

# Utjecaj čimbenika okoliša na serumsku koncentraciju kalcitonina

---

Jurić, Ante

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:071196>

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

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



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Ante Jurić**

**UTJECAJ ČIMBENIKA OKOLIŠA  
NA SERUMSKU KONCENTRACIJU KALCITONINA**

**Diplomski rad**

**Akademska godina:**

**2023./2024.**

**Mentor:**

**doc. dr. sc. Ivana Gunjača**

**Split, srpanj 2024.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
<b>1.1. Štitnjača</b> .....	2
1.1.1. Fiziologija štitnjače .....	2
1.1.2. Anatomija štitnjače .....	2
1.1.3. Histologija štitnjače .....	4
<b>1.2. Kalcitonin</b> .....	6
1.2.1. Molekularna građa i receptor kalcitonina .....	6
1.2.2. Djelovanje kalcitonina .....	6
1.2.3. Kalcitonin u odnosu na godine i spol .....	7
1.2.4. Kalcitonin i PTH.....	8
<b>1.3. Patologija štitnjače</b> .....	9
1.3.1. Hipertireoza .....	9
1.3.2. Hipotireoza.....	10
1.3.3. Karcinom štitnjače i kalcitonin .....	11
<b>1.4. Čimbenici okoliša i kalcitonin</b> .....	13
1.4.1. Povezanost prehrane i koncentracije kalcitonina u serumu .....	13
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	15
3. MATERIJALI I METODE .....	17
<b>3.1. Istraživanje i ispitanici</b> .....	18
<b>3.2. Biokemijska mjerenja</b> .....	18
<b>3.3. Prikupljanje podataka o dijetetskim navikama</b> .....	19
<b>3.4. Statistička analiza</b> .....	19
4. REZULTATI.....	21
5. RASPRAVA.....	27
6. ZAKLJUČAK .....	31
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	33
8. SAŽETAK.....	39
9. SUMMARY .....	41

## **ZAHVALE**

*Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Ivani Gunjači na nesebičnoj pomoći i savjetima prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem mojim roditeljima Nediljku i Katici i sestrama Aniti i Ivani, mojim prijateljima i bližnjima na razumijevanju i podršci tijekom ovih šest godina studija te kroz cijeli život i obrazovanje.*

## POPIS OZNAKA I KRATICA

CGRP - peptid povezan s genom kalcitonina (engl. *calcitonin gene-related peptide*)

CT - kalcitonin (engl. *calcitonin*)

CTR – kalcitoninski receptor (engl. *calcitonin receptor*)

GCPR – receptori vezani za G protein (engl. *G protein-coupled receptors*)

GOS - galakto-oligosaharid

H2RB – blokator histaminskih H2 receptora (engl. *histamin H2 receptor blocker*)

ITM - indeks tjelesne mase

IU – internacionalna jedinica (engl. *international unit*)

MEN II - multiple endokrine neoplazije tip 2

MTC - medularni karcinom štitnjače (engl. *medullary thyroid carcinoma*)

PCA - analiza glavnih komponenti (engl. *principal component analysis*)

PPI – inhibitor protonске pumpe (engl. *proton pump inhibitor*)

PTH – paratireoidni hormon

RET - engl. *rearranged during transfection*

RIA - radioimunoesej (engl. *radioimmunoassay*)

Tg - tireoglobulin (engl. *thyroglobulin*)

T3 - trijodtironin

T4 - tiroksin ili tetrajodtironin

TRH - hormon koji oslobađa tireotropin (engl. *thyrotropin releasing hormone*)

TSH – tireoidni stimulirajući hormon (engl. *thyroid stimulating hormone*)

TSHR - receptor tireoidnog stimulirajućeg hormona (engl. *thyroid stimulating hormone receptor*)

TSHRAb - protutijela na receptor za tireoidni stimulirajući hormon (engl. *thyroid stimulating hormone receptor antibody*)

## **1. UVOD**

## 1.1. Štitnjača

### 1.1.1. Fiziologija štitnjače

Izlučivanje hormona štitnjače je precizno regulirano hipotalamus-hipofiznom osovinom. Hipotalamus luči hormon koji oslobađa tireotropin (TRH), koji potom regulira otpuštanje tireoidnog stimulirajućeg hormona (TSH) iz prednje hipofize. TSH, kroz snažan sustav negativne povratne sprege, kontrolira otpuštanje hormona štitnjače iz same štitnjače (1). Štitnjača, prednji režanj hipofize i hipotalamus tvore samoregulacijski krug poznat kao osovina hipotalamus-hipofiza-štitnjača. Glavni hormoni koje proizvodi štitnjača su tiroksin ili tetrajodtironin (T4) i trijodtironin (T3) (2).

TRH stimulira prednji režanj hipofize na lučenje TSH. Zauzvrat, TSH stimulira folikularne stanice štitnjače na oslobađanje hormona štitnjače u obliku T3 i T4. T3 je aktivni oblik hormona štitnjače i predstavlja samo 20 % otpuštenog hormona, dok većina T3 dolazi od periferne pretvorbe T4 u T3. T4 čini više od 80 % izlučenog hormona. TSH djeluje na tireocite preko svog specifičnog receptora poznatog kao TSH receptor (TSHR) (3).

TSHR je 7-transmembranski receptor povezan s G-proteinom. Njegova struktura i uloga u patologiji štitnjače je opsežno proučavana. Protutijela protiv ovog receptora ključna su u razvoju Gravesove bolesti, najčešćeg oblika hipertireoze (4).

### 1.1.2. Anatomija štitnjače

Štitnjača (lat. *glandula thyroidea*) je jedna od najvećih endokrinih žlijezda, smještena u prednjem dijelu vrata čija prosječna težina u odraslih osoba iznosi 15 do 20 g. Na vodoravnom dijelu ima oblik potkove u čijem konkavitetu se nalazi dušnik. Sastoji se od dva režnja, desnog i lijevog (lat. *lobus dexter et sinister*), koji su međusobno povezani suženim dijelom - istmusom (lat. *isthmus glandulae thyroideae*). Gledajući sprijeda, žlijezda ima oblik slova H, pri čemu okomite dijelove čine režnjevi, a vodoravni dio istmus (5).

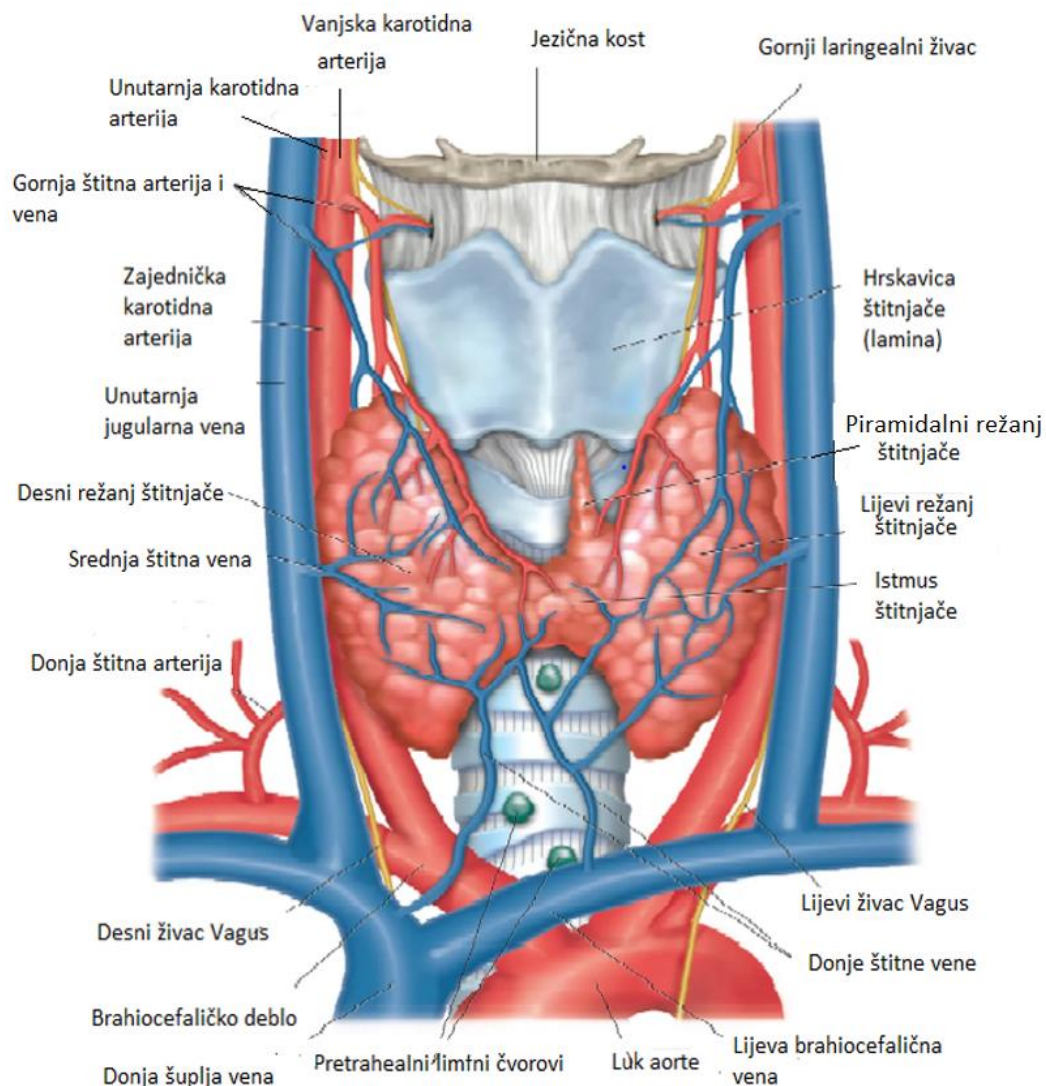
Volumen krvi koji kroz štitnjaču protječe u jednoj minuti je pet puta veći od mase same žlijezde, što ukazuje na izuzetno dobru opskrbljenost krvlju (6). Desni režanj kod većine ljudi je više vaskulariziran od lijevog te ima tendenciju povećanja u poremećajima povezanim s

difuznim povećanjem veličine žlijezde. Dva para žila čine glavni arterijski dovod krvi: gornja štitna arterija (lat. *arteria thyroidea superior*), koja proizlazi iz vanjske karotidne arterije, i donja štitna arterija (lat. *arteria thyroidea inferior*), koja proizlazi iz podključne arterije (lat. *arteria subclavia*) (7). Unutar kapsule štitnjače postoji gusta mreža spojnih žila, s granama koje prolaze u vezivno tkivo između režnjeva, tvoreći opsežne kapilarne pleksuse oko pojedinih folikula. Vene koje dreniraju kapilarne pleksuse tvore donje, srednje i gornje vene štitnjače koje se ulijevaju u unutarnje jugularne ili brahiocefalične vene. Uparene donje vene štitnjače leže na prednjoj strani dušnika i slobodno međusobno anastomoziraju prije nego što se dreniraju u brahiocefalične vene (8). Anatomija štitnjače i okolnih struktura shematski je prikazana na Slici 1.

