

# Primjena konceptualnih modela u razumijevanju određenih mehanizama pretilosti

---

**Vuković, Gabriela**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:397273>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-04**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, svibanj 2021.

Gabriela Vuković

1208/N

**PRIMJENA KONCEPTUALNIH  
MODELA U RAZUMIJEVANJU  
ODREĐENIH MEHANIZAMA  
PRETILOSTI**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić i prof. dr. Matthiasa Blühera iz Istraživačkog centra 1052 "Mehanizmi pretilosti", Sveučilišta u Leipzigu.

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Jasenki Gajdoš Kljusurić na svesrdnoj pomoći, strpljenju, razumijevanju i motivaciji tijekom cijelog procesa nastanka ovog rada. Hvala joj na svim savjetima, stručnom vodstvu i srdačnoj potpori. Također veliko hvala i prof. dr. Matthias Blüheru koji mi je pružio priliku i prihvatio me kao člana svojeg tima Istraživačkog centra 1052 "Mehanizmi pretilosti" u Leipzigu.*

*Zahvaljujem svim profesorima, predavačima i suradnicima Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu koji su me, predajući mi svoje veliko znanje i iskustvo, vodili putem kojeg sam odabrala kao svoj profesionalni poziv.*

*Posebno hvala svim mojim prijateljima koji su bili uz mene, uvijek spremni pomoći, i učinili mi doba studiranja lakšim, zabavnijim i nezaboravnim dijelom života.*

*Na kraju, najveće hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj potpori i ljubavi svih godina moga obrazovanja i bez kojih ne bih bila tu gdje jesam. Hvala što ste vjerovali u mene i tijekom teških trenutaka i poticali me na hrabrost i ustrajnost.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Laboratorij za mjerenja, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

### PRIMJENA KONCEPTUALNIH MODELA U RAZUMIJEVANJU ODREĐENIH MEHANIZAMA PRETILOSTI

*Gabriela Vuković, 1208/N*

**Sažetak:** *Pretilost je jedan od vodećih zdravstvenih problema u svijetu, a definira se kao stanje prekomjernog nakupljanja masnog tkiva u organizmu. Patofiziološki mehanizmi, promatranje čimbenika koji djeluju u pojedinim segmentima biokemijskih procesa povezanih sa pretilošću mogu se promatrati i kroz modele. Konceptualni i matematički modeli predstavljaju prikaz koji sažima i pojednostavljuje sustav, usredotočujući se na ključne značajke za objašnjavanje i predviđanje određenog sustava. U ovom radu analizirani su modeli i rezultati istraživanja koji su staničnim reprogramiranjem želučanog tkiva nastojali pronaći obnovljivi izvor funkcionalnih  $\beta$  - stanica za regulaciju glukoze u krvi kod dijabetičkih miševa, što bi u budućnosti mogao biti jedan od alternativnog oblika liječenja dijabetesa. Također je analizirana i lipidna hipoteza. Navedenim konceptualnim i matematičkim modelima prikazan je način kako bolje razumjeti problem s ciljem pravovaljanog djelovanja u prevenciji kroničnih bolesti, kao što je i pretilost.*

**Ključne riječi:** *konceptualni model, matematički model, modeliranje, pretilost, regulacija glukoze*

**Rad sadrži:** 45 stranica, 13 slika, 1 tablicu, 77 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *Prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić*

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Prof. dr. sc. *Irena Landeka Jurčević*
2. Prof. dr. sc. *Jasenka Gajdoš Kljusurić*
3. Doc. dr. sc. *Ana Jurinjak Tušek*
4. Izv. prof. dr. sc. *Irena Keser (zamjena)*

**Datum obrane:** 27. svibnja, 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Process engineering  
Laboratory for Measurement, Regulation and Automatisation

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

### APPLICATION OF CONCEPTUAL MODELS IN UNDERSTANDING OF CERTAIN OBESITY MECHANISMS

*Gabriela Vuković, 1208/N*

**Abstract:** *Obesity is one of the leading health problems in the world, and is defined as a condition of excessive accumulation of adipose tissue in the body. Pathophysiological mechanisms, observation of factors acting in certain segments of biochemical processes associated with obesity can also be observed through models. Conceptual and mathematical models represent a representation that summarizes and simplifies a system, focusing on key features to explain and predict a particular system. This paper analyzes models and research results that sought to find a renewable source of functional  $\beta$  - cells for blood glucose regulation in diabetic mice by cell reprogramming of gastric tissue, which could be one of the alternative forms of diabetes treatment in the future. The lipid hypothesis was also analyzed. These conceptual and mathematical models show a way to better understand the problem with the aim of valid action in the prevention of chronic diseases, such as obesity.*

**Keywords:** *conceptual model, mathematical model, modeling, obesity, glucose regulation*

**Thesis contains:** 45 pages, 13 figures, 1 table, 77 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *PhD. Jasenka Gajdoš Kljusurić, Full professor*

#### **Reviewers:**

1. PhD. *Irena Landeka Jurčević*, Full professor
2. PhD. *Jasenka Gajdoš Kljusurić*, Full professor
3. PhD. *Ana Jurinjak Tušek*, Assistant professor
4. PhD. *Irena Keser*, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** 27 May 2021

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
2.1. BIOKEMIJA I HRANA.....	3
2.1.1. Ugljikohidrati.....	4
2.1.2. Lipidi .....	5
2.1.3. Bjelančevine .....	6
2.2. PRETILOST I BIOKEMIJA.....	7
2.2.1. Pretilost.....	7
2.2.2. Biokemija pretilosti .....	10
2.2.3. Adipokini i njihovi učinci.....	11
2.2.3.1. Leptin.....	11
2.2.3.2. Tumorski faktor nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) i interleukin 6 (IL-6).....	11
2.2.3.3. Adiponektin .....	12
2.2.3.5. Rezistin .....	12
2.2.3.6. Proteini renin-angiotenzin sustava (RAS) .....	13
2.2.3.7. Adipsin i protein koji potiče acilaciju .....	13
2.2.4. Inzulinska rezistencija.....	13
2.2.5. Šećerna bolest.....	14
2.3. MODELI I MODELIRANJE.....	15
2.3.1. Modeli – općenito.....	16
2.3.1.1. Mentalni model.....	16
2.3.1.2. Materijalni model .....	17
2.3.1.3. Matematički model.....	17
2.3.1.4. Konceptualni model.....	18
2.3.1.5. Računalni model .....	19
2.3.2. Modeliranje – općenito.....	19
2.3.3. Modeli i modeliranje u nutricionizmu .....	20
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	22
3.1. MATERIJALI.....	22
3.2. METODE RADA.....	22
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	23
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	38
<b>6. LITERATURA</b> .....	39



# 1. UVOD

Pretilost se u današnjem svijetu smatra globalnom epidemijom koja za sobom povlači značajni morbiditet pa je stoga ta složena tema jedno od najvažnijih pitanja javnog zdravlja. Prema WHO pretilost se diljem svijeta gotovo utrostručila od 1975. godine. U Hrvatskoj više od polovice osoba starijih od 18 godina ima prekomjernu tjelesnu masu ili je pretilo. Pretilost se može opisati kao kroničan poremećaj ravnoteže energije u kojem dugoročni višak unosa energije dovodi do skladištenja viška u obliku masnog tkiva. Za sobom povlači i uzrokuje niz zdravstvenih posljedica kao što su dijabetes, hipertenzija, hiperlipidemija, osteoartritis, karcinom i druge.

