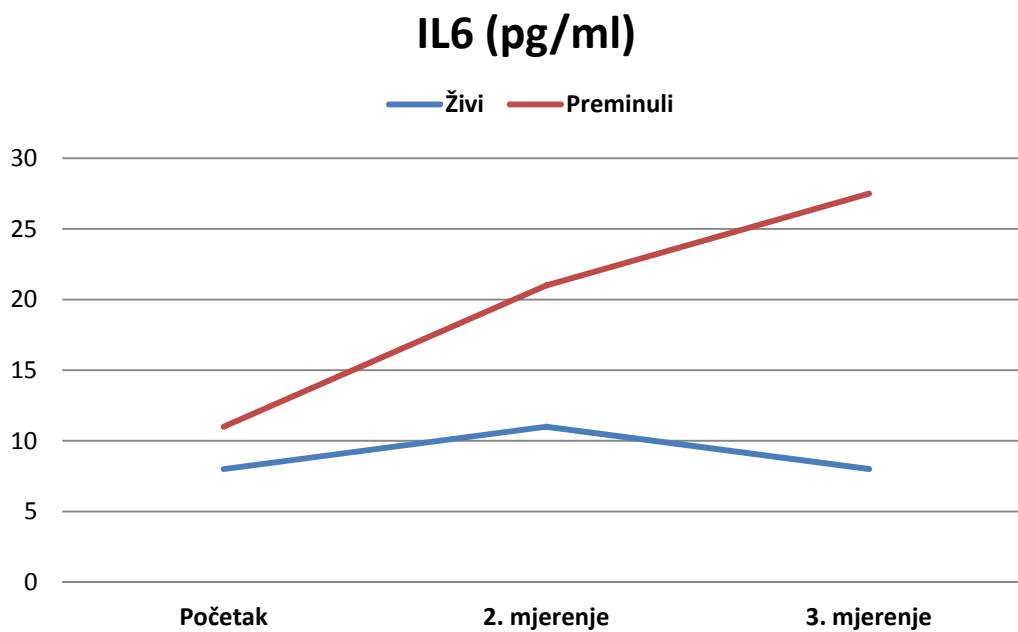
Slika 5.10.2. Razlike u pojedinim mjerenjima koncentracije CCK u serumu bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles				N		
		25th	50th	75th				
Živ	CCK (pg/ml): 1. mjerenje	161,000	192,000	380,700	Živ	47	Chi-Square	11,532
	CCK (pg/ml): 2. mjerenje	220,600	277,900	400,500			df	2
	CCK (pg/ml): 3. mjerenje	174,700	235,000	498,400			P	<b>,003</b>
Mrtav	CCK (pg/ml): 1. mjerenje	131,250	218,450	499,175	Mrtav	8	Chi-Square	1,750
	CCK (pg/ml): 2. mjerenje	98,875	200,250	479,025			df	2
	CCK (pg/ml): 3. mjerenje	48,475	124,000	362,075			P	,417

a. Friedman Test

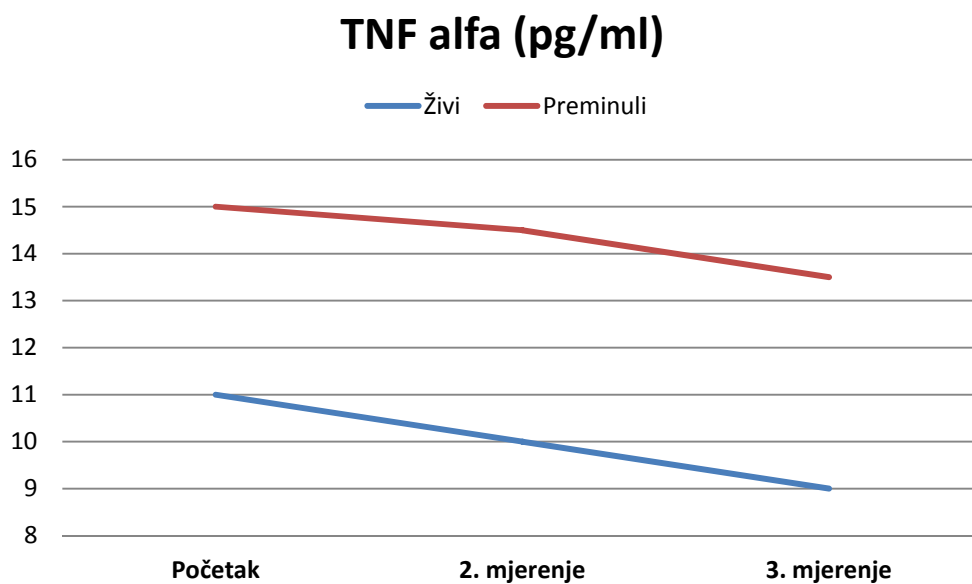
Slika 5.10.3. Razlike u pojedinim mjerenjima koncentracije IL-6 u serumu bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles				N	47
		25th	50th	75th			
Živ	IL6 (pg/mL): 1. mjerjenje	6,00	8,00	13,00	Živ	Chi-Square	3,939
	IL6 (pg/mL): 2. mjerjenje	6,00	11,00	22,00		df	2
	IL6 (pg/mL): 3. mjerjenje	4,00	8,00	13,00		P	,139
Mrtav	IL6 (pg/mL): 1. mjerjenje	8,25	11,00	24,50	Mrtav	N	8
	IL6 (pg/mL): 2. mjerjenje	18,00	21,00	28,00		Chi-Square	10,750
	IL6 (pg/mL): 3. mjerjenje	22,50	27,50	137,50		df	2
						P	,005

a. Friedman Test

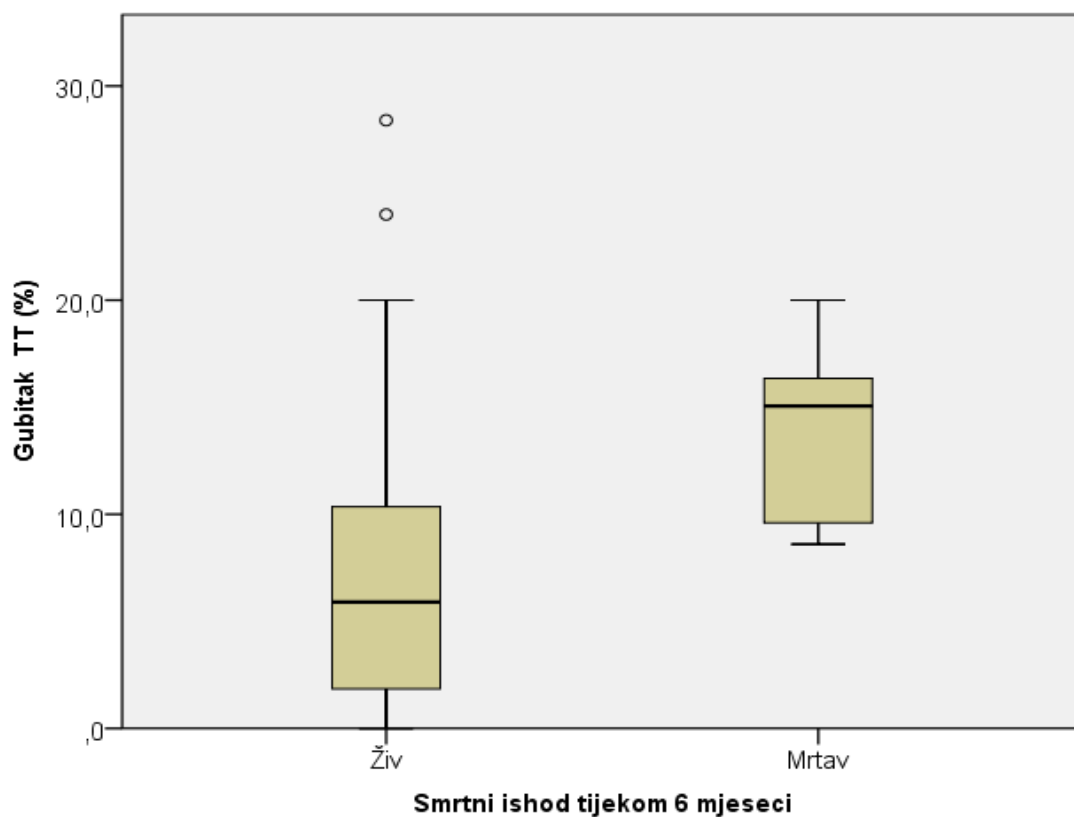
Slika 5.10.4. Razlike u pojedinim mjerenjima koncentracije TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles					
		25th	50th	75th			
Živ	TNFa (pg/mL): 1. mjerjenje	8,00	11,00	12,00	Živ	N	47
	TNFa (pg/mL): 2. mjerjenje	8,00	10,00	12,00		Chi-Square	1,312
	TNFa (pg/mL): 3. mjerjenje	7,00	9,00	12,00		df	2
Mrtav	TNFa (pg/mL): 1. mjerjenje	12,50	15,00	16,00	Mrtav	N	8
	TNFa (pg/mL): 2. mjerjenje	10,25	14,50	16,00		Chi-Square	9,308
	TNFa (pg/mL): 3. mjerjenje	10,25	13,50	14,75		df	2
						P	<b>,010</b>

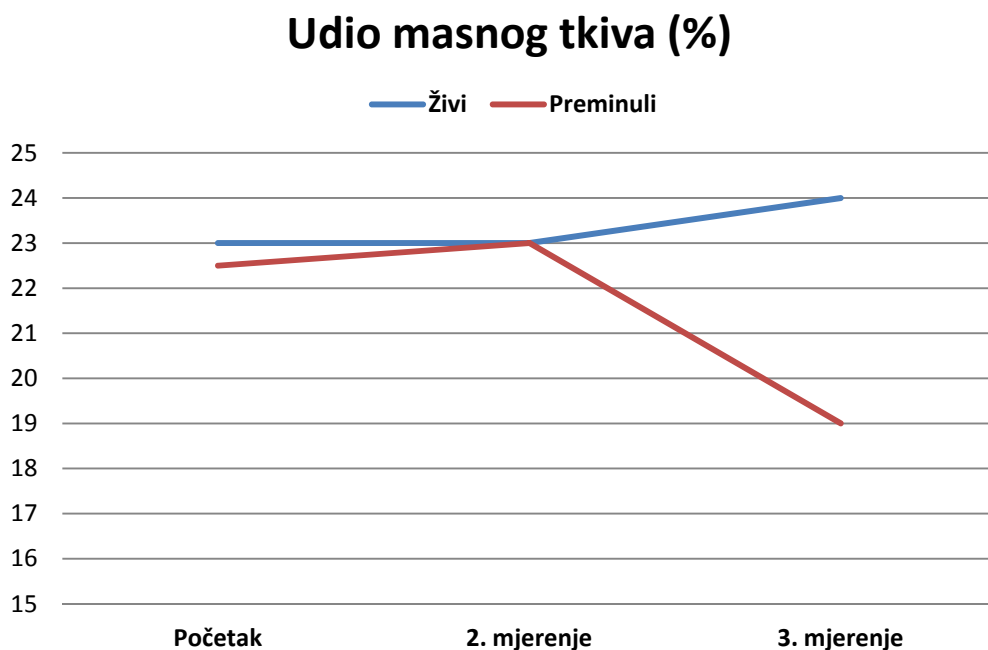
a. Friedman Test

Slika 5.10.5. Razlike u gubitku tjelesne mase u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Mann-Whitney U	Z	P
71,000	-2,800	,005