Limfne žile štitnjače povezane su s trahealnim pleksusom i prolaze do prelaringealnih čvorova iznad istmusa štitnjače, kao i do pretrahealnih i paratrahealnih čvorova. Neke limfne žile mogu drenirati i u brahiocefalne čvorove povezane s timusom u gornjem medijastinumu. Bočno, žlijezda se drenira putem žila koje prate gornje štitne vene do dubokih vratnih čvorova. Limfne žile štitnjače mogu se također i izravno drenirati, bez posredničkih čvorova, u torakalni kanal (9).

Štitnjača prima inervaciju od gornjeg, srednjeg i donjeg vratnog simpatičkog ganglija. Postganglijska vlakna iz donjeg vratnog ganglija formiraju pleksus na donjoj štitnjačnoj arteriji, koji prati arteriju do štitnjače i povezuje se s rekurentnim laringealnim živcem, vanjskom granom gornjeg laringealnog živca, gornjim srčanim živcem te s pleksusom na zajedničkoj karotidnoj arteriji (9).





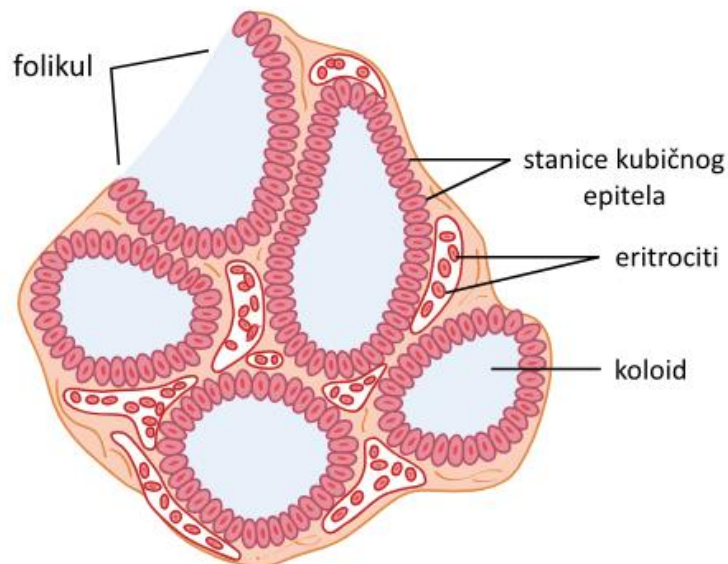
**Slika 1.** Prikaz anatomije štitnjače i okolnih struktura. Preuzeto i prilagođeno iz: Thyroid gland anatomy. Encyclopædia Britannica [Internet]. 2019. [citirano 31.svibnja 2024.] Dostupno na: <https://www.britannica.com/science/thyroid-gland>

### 1.1.3. Histologija štitnjače

Tkivo štitnjače građeno je od velikog broja folikula različitih veličina, promjera od 100 do 300  $\mu\text{m}$ , koji su obloženi jednoslojnim folikularnim epitelom. Osnovna jedinica građe tkiva štitnjače jest folikul, okrugla zatvorena struktura ispunjena homogenom izlučenom tvari, koloidom, čiji je glavni sastojak glikoprotein tireoglobulin (Tg), prekursor hormona štitnjače. Folikularne stanice mogu biti pločaste, kubične ili cilindrične, ovisno o funkcionalnoj aktivnosti štitnjače. U aktivnoj štitnjači prevladavat će cilindrične stanice, dok će u manje aktivnoj žlijezdi

dominirati pločaste ili kubične stanice. Folikularne stanice sastoje se od apikalne membrane, koja je okrenuta prema lumenu folikula, i bazolateralne membrane, koja je okrenuta prema krvotoku (10).

Štitnjača također sadrži parafolikularne ili C-stanice, koje su uključene u folikularni epitel ili smještene između folikula. Parafolikularne C-stanice izlučuju hormon kalcitonin, koji sudjeluje u regulaciji koncentracije kalcija u krvi (10,11). Parafolikularne C-stanice nastaju iz stanica neuralnog grebena četvrte ždrijelne vreće. Stoga su ove stanice ograničene na područje duboko u sredini gornje trećine bočnih režnjeva (12).



**Slika 2.** Shematski prikaz histološke slike tkiva štitnjače

Preuzeto i prilagođeno iz Hall JE, Guyton AC. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12. izdanje. London: Elsevier Health Sciences; 2012. str 907.

## 1.2. Kalcitonin

### 1.2.1. Molekularna građa i receptor kalcitonina

Kalcitonin (u daljnjem tekstu CT) je jednolančani polipeptidni hormon sastavljen od 32 aminokiseline. N-terminalni disulfidni most između cisteinskih ostataka na položajima 1 i 7 formira strukturu prstena od 7 aminokiselina, a na C-terminalu se nalazi amidirani prolin (13). Studije su pokazale da se produkt CT gena, kao i kod drugih hormonskih peptida, obrađuje cijepanjem i amidacijom prije izlučivanja. Na početku se CT sintetizira kao prekursor prokalcitonin, koji sadrži 136 aminokiselina i vodeću sekvencu na svom amino-kraju. Vodeća sekvencija se cijepa tijekom transporta hormona u endoplazmatski retikulum. Transkript CT gena također kodira poseban peptid poznat kao peptid povezan s genom kalcitonina (engl. *calcitonin gene-related peptide*, CGRP). CGRP je snažan vazodilatator, relaksant mezangijalnih stanica i djelomično je odgovoran za stimulaciju brzine glomerularne filtracije i bubrežnog protoka krvi (14). Receptor CT-a (engl. *calcitonin receptor*, CTR) prisutan je u brojnim tkivima uključujući osteoklaste, bubrege, placentu te stanice raka dojke i prostate. Prema tome, CT ima i skeletne i izvanskeletne učinke (15). Fiziološki učinci CT-a, kao što je inhibicija resorpcije kosti posredovane osteoklastima ili povećano izlučivanje kalcija putem bubrega, posredovani su CTR-om.

CTR je član novoidentificirane podfamilije receptora vezanih za G-protein sa sedam transmembranskih domena. CTR su prisutni u različitim tkivima i stanicama, kao što su leukociti, mozak, bubrezi, gastrointestinalni trakt, pluća, reproduktivni organi i najpoznatije, u kostima na osteoklastima. Zbog svoje uloge u regulaciji metabolizma kostiju, CTR se klinički koriste u liječenju poremećaja kostiju poput hiperkalcijemije kod maligniteta, osteoporoze i Pagetove bolesti. (16).

### 1.2.2. Djelovanje kalcitonina

CT djeluje na smanjenje koncentracije serumskog kalcija inhibicijom resorpcije kostiju i poticanjem izlučivanja kalcija putem bubrega. Osim ovog učinka hipokalcijemije, CT modulira bubrežni transport vode i nekoliko iona, osim kalcija, te djeluje na središnji živčani sustav izazivajući analgeziju, anoreksiju i želučanu sekreciju (17). CT signalizira intracelularno vežući se za svoj receptor koji pripada klasi II (obitelj B), podklasi receptora povezanih s G-proteinima

(engl. *G protein-coupled receptors*, GCPR), koji uključuje receptore za druge peptidne hormone (18). Studije na staničnim kulturama s kalcijevim ionoforima i blokatorima kalcijevih kanala pokazuju da koncentracija iona kalcija unutar C-stanica određuje brzinu lučenja CT-a. Drugi sekretori CT-a uključuju glukokortikoide, CGRP, glukagon, enteroglukagon, gastrin, pentagastrin, pankreozimin i  $\beta$ -adrenergičke agense. Fiziološka uloga gastrointestinalnih hormona u regulaciji CT-a ostaje nejasna, međutim, pretpostavlja se da igraju ulogu u regulaciji postprandijalne hiperkalcijemije. Izlučivanje CT-a inhibira somatostatin, koji također izlučuju C-stanice štitnjače (19).

CT inhibira sekrecijsku aktivnost osteoklasta, posebno kisele fosfataze otporne na tartarat (engl. *tartarat resistant acid phosphatase*, TRAP) te mijenja natrij/kalij -ATPazu aktivnost, staničnu lokalizacija karboanhidraze, inhibira vodikovu-ATPazu i lučenje kiseline iz osteoklasta (20).

Salkatonin (kalcitonin lososa) inhibira osteoklastičnu resorpciju kosti i približno je 40 do 50 puta jači od ljudskog CT-a (21). Kalcitonin inhibira i bazalnu i stimuliranu resorpciju intaktne kosti uzgojene u kulturi organa. Izravno i brzo uzrokuje gubitak nabrane granice osteoklasta u dijelovima kosti i dugoročno smanjuje broj osteoklasta u kosti (22).

Dugotrajno liječenje blokatorima histaminskih receptora (engl. *histamin H2 receptor blocker*, H2RB) i/ili inhibitorima protonske pumpe (engl. *proton pump inhibitor*, PPI) te glukokortikoidima povezuje se s hiperkalcemijom. H2RB i PPI lijekovi smanjuju lučenje želučane kiseline u bolesnika s hipergastrinemijom, pernicioznom anemijom, selektivnim želučanim vagotomijama i želučanim operacijama. Inhibicija želučane kiseline podiže koncentracije endogenog gastrina. Gastrin se luči iz G-stanica i poznato je da podiže serumske koncentracije CT-a (23).