Ljudski organizam koristi hranu za obavljanje više bitnih funkcija. Glavni nutrijenti ili makronutrijenti su ugljikohidrati, lipidi i bjelancevine koji određuju energetske vrijednosti hrane te imaju i druge brojne uloge u organizmu. Reakcije razgradnje hrane radi dobivanja energije nazivaju se kataboličkim reakcijama. Kataboličkim reakcijama makronutrijenata oslobađa se energija sadržana u kemijskim vezama koja se direktno prevodi u visoko - energetske molekule adenozin trifosfata. Iako se svaki od ovih kataboličkih puteva može promatrati zasebno, ljudski organizam je složen sustav koji sve navedeno provodi istovremeno.

Masno tkivo nalazi se na različitim dijelovima tijela i shvaćanje njegove uloge kao pasivnog skladišta energije više ne vrijedi. Poznato je da masno tkivo eksprimira i izlučuje razne bioaktivne peptide, adipokine, koji djeluju na lokalnoj i na sistemskoj razini. Kroz interaktivnu mrežu, masno tkivo je integrirano u koordinaciju različitih bioloških procesa (metabolizam energije, neuroendokrina funkcija, imunološka funkcija).

U traženju razumjevanja određenog sustava, čovjek je razvio modele kojima se promatrani sustav opisuje i promatra. Uloga modela prepoznata je sredinom dvadesetog stoljeća i od tada se koriste za opis fenomena, njihovo razumijevanje, komunikaciju onih koji rješavaju problem i samo rješenje problema. Zbog važnosti problema pretilosti, znanost se intenzivno bavi traženjem rješenja. U tu svrhu koriste se znanstveni modeli koji predstavljaju jednostavan prikaz određenog stvarnog sustava, usredotočujući se na ključne značajke za objašnjavanje i predviđanje promjena u promatranom sustavu. Matematičko modeliranje predstavlja oblikovanje sustava uz pomoć matematičkih pretpostavki, izraza i jednažbi. Često mogu pojasniti i pružiti nove uvide u metabolizam. U nutricionizmu se pomoću konceptualnih modela

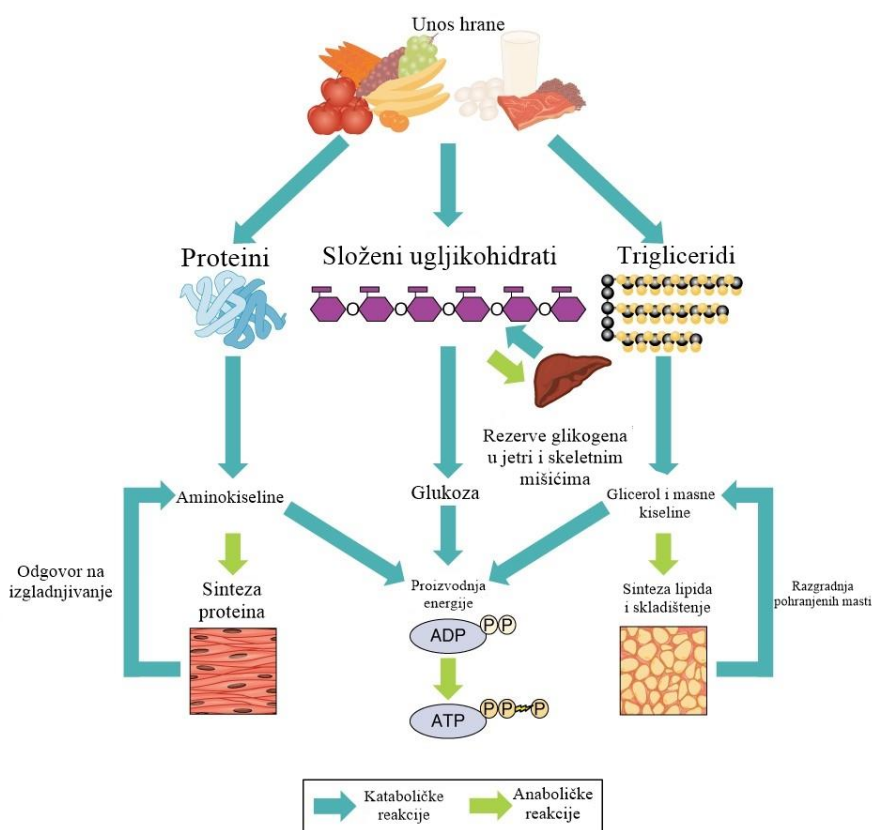
vizualizira određena problematika, radi njenog pojednostavljenja. Koriste se dijagrami struktura, oblici ili boje kojima se prenosi određena ideja.

U ovom će se radu provoditi analiza konceptualnih i matematičkih modela prema osnovnim načelima koncepta koji je u njima korišten. Modeli istraživanja Ariyachet i suradnika (2016) će se analizirati u smislu alternativnog pristupa liječenju dijabetesa gdje se staničnim reprogramiranjem želučanog tkiva istražuje opcija obnovljivog izvora funkcionalnih  $\beta$  - stanica za regulaciju glukoze u krvi. Također, definirat će se ključne točke matematičkog modela kojim Ancel Keys povezuje koncentraciju kolesterola u serumu i potencijalan rizik od kardiovaskularnih bolesti.

# 1. TEORIJSKI DIO

## 2.1. BIOKEMIJA I HRANA

Kataboličkim reakcijama se velike organske molekule razgrađuju na manje molekule, oslobađajući energiju sadržanu u kemijskim vezama koja se direktno prevodi u visoko-energetsku molekulu adenozin trifosfata (ATP). ATP, energetska valuta stanica, može se odmah upotrijebiti za pokretanje molekularnih mehanizama ili se može pohraniti za buduće potrebe organizma za energijom. Energija iz ATP-a pokreće sve tjelesne funkcije, poput kontrakcije mišića, održavanja električnog potencijala živčanih stanica i apsorpcije hrane u gastrointestinalnom traktu (OpenStax College, 2013). Iako se svaki od ovih kataboličkih puteva može promatrati zasebno, ljudski organizam je složen sustav koji sve navedeno, i više od toga, provodi istovremeno (slika 1).