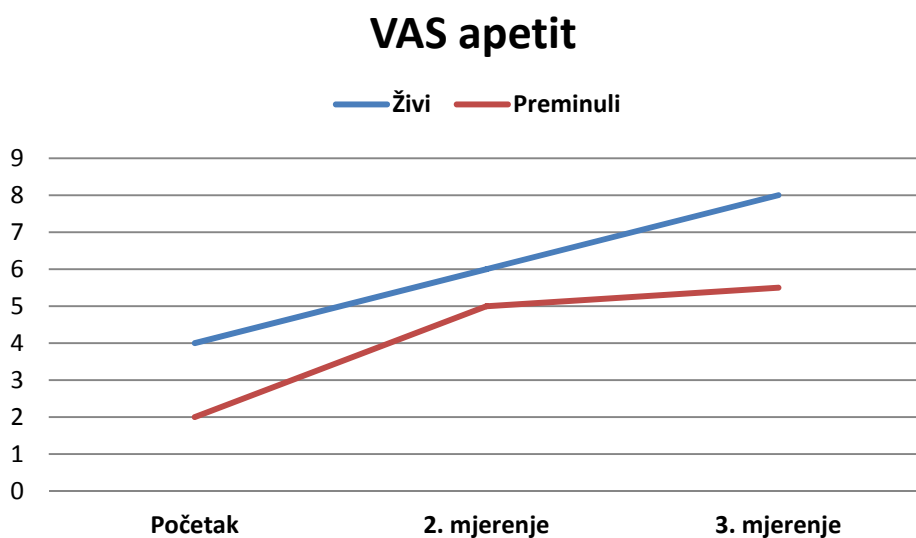
Slika 5.10.6. Razlike u pojedinim mjerenjima udjela masnog tkiva bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles					
		25th	50th	75th			
Živ	% masnog tkiva: 1. mjerenje	18,00	23,00	25,00	Živ	N	47
	% masnog tkiva: 2. mjerenje	17,00	23,00	24,00		Chi-Square	17,058
	% masnog tkiva: 3. mjerenje	20,00	24,00	25,00		df	2
Mrtav	% masnog tkiva: 1. mjerenje	12,25	22,50	25,00	Mrtav	P	<0,001
	% masnog tkiva: 2. mjerenje	14,25	23,00	24,75		N	8
	% masnog tkiva: 3. mjerenje	15,25	19,00	22,00		Chi-Square	,467
						df	2
						P	,792

a. Friedman Test

Slika 5.10.7. Razlike u pojedinim mjerenjima razine apetita bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci

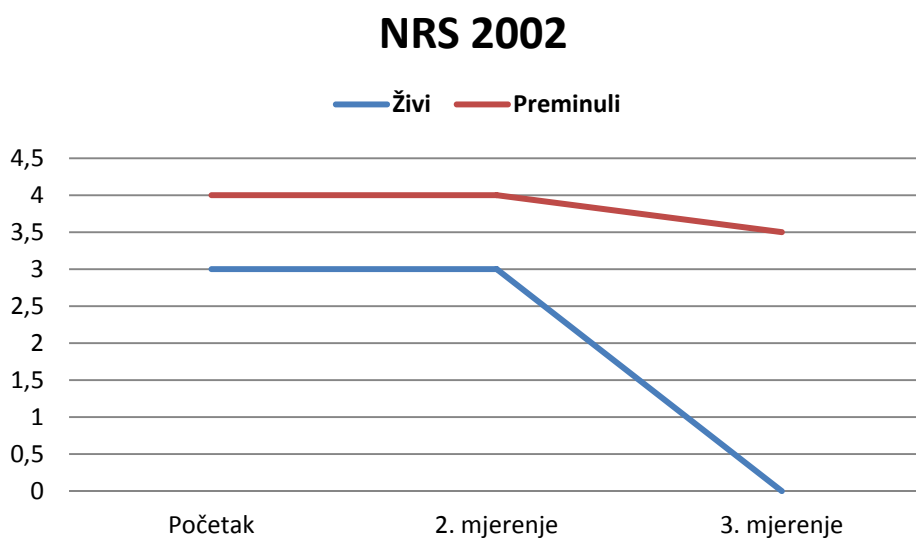


Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles					
		25th	50th	75th			
Živ	VAS apetit: 1. mjerjenje	3,00	4,00	7,00	Živ	N	47
	VAS apetit: 2. mjerjenje	4,00	6,00	8,00		Chi-Square	55,500
	VAS apetit: 3. mjerjenje	6,00	8,00	9,00		df	2
Mrtav	VAS apetit: 1. mjerjenje	2,00	2,00	3,00	Mrtav	P	<0,001
	VAS apetit: 2. mjerjenje	3,00	5,00	6,50		N	8
	VAS apetit: 3. mjerjenje	5,00	5,50	6,75		Chi-Square	14,000
						df	2
						P	,001

a. Friedman Test



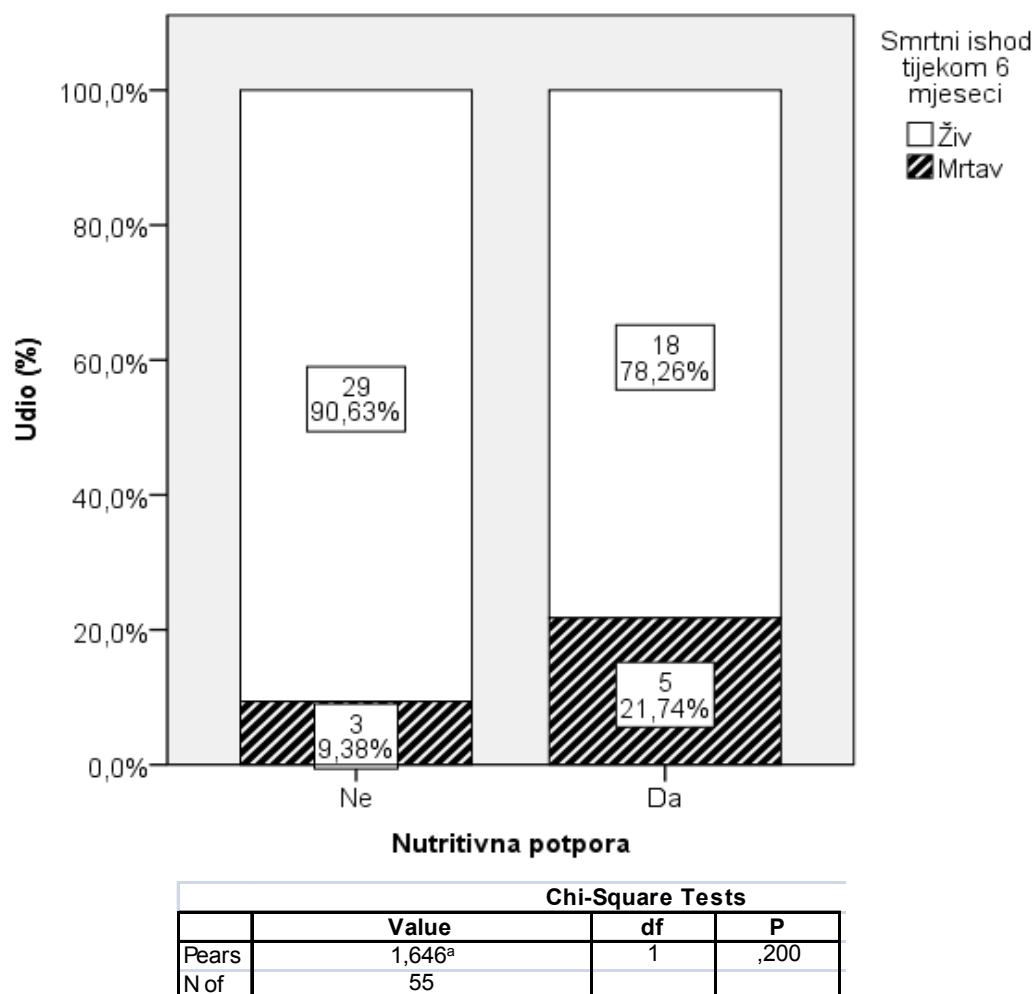
Slika 5.10.8. Razlike u pojedinim mjerenjima nutritivnog rizika (NRS 2002) bolesnika u odnosu na ishod nakon 6 mjeseci



Smrtni ishod tijekom 6 mjeseci		Percentiles				N	46
		25th	50th	75th			
Živ	NRS2002: 1. mjerenje	2,000	3,000	4,000	Živ	Chi-Square	32,962
	NRS2002: 2. mjerenje	2,00	3,00	4,00		df	2
	NRS2002: 3. mjerenje	,00	,00	3,00		Asymp.	<0,001
Mrtav	NRS2002: 1. mjerenje	3,000	4,000	5,000	Mrtav	N	8
	NRS2002: 2. mjerenje	3,25	4,00	5,00		Chi-Square	1,368
	NRS2002: 3. mjerenje	2,00	3,50	4,75		df	2
						Asymp.	,504

a. Friedman Test

Slika 5.10.9. Utjecaj uzimanja nutritivne potpore na smrtni ishod nakon 6 mjeseci



Da bismo dodatno provjerili utjecaj različitih parametara na ishod bolesnika, a obzirom da su smrtni ishodi zabilježeni samo kod onih s malignom bilijarnom opstrukcijom, učinjena je i podanaliza za sve parametre posebno u grupi malignih bolesnika. Relevantni rezultati su prikazani u Tablici 5.10.2.

I u skupini bolesnika s malignom bilijarnom opstrukcijom potvrdili smo da veći gubitak tjelesne mase, niža razina apetita, više koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u incijalnom mjerenju ukazuju na značajnu korelaciju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci. 28 dana nakon

rješavanja bilijarne opstrukcije niža razina apetita i više koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  opet su pokazali značajnu korelaciju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci.

Tablica 5.10.2. Korelacija biokemijskih i nutritivnih parametara sa preživljenjem bolesnika s malignom etiologijom bilijarne opstrukcije nakon 6 mjeseci praćenja