### **1.2.3. Kalcitonin u odnosu na godine i spol**

U ljudi, fetalne i neonatalne koncentracije CT u serumu su visoke. Nakon rođenja, koncentracije CT-a rastu i dostižu svoj maksimum u dvanaestom satu života, a zatim opadaju na polovicu početne vrijednosti do kraja prvog mjeseca (24). Kod odraslih osoba, CT ima slab učinak na koncentraciju kalcija, a za to postoje dva glavna razloga. Prvo, svako početno smanjenje koncentracije kalcijevih iona uzrokovano CT-om unutar nekoliko sati rezultira snažnom stimulacijom lučenja paratireoidnog hormona (u daljnjem tekstu PTH), koja gotovo u

potpunosti nadjačava učinak CT-a. Drugo, kod odraslih osoba dnevne stope apsorpcije i taloženje kalcija su niske, pa čak i nakon što CT uspori stopu apsorpcije, to ima samo mali učinak na koncentraciju kalcijevih iona u serumu. Učinak CT-a kod djece je mnogo veći zbog ubrzane pregradnje kostiju (25).

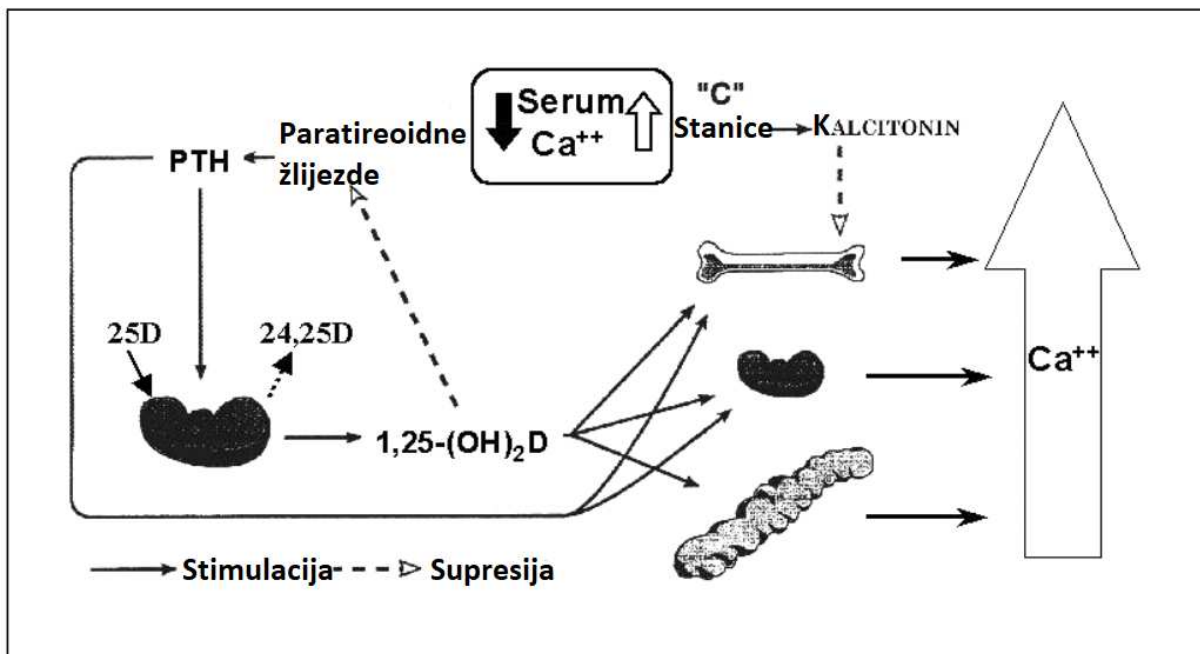
Neki podaci upućuju na to da je lučenje CT-a niže u žena nego u muškaraca, smanjuje se s godinama i menopauzom te je odsutno u osoba koje su podvrgnute tireoidektomiji. Iako su podaci kontroverzni, neki istraživači predlažu da se sekrecija CT-a može smanjiti u menopauzi te da je može stimulirati estrogenska terapija. Moguće je, dakle, da je progresivni nedostatak CT-a u žena jedan od uzroka gubitka koštane mase povezanog s dobi i spolom (26). U oba spola postoji progresivno smanjenje CT-a u serumu s godinama, a CT u serumu je općenito viši u muškaraca nego u žena neovisno o dobi. Postoji nekoliko mogućih objašnjenja za progresivno smanjenje CT-a u serumu koje se javlja s godinama. Samo starenje općenito može smanjiti sekrecijski kapacitet C stanica. Isto tako, smanjenje izlučivanja CT-a može odražavati smanjenu reakciju C stanica na podražaj kalcijem (27).

#### **1.2.4. Kalcitonin i PTH**

Homeostaza kalcija je strogo kontroliran proces koji uključuje nekoliko tkiva, hormona i proteina, kao što je prikazano na Slici 3. Hormoni  $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D ( $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ ), PTH i CT ključni su za regulaciju metabolizma kalcija (26). Pod eksperimentalnim uvjetima, pokazalo se da CT ima nekoliko učinka na bubrege koji mogu izravno ili neizravno utjecati na metabolizam kalcija. CT je poznati stimulator aktivnosti 25-hidroksivitamina D3  $1\alpha$ -hidroksilaze čime se povećava koncentracija  $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D3 (u daljnjem tekstu vitamin D3) koja ima neovisne učinke na metabolizam kalcija (28).

Prolazno povećanje koncentracije CT u serumu inducirano je akutnim opterećenjem kalcijem. Međutim, u kroničnim hiperkalcijemijskim stanjima, koncentraciju CT-a u serumu, kao i zalihe CT-a u štitnjači, teško je protumačiti. Tijekom kronične hiperkalcijemije uočeno je reverzibilno iscrpljivanje zaliha CT-a u štitnjači i smanjeni odgovor CT-a na akutnu stimulaciju kalcijem, dok su bazalne koncentracije CT-a u serumu ostale nepromijenjene (29). U bolesnika s kroničnom hipokalcijemijom, poput hipoparatiroidoze, infuzije kalcija rezultiraju značajnim povećanjem serumskih koncentracija CT-a (30).

PTH se luči iz glavnih stanica paratireoidne žlijezde. PTH regulira serumski kalcij putem tri različita mehanizma: oslobađanjem kalcija i fosfora iz kostiju stimulacijom osteoklastične aktivnosti; smanjenjem izlučivanja kalcija i popratnim smanjenjem reapsorpcije fosfata u bubrezima; te povećanjem apsorpcije kalcija i fosfora iz hrane u crijevima (31). Mala smanjenja serumskog kalcija i produljena povećanja fosfata u serumu stimuliraju paratireoidnu žlijezdu na izlučivanje PTH, dok vitamin D3 smanjuje sintezu i izlučivanje PTH. Produljeno smanjenje serumskog kalcija i vitamina D3, ili povećanje fosfata u serumu, kao što je slučaj kod bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega, dovodi do odgovarajućeg sekundarnog povećanja PTH u serumu (32).



**Slika 3.** Shematski prikaz homeostaze kalcija.

Preuzeto i prilagođeno iz: Anderson PH, May BK, Morris HA. Vitamin D metabolism: new concepts and clinical implications. Clin Biochem Rev. 2003;24:13-26.

### 1.3. Patologija štitnjače

#### 1.3.1. Hipertireoza

Hipertireoza predstavlja stanje prekomjerne koncentracije hormona štitnjače u tkivima, uzrokovano povećanom sintezom hormona štitnjače, prekomjernim oslobađanjem prethodno

formiranih hormona štitnjače ili endogenim ili egzogenim izvorima izvan štitnjače. Najčešći endogeni uzroci hipertireoze su Gravesova bolest, koja je i najčešći uzrok hipertireoze, toksična multinodularna struma, toksični adenom i bezbolni tireoiditis (33).

Gravesova bolest je multisistemski autoimuni poremećaj karakteriziran prisutnošću protutijela na receptor za TSH (engl. *TSH receptor antibody*, TSHRAb). TSH receptori nisu eksprimirani samo na tireocitima, već i izvan štitnjače - na fibroblastima, fibrocitima, adipocitima, osteoblastima, osteoklastima i folikulostelatnim stanicama hipofize. Pretpostavlja se da su autoimuni odgovori usmjereni protiv TSH receptora na orbitalnim fibroblastima i potkožnom vezivnom tkivu odgovorni za druge simptome Gravesove bolesti, poput Gravesove orbitopatiju i Gravesove dermopatije. Neki od znakova i simptoma hipertireoze uključuju hiperaktivnost, razdražljivost, netolerancija na toplinu, znojenje, umor i slabost, gubitak težine s povećanim apetitom, proljev, gubitak libida, tahikardija, fibrilacija atrijska, tremor, slabost mišića, proksimalna miopatija, ginekomastija (34).

Metimazol, karbimazol i propiltiouracil su glavni lijekovi koji blokiraju sintezu hormona štitnjače. Ovi lijekovi također mogu pomoći u kontroli tireotoksikoze supresijom imunološkog odgovora. Propiltiouracil dodatno inhibira perifernu konverziju T4 u T3 (35). Često se mora odlučiti između produljenog liječenja antitireoidnim lijekovima i doživotne terapije hormonima štitnjače zbog zatajenja štitnjače koje se može dogoditi nakon terapije radioaktivnim jodom.

Unatoč gotovo 60 godina iskustva u korištenju antitireoidnih lijekova i radiojoda za liječenje Gravesove bolesti, politika liječenja značajno se razlikuje između zemalja. U Sjedinjenim Američkim Državama, liječnici preferiraju radiojodnu terapiju. Nasuprot tome, u Europi i Japanu liječnici češće preferiraju antitireoidne lijekove, kirurški zahvat ili kombinaciju oba pristupa (36).

### **1.3.2. Hipotireoza**

Hipotireoza se javlja kada postoji neadekvatna proizvodnja hormona štitnjače od strane štitnjače ili nedovoljna stimulacija od strane hipotalamusa ili hipofize. Uzroci mogu uključivati primarno zatajenje žlijezde ili mogu biti jatrogeni, prolazni ili središnji (37). Najčešći uzrok hipotireoze u novorođenčadi i djece u dojenačkoj dobi je urođena aplazija štitnjače. Endemični kretinizam još uvijek se pojavljuje u područjima svijeta gdje manjka joda. Hipotireoza, koja se

pojavljuje u odrasloj dobi, najčešća je kod žena srednje dobi i često je posljedica autoimunosne bolesti kao što je Hashimotov tireoiditis (38).