Slika 1. Izvori ATP-a (OpenStax College, 2013)

Ljudski organizam koristi hranu za obavljanje jedne ili više od četiri bitne funkcije: (i) opskrbu energijom, (ii) izgradnju, popravak i održavanje tjelesnih tkiva, (iii) opskrbu tvarima koje reguliraju tjelesne procese i (iv) opskrbu tvarima koje štite organizam. Glavni (primarni ili osnovni) nutrijenti su ugljikohidrati, lipidi i bjelančevine, koji određuju nutritivnu vrijednost hrane jer osiguravaju strukturni materijal i energiju. Nazivaju se i makronutrijentima te mogu imati i druge funkcije (Velíšek, 2014).

### 2.1.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su organske molekule građene od atoma ugljika, vodika i kisika. Izvorno je pojam ugljikohidrati primijenjen na monosaharide čiji se empirijski sastav može izraziti kao  $C_n(H_2O)_n$ , a danas se koristi u širem smislu te uključuje i derivate ovih spojeva (Velíšek, 2014). Ugljikohidrati čine većinu organske mase na Zemlji zbog različitih uloga: (i) služe kao zalihe energije i metabolički međuprodukti, (ii) šećeri riboza i deoksiriboza čine dio strukturnog okvira RNA i DNA, (iii) polisaharidi su strukturni elementi u staničnim stijenkama bakterija i biljaka, (iv) povezani su s mnogim proteinima i lipidima, gdje imaju važnu ulogu u posredovanju kod interakcija između stanica i stanica i drugih elemenata u staničnom okruženju (Berg i sur., 2002). Najvažniji su izvor energije od svih prehrambenih tvari koje svakodnevno unosimo u organizam. Jedan gram ugljikohidrata izgaranjem oslobađa približno 4 kilokalorije energije (Caballero i sur., 2005).

Ugljikohidrati se dijele u četiri glavne skupine: monosaharide, disaharide, oligosaharide i polisaharide (Murray i sur., 2003). Otprilike polovica prehrambenih ugljikohidrata nalazi se u obliku polisaharida (škrob i dekstrin) iz žitarica i povrća, a preostala polovica nalazi se u obliku jednostavnih šećera (saharoza, laktoza, maltoza, glukoza i fruktoza) (Gropper i Smith, 2018). Ključni spoj metabolizma ugljikohidrata je glukoza koja je glavno metaboličko gorivo sisavaca i fetusa, preteča za sintezu ostalih ugljikohidrata u tijelu te je neophodna za pravilno funkcioniranje mozga, srži bubrega i eritrocita. Većina prehrambenih ugljikohidrata apsorbira se u krvotok kao glukoza, a ostali se šećeri pretvaraju u glukozu u jetri (Murray i sur., 2003). Probava ugljikohidrata započinje u ustima djelovanjem  $\alpha$  – amilaze iz sline, a kao rezultat glikolize, ciklusa limunske kiseline i oksidativne fosforilacije po molekuli glukoze dobiva se neto prinos od 30 ATP-a (Benjamin, 2012).

Koncentraciju glukoze u krvi kontroliraju tri hormona: inzulin, glukagon i epinefrin (adrenalin). Ako je koncentracija glukoze u krvi previsoka, gušterača luči inzulin i potiče prijenos glukoze u jetru, mišiće i druge organe koji su sposobni metabolizirati glukozu glikolizom. Višak glukoze skladišti se u jetri i mišićima kao polisaharidni glikogen. U trenutku kad je razina glukoze u krvi niska, izlučuju se epinefrin i glukagon kako bi potaknuli transformaciju glikogena u glukozu (Velíšek, 2014).

Mjera za kvantifikaciju odgovora glukoze u krvi nakon konzumacije ugljikohidrata naziva se glikemijski indeks (GI). Glikemijsko opterećenje (GO) uzima u obzir GI i količinu konzumiranih ugljikohidrata. Konzumacija hrane nižeg GI ili GO povezana je s manjom vjerojatnošću prekomjerne tjelesne težine ili pretilosti i dužim osjećajem sitosti te može biti korisna u ograničavanju unosa kalorija (Pan i Hu, 2011).

### 2.1.2. Lipidi

Pojam lipida podrazumijeva raznolik spektar spojeva te je teško dogovoriti univerzalnu definiciju; zajedničko svojstvo im je da su (i) relativno netopljivi u vodi i (ii) topljivi u nepolarnim otapalima (npr. eter i kloroform) (Murray i sur., 2003). Osnovne jedinice lipida su masne kiseline, jednostavni lanci ugljikovodika različite duljine s grupom karboksilne kiseline na jednom kraju koje se empirijski mogu prikazati  $\text{CH}_3 - [\text{CH}_2]_n - \text{COOH}$  (Benjamin, 2012). Lipidi su organski spojevi, važan izvor energije za tijelo, a također pružaju hidrofobnu barijeru koja omogućava razdvajanje vodenog sadržaja stanica i subcelularnih struktura. Neki vitamini topljivi u mastima imaju regulatorne ili koenzimske funkcije, a prostaglandini i steroidni hormoni igraju glavnu ulogu u kontroli tjelesne homeostaze (Harvey i Ferrier, 2011).

U hrani, lipidi sadrže sljedeće skupine masnih kiselina: zasićene, nezasićene s jednom dvostrukom vezom, nezasićene s nekoliko dvostrukih veza, masne kiseline s trostrukom vezom i s raznim supstituentima. Ljudski je organizam sposoban sintetizirati neke zasićene i nezasićene masne kiseline, međutim, nezasićena linolna kiselina (18: 2 n-6) i  $\alpha$ -linolenska kiselina (18: 3 n-3) se ne mogu sintetizirati u tijelu te se mora unijeti hranom (Velišek, 2014). 95 % lipida u hrani postoje kao trigliceridi (glicerolna okosnica koja na svoje hidroksilne skupine ima vezane tri masne kiseline esterskim vezama). Primaran su oblik skladištenja energije kod životinja, sjemenki i određenog voća i važan su izvor energije u ljudskoj prehrani (9 kcal g<sup>-1</sup>). Kad su razine glukoze niske, trigliceridi iz adipoznog tkiva mogu se koristiti za dobivanje energije. Zaslužni su za okus hrane i sitost kao i pomoć u apsorpciji vitamina topljivih u mastima (tj. A, D, E i K) (Gropper i Smith, 2018). Duljina lanca, broj dvostrukih veza i položaj masnih kiselina te reakcije poput oksidacije ili lipolize utječu na različita fizička i funkcionalna svojstva triglicerida (Berg i sur., 2002).

Osim triglicerida, važna skupina lipida su fosfolipidi koji se sastoje od masnih kiselina (koje pružaju hidrofobnu barijeru), okosnice na koju su masne kiseline vezane (najčešće glicerol), fosfata i alkohola vezanog na fosfat. U vodenom okruženju, fosfolipidi spontano tvore fosfolipidni dvosloj u sferičnim oblicama zvanim liposomi ili lipidni mjehurići. Liposomi su u istraživanjima korišteni za proučavanje svojstava membrane i propusnosti tvari (Benjamin, 2012).