	Živ N=13			Mrtav N=8			P
	25th	50th (Median)	75th	25th	50th (Median)	75th	
Gubitak TT (%)	5,075	8,500	10,750	9,30	15,050	16,575	<b>0,008</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> ): 1. mjerenje	19,425	21,650	24,025	14,100	23,000	30,200	0,823
BMI (kg/m <sup>2</sup> ): 2. mjerenje	18,925	21,500	24,025	14,900	22,000	29,900	0,823
BMI (kg/m <sup>2</sup> ): 3. mjerenje	18,675	21,100	24,925	15,700	21,100	29,900	0,681
NRS2002: 1. mjerenje	3,750	4,000	4,250	3,000	4,000	5,000	0,548
NRS2002: 2. mjerenje	3,75	4,00	4,25	3,00	4,00	5,00	0,658
NRS2002: 3. mjerenje	2,25	4,00	4,25	2,00	4,00	5,00	0,877
% masnog tkiva: 1. mjerenje	13,75	18,50	23,00	12,00	22,00	25,00	0,940
% masnog tkiva: 2. mjerenje	13,25	18,50	23,50	14,00	24,00	25,00	0,627
% masnog tkiva: 3. mjerenje	16,00	21,50	23,00	15,00	19,00	22,00	0,175
VAS apetit: 1. mjerenje	2,75	5,50	7,00	2,00	2,00	3,00	<b>0,024</b>
VAS apetit: 2. mjerenje	5,00	7,00	8,25	3,00	5,00	7,00	0,101
VAS apetit: 3. mjerenje	7,00	8,00	9,00	5,00	5,00	7,00	<b>0,018</b>
CRP (mg/L): 1. mjerenje	5,125	6,950	12,925	2,300	6,000	10,500	0,179
CRP (mg/L): 2. mjerenje	8,175	9,900	53,950	5,800	10,200	25,000	0,765
CRP (mg/L): 3. mjerenje	6,550	11,100	39,775	8,900	10,000	175,000	0,654
Bilirubin (mmol/L): 1. mjerenje	145,000	255,000	378,250	89,600	270,000	284,000	0,370
Bilirubin (mmol/L): 2. mjerenje	92,750	165,850	265,925	98,000	188,000	255,000	0,881
Bilirubin (mmol/L): 3. mjerenje	26,825	41,900	121,000	22,000	43,000	67,000	0,601
Albumini (g/L): 1. mjerenje	32,775	35,600	40,250	33,500	36,900	37,800	0,852
Albumini (g/L): 2. mjerenje	32,1500	34,0000	38,0000	32,0000	34,0000	35,0000	0,500
Albumini (g/L): 3. mjerenje	34,425	37,000	39,000	32,000	34,000	36,000	0,043
GRELIN (pg/ml): 1. mjerenje	1012,00	1547,00	4736,25	972,00	2035,00	4179,00	0,941
GRELIN (pg/ml): 2. mjerenje	824,500	1138,000	3937,000	776,000	1980,000	3909,000	0,500
GRELIN (pg/ml): 3. mjerenje	738,500	1197,000	3291,000	726,000	1981,000	3075,000	0,941
CCK (pg/ml): 1. mjerenje	161,525	188,550	193,950	104,000	217,900	547,300	0,136
CCK (pg/ml): 2. mjerenje	168,625	308,550	407,275	65,500	199,900	550,400	0,575
CCK (pg/ml): 3. mjerenje	168,150	193,500	258,850	48,200	123,000	358,400	0,205
IL6 (pg/mL): 1. mjerenje	6,75	8,50	10,00	9,00	11,00	29,00	<b>0,024</b>
IL6 (pg/mL): 2. mjerenje	14,50	22,50	43,50	18,00	22,00	30,00	0,940
IL6 (pg/mL): 3. mjerenje	7,00	8,50	37,50	24,00	29,00	173,00	<b>0,030</b>
TNF $\alpha$ (pg/mL): 1. mjerenje	9,75	11,00	12,25	14,00	15,00	16,00	<b>0,001</b>
TNF $\alpha$ (pg/mL): 2. mjerenje	9,00	11,00	13,75	11,00	14,00	15,00	0,177
TNF $\alpha$ (pg/mL): 3. mjerenje	9,75	11,00	12,25	11,00	15,00	16,00	<b>0,018</b>

## 6 RASPRAVA

Pothranjenost je česta u populaciji hospitaliziranih bolesnika, a njeni nepovoljni učinci na klinički tijek i ishod bolesti su nedvojbeno potvrđeni. Prema mnogobrojnim istraživanjima u zadnjih tridesetak godina prevalencija pothranjenosti u bolničkoj populaciji kreće se od 20 do 50% (154). Rezultati recentnog prospektivnog istraživanja provedenog na 1696 hospitaliziranih bolesnika na Klinici za unutarnje bolesti KBC „Sestre milosrdnice“ govore da je 19,4% naših bolesnika pri prijemu u bolnicu pothranjeno (155). Najveća prevalencija pothranjenosti registrirana je upravo kod gastroenteroloških bolesnika (155).

Bolesti bilijarnog sustava čine važan dio morbiditeta opće populacije. Bolesnici s bilijarnom opstrukcijom čine heterogenu skupinu čije stanje izaziva niz benignih i malignih bolesti koje dovode do opstrukcije intra ili ekstrahepatalnih žučnih vodova, a zajednički im je povećani postotak komplikacija i smrtnosti (156). Najčešće komplikacije uključuju sepsu, krvarenje iz probavnog sustava, zatajenje bubrega, odgođeno cijeljenje rana i poremećaj koagulacije (57). Osnovna pretpostavka ovog istraživanja temeljila se na opservaciji iz kliničke prakse da bilijarna opstrukcija ima negativni učinak na nutritivni status bez obzira na etiologiju opstrukcije i da nutritivni parametri imaju važnu ulogu u ishodu liječenja ovih bolesnika. Rezultati relativno malog broja istraživanja, koristeći se procjenom temeljenom na biokemijskim, imunološkim i antropometrijskim varijablama, potvrđuju da prevalencija pothranjenosti kod bolesnika s opstrukcijskim ikterusom doseže čak 80% (157, 158, 117). U dosadašnjim malobrojnim istraživanjima nema jednoznačnih odgovora koji su to čimbenici koji reguliraju apetit i nutritivni status bolesnika prije i nakon rješavanja bilijarne opstrukcije. Unos hrane i homeostazu energije čvrsto povezuje složeni sistem živčanih struktura i humoralnih čimbenika koji tvore osovinu mozak-crijevo (72). U biološki važnim signalnim sustavima često se susreću višestruko ponavljajuće komponente, upravo da bi postojala

moćnost kompenzacije u slučaju da jedan dio signalne mreže zataji (159). U kontroli unosa hrane, kao jednoj od vitalnih životnih funkcija, nije čudno da postoji mnoštvo regulatornih molekula umreženih kompleksnim međudjelovanjem. Smatra se da su samo neke funkcije ostale sačuvane tijekom evolucije na način da je samo određeni broj regulatornih molekula odabrano za kontrolu tjelesne mase, ali istodobno na više fizioloških razina (159). CCK je bio prvi intestinalni hormon za koji je dokazano da reducira apetit u ljudi (71). Nakon njega otkriveno je mnoštvo peptida iz želuca i crijeva koji imaju sličan učinak, ali do danas jedini poznati periferni peptid sa centralnim djelovanjem koji stimulira apetit je grelin (79). Mnogi danas smatraju da primjer grelina ilustrira važnost funkcionalne međuzavisnosti želuca i hipotalamusa i da je on jedna od karika koja je nedostajala u razumijevanju regulacije ravnoteže energije, rasta i funkcioniranja probavnog sustava. Postoje dokazi koji govore u prilog funkcionalnog antagonizma grelina i CCK na unos hrane, no njihovo točno međudjelovanje u specifičnim kliničkim situacijama nije do sada dokazano (96). Obzirom da je prisustvo žuči u duodenumu važan modulator postprandijalne sekrecije CCK, cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj bilijarne opstrukcije i smanjena koncentracija žučnih kiselina u duodenumu na koncentraciju CCK u serumu i u kojem su odnosu te vrijednosti naspram koncentracije grelina i nekih od čimbenika tumorske, odnosno upalne anoreksije.

U analiziranoj populaciji 55 bolesnika s opstrukcijskim ikterusom koju smo obuhvatili istraživanjem nutritivni status bolesnika bio je značajno lošiji nego u kontrolnoj skupini. Svi nutritivni pokazatelji, uključujući indeks tjelesne mase, postotak masnog tkiva, ukupni kolesterol, koncentracija albumina i hemoglobina u serumu bili su značajno niži, a gubitak tjelesne mase i vrijednosti NRS 2002 značajno veće u ispitanjoj u odnosu na kontrolnu skupinu. Kod bolesnika sa zloćudnim tumorima pankreatobilijarnog sustava očekivano su registrirani lošiji nutritivni parametri, pa je tako dokazana i korelacija s nižim indeksom

tjelesne mase i postotkom masnog tkiva, odnosno s većim gubitkom tjelesne mase i većom prevalencijom pothranjenosti. Od analiziranih hormona koji kontroliraju apetit dokazali smo po prvi puta da je u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom značajno povišena koncentracija grelina. Istodobno smo registrirali i više koncentracije CCK u serumu, ali je ta razlika bila na granici statističke značajnosti. Ipak, uočili smo značajno više koncentracije CCK u serumu pothranjenih bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu. Nije uočeno značajne razlike u koncentracijama obaju hormona između dvije skupine bolesnika obzirom na etiologiju bilijarne opstrukcije. U korelacijskoj analizi s nutritivnim parametrima utvrdili smo da je CCK pozitivno povezan s indeksom tjelesne mase i postotkom masnog tkiva, dok za te parametre istovremeno postoji negativna korelacija s grelinom. To je u suglasju s recentnim istraživanjima koja sugeriraju da je grelin klinički marker katabolizma, budući da se njegove povišene koncentracije nalaze u serumu bolesnika s kaheksijom povezanom s nekim malignim bolestima i kroničnim srčanim i bubrežnim zatajenjem (160). Naši rezultati govore u prilog i teoriji da cirkulirajući grelin reflektira promjene u tjelesnoj masi kroz dulji vremenski period i da bi mogao biti signal adipoziteta (161). Rezultati korelacije s antropometrijskim nutritivnim parametrima sugeriraju funkcionalni antagonizam između grelina i CCK. Suprotno očekivanjima, u korelacijskoj analizi smo utvrdili negativnu povezanost težine bilijarne opstrukcije s vrijednostima grelina, dok s koncentracijom CCK u serumu nije utvrđena povezanost. To potvrđuje rezultate Koopa i suradnika da kronično smanjenje količine žuči u duodenumu ne utječe na koncentraciju CCK u serumu (59). S druge strane, u studiji Padilla i suradnika, koja je prema dizajnu bila najslučnija našem istraživanju, uočena je jasna pozitivna korelacija koncentracije CCK u serumu i bilirubina (105). Dio objašnjenja krije se u činjenici da su kriteriji za uključivanje što se tiče koncentracije bilirubina bile više nego u našem istraživanju ( $>85 \mu\text{mol/L}$  prema  $>35 \mu\text{mol/L}$ ; srednja

vrijednost  $230 \pm 120 \mu\text{mol/L}$  prema  $182 \pm 96 \mu\text{mol/L}$ , medijani i raspon nisu prikazani) i da je u njihovoj skupini bilo više bolesnika s malignom bolesti koji imaju značajno više koncentracije bilirubina. S druge strane, kod bolesnika s malignim bolestima pankreatobilijarnog sustava, pogotovo u stadijima kada je bolest lokalno proširena, nastaju promjene sluznice dvanaesnika koje mogu dovesti do redukcije mase stanica koje izlučuju CCK. Naši rezultati su tendirali pozitivnoj korelaciji, ali samo na granici statističke značajnosti, ali naša ispitivana i kontrolna skupina su bile veće nego u studiji Padilla i suradnika, pa se postavlja pitanje da li se opažene inkonzistentnosti među rezultatima mogu ipak objasniti malim skupinama i velikom heterogenosti ispitanika.

Koncentracije humoralnih pokazatelja upale, uključujući IL-6, TNF- $\alpha$  i C-reaktivni protein, bile su značajno povišene u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu skupinu. Prilikom usporedbe benigne i maligne grupe jedino je vrijednost CRP-a bila značajno veća kod bolesnika s benignom bilijarnom opstrukcijom ( $p=0,001$ ), dok se koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  nisu bitno razlikovale u odnosu na etiologiju bolesti. Pozitivna korelacija TNF- $\alpha$  uočena je s težinom bilijarne opstrukcije. Od upalnih pokazatelja jedino je koncentracija TNF- $\alpha$  u serumu pothranjenih bolesnika bila značajno viša nego u onih koji nisu bili u nutritivnom riziku ( $P=0,001$ ), a bolesnici s višim koncentracijama TNF- $\alpha$  su imali značajno veći gubitak tjelesne mase ( $P=0,001$ ). U situaciji opstrukcijskog ikterusa upravo se TNF- $\alpha$  izdvojio kao prediktivni čimbenik pothranjenosti (95 CI; OR 2,03;  $p=0,001$ ). Zanimljivo je da su bolesnici s višim vrijednostima indeksa tjelesne mase i postotka masnog tkiva imali značajno više koncentracije CRP-a u serumu, a istovremeno je za CRP uočena značajna negativna korelacija s koncentracijom grelina u serumu. Ovo je još jedan indirektni dokaz da je grelin marker katabolizama i signalizira promjene u količini masnog tkiva.