Simptomi se mogu razvijati polako i često oponašaju simptome drugih poremećaja, uključujući abnormalnosti menstrualnog ciklusa (39). Simptomi mogu varirati od suptilnih pa do životno ugrožavajućih kao što je miksedemska koma; češći simptomi uključuju netoleranciju na hladnoću, umor, debljanje, suhu kožu, zatvor i promjene glasa (37).

Dijagnoza se uspostavlja jeftinim i jednostavnim testiranjem koncentracije hormona TSH, dok se za potvrdu dijagnoze mjeri koncentracija tiroksina (T4) u serumu. Liječenje hipotireoze obično uključuje monoterapiju levotiroksinom koji se uzima na prazan želudac (39). Kod odraslih osoba, levotiroksin se obično propisuje u početnoj dozi od 1,6 µg/kg/dan, koja se zatim titrira kako bi se postigla optimalna koncentracija TSH, ovisno o terapijskom cilju. Osobe s koronarnom bolešću ili one u dobi od 50-60 godina primaju nižu početnu dozu.

U trudnoći se cilja da koncentracije TSH budu u donjoj polovici raspona specifičnog za tromjesečje, ili ispod 2,5 mIU/L. Sve bolesnike s klinički evidentnom i laboratorijski dokazanom hipotireozom te subkliničkom hipotireozom s TSH >10 mIU/L treba liječiti. U većini slučajeva kliničari se slažu da postoji potreba liječenja subkliničke hipotireoze bilo kojeg stupnja kod trudnica, kako bi se smanjio rizik od komplikacija u trudnoći i poremećenog kognitivnog razvoja djeteta. Međutim, i dalje postoje kontroverze u vezi s liječenjem odraslih pacijentica koje nisu trudne, a imaju subkliničku hipotireozom i vrijednosti TSH u serumu ≤10 mIU/L (40). Kod subkliničke hipotireoze, doze od oko 50-75 µg mogu biti dovoljne za normalizaciju serumskog TSH (41).

### **1.3.3. Karcinom štitnjače i kalcitonin**

Sinteza i lučenje CT-a karakteristični su za medularni karcinom štitnjače (MTC), koji je neuroendokrini tumor. Iako je rijedak, čini približno 1-5% svih karcinoma štitnjače, ali uzrokuje 8-13% svih smrtnih slučajeva povezanih s rakom štitnjače. Stoga je rana dijagnoza MTC-a ključna za poboljšanje dugoročne prognoze.

Ultrasonografija i mjerenje CT-a u serumu najvažniji su alati za dijagnozu MTC. Međutim, postoji nekoliko slučajeva MTC-a s normalnim koncentracijama CT-a u serumu, i s dijagnozom CT-negativnog MTC-a što predstavlja izazov u kliničkoj praksi. CT je najosjetljiviji tumorski marker za MTC, a visoke bazalne i stimulirane koncentracije CT-a u serumu zabilježene su u



sporadičnom i obiteljskom MTC-u, bilo izoliranom ili kao dio sindroma multiple endokrine neoplazije tip II (MEN II) (42).

Bazalni serumski CT koristi se u dijagnostici i liječenju MTC-a. Ako je bazalna koncentracija CT-a 100 pg/mL ili viša, vjerojatno se radi o MTC, ali ako je bazalna koncentracija CT ispod 10 pg/mL, vjerojatnost medularnog karcinoma štitnjače je mala. U slučajevima s bazalnom koncentracijom CT-a između 10–100 pg/mL, koncentracija CT-a se proučava pentagastrinskom stimulacijom za procjenu MTC i hiperplazije C-stanica (43). Iako mjerenje CT-a ima visoku osjetljivost za otkrivanje MTC-a, ima nisku specifičnost za ovaj tumor. Nekoliko fizioloških i patoloških stanja osim MTC-a povezano je s povišenim koncentracijama CT-a.

Čvorovi štitnjače povezani s povišenim vrijednostima CT-a, koji nisu MTC, mogu biti povezani s hiperkalcemijom, hipergastrinemijom, neuroendokrinim tumorima, bubrežnom insuficijencijom, papilarnim i folikularnim karcinomima štitnjače i gušavošću (44). U samo 10 do 40% pacijenata s povišenim bazalnim koncentracijama CT-a na kraju se dijagnosticira MTC. Kod bolesnika s benignim citološkim nalazom, koji su unatoč tome podvrgnuti operaciji zbog povišene koncentracije CT-a, neki su imali hiperplaziju C-stanica ili mikroskopski MTC, dok kod drugih nije pronađena nikakva abnormalnost C-stanica (45).

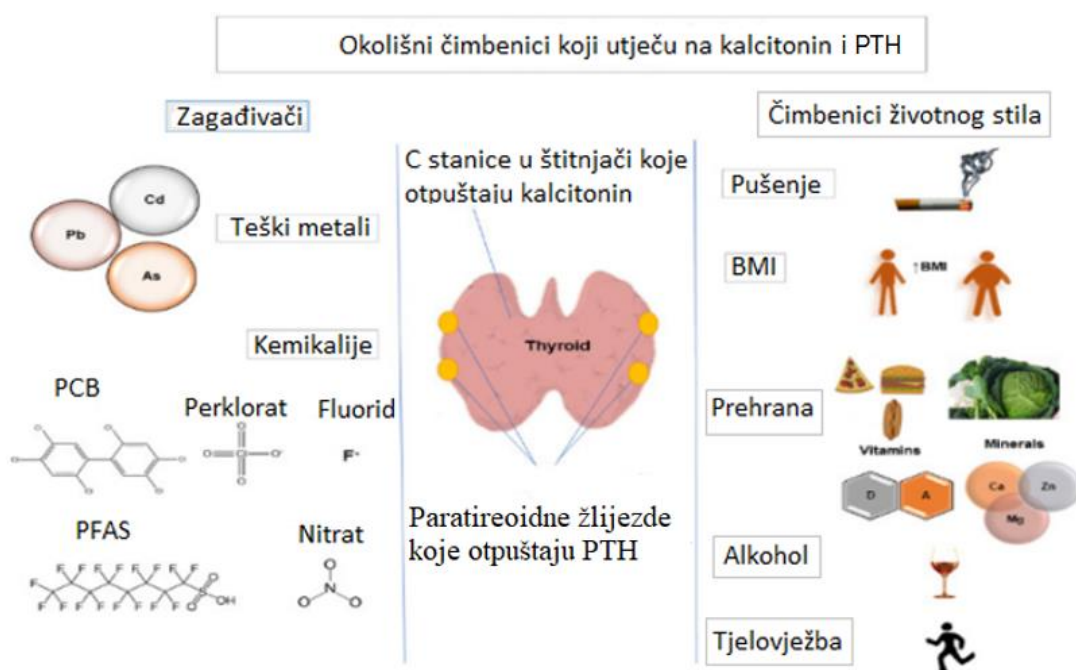
Smjernice Nacionalnog instituta za zdravlje (NIH) za pacijente s MEN sindromom preporučuju da se svi slučajevi MTC-a, bilo sporadični ili nasljedni, analiziraju na mutacije RET proto-onkogen. RET molekularna dijagnostika smatra se zlatnim standardom za prepoznavanje pacijenata s rizikom za MTC u obiteljima s prisutnim MEN 2 sindromom. Većini asimptomatskih nositelja mutacija RET protoonkogen preporučuje se profilaktička totalna tireoidektomija prije pete godine života (45).

Sporadični MTC može se klinički pojaviti u bilo kojoj dobi, a vrhunac incidencije doseže tijekom četvrtog i šestog desetljeća života. Bolesnici sa sporadičnim MTC obično imaju palpabilan čvor na štitnjači. Kliničke metastaze u limfnim čvorovima vrata prisutne su kod polovice bolesnika, dok su ekstracervikalne metastaze u jetri, plućima ili kostima prisutne na početku bolesti u 20% slučajeva (46).

## 1.4. Čimbenici okoliša i kalcitonin

### 1.4.1. Povezanost prehrane i koncentracije kalcitonina u serumu

Postoje mnogi okolišni čimbenici koji mogu utjecati na koncentraciju CT-a, kako što je prikazano na Slici 4. Gastrin i njegov sintetski analog pentagastrin, kao i drugi gastrointestinalni hormoni, poput kolecistokinina, glukagona i ceruleina, mogu stimulirati izlučivanje CT-a kod nekoliko vrsta životinja, uključujući čovjeka. Međutim, učinci gastrina na oslobađanje CT-a kod ljudi još uvijek nisu potpuno razjašnjeni. Neke studije su pokazale učinak, dok su druge studije pokazale stimulativno djelovanje gastrina na otpuštanje CT-a u ljudi (47).



**Slika 4.** Okolišnih čimbenika koji utječu na koncentraciju CT-a i PTH. As, arsen; Pb, olovo; Cd, kadmij; BMI, indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*); PCB, poliklorirani bifenil; PFAS, perfluoroakrilne supstance; Ca, kalcij; Zn, cink; Mg, magnezij

Preuzeto i prilagođeno iz: Babić Leko M, Pleić N, Gunjača I, Zemunik T. Environmental factors that affect parathyroid hormone and calcitonin levels. IJMS. 2021;23:44

Neki istraživači su postavili hipotezu da je porast koncentracije CT-a nakon obroka vjerojatno povezan sa sadržajem kalcija u obroku. Međutim, ova je hipoteza osporena u nekoliko studija. Jedna od tih studija je otkrila da se koncentracija CT-a značajno poveća nakon intravenske, ali ne i oralne primjene kalcija. Slično tome, druga studija nije pronašla promjene

u serumu CT nakon obroka s niskim i visokim sadržajem kalcija, unatoč značajnom porastu koncentracije gastrina u serumu. Rezultati studije Zayeda i suradnika sugeriraju da na koncentraciju CT-a u serumu značajno utječe unos hrane u zdravih mladih odraslih osoba u dobi od 22 do 24 godine. Nadalje, postoji cirkadijalni ritam u serumskoj koncentraciji CT-a, s tendencijom porasta koncentracije CT-a u kasnim poslijepodnevnim satima (48).