Za probavu i apsorpciju masti složene molekule masti moraju se enzimski razgraditi na manje molekule kojima organizam može lakše upravljati (Velišek, 2014). Metabolizam lipida započinje u crijevima, gdje se uneseni trigliceridi pomoću lipaze gušterače i žučnih soli razgrađuju u monogliceride, digliceride, slobodne masne kiseline i glicerol. Metabolizam zatim uključuje transport kroz crijevnu membranu, ponovnu rekombinaciju u trigliceride, pakiranje

zajedno s molekulama kolesterola u hilomikrone, aktivaciju masnih kiselina te  $\beta$  - oksidaciju masnih kiselina u matriksu mitohondrija. Acetil-CoA iz  $\beta$  - oksidacije se oksidira u CO<sub>2</sub> u ciklusu limunske kiseline. Veliki dio prinosa energije iz oksidacije masnih kiselina dobiva se kao ATP oksidativnom fosforilacijom (Nelson i Cox, 2004).

Pretilost je povezana s poremećajem regulacije metabolizma lipida, što može rezultirati abnormalnim razinama lipida u krvi, ektopičnim taloženjem lipida i povezanim metaboličkim bolestima poput nealkoholnom bolesti jetre i ateroskleroze (Schoeler i Caesar, 2019).

### 2.1.3. Bjelančevine

Bjelančevine ili proteini su organski spojevi, polimeri aminokiselina povezani peptidnim vezama. Postoji dvadeset aminokiselina te njihove moguće kombinacije rezultiraju velikim brojem varijanti sekvenci i trodimenzionalnih strukturnih bjelančevina. Aminokiseline su građene od atoma ugljika (C $\alpha$ ) na koju su kovalentno vezane amino skupina (-NH<sub>2</sub>) i karboksilna skupina (-COOH), atom vodika i jedna od dvadeset aminokiselina (R) (Benjamin, 2012). Ljudi mogu sintetizirati 12 od 20 aminokiselina (tzv. neesencijalne aminokiseline) te je hrana važan izvor aminokiselina koje ljudski organizam ne može sintetizirati (esencijalne aminokiseline) (Murray i sur., 2003).

Bjelančevine su u organizmu potrebne za sintezu brojnih molekula (hormona i gena), a služe i za transport kisika, metala i lijekova. Imaju važnu ulogu u kontrakciji mišića. Sudjeluju i u obrambenim sposobnostima organizma, održavanju ravnotežu tekućina i zaustavljanju krvarenja (Caballero i sur., 2005).

Prehrambene bjelančevine osiguravaju odgovarajuće količine aminokiselina kako bi tijelo moglo sintetizirati vlastite bjelančevine i druge spojeve koji sadrže dušik i služe kao izvor energije (17 kJ g<sup>-1</sup> /4 kcal g<sup>-1</sup>). Višak bjelančevina u tijelu se neće pohraniti već će se on pretvoriti u glukozu ili trigliceride i koristiti za opskrbu energijom ili za izgradnju rezerva energije. Prehrambeni izvori bjelančevina uključuju hranu životinjskog podrijetla koja osigurava sve esencijalne aminokiseline (meso, perad, ribe, jaja, mliječni proizvodi) i hranu biljnog podrijetla kod koje nedostaje jedna ili više esencijalnih aminokiselina (žitarice, mahunarke, orašasti plodovi, sjemenke, povrće). Ako su u prehrani prisutne samo biljne bjelančevine (npr. vegetarijanska) važno je voditi računa o konceptu komplementarnih bjelančevina odnosno kombiniranju biljnih bjelančevina tako da zajedno osiguraju sve esencijalne aminokiseline (Benjamin, 2012).

Razgradnja bjelančevina počinje u želucu djelovanjem klorovodične kiseline (HCl) koja omogućava denaturaciju bjelančevina. Zatim slijedi djelovanje proteaza (endo- ili

egzopeptidaze), aktivacija zimogena u aktivne enzime, a krajnji produkti probave želučanih bjelančevina uključuju polipeptide, oligopeptide i slobodne aminokiseline. Nakon pražnjenja u dvanaesnik, gušterača natrijevim bikarbonatom neutralizira kiseli himus, a lučenjem tripsina i kimotripsina, koji se aktiviraju samo u tankom crijevu, nastavlja se probava polipeptida na manje peptide. Oni se zatim razgrađuju do aminokiselina smjesom aminopeptidaza i dipeptidaza (erepsin). Slobodne aminokiseline apsorbiraju se kroz sluznicu crijeva u limfni sustav, i zatim u krvotok. Jetra je glavno mjesto za sintezu tkivnih bjelančevina i za pretvorbu suvišnih aminokiselina u mnoge druge produkte. Nakon deaminacije, ugljikov kostur ulazi u ciklus limunske kiseline i koristi se za proizvodnju glukoze i masnih kiselina te za proizvodnju energije oksidacijom acetata u ugljikov dioksid i vodu. Dobiveni amonijak pretvara se u ureu i izlučuje putem bubrega (Gropper i Smith, 2018; OpenStax College, 2013).

Preporučeni dnevni unos za bjelančevine iznosi  $0,8 \text{ g kg}^{-1}$  tjelesne mase za žene i muškarce. Povećane potrebe zahtijevaju novorođenčad, djeca, trudnice i sportaši te oboljeli od različitih bolesti i komplikacija (povišena tjelesna temperatura, prijelomi, opekline, kirurška trauma). Dugotrajan nedovoljan unos rezultira nizom deficitarnih malnutricijskih stanja (proteinsko - kalorijska malnutricija), a prevelik unos izvlači kalcij urinom, može uzrokovati karcinom (kolona i dojke), aterosklerozu i osteoporozu (Gropper i Smith, 2018).

## 2.2. PRETILOST I BIOKEMIJA

### 2.2.1. Pretilost

Pretilost se u današnjem modernom svijetu smatra globalnom epidemijom koja pogađa i odrasle i djecu, a za sobom povodi značajan morbiditet i smrtnost te je najvažnije pitanje javnog zdravlja (Crowley, 2008). Iako se smatra da je pretilost drugi uzrok smrti nakon pušenja kojeg je moguće spriječiti, nedavno istraživanje pokazuje da troškovi liječenja pretilosti prelaze troškove liječenja posljedica pušenja (Sikaris, 2004). U SAD-u se za više od 60 % odraslih smatra da su prekomjerne tjelesne mase, a preko 30 % je klinički pretilo. Stope prevalencije u mnogim europskim zemljama, uključujući Veliku Britaniju i Irsku, brzo se približavaju razinama u SAD-a (Crowley, 2008). Ozbiljna posljedica epidemije pretilosti je alarmantni porast učestalosti pretilosti među djecom širom svijeta te je ona potencijalni teret za već preopterećeni zdravstveni sustav (Weiss i Caprio, 2005). Pretilost diljem svijeta gotovo se utrostručila ako promatramo razdoblje od 1975. do danas. Više od 1,9 milijardi odraslih osoba starijih od 18 godina je prekomjerne tjelesne mase (39 %). Od toga je više od 650 milijuna odraslih osoba pretilo (13 %). Razlike među spolovima kod prekomjerne tjelesne mase skoro da nema (39 % muškarci, 40 % žene), dok je više pretilih žena nego muškaraca (15 % žena, 11

% muškaraca). Dok je nešto manje od 1 % djece i adolescenata u dobi od 5 do 19 godina bilo pretilo 1975., više od 124 milijuna djece i adolescenata (6 % djevojčica i 8 % dječaka) bilo je pretilo 2016 (WHO, 2020). U Hrvatskoj, kao i u Europi, više od polovice osoba starijih od 18 godina ima prekomjernu tjelesnu masu i pretilost (57,4 %) od čega pretilost ima 18,7 % stanovnika. Muškarci su značajnije pretili od žena (20,8 % muškarci, 16,8 % žene) (HZJZ, 2019).