Nismo uspjeli dokazati značajnu korelaciju između razine apetita i ispitivanih upalnih i hormonskih pokazatelja. Samo za dva parametra utvrdili smo povezanost s razinom apetita. Razina boli prema vizualno – analognoj skali bila je u negativnoj korelaciji s razinom apetita, dok je kolonizacija s *Helicobacter pylori* bila povezana s većom razinom apetita. Iako je u našoj ispitivanoj skupini kolonizacija s *H.pylori* bila je značajno češća nego u kontrolnoj, nismo utvrdili značajnu korelaciju kolonizacije s *H.pylori* i koncentracije grelina u serumu. Većina studija, iako ne sve, koje su istraživale koncentraciju cirkulirajućeg grelina i ekspresiju grelina u želucu osoba s *H.pylori* kolonizacijom, upućuju na to da *H.pylori* ima negativni učinak na proizvodnju i/ili sekreciju grelina (162). Usprkos činjenici da prema nekim istraživanjima eradikacija *H.pylori* normalizira koncentraciju grelina, poboljšava apetit i povećava indeks tjelesne mase, uzročno-posljedična veza između koncentracije grelina u serumu *H.pylori* pozitivnih osoba i unosa hrane nije utvrđena.

Dokazali smo pozitivnu korelaciju dobi ispitanika s koncentracijom CCK u serumu ( $P=0,008$ ), dok povezanost nije potvrđena za grelin. U populaciji starijoj od 65 godina koncentracija CCK u serumu je bila značajno veća, dok se koncentracije grelina, IL-6, TNF- $\alpha$  i CRP nisu značajno razlikovale od onih mlađih od 65 godina. Postoji nekoliko istraživanja na općoj populaciji u kojima su nađene više koncentracije CCK u serumu zdravih starijih u odnosu na mlađe ispitanike, što ga je pretpostavilo kao mogućeg medijatora anoreksije u starijoj dobi (145-149). U našoj populaciji razina apetita nije se značajno razlikovala u odnosu na dob, ali su lošiji nutritivni parametri značajno bili na strani starijih bolesnika; potvrđena je povezanost s većim gubitkom tjelesne mase i većim rizikom pothranjenosti, odnosno s manjim postotkom masnog tkiva i vrijednostima albumina u serumu. Ovdje treba upozoriti na činjenicu da se, usprkos tome, vrijednosti indeksa tjelesne mase nisu značajno razlikovale u starijih i mlađih bolesnika, što samo potvrđuje da je indeks tjelesne mase



neprecizan parametar u procjeni sastava tijela i da ga treba promatrati samo u kontekstu s ostalim nutritivnim pokazateljima (155).

Da bismo analizirali utjecaj unutarnje bilijarne drenaže na koncentracije parametara kolestaze, hormona koji reguliraju apetit, upalne pokazatelje, apetit i nutritivni status, bolesnicima je četrdeset osam sati i dvadeset osam dana nakon uspješno izvedene intervencije ponovljeno određivanje relevantnih parametara. Kao što smo i očekivali, svi parametri uhranjenosti (BMI, postotak masnog tkiva, NRS 2002, albumini u serumu) pokazali su značajno poboljšanje 28 dana nakon uspostave bilijarne drenaže. Što se tiče upalnih parametara, jedino je za CRP dokazana značajna razlika u dinamici u odnosu na sva tri mjerenja – nakon 48 sati došlo je do značajnog povišenja vrijednosti CRP u serumu u odnosu na početne vrijednosti, da bi se nakon 28 dana ta razina značajno smanjila u odnosu na drugo mjerenje, ali i početno ( $P=0,009$ ). Moguće objašnjenje za povišenje CRP-a u serumu kratko nakon ERCP-a je asimptomatska prolazna bakterijemija koja se, prema nekim referencama, događa u čak do 27% terapijskih procedura (163, 164) (bolesnici s bilo kojom klinički razvijenom komplikacijom bili su prema protokolu isključeni iz praćenja). Koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu nisu pokazale značajnu dinamiku nakon bilijarne drenaže, no njihove koncentracije su sada bile značajno veće u serumu pothranjenih bolesnika i onih s malignom bolesti. Rezultati dvije studije koje su istraživale učinak bilijarne drenaže na markere akutne faze upale i citokine također nisu pokazale značajne promjene tijekom produženog praćenja u koncentracijama IL-6 i TNF- $\alpha$  (u oba slučaja se radilo isključivo o bolesnicima s malignom bilijarnom opstrukcijom) (55, 165). Jedno od ponuđenih objašnjenja ovog fenomena nalazi se u studiji Rosena i suradnika u kojoj su određivali bilijarnu koncentraciju IL-6 i TNF- $\alpha$  u bolesnika koji su podvrgnuti ERCP-u; ovi citokini su se pokazali kao osjetljivi markeri supkliničke bilijarne infekcije (166). Možemo pretpostaviti da, osim uloge tumora u

aktivaciji reaktanata akutne faze upale, može ih izlučivati i domaćin zbog povećanog rizika kontaminacije i infekcije bilijarnog stabla nakon gubitka kontrole sfinktera Odi uslijed bilijarne sfinkterotomije.

Za koncentracije grelina također nismo uočili značajnu dinamiku u kretanju nakon bilijarne drenaže, njegove koncentracije i dalje bile značajno veće u odnosu na kontrolnu skupinu i nisu se značajno razlikovale među pothranjenim bolesnicima i onima s urednim nutritivnim statusom. Isto tako nije bilo značajnih razlika u koncentraciji u odnosu na etiologiju bolesti. Zanimljivo je da je značajna dinamika zapažena u kretanju CCK - nakon 48 sati došlo je do značajnog povišenja koncentracije CCK u serumu, ali nakon 28 dana ta vrijednost se spustila u odnosu na prethodnu, koja je opet bila viša u odnosu na početnu. Koncentracija CCK nije se razlikovala među pothranjenim bolesnicima i onima s urednim nutritivnim statusom, ali su sada uočene značajno više koncentracije CCK u obje skupine bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu. Zanimljivo je i da smo sada utvrdili značajno niže vrijednosti CCK u serumu bolesnika s malignom etiologijom bolesti ( $P=0,002$ ). Ovi rezultati govore u prilog ranije iznesenoj pretpostavci da lokalno proširena maligna bolest (u najvećem broju karcinom gušterače) utječe na količinu stanica koje luče CCK. Logističkom regresijom uočeno je da veća koncentracija CCK 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije značajno smanjuje šansu za pothranjenost (CI 95%; OR 0,99;  $p=0,007$ ).

Iako incijalno nije bilo značajnih razlika u apetitu između ispitivane i kontrolne skupine, činjenica je da se po uspostavi bilijarne drenaže razina apetita značajno povećala u ispitivanoj skupini ( $P<0,001$ ). Nismo dokazali statističku značajnost u regresijskom modelu predikcije utjecaja koncentracije grelina, CCK i upalnih pokazatelja u serumu na razinu apetita u stanju opstruktivskog ikterusa i 28 dana nakon uspostave bilijarne drenaže.

Bolesnici koji su uzimali nutritivnu potporu tijekom mjesec dana imali su značajno više sve mjerene parametre upale u odnosu na one koji nisu uzimali nutritivnu potporu. Ovaj rezultat treba promatrati u kontekstu činjenice da su nutritivnu potporu dobivali samo pothranjeni bolesnici, a u njihovom serumu su nakon uspostave bilijarne drenaže utvrđene značajno veće koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu. Uzimanje nutritivne potpore nije imalo utjecaja na razinu hormona koji reguliraju apetit, niti na sam apetit prema vizualno analognoj skali. Parametri uhranjenosti (BMI, serumski albumini i vrijednosti NRS 2002) bili su značajno lošiji u skupini bolesnika koji su uzimali nutritivnu potporu, što se može objasniti činjenicom da je toj skupini bolesnika nutritivna potpora i bila indicirana zbog inicijalno lošijeg nutritivnog statusa, a da je vremenski period od mjesec dana moguće bio prekratak za eventualni dokaz benefita nutritivne potpore. Što se tiče utjecaja uzimanja nutritivne potpore na smrtni ishod tijekom 6 mjeseci, niti ovdje nije uočena statistički značajna razlika među skupinama bolesnika. U ovom produženom periodu nastavak nutritivne potpore bio je namijenjen samo bolesnicima s malignom bolesti, budući da ispitanici u benignoj skupini nisu imali potrebu za istom. Razmatrajući utjecaj ostalih parametara, utvrdili smo da veći gubitak tjelesne mase, pothranjenost, niža razina apetita, niže koncentracije CRP-a i više vrijednosti TNF- $\alpha$  u serumu u inicijalnom mjerenju pokazuju značajnu korelaciju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci. Nakon rješavanja bilijarne opstrukcije, kod bolesnika s malignom etiologijom bolesti pothranjenost, niži postotak masnog tkiva, niže koncentracije albumina u serumu, niža razina apetita, niže koncentracije CCK i više koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu značajno koreliraju sa smrtnim ishodom nakon 6 mjeseci. I u našem istraživanju potvrđena je poznata opservacija o sniženim koncentracijama albumina u serumu kao predskazatelju mortaliteta u hospitaliziranoj populaciji (167).

Iako smo ovim istraživanjem potvrdili inicijalne hipoteze da bilijarna opstrukcija utječe na koncentraciju grelina i kolecistokinina u serumu, upalne pokazatelje, apetit i nutritivni status bolesnika, a da endoskopska bilijarna drenaža ima pozitivne učinke na apetit, nutritivni status bolesnika i hormone koji reguliraju apetit, rezultati zahtijevaju pažljivu interpretaciju. U recentnim studijama objavljeni su rezultati koji dokazuju da grelin može djelovati kao protuupalni čimbenik inhibirajući ekspresiju proupalnih citokina TNF- $\alpha$  i IL-6 u ljudi (168). U opstrukcijskom ikterusu i još 28 dana nakon rješavanja bilijarne opstrukcije povišena koncentracija grelina u serumu pratila je istovremeno višu koncentraciju TNF- $\alpha$  i IL-6 u serumu, moguće kao kompenzatorni mehanizam na perzistentnu upalu. Nadalje, budući da je od analiziranih upalnih pokazatelja u serumu pothranjenih bolesnika upravo TNF- $\alpha$  bio značajno povišen, ta činjenica dodatno upućuje na veću koncentraciju grelina kao kompenzatorni odgovor na negativnu ravnotežu energije. Činjenica da razina apetita nije bila povišena usprkos povišenim koncentracijama grelina u serumu može sugerirati postojanje određene rezistencije na grelin. Isto tako porast apetita nakon rješavanja bilijarne opstrukcije uz perzistenciju povišene koncentracije grelina, TNF- $\alpha$  i IL-6 u serumu, govori u prilog postojanja dodatnih čimbenika u regulaciji apetita. Saznanja o neurofiziologiji apetita temelje se većinom na informacijama iz studija na životinjama uz pretpostavku da animalni modeli reflektiraju patofiziologiju u ljudi (169). Rezultati istraživanja koji se odnose na koncentracije citokina u serumu i sindroma tumorske anoreksije/kaheksije su proturječni. Brojni proinflammatorni citokini uključujući IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  smatraju se medijatorima kaheksije budući da su njihove koncentracije povišene u serumu bolesnika s karcinomima, ali njihova veza s gubitkom apetita i tjelesne mase nije dokazana (169). Rezultati istraživanja provedenog među bolesnicima s opstrukcijskim ikterusom kojima smo dokazali negativnu

korelaciju gubitka tjelesne mase i koncentracije TNF- $\alpha$  u serumu prilog su teoriji o citokinima kao medijatorima kaheksije.