#### **1.4.2. Povezanost pušenja i koncentracije kalcitonina u serumu**

Većina studija koja istražuju učinak pušenja na koncentraciju CT-a otkrila je povećanje koncentracije CT-a kod pušača. Pušenje utječe na normalno funkcioniranje štitnjače, međutim, učinak pušenja na C-stanice koje proizvode CT nije u potpunosti razjašnjen. Pušenje povećava otpuštanje CT-a iz neuroendokrinih stanica pluća (49). Studija koju su proveli Song i suradnici, obuhvaćajući ukupno 10 566 ispitanika, pokazala je da su veći udio muških ispitanika bivši ili sadašnji pušači te da imaju više čvorova na štitnjači. Prosječna koncentracija CT-a bila je viša kod muškaraca nego kod žena (50).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

**Cilj ovoga istraživanja je:**

Glavni cilj ovog istraživanja je odrediti povezanost konzumiranja određenih skupina namirnica s koncentracijama kalcitonina u serumu zdravih pojedinaca.

**Hipoteza ovoga istraživanja je:**

Postoji značajna pozitivna ili negativna povezanost između serumskih koncentracija kalcitonina i konzumacije određenih prehrambenih namirnica.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Istraživanje i ispitanici**

Ispitanici uključeni u ovo istraživanje su odrasle osobe starije od 18 godina, prikupljene kroz projekt „10 001 Dalmatinac“ koji je dio programa Hrvatska biobanka. Ovaj projekt, koji je započeo 1999. godine, ima za cilj stvoriti reprezentativan uzorak hrvatske populacije od nekoliko tisuća pojedinaca radi istraživanja genetičkih i okolišnih čimbenika koji utječu na zdravlje i bolesti.

Od svakog sudionika prikupljeni su biološki uzorci (krv, serum, plazma, urin) te više stotina fenotipskih karakteristika, uključujući podatke o životnim navikama, izloženosti čimbenicima rizika i stavovima prema zdravlju. Osim toga, mjerene su različite fiziološke i biokemijske vrijednosti. Također je provedena analiza cijelog genoma za svakog sudionika, što je omogućilo brojna genetička istraživanja do sada.

Ova presječna studija je obuhvatila 2500 ispitanika s otoka Korčule. Iz studije su isključeni ispitanici koji su imali koncentracije PTH izvan referentnog intervala. Prilikom uključanja u projekt svi sudionici potpisali su informirani pristanak, a protokol studije odobrilo je Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (2181-198-03-04-14-0031 i 2181-198-03-04-19-0022).

### **3.2. Biokemijska mjerenja**

Koncentracije serumskog CT određivane su radioimunoesejnom metodom (engl. *radioimmunoassay* RIA) u Laboratoriju za biokemiju, Odjel za nuklearnu medicinu, Kliničkog bolničkog centra Split. RIA je napravljena pomoću scintilacijskog brojača Capintec, pri čemu je <sup>125</sup>I korišten kao marker. Koncentracije CT u serumima mjerene su pomoću komercijalnih setova (DIAsource CT-U.S. -IRMA Kit, DIAsource ImmunoAssays S.A, Belgija). Referentni raspon za koncentraciju serumskog CT iznosi 1,2 – 10,9 pg/ml, a PTH je 6,9-29 pg/ml.

### 3.3. Prikupljanje podataka o dijetetskim navikama

Pri regrutaciji, sudionici su ispunili upitnik o učestalosti konzumiranja hrane (FFQ), navodeći koliko često konzumiraju 56 različitih namirnica i napitaka. Za svaku stavku u upitniku, sudionici su birali jedan od ponuđenih odgovora: 1 = svaki dan, 2 = 2 ili 3 puta tjedno, 3 = jednom tjedno, 4 = jednom mjesečno, 5 = rijetko i 6 = nikada, osim za četiri pitanja o učestalosti konzumacije masti koja su imala tri moguća odgovora (uvijek, ponekad, nikada): 1 = uvijek, 2 = ponekad, i 3 = nikada.

Za potrebe analize, učestalosti konzumacije pretvorene su u tjedne unose po sljedećoj shemi: svaki dan (7 puta/tjedno), 2 do 3 puta tjedno (2,5 puta/tjedno), jednom tjedno (1 put/tjedno), rijetko (0,5 puta/tjedno ili jednom svaka 2 tjedna), i nikada (0 puta/tjedno). Učestalost konzumacije masti također je pretvorena u kvantitativni tjedni unos, kako slijedi: uvijek (7 puta/tjedno), ponekad (2,5 puta/tjedno), i nikada (0 puta/tjedno).

### 3.4. Statistička analiza

Podaci su prikazani kao apsolutne frekvencije (postoci) za kategorijske varijable (spol, pušenje) te kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SD) za kontinuirane varijable (dob, ITM, visina, težina) u Tablici 1. Analiza glavnih komponenti (engl. *principal component analysis* PCA), korištena je za smanjenje broja dimenzija prehrambenih stavki u manji broj faktora, tj. skupina. Bartlettov  $\chi^2$ -test sferičnosti i Kaiser-Meyer-Olkinov indeks korišteni su za procjenu prikladnosti testnih stavki i veličine uzorka za faktorsku analizu. Popis od 56 prehrambenih stavki smanjen je na ključne skupine (faktore) pomoću PCA. Ortogonalna (*varimax*) rotacija korištena je u faktorskoj analizi za izdvajanje faktora koji su međusobno neovisni tj. nekorelirani. Prilikom određivanja broja faktora, uzeti su u obzir interpretabilnost rezultata, vizualni pregled scree grafikona i svojstvene vrijednosti veće od 1. Ako je apsolutna vrijednost faktorskog opterećenja za neku prehrambenu stavku bila  $\geq 0,4$ , smatralo se da ta stavka pripada određenom faktoru (faktorsko opterećenje je mjera korelacije između stavke i faktora). Na temelju *Rotated Component Matrix*, identificirali smo koje varijable (one u ovom slučaju predstavljaju različite namirnice) se grupiraju zajedno u faktore i što svaki faktor predstavlja. Povezanost prehrambenih skupina dobivenih PCA metodom s koncentracijama CT-a ispitana je pomoću linearne regresije. Koncentracije CT-a smatrane su zavisnom varijablom, dok su prehrambene skupine, dob i spol smatrane nezavisnim varijablama. P-vrijednosti manje



od 0,05 smatrane su statistički značajnima. Koncentracije CT-a su, s obzirom na to da su podaci bili normalno distribuirani, uspoređene između muškaraca i žena koristeći parametrijski t-test za nezavisne uzorke. Statističke analize provedene su pomoću Statistical Package Software for Social Science, version 20 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

## **4. REZULTATI**

Opće karakteristike 2500 sudionika koji su sudjelovali u istraživanju prikazane su u Tablici 1. (za dva sudionika nedostaju vrijednost spola i dobi, za 81 ispitanika nedostaju podaci o BMI, za 79 ispitanika nedostaju podaci o visini, za 75 ispitanika nedostaju podaci o težini, a 48 ispitanika se nisu izjasnili o pušačkom statusu).

**Tablica 1.** Opće karakteristike 2500 ispitanika uključenih u studiju.

Varijabla	Vrijednosti	N=Ukupan broj ispitanika
Spol:		
Žene	1565 (62,6 %)	2498
Muškarci	933 (37,3 %)	2498
Dob (Godine)	55,62 ± 15,95	2498
ITM	27,33 ± 4,47	2419
Visina (m)	1,69 ± 0,09	2421
Težina (kg)	78,74 ± 15,55	2425
Pušenje		
Da	679 (27,2 %)	2452
Ne	1214 (48,6 %)	2452
Bivši pušač	559 (22,4 %)	2452

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija, apsolutna frekvencija (relativna frekvencija). ITM, indeks tjelesne mase

Podaci su bili pogodni za faktorsku analizu, što potvrđuju *Kaiser-Meyer-Olkin* mjera adekvatnosti uzorkovanja (0,711) i Bartlettov test sferičnosti ( $P < 0,001$ ). Faktorskom analizom dobiveno je 19 prehrambenih skupina, koji objašnjavaju 58,95 % ukupne varijance u frekvenciji unosa hrane. Maslinovo ulje, govedina, slanina, mesne konzerve, kobasice i salama izbačeni su iz analize jer nisu bilo dovoljno jako korelirani ni s jednim od faktora. Faktori i pripadajuće prehrambene namirnice te faktori utjecaja navedeni su u Tablici 2.

**Tablica 2.** Popis namirnica i njihovo grupiranje u odgovarajuće faktore na temelju faktorskog opterećenja koristeći analizu glavnih komponenti (PCA)

Prehrambena skupina	Namirnice (faktor utjecaja)
Faktor 1	Lisnato povrće (0,789), korjenasto povrće (0,842), cvjetno povrće (0,724), plodno povrće (0,664), mahunarke (0,413)
Faktor 2	Kolači (0,680), čokolada (0,814), keksi (0,771), bomboni (0,525)
<b>Faktor 3</b>	<b>Plodovi mora (0,723), lignja i hobotnica (0,773), sušena riba (0,645)</b>
Faktor 4	Voćni sokovi (0,595), Cedevita (0,653), bezalkoholna pića (0,662)
Faktor 5	Riblje preradevine (0,742), jaja (0,676)
Faktor 6	Bijeli kruh (0,763), kruh od cjelovitog zrna (0,779)
Faktor 7	Konzervirano povrće (0,661), gljive (0,668), krumpiri (-0,422), orašasti plodovi (0,414)
Faktor 8	Kiselo vrhnje (0,520), iznutrice (0,742), janjetina (0,489), svinjetina (0,457)
Faktor 9	Plava riba (0,641), bijela riba (0,742)
Faktor 10	Mlijeko (0,553), jogurt (0,690), svježe voće (0,451), Žele puding od džema (0,406)
Faktor 11	Sušeno voće (0,524), žestoko alkoholno piće (0,612), povrtni sokovi (0,608) žitne pahuljice muesli (0,427)
Faktor 12	Teletina (0,695)
<b>Faktor 13</b>	<b>Svježi sir (0,551), punomasni sir (0,691), tjestenina i riža (0,511)</b>
Faktor 14	Puretina (0,588), snetina (0,450)
Faktor 15	Tvrđi sir (0,682)
Faktor 16	Maslac (0,733), životinjska mast (0,619)
Faktor 17	Piletina (0,735), juhe u prahu (0,449)
Faktor 18	Biljno ulje (0,753)
Faktor 19	Voćni kompoti (0,793)