Povećan unos visokokalorične hrane, bogate mastima i šećerima uz smanjenu tjelesnu aktivnost rezultira stvaranjem suviška energije koja se pohranjuje u obliku masti (Maslarda i sur., 2020). Akumulacija masti u osnovi je jedini način na koji tjelesna težina može postati prekomjerna jer ostalo skladištenje energije, u obliku glikogena ili proteina u jetri i mišićima, nema potencijal da premaši granice potreba (Sikaris, 2004). Sposobnost skladištenja suviška energije ima očiglednu prednost u kratkoročnom preživljavanju u uvjetima nepouzdanosti hrane, međutim, dugoročno je nepovoljna za preživljavanje (Prins, 2002).

Ako gledamo prvi zakon termodinamike koji kaže da je količina uskladištene energije jednaka razlici između unosa energije i rada, pretilosti možemo smatrati kroničnim poremećajem ravnoteže energije u kojem dugoročni višak unosa energije nad „troškovima“ dovodi do skladištenja tog viška energije kao masnog tkiva. Vrlo male neravnoteže tijekom dugog razdoblja mogu imati velik kumulativni učinak (Rosenbaum i sur., 1997).

Iako je pretilost najčešće uzrokovana prekomjernim energetske unosom u odnosu na energetske potrošnje, etiologija pretilosti je vrlo složena i uključuje genetske, fiziološke, ekološke, psihološke, socijalne i ekonomske faktore (Wright i Aronne, 2012). Također je povezana s mikroorganizmima, epigenetikom, starošću majke, većom plodnosti, nedostatkom sna, endokrinim poremećajima, farmaceutskom iatrogenozom i intrauterinskim i međugeneracijskim učincima (Apovian, 2016).

Indeks tjelesne mase (ITM) je najčešće korišten alat za mjerenje pretilosti, priznat od strane Nacionalnog instituta za zdravlje i Svjetske zdravstvene organizacije. Temelji se na opažanju da je tjelesna težina proporcionalna s kvadratom visine. U odraslih, klasifikacijski sustavi definiraju zdravu tjelesnu masu kao ITM između 18,5 i 24,9 kg m<sup>-2</sup>, prekomjernu tjelesnu masu između 25,0 i 29,9 kg m<sup>-2</sup> te pretilost  $\geq 30$  kg m<sup>-2</sup> (Bray i sur., 2018). Međutim, postoje određena ograničenja s univerzalnom primjenom ITM-a zbog razlika koje su primijećene u odnosu između morbiditeta i ITM-a kod različitih etničkih populacija. Također, ITM ne opisuje specifično distribuciju masnog tkiva (Crowley, 2008).

Opseg struka mjera je koja je u pozitivnoj korelaciji s količinom masnog tkiva u abdominalnoj šupljini te kao takva ukazuje na rizik prekomjernog nakupljanja visceralnog masnog tkiva.



Omjer opsega struka i bokova je mjera koja pokazuje kakva je distribucija masti. Vrijednosti omjera veća od 0,8 za žene i veće od 0,9 za muškarce predstavlja povećani rizik za zdravlje (Maslarda i sur., 2020).

Ostale metode za mjerenje pretilosti uključuju antropometrijske metode (mjerenje debljine kožnog nabora), bioelektričnu impendancu, snimanje magnetskom rezonancom (MRI), denzitometriju masnog tkiva (DEXA) te mjerenja i praćenja izotopa (Jebb i Wells, 2005).

Pretilost je obično klinički očita, ali rani stadiji kliničkog oštećenja najčešće su skriveni. Klinički problemi kreću se od mehaničkih, poput osteoartritisa i apneje za vrijeme spavanja, do metaboličkih perturbacija koje rezultiraju dijabetesom tipa 2, hiperlipidemije, hipertenzije i sveukupnim povećanim kardiovaskularnim rizikom (Chan i sur., 1994). Uz to, sve se više potvrđuje da je povezana s većim rizikom za razvoj određenih karcinoma, npr. endometrija, debelog crijeva i prostate (McMillan i sur., 2006). Nadalje, jedna od posljedica pretilosti je stigma zajednice u kojoj javno neodobravanje može utjecati na obrazovanje, zaposlenje, primanja, bračni status i zdravstvenu zaštitu. To su značajni štetni učinci na kvalitetu života i povezani su s većom učestalošću depresije (Sikaris, 2004).

Tablica 1. Zdravstvene posljedice pretilosti (Crowley, 2008)

Metaboličke/kardiovaskularne posljedice	Ostalo
Dijabetes tip 2	Rak, karcinom
Inzulinska rezistencija	Bolest žučnog mjehura
Dislipidemija	Refluksni ezofagitis
Hipertenzija	Osteoarthritis
Kardiovaskularne bolesti	Križobolja
Kongestivno zatajenje srca	Apneja u snu
Hiperuricemija/giht	Nealkoholni steatohepatitis
Sindrom policističnih jajnika	Psihološke bolesti
Smanjena plodnost	

Jedan od problema u suočavanju s pretilošću je sveukupni nedostatak pozornosti koja mu se pridaje. Čak i unutar medicinske zajednice, mnogi ne prepoznaju pretilost kao nešto više od posljedice nedostatka samokontrole (Ikramuddin, 2007). Pri planiranju programa liječenja pretilosti važno imati na umu da je pretilost kronični problem koji će kroz cijeli život zahtijevati posvećenost i pažnju jer je potrebno održavati ostvareni gubitak težine. Također, svi ciljevi

liječenja trebaju biti realni i usuglašeni s pacijentom (različiti pacijenti zahtijevaju različite pristupe). U smislu ishoda, 10 % -tno smanjenje početne tjelesne mase vjerojatno će imati koristi u pacijenta u pogledu metaboličkog morbiditeta (Crowley, 2008). Čak 90 do 95 % osoba koji izgube određeni broj kilograma, naknadno je povrate te je zato potrebno osmisliti i provoditi održivi program liječenja (Rosenbaum i sur., 1997).