Moramo uzeti u obzir i činjenicu da se u zadnjih nekoliko godina u fokusu istraživanja nalaze izoforme grelina kao okosnice osovine crijevo-mozak. Iako je deacilirani grelin u početku smatran nusproduktom razgradnje grelina jer ne aktivira receptor hormona rasta, danas se smatra da je to zaseban hormon koji posjeduje raznoliku biološku aktivnost, posebice u kardiovaskularnom, koštanom i reproduktivnom sustavu, a mnogi od učinaka su u suprotnosti sa onima acetiliranog grelina (170). Moguće je da su različiti biološki učinci posljedica aktivacije alternativnih receptora, pa bi određivanje izoformi grelina, odnosno njihovog omjera moglo biti važno u interpretaciji rezultata.

Iako postoje dokazi za funkcionalni antagonizam grelina i CCK na unos hrane, točno objašnjenje međudnosa, što se tiče sekrecije obaju peptida, nije poznato. U jednoj studiji na životinjama dokazano je da intraduodenalna infuzija grelina povećava sekreciju CCK (171), a u dvije studije na ljudima dokazano je da egzogeni CCK suprimira izlučivanje grelina (172, 173). Kod naših ispitanika nakon rješavanja bilijarne opstrukcije istovremeno su perzistirale povišene koncentracije grelina i CCK. Istraživanje Date i suradnika pokazalo je da davanje grelina nakon infuzije CCK ne inducira hranjenje, i obrnuto, da davanje CCK nakon infuzije grelina ne smanjuje unos hrane (98). Iz ovog primjera se može zaključiti da učinkovitost signalnih mehanizama grelina i CCK ovisi o ravnoteži njihove koncentracije u serumu. U situacijama kada ta ravnoteža bude narušena, kao kod bolesnika s opstrukcijskim ikterusom, dolazi do poremećaja u regulaciji apetita, koji se, prema našim rezultatima, može uspostaviti, ali nekim drugim mehanizmima. Proces unosa hrane je složena interakcija velikog broja oreksigenih i anoreksigenih signala, emocija, učenja, sjećanja i dr. Promjene u koncentraciji

hormona koji reguliraju apetit i upalnih pokazatelja samo su dio regulacije hranjenja koja će zbog svoje kompleksnosti i nadalje biti predmetom brojnih budućih istraživanja.

## 7 ZAKLJUČAK

- U serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom značajno je povišena koncentracija grelina.
- Koncentracija kolecistokinina značajno je povišena u serumu pothranjenih bolesnika s opstruktivnim ikterusom u odnosu na one urednog nutritivnog statusa.
- Koncentracija kolecistokinina značajno je povišena u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom starijih od 65 godina.
- Kod bolesnika s opstruktivnim ikterusom povišene su koncentracije humoralnih pokazatelja upale, uključujući IL-6, TNF- $\alpha$  i C-reaktivni protein.
- Bolesnici s opstruktivnim ikterusom imaju lošiji nutritivni status bez obzira na etiologiju bolesti.
- TNF- $\alpha$  je prediktivni čimbenik pothranjenosti kod bolesnika s opstruktivnim ikterusom.
- Koncentracija grelina u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom u negativnoj je korelaciji s indeksom tjelesne mase i postotkom masnog tkiva.
- Uspostavom bilijarne drenaže dolazi do poboljšanja nutritivnog statusa i apetita bolesnika.
- Koncentracije grelina i kolecistokinina u serumu i 28 dana nakon uspostave bilijarne drenaže su značajno veće u odnosu na kontrolnu skupinu.
- Koncentracije IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu nemaju značajnu dinamiku kretanja uspostavom bilijarne drenaže, ali su im koncentracije značajno veće u serumu pothranjenih bolesnika i onih s malignom etiologijom bilijarne opstrukcije.

- Nije dokazana značajna korelacija između razine apetita i koncentracije grelina, kolecistokinina, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s opstrukcijskim ikterusom prije i nakon uspostave bilijarne drenaže.
- Veći gubitak tjelesne mase, pothranjenost, niža razina apetita, niže koncentracije CRP-a i više koncentracije TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s opstrukcijskim ikterusom značajno koreliraju sa smrtnim ishodom unutar 6 mjeseci.



## 8 SAŽETAK

Više od 50% bolesnika s opstruktivnim ikterusom su pothranjeni, no mehanizmi koji dovode do toga nisu poznati. Kolecistokinin je anoreksigeni hormon čije su povišene koncentracije utvrđene u nekoliko studija na bolesnicima s opstruktivnim ikterusom. Grelin je periferni peptid sa snažnim oreksigenim, imunomodulatornim i antikataboličkim učincima. Kolecistokinin i grelin pokazuju funkcionalni antagonizam, ali njihovo međudjelovanje još nije utvrđeno. Utjecaj opstruktivnog ikterusa na razinu grelina u ljudi nije poznat. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj opstruktivnog ikterusa na koncentracije hormona koji reguliraju apetit, humoralne pokazatelje upale i nutritivni status bolesnika prije i nakon rješavanja bilijarne opstrukcije. U prospektivno istraživanje uključeno je 55 bolesnika s opstruktivnim ikterusom, 34 s benignom i 21 s malignom etiologijom bolesti, te 40 zdravih kontrola. Nakon postavljanja dijagnoze opstruktivnog ikterusa svim bolesnicima je određen apetit, nutritivni status, te koncentracije grelina, kolecistokinina, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu, a isto je ponovljeno 48 sati i 28 dana nakon uspješne unutarnje bilijarne drenaže. Dokazali smo da bilijarna opstrukcija negativno utječe na nutritivni status bolesnika, bez obzira na etiologiju bolesti. U serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom po prvi puta smo dokazali povišene koncentracije grelina. Koncentracija kolecistokinina bila je značajno viša u serumu pothranjenih bolesnika s opstruktivnim ikterusom u odnosu na one urednog nutritivnog statusa. Također, utvrđene su značajno više koncentracije humoralnih pokazatelja upale, uključujući IL-6, TNF- $\alpha$  i C-reaktivni protein u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom. Potvrdili smo negativnu korelaciju koncentracije grelina u serumu s indeksom tjelesne mase i postotkom masnog tkiva, a TNF- $\alpha$  je izdvojen kao prediktivni čimbenik pothranjenosti kod bolesnika s opstruktivnim ikterusom. Uspostavom bilijarne

drenaže registrirano je značajno poboljšanje nutritivnog statusa i apetita bolesnika usprkos činjenici da su koncentracije grelina, kolecistokinina, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu i 28 dana nakon uspostave bilijarne drenaže bile značajno veće u odnosu na kontrolnu skupinu. Nismo dokazali značajnu korelaciju između razine apetita i koncentracije grelina, kolecistokinina, IL-6 i TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom prije i nakon uspostave bilijarne drenaže. Utvrdili smo da veći gubitak tjelesne mase, pothranjenost, niža razina apetita, niža koncentracija CRP-a i viša koncentracija TNF- $\alpha$  u serumu bolesnika s opstruktivnim ikterusom značajno koreliraju sa smrtnim ishodom unutar 6 mjeseci.

## 9 SUMMARY

### **Effect of biliary obstruction on ghrelin, cholecystokinin, inflammatory markers and nutritional status**

More than 50% of patients with biliary obstruction are malnourished, but the mechanisms involved are not well understood. The aim of this study was to determine the influence of obstructive jaundice on the hormones controlling appetite and nutritive status of patients before and after endoscopic internal biliary drainage. 55 patients with obstructive jaundice were prospectively investigated, 34 with benign and 21 with malignant disease, along with 40 controls. Appetite, nutritional status, serum ghrelin, cholecystokinin, IL-6 and TNF- $\alpha$  were determined at admission, 48 hours and 28 days after internal biliary drainage. Patients with obstructive jaundice were significantly malnourished compared to controls, regardless of disease etiology. Plasma ghrelin, IL-6, TNF- $\alpha$  and CRP were significantly higher in patients with obstructive jaundice. An increase in cholecystokinin was observed only in malnourished patients with obstructive jaundice. TNF- $\alpha$  was predictive factor for malnutrition in obstructive jaundice. After internal biliary drainage, a significant improvement of nutritional status was observed in spite of the fact that concentrations of ghrelin, cholecystokinin, IL-6 and TNF- $\alpha$  remained significantly elevated even 28 days after procedure. We have not established correlation between appetite and serum levels of ghrelin, cholecystokinin, IL-6 and TNF- $\alpha$  before and after biliary drainage. Malnutrition, lower appetite, lower serum CRP and higher TNF- $\alpha$  in patients with obstructive jaundice were associated with long-term mortality.

Tajana Pavić, 2014.

## 10 LITERATURA

1. Lidofsky SD. Jaundice. U: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, ur. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis and management. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006, str. 301-312.
2. Mallet-Guy P. Value of preoperative manometric and roentgenographic examination in the diagnosis of pathologic changes and functional disturbances of the biliary tract. *Sung Gynecol Obstet* 1952;94:385-393.
3. Rege RV. Adverese effects of billiary obstruction: implications for treatment of patients with obstructive jaundice. *AJR* 1995;164:287-293.
4. Diamond T, Rowlands BJ. Endotoxaemia in obstructive jaundice. *HPB Surg* 1991;4:81-94.
5. Deitch EA, Sittig K, Berg R, i sur. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J surg* 1990;159:79-84.
6. Thompson RLE, Hoper M, Diamond T, i sur. Development and reversibility of T lymphocyte dysfunction in experimental obstructive jaundice. *Br J Surg* 1990;77:1229-1232.
7. Pain JA. Reticulo-endothelial function in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1987;74:1091-1094.
8. Ding JW, Andersson R, Soltez V, i sur. The role of bile and bile acids in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. *Eur Surg Res* 1993;25:11-19.
9. Woolbright BL, Jaeschke H. Novel insights into mechanisms of cholestatic liver injury. *World J Gastroenterol* 2012;18:4985-4993.
10. Watanabe M, Houten SM, Matakaki C, i sur. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 2006;439:484-489.

11. Morimoto K, Itoh H, Watanabe M. Developments in understanding bile acid metabolism. *Expert Review Endocrinology and Metabolism* 2013;8:59–69.
12. Calmus Y, Gueochot J, Podevin P, Bonnefis MT, Giboudeau J. Differential effects of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids on interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha production by monocytes. *Hepatology* 1992;16:719-723.
13. Keane RM, Gadacz TR, Munster AM, Birmingham W, Winchurch RA. Impairment of human lymphocyte function by bile salts. *Surg* 1984; 95:439-443.
14. Lacaille F, Paradis K. The immunosuppressive effect of ursodeoxycholic acid: a comparative in vitro study on human peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology* 1993; 18:165-172.
15. Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Nikolopoulou VN. Intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice: current concepts in pathophysiology and potential therapies. *Annals of Gastroenterology* 2007;20:116-123.
16. Gouma DJ, Coelho JCU, Fisher JD, Schlegel JF, Li YF, Moody FG. Endotoxaemia after relief of biliary obstruction by internal and external drainage in rats. *Am J Surg* 1986;151:476-479.
17. Diamond T, Dolan S, Thompson RLE, Rowlands BJ. Development and reversal of endotoxaemia and endotoxin-related death in obstructive jaundice. *Surg* 1990;108:370-375.
18. Wardle EN, Wright NA. Endotoxin and acute renal failure associated with obstructive jaundice. *J Br Med* 1970;4:472-474.
19. Gawley WF, Gorey TF, Johnson AH, i sur. The effect of oral bile salts on serum endotoxin and renal functions in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1988;75:600-606.
20. Deitch EA, Sittig K, Li M, i sur. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990;159:79-84.