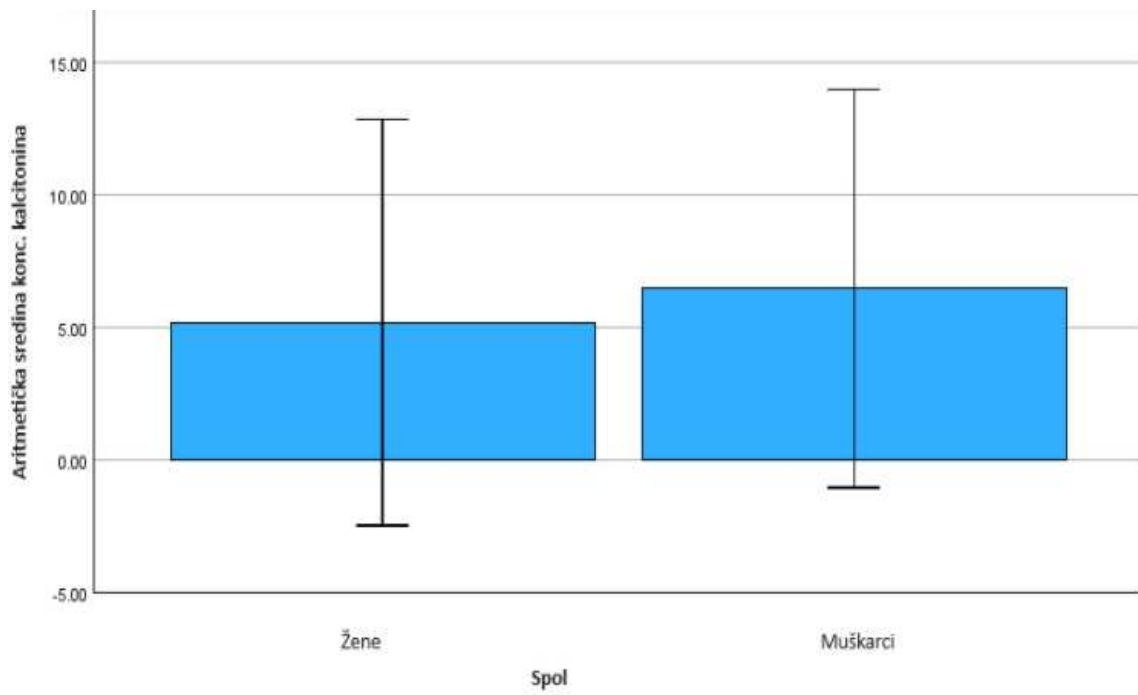
Linearna regresijska analiza pokazala je da su prehrambene skupine s visokim opterećenjem za faktor utjecaja za plodove mora, lignju, hobotnicu i sušenu ribu bile negativno povezane sa serumskom koncentracijom CT-a ( $\beta=-0,085$ ,  $SE=0,138$ ,  $P=0,026$ ). Prehrambena skupina s visokim opterećenjem za faktor utjecaja za svježi sir, punomasni sir, tjesteninu i rižu

je pozitivno povezana sa serumskom koncentracijom CT-a ( $\beta=0,085$ ,  $SE =0,139$ ,  $P=0,027$ ). Ostale prehrambene skupine nisu pokazale povezanost sa serumskom koncentracijom CT-a. Rezultati linearne regresije prikazani su u Tablici 3. Serumske koncentracije CT-a su se značajno razlikovale između muškaraca i žena, pri čemu su muškarci imali više koncentracije CT-a ( $t= -7,940$ ,  $df=2416$ ,  $P< 0,001$ ) što je prikazano na Slici 4.

**Tablica 3.** Rezultati linearne regresije.

Faktori	$\beta$ koeficijent	<i>P</i> vrijednost
1	-0,027	0,497
2	0,006	0,875
3	-0,085	0,026*
4	-0,007	0,857
5	-0,040	0,304
6	0,001	0,984
7	0,045	0,243
8	-0,048	0,219
9	-0,041	0,282
10	0,038	0,345
11	-0,043	0,262
12	0,012	0,762
13	0,085	0,027*
14	0,031	0,414
15	-0,023	0,556
16	0,035	0,368
17	-0,002	0,958
18	-0,056	0,144
19	0,040	0,303
Spol	0,108	0,009*
Dob	-0,033	0,459

Statistički značajni faktori i njihove negativne i pozitivne korelacije su prikazani s zvjezdicom \*.

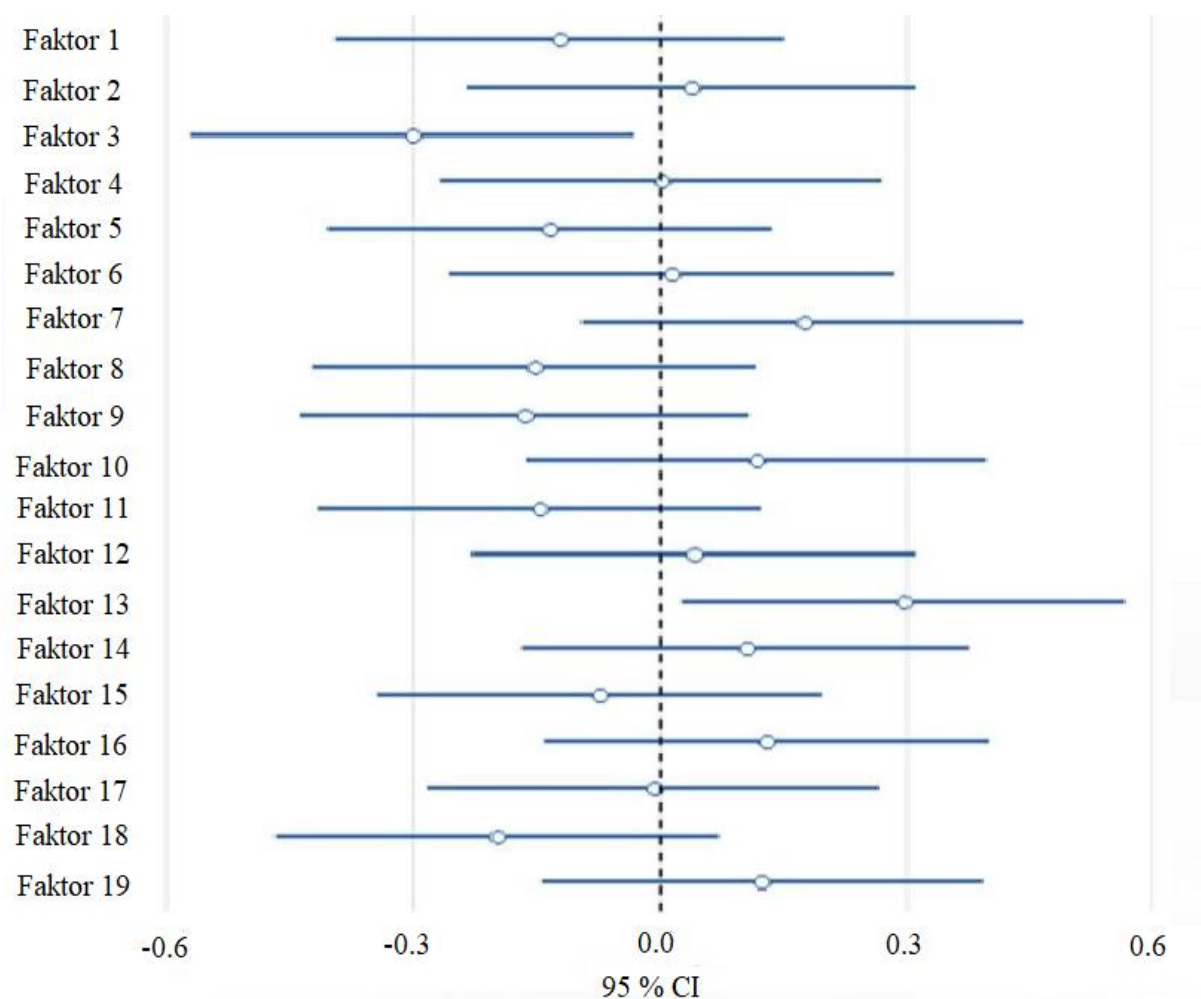


Stupci pogreške: +/- 2SD

**Slika 4.** Razlika u koncentracijama CT-a između žena i muškaraca ( $*P < 0,001$ )

Standardna devijacija, SD

\* T-test za nezavisne uzorke



**Slika 5.** Grafikon raspona pouzdanosti (engl. *forest plot*). Veličine utjecaja i 95% intervali pouzdanosti dobiveni su linearnom regresijskom analizom za povezivanje prehrambenih skupina (faktora) s koncentracijom CT-a. Statistički značajni prehrambeni faktori su oni čije linije ne sijeku vertikalnu os. CI, raspon pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

## **5. RASPRAVA**



Ova studija predstavlja sveobuhvatnu analizu utjecaja različitih prehrambenih čimbenika na koncentracije CT-a u serumu. Statistički značajno više koncentracije CT-a uočene su kod muškaraca u usporedbi sa ženama, a pokazalo se da prehrambeni obrasci različito djeluju na koncentracije CT-a. Analiza povezanosti koncentracija CT-a s prehrambenim čimbenicima pokazala je da je faktor 3 (učestala konzumacija plodova mora, hobotnice, lignji i sušene ribe) negativno povezan s koncentracijama CT-a, dok je faktor 13 (učestala konzumacija tjestenine, riže, svježih i punomasnih sireva) pozitivno povezan s koncentracijama CT-a. Nije pronađena statistički značajna poveznica između konzumacije ostalih prehrambenih skupina s koncentracijama CT-a.

Muškarci su pokazali značajno više koncentracije CT-a nego žene što je u skladu s prethodnim objavljenim istraživanjima (50). Song i suradnici primijetili su više razine CT-a kod muškaraca u usporedbi sa ženama, te na temelju tih nalaza predložili uvođenje referentnih raspona CT-a specifičnih za spol (50, 51). Machens i suradnici su istaknuli važnost uzimanja u obzir spolnih razlika pri tumačenju razina CT-a, naglašavajući da muška štitnjača sadrži veći broj parafolikularnih C-stanica i proizvodi više bazalne razine CT-a. Predložili su primjenu novih pragova CT-a za dijagnosticiranje medularnog karcinoma štitnjače kod muškaraca i žena, kako bi se poboljšala točnost dijagnoze i spriječila pogrešna klasifikacija (52). Lučenje CT-a se može smanjiti u menopauzi i potaknuti terapijom estrogenom što može uzrokovati gubitak kosti povezan s dobi i spolom (26,27). Istraživanje Defetos i suradnika sugerira da progresivni nedostatak CT-a vjerojatno doprinosi povećanom gubitku kosti koji se javlja s godinama kod oba spola, a posebno kod žena (27).