Temelj svih programa liječenja pretilosti je modifikacija životnog stila s naglaskom na pravilnu prehranu i tjelesnu aktivnost. Farmakoterapijska intervencija obično se razmatra ako se postigne smanjenje težine od 5 % unutar minimalno tri mjeseca promjene životnog stila (Crowley, 2008). Kirurško liječenje pretilosti obično se provodi kod morbidne pretilosti ( $ITM > 40 \text{ kg m}^{-2}$ ) i može biti vrlo učinkovito kod smanjenja smrtnosti povezane s morbidnom pretilošću (NICE, 2006). Zaključno, liječenje pretilosti je dugotrajan postupan proces koji zahtjeva volju, motivaciju podršku obitelji i okoline te nakon postizanja optimalne tjelesne mase, potrebno je doživotno pridržavanje pravilne prehrane. Edukacija igra veliku ulogu u liječenju pretilosti uz redovitu fizičku aktivnost, a liječenju može pomoći i farmakoterapija, akupunktura, psihološke podrške, u nekim slučajevima i kirurško liječenje (Maslarda i sur., 2020).

### 2.2.2 Biokemija pretilosti

Kada unos energije nadmaši energetske potrebe, odnosno kad unos i stvaranje masti u tijelu budu veće od količine masti koje se oksidiraju u tkivima, dolazi do pretilosti. Kad ima na raspolaganju masti i ugljikohidrate, tijelo za izvor energije bira ugljikohidrate koji se oksidiraju, dok se masti, čije tjelesne rezerve nisu ograničene, čuvaju i talože. Masno se tkivo nalazi u nakupinama na raznim mjestima na tijelu, potkožno (supkutano), ali su i unutarnji parenhimatozni organi (jetra, gušterača, slezena, bubrezi, prostata, nadbubrežne žlijezde...) također prožeti mašću (visceralno masno tkivo) (Žmire, 2004). Visceralno masno tkivo povezano je s povećanim rizikom za višestruke bolesti (metabolički sindrom) što može biti posljedica razlika u endokrinoj funkciji između „sadržaja skladišta“ masnog tkiva. Endokrini hormoni dobiveni iz visceralnog masnog tkiva izlučuju se u portalni sustav i imaju direktan pristup jetri, dok se oni dobiveni iz supkutanog masnog tkiva izlučuju u sistemsku cirkulaciju (Kershaw i Flier, 2004).

Tradicionalno mišljenje o masnom tkivu kao pasivnom skladištu energije više ne vrijedi. Već 1987. godine masno tkivo identificirano je kao glavno mjesto za metabolizam spolnih steroida i proizvodnju adipsina. Naknadna identifikacija i karakterizacija leptina 1994. godine čvrsto je utvrdila masno tkivo kao endokrini organ. Sad je poznato da masno tkivo eksprimira i izlučuje razne bioaktivne peptide, poznate i kao adipokini (hormoni koji potiču iz masnog tkiva i upalne

citokine), koji djeluju na lokalnoj (autokrinoj / parakrinoj) i na sistemske (endokrinoj) razini. Uz ove aferentne signale, masno tkivo eksprimira brojne receptore koji mu omogućavaju da reagira na aferentne signale iz tradicionalnih hormonskih sustava kao i iz središnjeg živčanog sustava (SŽC). Kroz ovu interaktivnu mrežu, masno tkivo je integrirano u koordinaciju različitih bioloških procesa, uključujući metabolizam energije, neuroendokrinu funkciju i imunološku funkciju (Kershaw i Flier, 2004). Nedavna istraživanja sugeriraju da adipokini igraju bitnu ulogu u ukupnoj osjetljivosti na inzulin i disfunkcija masnog tkiva može dovesti do sistemske rezistencije na inzulin (Sikaris, 2004). Na endokrinu funkciju masnog tkiva utječe i ukupna masna masa i njezina distribucija (Prins, 2002).

### 2.2.3. Adipokini i njihovi učinci

Iako su stanice adipoznog tkiva razbacane po cijelome tijelu ono u cijelosti djeluje skladno kao jedan organ. No nemaju svi dijelovi jednaku sposobnost lučenja adipokina te se malo zna o molekularnim mehanizmima sinteze i lučenja adipokina. Adipokini imaju važnu ulogu u unosu i trošenju energije, djelovanju inzulina, mijeni masti i šećera u tijelu, angiogenezi i preoblikovanju krvnih žila te regulaciji krvnog tlaka i koagulaciji (Žmire, 2004).

#### 2.2.3.1 *Leptin*

Otkriće leptina je bila prva veza adipocita sa SŽC kao putem za regulaciju težine (Ikramuddin, 2007). Adipociti izlučuju leptin proporcionalno omjeru mase masnog tkiva i prehrambenom statusu, a ta je sekrecija veća u supkutanom masnom tkivu nego visceralnom (Kershaw i Flier, 2004). Leptin utječe na hipotalamus, gdje suzbija učinak neuropeptida Y i apetit (Sikaris, 2004). Nekoliko drugih važnih endokrinih učinaka leptina su regulacija imunološke funkcije, hematopoeze, angiogeneze i razvoja kostiju (Lord i sur., 1998). Znamo da su kod pretilosti visoke razine leptina, a vjerojatna je i rezistencija na leptin (Sikaris, 2004). Također, inzulinska rezistencija i hiperinzulinemija su usko povezane s rezistencijom na leptin i pretilošću (Lustig, 2008).

#### 2.2.3.2 *Tumorski faktor nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) i interleukin 6 (IL-6)*

Adipociti doprinose povećanom proupalnom stanju kod pretilosti. Primjer upalnih citokina su tumorski faktor nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) i interleukin 6 (IL-6) (Ibrahim, 2010). TNF- $\alpha$  lokalno povišuje razinu inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) i ekspresiju gena C3 te snižava razinu adiponektina. Izravno ometa i fosforilaciju inzulinskog receptora (Žmire, 2004). S

obzirom na jasnu vezu između pretilosti, inzulinske rezistencije i dijabetesa, smatra se da TNF- $\alpha$  može igrati ulogu u sistemske inzulinske rezistenciji dijabetesa tip 2 (Sikaris, 2004).

IL-6 je također povezan s pretilošću i inzulinskom rezistencijom (Fernández-Real i Ricart, 2003). Ekspresija i izlučivanje IL-6 su 2 do 3 puta veće u visceralnom nego supkutanom masnom tkivu (Kershaw i Flier, 2004). Ekspresija IL-6 masnog tkiva i cirkulirajuća koncentracija IL-6 pozitivno su povezane s pretilošću, oslabljenom tolerancijom na glukozu i inzulinskom rezistencijom (Fernández-Real i Ricart, 2003).

#### *2.2.3.3. Adiponektin*

Adiponektin je glavni hormon masnog tkiva s pozitivnim učincima na metabolizam (Žmire, 2004). Ekspresija adiponektina veća je u supkutanom nego visceralnom masnom tkivu (Kershaw i Flier, 2004). Kateholamini, glukokortikoidi, TNF- $\alpha$ , IL-6, porast veličine adipocita te pad osjetljivosti adipocita na inzulin koče njegovo lučenje (Žmire, 2004). Utvrđena je snažna i konzistentna obrnuta povezanost između adiponektina i inzulinske rezistencije te pokazuje snažne protuupalne i anti - aterosklerotske učinke (Lustig, 2008; Kershaw i Flier, 2004).