21. Parks RW, Clements WD, Smye MG, i sur. Intestinal barrier dysfunction in clinical and experimental obstructive jaundice and its reversal by internal biliary drainage. *Br J Surg* 1996;83:1345-1349.
22. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, i sur. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Eng J Med* 1988;318:1481-1486.
23. Schindler R, Mancilla J, Endress S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cell. *Blood*1990;75: 40-47.
24. Bemelmans MHA, Gouma DJ, Greve JW, Buurman WA. Cytokines tumor necrosis factor and interleukin-6 in experimental biliary obstruction in mice. *Hepatology* 1992; 15:1132–1136.
25. Bemelmans MHA, Greve JW, Gouma DJ, i sur. Increased concentrations of tumor necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptor sin biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. *Gut* 1996;38:447-453.
26. Badger SA, Jones C, McCaigue M, i sur. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24:25–32.
27. Biffl WL, Moore EE, Moore FA, Peterson VM. Interleukin-6 in the injured patient: marker of injury or mediator of inflammation? *Ann Surg* 1996; 224:647–664.
28. Dawiskiba J, Pawel K, Kwiatkowska D, Zimecki M. Alterations of tumor necrosis factor-alpha and interleukin 6 production and activity of the reticuloendothelial system in experimental jaundice in rats. *HPB Surg* 2000;4:11–20.

29. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986;324:73-76.
30. Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *International Immunology* 2010;5:347-352.
31. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:199-219.
32. Tanaka T, Narazaki M, Masuda K, Kishimoto T. Interleukin-6; pathogenesis and treatment of autoimmune inflammatory diseases. *Inflammation and Regeneration* 2013;33:54-65.
33. Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol* 2013;14:218-228.
34. Erta M, Quintana A, Hidalgo J. Interleukin-6, a Major Cytokine in the Central Nervous System. *Int J Biol Sci* 2012;8:1254-1266.
35. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med*. 2002;8:75-9.
36. Stenlof K, Wernstedt I, Fjallman T, Wallenius V, Wallenius K, Jansson J. Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4379-4383.
37. Berthier MT, Paradis AM, Tchernof A, et al. The interleukin 6-174G/C polymorphism is associated with indices of obesity in men. *J Hum Genet* 2003;48:14-19.
38. Wernstedt I, Eriksson AL, Berndtsson A, et al. A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:1272-1279.

39. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:3666–3670.
40. Pennica D, Hayflick JS, Bringman TS, Palladino MA, Goeddel DV. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the cDNA for murine tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6060–6064.
41. Vandenabeele P, Declercq W, Beyaert, i sur. Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol* 1995;5:392–399.
42. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a doubleedged sword. *Nat Rev Immunol* 2003;3:745–756.
43. Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosisfactor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology* 2005; 115:1–20
44. Malik ST, Balkwill FR. Antiproliferative and antitumor activity of TNF in vitro and in vivo. *Immunol Series* 1992;56:239–68.
45. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease *J Pathol* 2008;214:149–160.
46. Balkwill F. TNF- $\alpha$  in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:409-416.
47. Ryden M, Arvidsson E, Blomquist L, i sur. Targets for TNF-alpha induced lipolysis in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:168-75.
48. Price SR, Olivecrona T, Pekala PH. Regulation of lipoptotein lipase synthesis by recombinant tumor necrosis factor--the primary regulatory role of the hormone in 3T3-L1 adipocytes. *Arch Biochem Biophys* 1986;251:738-746.



49. Laurencikiene J, van Harmelen V, Arvidsson Nordstrom, i sur. NF-kappaB is important for TNF-alpha-induced lipolysis in human adipocytes. *J Lipid Res* 2007;48:1069-1077.
50. Ramos EJ, Suzuki S, Marks D, Inui A, Asakawa A, Meguid MM. Cancer anorexia-cachexia syndrome:cytokines and neuropeptides. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:427-434.
51. Katafuchi T, Motomura K, Baba S, i sur. Differential effects of tumor necrosis factor  $\alpha$  and  $\beta$  on rat ventromedial hypothalamic neuron sin vitro. *Am J Physiol* 1997;272:1966-1971.
52. Puntis MC, Jiang WG. Plasma cytokine levels and monocyte activation inpatients with obstructive jaundice. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:7-13.
53. Shuichi O, Takuji O, Hiroshi I. Elevated serum inteleukin-6 levels in patients with pancreatic cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 1998;28:12-15.
54. Kimura F, Miyzaki M, Suwa T, i sur. Anti-inflammatory response in patients with obstructive jaundice caused by biliary malignancy. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:467-472.
55. Kimmings AN, van Deventer SJH, Obertop H, i sur. Endotoxin, cytokines and endotoxin binding protein sin obstructive jaundice and after preoperative biliary drainage. *Gut* 2000;46:725-731.
56. Padillo FJ, Andicoberry B, Naranjo A, i sur. Anorexia and the effect of intrrenal biliary drainage on food intake in patient s with obstructive jaundice. *J Am Coll Surg* 2001;192:584-590.
57. Jiang WG, Puntis MCA. Immune Dysfunct on Patients Wlth Obstructive Jaundice, Mediators and Implications for Treatments. *HPB Surgery* 1997;10:129-142.
58. Langhans W. Anorexia of infection:current prospects. *Nutrition* 2000;16:996-1005.

59. Koop I, Koop H, Gerhardt C, Schafmayer A, Arnold R. Do bile acid exert a negative feedback control of cholecystokinin release? *Scand J Gastroenterol* 1989;24:315-320.
60. Koop I. Role of bile acid in the control of pancreatic secretion and CCK release. *Eur J Clin Invest* 1990;20:51-57.
61. Schmidt WE, Creutzfeldt W, Hocker M, i sur. Cholecystokinin receptor antagonist loxiglumide modulates plasma levels of gastro-entero-pancreatic hormone sin man. Feedback control of cholecystokinin and gastrin secretions. *Eur J Clin Invest* 1991;21:501-511.
62. Thimister PWL, Hopman WPM, Sloots CEJ, i sur. Role of intraduodenal proteases in plasma cholecystokinin and pancreaticobiliary responses to protein and amino acids. *Gastroenterology* 1996;110:567-575.
63. Hildebrand P, Petrig C, Burckhardt B, i sur. Hydrolysis of dietary fat by pancreatic lipase stimulates cholecystokinin release. *Gastroenterology* 1998;114:123-129.
64. Polak JM, Bloom SR, Rayford PR, Pearse AG, Buchan AM, Thompson JH. Identification of Cholecystokinin-secreting cells. *Lancet* 1975;2:1016-1018.
65. Rehfeld JF. Cholecystokinin. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004;18:569-586.
66. Beinfeld MC, Meyer DK, Brownstein ML. Cholecystokinin in the central nervous system. *Peptides* 1981;2Suppl 2:77-79.
67. Dufresne M, Seva C, Fourmy D. Cholecystokinin and Gastrin Receptors. *Physiol Rev* 2006;86:805-847.
68. Moran TH. Cholecystokinin and Satiety: current perspectives. *Nutrition* 2000;16:858-865.

69. Wank SA, Pisegna Jr, de Weerth A. Brain and gastrointestinal cholecystokinin receptor family: structure and functional expression. *Proc Natl acad Sci USA* 1991;89:8691-8695.
70. Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 1973;84:488–495.
71. Pi-Sunyer X, Kissileff HR, Thornton J, Smith GP. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in obese men. *Physiol Behav* 1982;29:627-630.
72. Ellacott KL, Halatchev IG, Cone RD. Interactions between gut peptides and the central melanocortin system in the regulation of energy homeostasis. *Peptides* 2006;27:340-9.
73. Meereis-Schwanke K, Klonowski-Stumpe H, Herberg L, Niederau C. Long-term effects of CCK-agonist and antagonist on food intake and body weight in Zucker lean and obese rats. *Peptides* 1998;19:291-299.
74. Miyasaka K, Funakoshi A, Matsumoto M, et al. Bile acids in human plasma interfere with cholecystokinin bioassay using dispersed pancreatic acini. *Dig Dis Sci* 1991;36:310-316.
75. Padillo FJ, Andicoberry B, Pera-Madrado C, Sitges-Serra A. Anorexia and malnutrition in patients with obstructive jaundice. *Nutrition* 2002;18:987-90.
76. Andicoberry B, Padillo FJ, Gomez-Alvarez M, et al. Evaluation of anorexia in patients with bile duct obstruction. *Nutr Hosp* 1999;14:38-43.
77. Tangoku A, Doi R, Chowdhury P, Pasley JN, McKay DW, Rayford PL. Use of a specific cholecystokinin receptor antagonist (L-346,718) to determine the role of cholecystokinin on feeding and body weight in rats with obstructive jaundice. *J Assoc Acad Minor Phys* 1992;2:38-40.

78. Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000;404:661-671.
79. Wren AM, Bloom SR. Gut hormones and appetite control. *Gastroenterology* 2007;132:2116-2130.
80. Flier JS. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell* 2004;116:337-350.
81. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-660.
82. Castaneda TR, Tong J, Datta R, Culler M, Tschop MH. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2010;31:44-60.
83. Gil-Campos M, Aguilera CM, Canete R, Gil A. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *British Journal of Nutrition* 2006;96:201-226.
84. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50:1714-1719.
85. Howard AD, Feighner SD, Cully JP, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273:974-977.
86. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000;407:908-913.
87. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, et al. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001;50:2540-2547.
88. Guan XM, Yu H, Palyha OC, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;48:23-29.

89. Naleid AM, Grace MK, Cummings DE, Levine AS. Ghrelin induces feeding in the mesolimbic reward pathway between the ventral tegmental area and the nucleus accumbens. *Peptides* 2005;26:2274-2279.
90. Rodriguez A, Gomez-Ambrosi J, Catalan V, i sur. Acylated and desacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes. *Int J Obes (Lond)* 2009;33: 541–552.
91. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, i sur. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86:5992-5595.
92. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001;50:707-709.
93. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, i sur. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001;145:669-673.
94. Feigerlova E, Diene G, Conte-Auriol F, i sur. Hyperghrelinemia precedes obesity in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2800–2805.
95. Kobelt P, Tebbe JJ, Tjandra I, i sur. CCK inhibits the orexigenic effect of peripheral ghrelin. *American Journal of Physiology* 2005;288:751–758.
96. Wisser AS, Habel P, Wiedenmann B, Klapp BF, Monnikes H, Kobelt P. Interactions of gastrointestinal peptides: ghrelin and its anorexigenic antagonists. *International Journal of Peptides* 2010; article ID 817457.
97. 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.
98. Date Y, Toshinai K, Koda S, i sur. Peripheral interaction of hrelin with cholecystokinin on feeding regulation. *Endocrinology* 2005;146:3518–3525.