Analiza prehrambenih čimbenika pokazala je da je učestala konzumacija plodova mora, hobotnice, lignji i sušene ribe negativno povezana s koncentracijama CT-a, dok je učestala konzumacija tjestenine, riže, svježih i punomasnih sireva pozitivno povezana s koncentracijama CT-a u serumu. Više razine kalcija u prehrani, često povezane s mliječnim proizvodima kao što su mlijeko, jogurt i sirevi, mogu povećati dostupnost kalcija za tijelo, što potencijalno može potaknuti lučenje CT-a kao dio prirodnih mehanizama regulacije kalcija u tijelu. U Sjedinjenim Američkim Državama procjenjuje se da 72 posto kalcija dolazi iz mlijeka, sira i jogurta te iz hrane kojoj su dodani mliječni proizvodi dok preostali kalcij dolazi iz povrća, žitarica, mahunarki, voća, mesa, peradi i jaja (53).

Alternativni pristupi, kao što je povećanje bioraspoloživosti kalcija, također su relevantni. Sve više istraživanja sugerira da neprobavljivi oligosaharidi, uključujući galakto-oligosaharide (GOS), koji su prisutni u mliječnim proizvodima i napicima, mogu poboljšati

apsorpciju kalcija i zdravlje kostiju. Studije pokazuju da GOS povećavaju apsorpciju kalcija putem fermentacije u debelom crijevu (54). Fermentacija može izravno povećati apsorpciju kalcija putem izmjene vodikovih iona ili neizravno kroz hipertrofiju crijevne sluznice koja povećava površinu za bolju difuziju minerala (54). Dnevna konzumacija GOS-a poboljšala je apsorpciju kalcija i može povećati akumulaciju koštane mase tijekom adolescencije utjecajem na mikrobiom u debelom crijevu (54).

Visok udio i zasićenih masnih kiselina u punomasnim mliječnim proizvodima, poput sireva, može dodatno povećati koncentracije CT-a. Iako se mliječni proizvodi znatno razlikuju po udjelu masnoće, mliječna masnoća općenito sadrži 60% zasićenih masnih kiselina (55). Istraživanja na štakorima sugeriraju da pretilost i visok unos masnoća mogu povećati koncentracije CT-a (56, 57). Prema istraživanju Deftosa i suradnika, štakori koji su postali pretili zbog prehrane s visokim udjelom masti pokazali su povećane koncentracije CT-a u krvi i štitnjači, u usporedbi s mršavim kontrolama. Povećanje tjelesne težine kod genetski pretilih štakora vjerojatno je rezultat kombinacije prekomjernog unosa hrane i učinkovitije apsorpcije kalcija, pri čemu unos kalcija može dodatno doprinijeti povećanju koncentracija CT-a. Iako točan signal kojim pretilost potiče lučenje CT-a nije poznat, moguće je da peptidi iz skupine kolekistokinin-gastrin igraju ulogu u tom procesu (56).

Konzumacija složenih ugljikohidrata, kao što su tjestenina i riža, može dovesti do povećanja razine inzulina u krvi, što također može potaknuti lučenje CT-a. Studija Care i suradnika pokazala je da je primjena glukoze intravenski kod svinja, s ciljem stimulacije izlučivanja endogenog inzulina, dovela do povećanja cirkulirajućeg inzulina, što je bilo popraćeno povećanjem lučenja CT-a. Rezultati pokazuju da inzulin, dostavljen izravno štitnjači svinje, može potaknuti oslobađanje CT-a. *In vitro* studije ukazuju na to da C-stanice mogu vezati inzulin i reagirati povećanim lučenjem CT-a, a eksperimenti s intravenskom glukozom sugeriraju da endogeni inzulin može stimulirati lučenje CT-a. Ova otkrića impliciraju da inzulin može djelovati kao sekretagog za CT (58).

Analiza povezanosti učestale konzumacije plodova mora, hobotnice, lignji i sušene ribe pokazala je negativnu povezanost s koncentracijama CT-a. S obzirom na to da je naša studija prva koja je analizirala povezanost između prehrane i koncentracija CT-a, nismo pronašli moguća obrazloženja u postojećoj literaturi koja bi potkrijepila ovaj rezultat. Istraživanja o konzumaciji morskih plodova i njihovim učincima na razine kalcija i drugih hormona pokazuju različite rezultate. Dok neka istraživanja pokazuju da određeni plodovi mora mogu sniziti razinu ukupnog kolesterola u serumu (59), druga pokazuju da plodovi mora mogu biti izvrstan

izvor kalcija i drugih minerala (60). Morski plodovi i riba su hrana bogata proteinima i natrijem, a prekomjerni unos proteina i hrane s visokim udjelom natrija mogu povećati izlučivanje kalcija urinom (61, 62), potencijalno smanjujući ukupne razine kalcija u tijelu, smanjujući i lučenje kalcitonina. Uloga proteina i ostalih minerala je složena i ovisi o kombinaciji s drugim prehrambenim čimbenicima i prisutnosti drugih nutrijenata u prehrani. Daljnja istraživanja su nužna kako bi se bolje razumjeli mehanizmi kroz koje konzumacija morskih plodova utječe na koncentracije CT-a.

Prednost ovog istraživanja je velik broj ispitanika. Glavno ograničenje je presječni dizajn studije koji ograničava uspostavljanje uzročno-posljedičnih veza. Također, upitnik o učestalosti konzumiranja hrane sadrži varijable koje su ispitanici sami prijavljivali te to doprinosi subjektivnosti upitnika. Postoje moguće nedostatnosti u kvalitativnoj procjeni unosa hrane, ali unatoč tome pruža relevantne prehrambene informacije. Buduća istraživanja trebala bi se usmjeriti na ispitivanje ovih povezanosti kroz veće uzorke korištenjem uzročnih metoda, čime bi se poboljšalo razumijevanje bioloških funkcija kalcitonina i mogućih utjecaja prehrane.

## **6. ZAKLJUČAK**

1. Muškarci su pokazali značajno više koncentracije CT-a u usporedbi sa ženama.
2. Prehrana koja uključuje učestalo konzumiranje plodova mora, hobotnice, lignje i sušene ribe je negativno povezana s koncentracijama CT-a.
3. Prehrana koja uključuje učestalo konzumiranje tjestenine, riže, svježih i punomasnih sireva može je pozitivno povezana s koncentracijama CT-a.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Gupta V, Lee M. Central hypothyroidism. *Indian J Endocrinol Metab.* 2011;15:99-106.
2. Shahid MA, Ashraf MA, Sharma S. Physiology, Thyroid Hormone [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [citirano 31.svibnja 2024.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763182/>
3. Stathatos N. Thyroid Physiology. *Med Clin North Am.* 2012;96:165-73.
4. Smith BR, Sanders J, Furmaniak J. TSH receptor antibodies. *Thyroid.* 2007;17:923-38.
5. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Anatomija čovjeka. 2. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2007. str 391-94.
6. Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. 13. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2017. str 951-63.
7. Melmed S, Koenig R, Rosen C, Auchus R, Goldfine A. Williams Textbook Of Endocrinology. 14. izdanje. S.L.: Elsevier; 2019. 333 str.
8. Fancy T, Gallagher D, Hornig JD. Surgical anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Otolaryngol Clin North Am.* 2010;43:221-7.
9. Birch R, Collins P, Gray H, Standring S. Gray's anatomy : The anatomical basis of clinical practice. 41. izdanje. Philadelphia: Elsevier Limited; 2016. 470 str.
10. Halbauer, M., Šarčević, B., Tomić Brzac, H. Citološko-patohistološki atlas bolesti štitne žlijezde i doštitnih žlijezda s ultrazvučnim slikama. 1. izdanje. Zagreb: Nakladni zavod Globus; 2000 str. 19-20.
11. Salvatore D, Davies TF, Schlumberger MJ, Hay ID, Larsen PR. Williams Textbook of Endocrinology. 13. izdanje. S.L.: Elsevier; 2016 str 333-68.
12. Rosen RD, Sapra A. Embryology, Thyroid [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. [citirano 9. lipnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551611/>
13. Srinivasan A, Wong FK, Karponis D. Calcitonin: A useful old friend. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2020;20:600-9.
14. Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. *Int J Exp Pathol.* 2001;81:405-22.
15. Emma Dal Maso, Glukhova A, Zhu Y, García-Nafría J, Tate CG, Atanasio S, et al. The Molecular control of calcitonin receptor signaling. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2019;2:31-51
16. Zhong Y, Armbrecht HJ, Christakos S. Calcitonin, a regulator of the 25-hydroxyvitamin D3 1 $\alpha$ -hydroxylase gene. *J Biol Chem.* 2009;284:11059-69.