#### *2.2.3.4. Inhibitor aktivatora plazminogena 1 (PAI-1)*

PAI-1 je glavni fiziološki inhibitor fibrinolize. Doprinosi formaciji tromba i razvoju i kliničkom toku akutnih i kroničnih kardiovaskularnih bolesti (Sikaris, 2004). Smatra se da PAI-1 može biti biokemijska veza između visceralne pretilosti i kardiovaskularnih bolesti. Proizvodi se u većoj mjeri u visceralnom masnom tkivu, a razine u plazmi koreliraju s visceralnom masnoćom (Prins, 2002). Dok adiponektin ima antiaterogena svojstva, on je obrnuto povezan s PAI-1 koji je usko uključen u razvoj ateroskleroze (Sikaris, 2004). TNF- $\alpha$  doprinosi povišenom nivou PAI-1 uočenom kod pretilosti i inzulinske rezistencije (Kershaw i Flier, 2004).

#### *2.2.3.5. Rezistin*

Rezistin je produkt adipoznog tkiva čije inicijalno izvješće pokazuje da potiče inzulinsku rezistenciju i da su razine povećane kod pretilih glodavaca te smanjene antidijabetičkim tiazolidindionskim lijekovima (Prins, 2002). Nažalost, preciznu ulogu rezistina kod ljudi je teško odrediti i teško se proučava na životinjskim modelima zbog razlika u broju identificiranih otpornih izoformi i staničnih izvora rezistina (Ikramuddin, 2007).

#### 2.2.3.6. Proteini renin-angiotenzin sustava (RAS)

Proteini renin-angiotenzin sustava (RAS) iz adipoznog tkiva su renin, angiotenzinogen (AGT), angiotenzin I, angiotenzin II, angiotenzin receptor tip I (AT1) i tip 2 (AT2), angiotenzin-konvertirajući enzim (ACE) i druge proteaze sposobne za proizvodnju angiotenzina II. Ekspresija AGT, ACE i AT1 receptora veća je u visceralnom u usporedbi sa supkutanim masnim tkivom. Angiotenzin II utječe na povećanje vaskularnog tonusa, izlučivanje aldosterona iz nadbubrežne žlijezde i reapsorpciju natrija i vode iz bubrega, što sve doprinosi regulaciji krvnog tlaka i potencijalna je veza između pretilosti i hipertenzije. Osim učinaka na krvni tlak, proteini RAS-a utječu na razvoj masnog tkiva (izravno promicanjem lipogeneze i neizravno poticanjem sinteze prostaglandina) (Kershaw i Flier, 2004).

#### 2.2.3.7. Adipsin i protein koji potiče acilaciju

Adipsin jedan je od nekoliko komplementarnih komponenta masnog tkiva potrebnih za enzimsku proizvodnju proteina koji potiče acilaciju (engl. *acylation-stimulating protein*, ASP) uz C3 - komplement i faktor B (Kershaw i Flier, 2004). Lučenje ASP-a potiču inzulin, hilomikroni i VLDL - kolesterol. Dovodi do porasta unosa glukoze, diacilglicerol aciltransferaze i reesterifikacije masnih kiselina, inhibicije hormon-senzitivne lipaze. Rezultat je pojačano stvaranje i taloženje triglicerida u masnome tkivu. ASP potiče lučenje inzulina iz  $\beta$  - stanica gušterače. Nedostatak ASP-a zbog manjeg taloženja triglicerida dovodi do umjerenog smanjenja količine masnog tkiva (Žmire, 2004).

#### 2.2.4. Inzulinska rezistencija

Povećana koncentracija glukoze u krvi posljedica je učinka inzulinske rezistencije na metabolizam ugljikohidrata. Inzulin u fiziološkim uvjetima stimulira ulazak glukoze u mišićne i masne stanice, a inhibira sintezu glukoze u stanicama jetre i bubrega. Inzulinska rezistencija je stanje u kojem inzulin ne može izazvati svoje fiziološke učinke, ili ne u koncentracijama koje su djelotvorne u zdravih osoba (Žmire, 2004).

Prevladavajuća paradigma koja se koristi za objašnjenje inzulinske rezistencije su povišene koncentracije slobodnih masnih kiselina, otpuštene iz visceralnog masnog tkiva, koje izazivaju inzulinsku rezistenciju direktnom blokadom inzulinskih receptora.  $\beta$  - stanice gušterače nastoje nadvladati hiperglikemiju u krvi pojačanom sintezom i otpuštanjem inzulina u krv. Kompenzatorna hiperinzulinemija rezultira pojačanim učinkom inzulina i poremećajima u onim tkivima koja su očuvala normalnu osjetljivost na inzulin (Hrvoj i sur., 2015). Nedavna istraživanja sugeriraju da i adipokini igraju bitnu ulogu u ukupnoj osjetljivosti na inzulin i

disfunkciji masnog tkiva što može dovesti do sistemske rezistencije na inzulin. Ovaj koncept nije neovisan o teorijama slobodnih masnih kiselina jer se čini da još uvijek postoji veza između njihovih razina i adipokina, posebno kod osoba s prekomjernom tjelesnom težinom ili rezistencijom na inzulin (Sikaris, 2004).

Zlatni standard mjerenja inzulinske rezistencije je euglikemijska stezaljka koja zahtijeva istodobnu infuziju glukoze i inzulina, što je praktično samo za istraživačke studije kao i jednostavniji pristup kontinuiranog mjerenje glukoze (engl. *Frequently sampled intravenous glucose tolerance test*, FSIVGTT) koji zahtijeva do 30 uzoraka krvi (Sikaris, 2007). Alternativni izračun koji se temelji na razinama inzulina i glukoze natašte je HOMA indeks (engl. *Homeostatic Model Assessment*). Slična mjera je i QUICKI indeks (engl. *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) koji pruža linearni odnos s procjenama euglikemijske stezaljke od HOMA indeksa. Iako su i QUICKI i HOMA indeks korisne mjere, kod osoba koje još nemaju intoleranciju na glukozu, vrijednosti će uvelike ovisiti o abnormalnim mjerenjima inzulina natašte, a ne o relativno normalnim razinama glukoze (Sikaris, 2007).

Posljedica inzulinske rezistencije je porast slobodnih masnih kiselina, a veći protok uzrokuje njihovo nakupljanje u drugim tkivima kao što su jetra i koštani mišići. To započinje proces lipotoksičnosti koji dodatno povećava sistemska rezistenciju na inzulin. Inzulinska rezistencija na jetrenom, mišićnom i masnom tkivu povezana je s prekomjernom proizvodnjom proinflammatoryh citokina (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) i relativnim smanjenjem protuupalnih citokina (adiponektina). Svi ovi čimbenici pridonose kroničnom upalnom stanju (Serván, 2013).