99. Kobelt P, Paulitsch S, Goebel M, i sur. Peripheral injection of CCK-8S induces Fos expression in the dorsomedial hypothalamic nucleus in rats. *Brain Research* 2006;117:109-117.
100. Brennan IM, Otto B, Feltrin KL, Meyer JH, Horowitz M, Feinle-Bisset C. Intravenous CCK-8, but not GLP-1, suppresses ghrelin and stimulates PYY release in healthy men. *Peptides* 2007;28:607–611.
101. Degen L, Drewe J, Piccoli F, i sur. Effect of CCK-1 receptor blockade on ghrelin and PYY secretion in men. *American Journal of Physiology* 2007;292:1391–1399.
102. Murakami N, Hayashida T, Kuroiwa T, i sur. Role for central ghrelin in food intake and secretion profile of stomach ghrelin in rats. *J Endocrinol* 2002;174:283-288.
103. Shrestha YB, Wickwire K, Giraud SQ. Direct effects of nutrients, acetylcholine, CCK, and insulin on ghrelin release from the isolated stomachs of rats. *Peptides* 2009;30:1187–1191.
104. Druce MR, Wren AM, Park AJ, i sur. Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29:1130–1136.
105. Schmid DA, Held K, Ising M, Uhr M, Weikel JC, Steiger A. Ghrelin stimulates appetite, imagination of food, GH, ACTH, and cortisol, but does not affect leptin in normal controls. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:1187–1192.
106. Neary NM, Small CJ, Wren Am, i sur. Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2832-2836.
107. Yamamoto K, Takiguchi S, Miyata H, i sur. Randomized phase II study of clinical effects of ghrelin after esophagectomy with gastric tube reconstruction. *Surgery* 2010;148:31–38.

108. Lundholm K, Gunnebo L, Korner U, i sur. Effects by daily long term provision of ghrelin to unselected weight-losing cancer patients: a randomized double-blind study. *Cancer* 2010;116:2044–2052.
109. Hiura Y, Takiguchi S, Yamamoto K, i sur. Fall in plasma ghrelin concentrations after cisplatin-based chemotherapy in esophageal cancer patients. *Int J Clin Oncol* 2012;17:316–323.
110. Nagaya N, Itoh T, Murakami S, i sur. Treatment of cachexia with ghrelin in patients with COPD. *Chest*. 2005;128:1187–1193.
111. Kodama T, Ashitani J, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin treatment suppresses neutrophil-dominant inflammation in airways of patients with chronic respiratory infection. *Pulm Pharmacol Ther*. 2008;21:774–779.
112. Wynne K, Giannitsopoulou K, Small CJ, i sur. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: a randomized, placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2111–2118.
113. Ashby DR, Ford HE, Wynne KJ, i sur. Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment. *Kidney Int* 2009;76:199–206.
114. Garcia JM, Polvino WJ. Effect on body weight and safety of RC-1291, a novel, orally available ghrelin mimetic and growth hormone secretagogue: results of a phase I, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study in healthy volunteers. *Oncologist* 2007;12:594-600.
115. Woods SC, Seeley RJ, Porte DJ, Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 1998;280:1378-1383.
116. Padillo FJ, Andicoberry B, Muntane J, i sur. Factor predicting nutritional derangements in patients with obstructive jaundice: multivariate analysis. *World J Surg* 2001;25:413-418.

117. Clugston A, Peterson HM, Yuill K, Garden OJ, Parks RW. Nutritional risk index predicts a high-risk population in patients with obstructive jaundice. *Clinical Nutrition* 2006;25:949-954.
118. Leite JF, Antunes CF, Monteiro JC, Pereira BT. Value of nutritional parameters in the prediction of postoperative complications in elective gastrointestinal surgery. *Br J Surg* 1987;74:426-9.
119. Diamond T, Park RW. Perioperative management of obstructive jaundice. *Br J Surg* 1997;84(2):147-9.
120. Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Davies GC. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice: a review of 373 patients. *Gut* 1983;24(9):845-52.
121. Mullen JL, Busby GP, Matthews DC. Reduction of operative morbidity and mortality by combined preoperative and postoperative nutritional support. *Ann Surg* 1980;192:604-13.
122. Beattie AH, Prach AT, Baxter AT, Pennington CR: A randomised controlled trial evaluating the use of enteral nutritional supplements postoperatively in malnourished surgical patients. *Gut* 2000; 46:813-818.
123. Parks RW, Stuart Cameron CH, Gannon CD, Pope C, Diamond T, Rowlands BJ. Changes in gastrointestinal morphology associated with obstructive jaundice. *J Pathol* 2000;192(4):526-532.
124. Nakamura R, Miysaka M, Kuyama Y, Kitami K. Luminal bile regulates cholecystokinin release in conscious rats. *Dig Dis Sci* 1990;35:55-60.
125. Mantovani G, Maccio A, Massa E, Madeddu C. Managing cancer-related anorexia/cachexia. *Drugs* 2001;61:499-514.



126. Bossola M, Muscaritoli M, Costelli P, *i sur.* Increased muscle ubiquitin mRNA levels in gastric cancer patients. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:1518-1523.
127. Laviano A, Meguid MM, Rossi Fanelli F. Cancer anorexia: clinical implications, pathogenesis and therapeutic strategies. *Lancet Oncol* 2003;4:686-694.
128. Todorov P, Cariuk P, McDevitt T, Coles B, Fearon K, Tisdale M. Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature* 1996;379:739-742.
129. Russell ST, Hiari K, Tisdale MJ. Role of  $\beta$ 3-adrenergic receptors in the action of a tumour lipid mobilizing factor. *Br J Cancer* 2002;86:4242-428.
130. Laviano A, Meguid MM, Inui A, Muscaritoli M, Rossi-Fanelli F. Therapy insight: cancer anorexia-cachexia syndrome – when all you can eat is yourself. *Nature Clinical Practice Oncology* 2005;2:158-165.
131. Mantovani G, Maccio A, Mura L, *i sur.* Serum levels of leptin and proinflammatory cytokines in patients with advanced-stage cancer at different sites. *J Mol Med* 2000;78; 554-561.
132. Hanada T, Toshinai K, Kajimura N, *i sur.* Anti-cachectic effect of ghrelin in nude mice bearing human melanoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310:275-279.
133. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, *i sur.* Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res* 2003;9:774-778.
134. Hart BL. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev* 1988;12:123.
135. Kent S, Bret-Dibat JL, Kelley KW, Dantzer R. Mechanisms of sickness-induced decreases in food-motivated behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1996;20:171-175.
136. Laviano A, Renvyle T, Meguid MM, Yang ZJ, Cangiano C, Rossi Fanelli F. Relationship between interleukin-1 and cancer anorexia. *Nutrition* 1995;11Suppl5:680-683.

137. Oldenburg HSA, Rogy MA, Lazarus DD, i sur. Cachexia and the acute –phase protein response in inflammation are regulated by interleukin-6. *Eur J Immunol* 1993;23:1889-1894.
138. Swiergiel AH, Dunn AJ. The roles o f IL-1, IL-6, and TNF-alpha int he feeding responses to endotoxin and influenza virus infection in mice. *Brain Behav Immun* 1999;13:252-265.
139. Torelli GF, Meguid MM, Moldawer LL, i sur. Use of recombinant human soluble TNF receptor in anorectic tumor-bearing rats. *Am J Physiol* 1999;277:850-855.
140. VanderMeer MJM, Sweep CGJF, Pesman GJ, Borm GF, Hermus ARMM. Synergism between IL-1 beta and TNF-alpha on the activity of the pituitary-adrenal axis and on food intake of rats. *Am J Physiol* 1995;268:551-556.
141. Morley JE. Anorexia of aging: physiologic and pathologic. *Am J Clin Nutr* 1997;66:760-773.
142. Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle Nerve* 2002;25:17-25.
143. Cruz –Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and Aging* 2010;39:412-423.
144. MacIntosh C, Morley JE, Chapman IM. The anorexia of aging. *Nutrition* 2000;16:983-995.
145. Khalil T, Walker JP, Wiener I, i sur. Effect of aging on gallbladder contraction and release of cholecystokinin-33 in humans. *Surgery* 1985;98:423-429.
146. Masclee AA, Geusken LM, Drissen WMM. Effect of aging on plasma cholecystokinin secretion and gallbladder emptying. *Age* 1988;11:136–40.

147. MacIntosh CG, Andrews JM, Jones KL, i sur. Effects of age on concentrations of plasma cholecystokinin, glucagon-like peptide-1, and peptide YY and their relation to appetite and pyloric motility. *Am J Clin Nutr* 1999;69:999–1006.
148. Sturm K, MacIntosh CG, Parker BA, Wishart J, Horowitz M, Chapman IM. Appetite, food intake and plasma concentrations of cholecystokinin, ghrelin and other gastrointestinal hormones in under-nourished older women and well-nourished young and older women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3747–55.
149. MacIntosh CG, Morley JE, Wishart J, i sur. Effect of exogenous cholecystokinin (CCK)-8 on food intake and plasma CCK, leptin, and insulin concentrations in older and young adults: evidence for increased CCK activity as a cause of the anorexia of aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5830–5837.
150. Rigamonti AE, Pincelli AI, Corrà B, i sur. Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol* 2002;175:1-5.
151. Di Francesco V, Fantin F, Omizzolo F, i sur. The anorexia of aging. *Dig Dis* 2007;25:129-137.
152. Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. Interleukin-6 in Aging and Chronic Disease: A Magnificent Pathway. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61: 575–584.
153. Kondrup J, Rasmussen HH, Hamberg O, Stanga Z. Ad Hoc ESPEN Working Group. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials. *Clin Nutr* 2003;22:321–36.
154. Norman K, Pichard C, Lochs H, Pirlich M. Prognostic impact of disease-related malnutrition. *Clin Nutr* 2008; 27: 5–15.
155. Pavic T, Ljubicic N, Stojisavljevic S, Krznicaric Z. Nutritional screening model in tertiary medical unit in Croatia. *Ann Nutr Metab* 2012; 61:65–69.

156. Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Davies CG. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice, a review of 373 patients. *Gut* 1983;24:845-852.
157. Foschi D, Cavagna G, Callioni F, Morandi E, Rovati V. Hyperalimentation of jaundiced patients on percutaneous transhepatic biliary drainage. *Br J Surg* 1986;73:716-719.
158. Padillo F, Rodriguez M, Hervas A, Mino G, Sitges-Serra A, Pera-Madrado C. Nutritional assessment of patients with benign and malignant obstruction of the biliary tract. *Rev Esp Enferm Dig* 1999;91:622-629.
159. Dockray GJ. Gut feelings about appetite. *European Review* 2004;12:217-225.
160. Inui A. Ghrelin: an orexigenic and somatotrophic signal from stomach. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:551-560.
161. Williams DL, Cummings DE. Regulation of ghrelin in physiologic and pathophysiologic states. *J Nutr* 2005;135:1320-1325.
162. Jeffery PL, McGuckin MA, Linden SK. Endocrine impact of *Helicobacter pylori*: focus on ghrelin and ghrelin o-acyltransferase. *World J Gastroenterol.* 2011;17:1249-1260
163. Kullman E, Borch K, Lindström E, Anséhn S, Ihse I, Anderberg B. Bacteremia following diagnostic and therapeutic ERCP. *Gastrointest Endosc.* 1992;38:444-448.
164. Niederau C, Pohlmann U, Lübke H, Thomas L. Prophylactic antibiotic treatment in therapeutic or complicated diagnostic ERCP: results of a randomized controlled clinical study. *Gastrointest Endosc.* 1994;40:533-537.
165. Ballinger AB, Wooley JA, Ahmed M, et al. Persistent systemic inflammatory response after stent insertion in patients with malignant bile duct obstruction. *Gut* 1998;42:555-559.