17. Horne WC, Shyu J, Chakraborty M, Baron R. Signal transduction by calcitonin. *Trends Endocrinol Metab.* 1994;5:395-401
18. Davey RA, Findlay DM. Calcitonin: Physiology or fantasy?. *J Bone Miner Res.* 2013;28:973-9.
19. Melmed S, Koenig R, Rosen C, Auchus R, Goldfine A. Hormones and disorders of mineral metabolism *Williams Textbook Of Endocrinology.* 14. izdanje. S.L.: Elsevier; 2019. str 1196-255
20. Inzerillo AM, Zaidi M, Huang CLH . Calcitonin: Physiological actions and clinical applications. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2004;17.
21. Plosker GL, McTavish D. Intranasal calcitonin (salmon calcitonin). *Drugs Aging.* 1996;8:378-400.
22. Muñoz-Torres M, Alonso G, Mezquita Raya P. Calcitonin therapy in osteoporosis. *Treat Endocrinol.* 2004;3:117-32.
23. Bae YJ, Schaab M, Kratzsch J. Calcitonin as biomarker for the medullary thyroid carcinoma. *Recent Results Cancer Res* 2015;117-37.
24. Dincsoy MY, Tsang RC, Laskarzewski PM, Ho M, Chen I, Davis NC. Serum calcitonin response to administration of calcium in newborn infants during exchange blood transfusion. *J Pediatr.* 1982;100:782-6.
25. Hall JE, Guyton AC. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.* 12. izdanje. London: Elsevier Health Sciences; 2012. str 966.
26. Tieggs RD, Body JJ, Barta JM, Heath H 3rd. Secretion and metabolism of monomeric human calcitonin: effects of age, sex, and thyroid damage. *J Bone Miner Res.* 1986;1:339-49.
27. Deftos LJ, Weisman MH, Williams GW, Karpf D, Frumar AM, Davidson BJ i sur. Influence of age and sex on plasma calcitonin in human beings. *N Engl J Med.* 1980;302:1351-3.
28. Tebben PJ, Kumar R. *The hormonal regulation of calcium metabolism.* Elsevier. 2013;2249-72.
29. Raufe F, Deutchle I, Kuntzel C, Ziegler R. Reversible diminished calcitonin secretion in the rat during chronic hypercalcemia. *Endocrinology.* 1984;115:2362-7.
30. Raue F, Wieland U, Weiler C, Ziegler R. Enhanced calcitonin secretion in the rat after parathyroidectomy and during chronic calcium deprivation. *Eur J Clin Invest.* 1988;18:284-9.



31. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D. *Compr Physiol*. 2016;6:561-601.
32. Silver J, Levi R. Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2005;67:8-12.
33. Kravets I. Hyperthyroidism: Diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2016;93:363-70.
34. Loscalzo J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, J Larry Jameson. *Harrison's principles of internal medicine*. 21.izdanje. New York: McGraw Hill; 2022. str
35. Abraham P, Avenell A, Park CM, Watson WA, Bevan JS. A systematic review of drug therapy for Graves' hyperthyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2005;153:489-98.
36. Ma C, Xie J, Wang H, Li J, Chen S. Radioiodine therapy versus antithyroid medications for Graves' disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;2:CD010094.
37. Wilson SA, Stem LA, Bruehlman RD. Hypothyroidism: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2021;103:605-13.
38. Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. *Patologija*. 5. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. 671 str.
39. Davis MG, Phillippi JC. Hypothyroidism: diagnosis and evidence-based treatment. *J Midwifery Womens Health*. 2022;67.
40. Khandelwal D, Tandon N. Overt and subclinical hypothyroidism: who to treat and how. *Drugs*. 2012;72:17-33.
41. Chiovato L, Magri F, Carlé A. Hypothyroidism in context: Where we've been and where we're going. *Adv Ther*. 2019;36:47-58.
42. Niccoli P, Brunet P, Roubicek C, Roux F, Baudin E, Lejeune PJ i sur. Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Eur J Endocrinol* 1995;132:75-81.
43. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF i sur. Revised American thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2015;25:567-610.
44. Toledo SP, Lourenço DM Jr, Santos MA, Tavares MR, Toledo RA, Correia-Deur JE. Hypercalcitoninemia is not pathognomonic of medullary thyroid carcinoma. *Clinics*. 2009;64:699-706.
45. Borget I, Gérard de Pouvourville, M. Schlumberger. Calcitonin determination in patients with nodular thyroid disease. *J Clin Endocrinol*. 2007;92:425-7.

46. Moley JF. Medullary thyroid carcinoma: management of lymph node metastases. *J Natl Compr Canc Netw* 2010;8:549-56.
47. Pedrazzoni M, Ciotti G, Davoli L, Pioli G, Girasole G, Palummeri E i sur. Meal-stimulated gastrin release and calcitonin secretion. *J. Endocrinol. Investig.* 1989;12: 409-12.
48. Zayed A, Alzubaidi M, Atallah S, Momani M, Al-Delaimy W. Should food intake and circadian rhythm be considered when measuring serum calcitonin level? *Endocr. Pract.* 2013;19:620–26.
49. Babić Leko M, Pleić N, Gunjača I, Zemunik T. Environmental factors that affect parathyroid hormone and calcitonin levels. *IJMS.* 2021;23:44.
50. Song E, Jeon MJ, Yoo HJ, Bae SJ, Kim TY, Kim WB i sur. Gender-dependent reference range of serum calcitonin levels in healthy Korean adults. *Endocrinol. Metab.* 2021;36:365-73.
51. Heath H III, Sizemore GW. Plasma calcitonin in normal man: differences between men and women. *J Clin Invest.* 1977;60:1135-40.
52. Machens A, Hoffmann F, Sekulla C, Dralle H. Importance of gender-specific calcitonin thresholds in screening for occult sporadic medullary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2009;16:1291-8.
53. A Catharine Ross, To C, Al E. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, Dc: National Academies Press; 2011.
54. Whisner CM, Martin BR, Schoterman MH, Nakatsu CH, McCabe LD, McCabe GP i sur. Galacto-oligosaccharides increase calcium absorption and gut bifidobacteria in young girls: a double-blind cross-over trial. *Br J Nutr.* 2013;110:1292-303.
55. Feeney EL, Barron R, Dible V, Hamilton Z, Power Y, Tanner L i sur. Dairy matrix effects: response to consumption of dairy fat differs when eaten within the cheese matrix-a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2018;108:667-74.
56. Deftos LJ, Miller MM, Burton DW. A high-fat diet increases calcitonin secretion in the rat. *Bone Miner.* 1989;5:303-8.
57. Flynn JJ, Margules DL, Peng TC, Cooper CW. Serum calcitonin, calcium and thyroxine in young and old Zucker fatty rats (fa/fa). *Physiol Behav.* 1983;31:79-84.
58. Care A, Abbas S, Pell J, Seitz P, Cooper C. Stimulatory effect of insulin on calcitonin secretion. *Horm Metab Res.* 1998;30:200-5.
59. Tanaka K, Sakai T, Ikeda I, Imaizumi K, Sugano M. Effects of dietary shrimp, squid and octopus on serum and liver lipid levels in mice. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1998;62:1369-75.

60. Ibiroke SI, Adepeju AB, Otutu O, Oyedele DS, Esan YO. Nutritional evaluation and comparison study of seafoods such as fish and crayfish supplement dietary. *MOJ Food Process Technol.* 2018;6:73-6.
61. Kerstetter JE, Mitnick ME, Gundberg CM, Caseria DM, Ellison AF, Carpenter TO i sur. Changes in bone turnover in young women consuming different levels of dietary protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1052-5.
62. Calvez J, Poupin N, Chesneau C, Lassale C, Tomé D. Protein intake, calcium balance and health consequences. *Eur J Clin Nutr.* 2011;66:281-95.

## **8. SAŽETAK**

**CILJ:** Cilj ovog istraživanja bio je odrediti povezanost konzumiranja određenih skupina namirnica s koncentracijama kalcitonina (CT) u serumu zdravih pojedinaca.

**MATERIJALI I METODE:** Ova presječna studija obuhvatila je 2500 ispitanika s otoka Korčule. Koncentracije CT-a u serumu određena je radioimunoesej (RIA) metodom u Laboratoriju za biokemiju Kliničkog bolničkog centra Split koristeći komercijalne setove. Podaci su prikupljeni putem upitnika o učestalosti konzumiranja hrane (FFQ). Analiza glavnih komponenti (PCA) korištena je za smanjenje dimenzionalnosti prehrambenih podataka. Bartlettov  $\chi^2$  test sferičnosti i Kaiser-Meyer-Olkin indeks korišteni su za procjenu prikladnosti uzorka za faktorsku analizu. Povezanost prehrambenih skupina dobivenih PCA metodom s koncentracijama CT-a ispitana je linearnom regresijom, pri čemu su P-vrijednosti manje od 0,05 smatrane statistički značajnima.

**REZULTATI:** Faktorskom analizom identificirano je 19 prehrambenih faktora. Spol je pokazao značajnu povezanost s koncentracijom CT-a, pri čemu su muški ispitanici imali više koncentracije CT-a u serumu u usporedbi sa ženskim ispitanicama. Linearna regresijska analiza pokazala je negativnu povezanost učestale konzumacije lignje, hobotnice i sušene ribe s koncentracijom CT-a u serumu ( $\beta = -0,085$ , SE = 0,138, P = 0,026). Nasuprot tome, učestala konzumacija svježeg i punomasnog sira, tjestenine i riže pokazala je pozitivnu povezanost s koncentracijom CT-a ( $\beta = 0,085$ , SE = 0,139, P = 0,027).

**ZAKLJUČAK:** Prehrana bogata plodovima mora, poput hobotnice, lignje i sušene ribe je povezana s nižim koncentracijama CT-a, dok prehrana s većim unosom sireva, tjestenine i riže je povezana s višim koncentracijama CT-a.

## **9. SUMMARY**

**DIPLOMA THESIS TITLE:** The impact of environmental factors on serum calcitonin levels.

**OBJECTIVES:** The aim of this study was to determine the association of dietary factors with calcitonin (CT) levels in the serum of healthy individuals.

**MATERIALS AND METHODS:** This cross-sectional study included 2,500 participants from the island of Korčula. Serum CT concentrations were determined by the radioimmunoassay (RIA) method in the Biochemistry Laboratory of the University Hospital of Split using commercial kits. Data was collected using a food frequency questionnaire (FFQ). Principal component analysis (PCA) was used to reduce the dimensionality of the dietary data. Bartlett's  $\chi^2$  test of sphericity and the Kaiser-Meyer-Olkin index were used to assess the suitability of the sample for factor analysis. The association of food groups obtained by the PCA method with CT concentrations was tested by linear regression, whereby P-values less than 0.05 were considered statistically significant.

**RESULTS:** Factor analysis revealed 19 dietary factors. Positive associations were found between CT levels and sex, with males having higher serum CT levels than females. Linear regression analysis showed that frequent consumption of seafood, squid, octopus, and dried fish was negatively associated with serum CT levels ( $\beta = -0.085$ , SE = 0.138, P = 0.026). In contrast, frequent consumption of cheese, pasta, and rice was positively associated with serum CT levels ( $\beta = 0.085$ , SE = 0.139, P = 0.027).

**CONCLUSION:.** Frequent consumption of seafood, octopus, squid, and dried fish was associated with lower CT levels while frequent consumption of cheese, pasta and rice was associated with higher CT levels.