166. Rosen HR, Winkle PJ, Kendal BJ, Diehl DL. Biliary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Dig Dis Sci* 1997;42:1290-4.
167. Goldwasser P, Feldman J. Association of serum albumin and mortality risk. *J Clin Epidemiol.* 1997;50:693-703
168. Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm IGF Res.* 2009;19:187-97.
169. Davis MP, Dreicer R, Walsh D, Lagman R, LeGRand SB. Appetite and cancer – associated anorexia: a review. *J Clin Oncol* 2004;22:1510-1517.
170. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008;29:1255-1270.
171. Nawrot-Porabka K, Jaworek J, Leja-Szpak A, i sur. The effect of luminal ghrelin on pancreatic enzyme secretion in the rat. *Regulatory Peptides* 2007;143:56-63.
172. Brennan IM, Otto B, Feltrin KL, Meyer JH, Horowitz M, Feinle-Bisset C. Intravenous CCK-8, but not GLP-1, suppresses ghrelin and stimulates PYY release in healthy men. *Peptides* 2007;28:607-611.
173. Degen L, Drewe J, Piccoli F, i sur. Effect of CCK-1 receptor blockade on ghrelin and PYY secretion in men. *American Journal of Physiology* 2007; 292:R1391-R1399.

## 11 PRILOZI

### 11.1 Probir za nutritivni rizik (NRS-2002)

#### 1.korak: INICIJALNI PROBIR

	Da	Ne
1. ITM je manji od 20,5		
2. Da li je bolesnik u posljednja tri mjeseca izgubio tjelesnu težinu?		
3. Da li bolesnik primjećuje smanjen unos hrane u posljednjem tjednu?		
4. Da li je bolesnik teško bolestan (npr. intenzivna njega)		

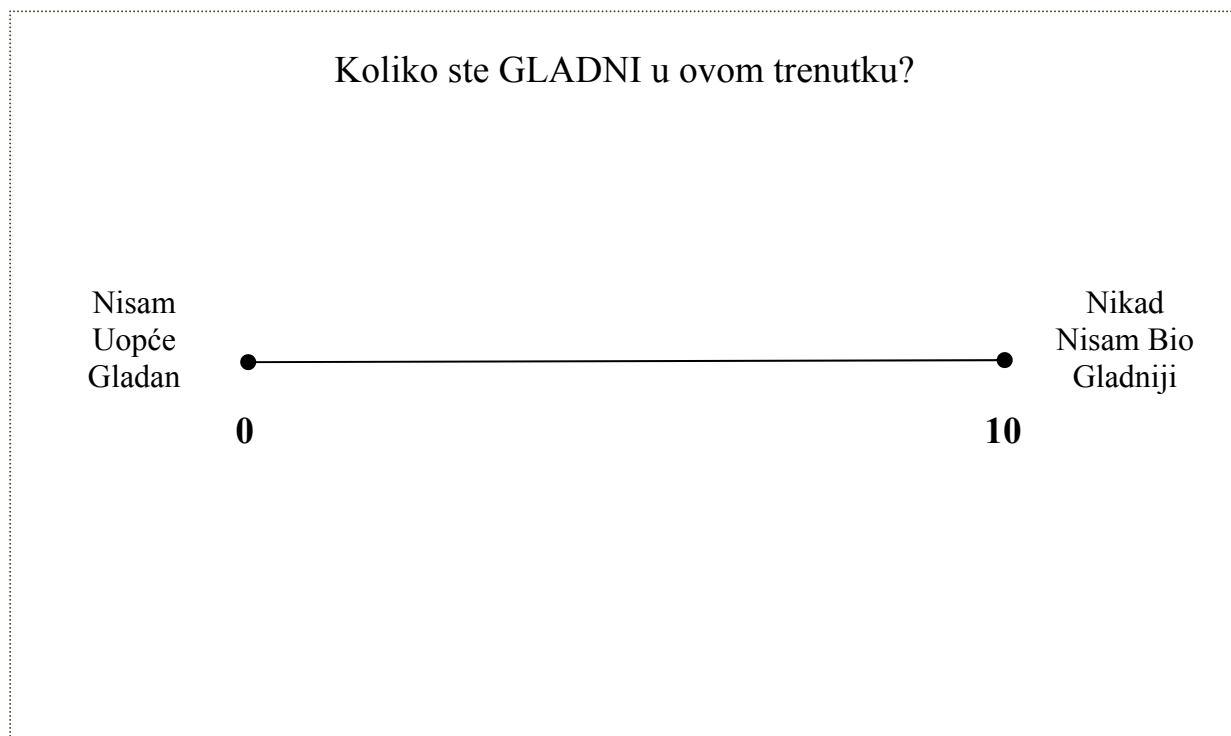
- ✚ Ako je odgovor na barem jedno pitanje „da“, potrebno je provesti finalni probir
- ✚ Ako je odgovor na sva pitanja „ne“, kod bolesnika je potrebno jednom tjedno ponoviti probir

#### 2. korak: FINALNI PROBIR

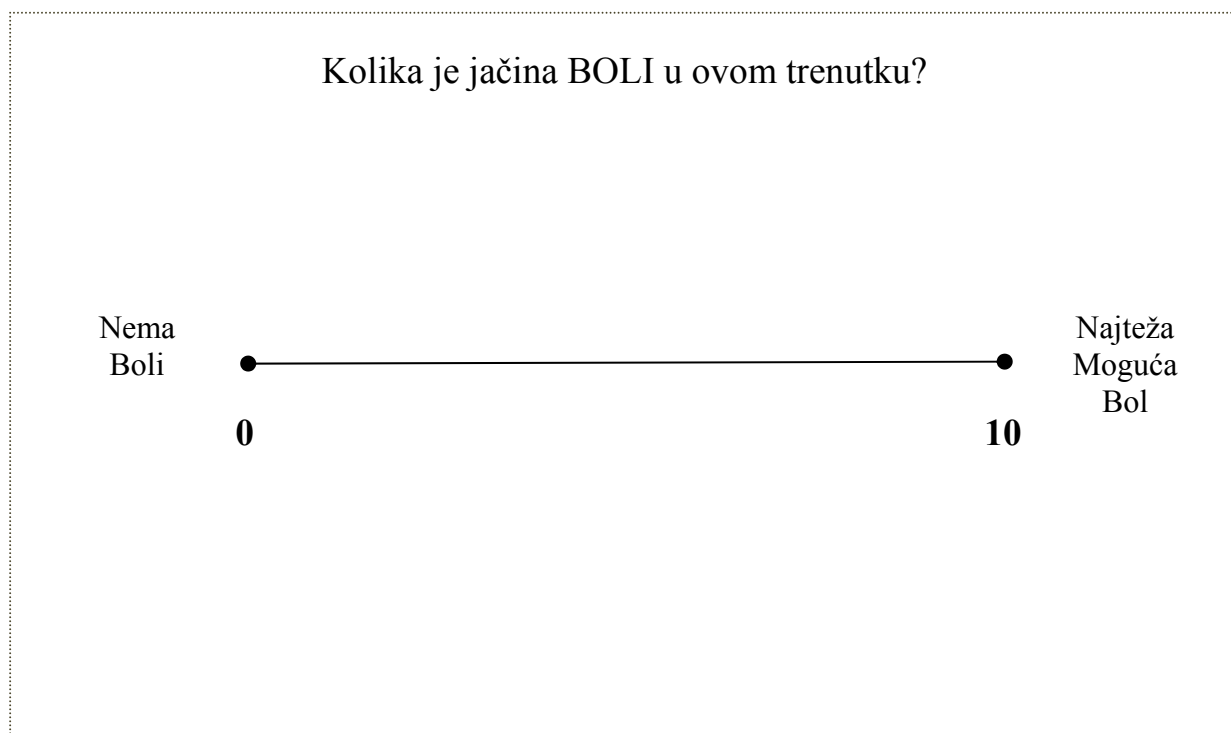
Otklon u nutritivnom statusu (od normale)		Težina bolesti (=povećane potrebe, stresni metabolizam)	
Odsutan 0 bodova	Normalan nutritivni status	Odsutan 0 bodova	Normalne nutritivne potrebe
Blaga pothranjenost 1 bod	Gubitak tj. težine >5% u 3 mjeseca ili je bolesnik unio 50-75% normalnih dnevni potreba u posljednjem tjednu	Blago 1 bod	Fraktura kuka*, kronični bolesnici s akutnim komplikacijama: ciroza jetre*, KOPB* <i>Hemodijaliza, dijabetes, onkološki bolesnici</i> * dijagnoze koje studija direktno podupire; <i>italic:prototip težine bolesti</i>
Umjerena pothranjenost 2 boda	Gubitak tj. težine >5% u 2 mjeseca ili ITM 18,5-20,5 + loše opće stanje ili je bolesnik unio 25-50% normalnih dnevni potreba u posljednjem tjednu	Umjereno 2 boda	Velika abdominalna operacija* Moždani udar* <i>Teška pneumonija, hematološka onkološka bolest</i>
Teška pothranjenost 3 boda	Gubitak tj. težine >5% u 1 mjesecu ili ITM <18,5 + loše opće stanje ili je bolesnik unio 0-25% normalnih dnevni potreba u posljednjem tjednu	Teško 3 boda	Ozljeđa glave* Transplantacija koštane srži* <i>Bolesnik na jedinic intenzivnog liječenja (APACHE&gt;10)</i>
Bodova: +		Bodova: =	
Dob: ako bolesnik ima više od 70g dodati jedan bod		Zbroj bodova: = Ukupan zbroj:	

- ✚ Ukupan zbroj  $\geq 3$ : bolesnik je u nutritivnom riziku i potrebno je započeti s nutritivnom podrškom
- ✚ Ukupan zbroj  $< 3$ : kod bolesnika jednom tjedno ponoviti probir

## 11.2 Vizualno analogna skala za procjenu apetita



## 11.3 Vizualno analogna skala za procjenu jačine boli



## 12 ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1972.g u Zagrebu gdje sam završila osnovnu i srednju školu. Nakon mature u Jezičnoj gimnaziji 1990.g. upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje sam diplomirala 1996. s prosječkom ocjena 4,7. Nakon obaveznog pripravničkog staža 1997. g. sam položila državni ispit. Od 1998.g radim u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju KB „Sestre milosrdnice“ kao znanstveni novak na projektu prof.dr.sc. Marka Duvnjaka, a iste godine sam upisala znanstveni poslijediplomski studij „Biomedicina i zdravstvo“. U prosincu 1999.g. započela sam specijalizaciju iz interne medicine, a specijalistički ispit sam položila 2005.g. Iste godine odobrena mi je uža specijalizacija koju sam završila 2008.g. od kada sam supspecijalist gastroenterologije i hepatologije. Radim u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju KBC „Sestre milosrdnice“ kao voditelj Centra intervencijske gastroenterologije. Osim opće gastroenterološke problematike, posebni interes mi je ultrazvučna dijagnostika abdominalnih organa, uključujući i intervencijski i endoskopski ultrazvuk, te područje kliničke prehrane. 2012.g nakon uspješno položenog završnog ispita u Barceloni uručena mi je diploma Europskog društva za perenteralnu i enteralnu prehranu iz kliničke prehrane i metabolizma. Autor sam pozvanih predavanja na domaćim i stranim kongresima, nekoliko poglavlja u udžbenicima, 24 znanstvena rada, od kojih je 9 publicirano u časopisima koji se citiraju u Current Contest. Udana sam i majka jednog sina.