Pretilost, posebno zbog povezanosti s inzulinskom rezistencijom, potiče mnoge biokemijske abnormalnosti. Otkrivanje ovih biokemijskih abnormalnosti ne samo da definira prisutnost patofizioloških posljedica pretilosti, već može izravno ukazati na prognozu i naglasiti važnost smanjenja tjelesne težine (Sikaris, 2007).

#### 2.2.5. Šećerna bolest

Šećerna bolest ili dijabetes nije jedna bolest, već je heterogeni multifaktorski poligeni sindrom kojeg karakterizira povišenje glukoze u krvi natašte uzrokovano nepravilnim lučenjem inzulina, njegovim djelovanjem ili oboje. Kronična hiperglikemija dijabetesa povezana je s dugotrajnim oštećenjima, disfunkcijom i zatajenjem različitih organa, posebice očiju, bubrega, živaca, srca i krvnih žila (American Diabetes Association, 2014).

Postoje dvije temeljne vrste šećerne bolesti: dijabetes tip 1 (DT1) i dijabetes tip 2 (DT2) koje se međusobno razlikuju po svojoj etiologiji i epidemiologiji. DT2 je najčešći oblik dijabetesa u

svijetu i čini 90 % slučajeva na globalnoj razini i pogađa približno 4 % odrasle svjetske populacije (Caballero i sur., 2005).

DT1 nastaje kao rezultat autoimunog uništavanja  $\beta$  - stanica u gušterači, što obično dovodi do apsolutnog nedostatka inzulina. Autoimuni napad na  $\beta$  - stanice tijekom godina dovodi do njihovog postupnog iscrpljivanja te se simptomi naglo pojavljuju tek kada je 80 – 90 %  $\beta$  - stanica uništeno. Gušterača ne reagira adekvatno na unos glukoze, a terapija inzulinom potrebna je da bi se uspostavila metabolička kontrola i spriječila ketoacidoza (Harvey i Ferrier, 2011).

U drugoj kategoriji, DT2, uzrok je kombinacija inzulinske rezistencije i neadekvatnog kompenzacijskog odgovora na sekreciju inzulina. Tolerancija na glukozu također je poremećena kod DT2, što je često povezano s pretilošću i povišenim razinama masnih kiselina u plazmi te u stanjima kada je jetra oštećena (određene infekcije, odgovor na neke lijekove) (Murray i sur., 2003). DT2 se obično javlja u sredovječnih i starijih ljudi, ali je sve veći trend pojave DT2 kod mladih osoba. Pokazalo se da su intervencije u načinu života (zdrava prehrana i redovita tjelesna aktivnost) značajno utjecale na smanjenje pojave dijabetesa kod visoko rizičnih osoba za DT2. Istraživanja treba usmjeriti i na interakciju gen - okolina, jer će to ukazati na odgovarajuće populacijske strategije za borbu protiv sve većeg broja učestalost ove nezarazne bolesti (Caballero i sur., 2005).

### 2.3. MODELI I MODELIRANJE

Model predstavlja jednostavan prikaz određenog stvarnog sustava, a modeliranje predstavlja način kojim se do modela dolazi. Znanstveni model definiramo kao prikaz koji sažima i pojednostavljuje sustav usredotočujući se na ključne značajke za objašnjavanje i predviđanje znanstvenih pojava (Schwarz i sur., 2009). Iz stvarnog svijeta uzimaju se oni dijelovi koji su najbitniji za prikaz stvarnog sustava. Upravo je to i odlika modela – jednostavnost, a ujedno i ispravnost i korisnost za svrhu za koju su napravljeni (Gajdoš Kljusurić, 2020).

Uloga modela prepoznata je sredinom dvadesetog stoljeća. Na primjer, upravo su oni postali dominantan način razmišljanja u kemiji, nešto što kemičari rade, a da čak ne moraju analizirati ili biti svjesni mehanizma procesa. Modeli su ključni za nastajanje, širenje i prihvaćanje znanstvenih spoznaja. Oni funkcioniraju kao most između znanstvene teorije i svijeta koji se doživljava. Mogu biti pojednostavljeni prikazi stvarnosti kao takve, napravljeni za određene svrhe, za koju se zatim primjenjuju. Oni također mogu biti idealizacije moguće stvarnosti, temeljene na apstrakcijama teorije, proizvedene tako da se mogu napraviti usporedbe sa stvarnošću koja se opaža. Pomoću njih mogu: učiniti apstraktne entitete vidljivima; pružiti opise

i/ili pojednostavljenja složenih pojava; postaviti osnovu za znanstvena objašnjenja i predviđanja pojava (Gilbert, 2004).

Svrha svakog modela je omogućiti sljedeće:

1. opis kompleksnih fenomena
2. njihovo bolje razumijevanje
3. komunikaciju onih koji rješavaju problem i
4. rješavanje problema.

Korist od modela očituje u uštedi vremena, jednostavnoj manipulaciji modela, niskim troškovima izvedbe modela, niskim troškovima simulacija (i utvrđivanja pogrešaka), u mogućnosti modeliranja rizika i nesigurnosti, u mogućnosti modeliranja vrlo kompleksnih sustava s beskonačnim brojem mogućih rješenja. Time se unapređuje i učvršćuje učenje, odnosno obrazovanje. (Gajdoš Kljusurić, 2020)

Napredak tehnologije stavio je naglasak na središnju ulogu modela čineći stvaranje i njihovu reviziju lakše dostupnom znanstvenicima. Alati za modeliranje pružaju nove načine stvaranja teorija, testiranja ideja i analize podataka (Schwarz i White, 2005).

### 2.3.1. Modeli – općenito

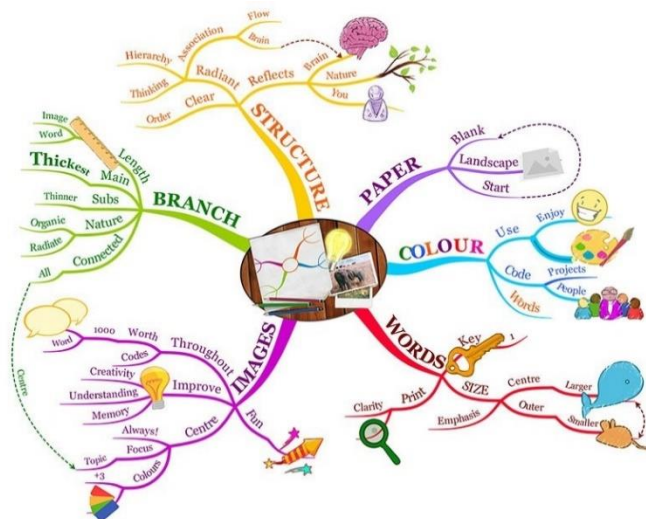
Oblik modela ovisi o načinu opisivanja stvarnog sustava ili stanja i alata koji se pri tom koristi. Sukladno tome se modele u nutricionizmu dijeli na (i) mentalne, (ii) materijalne, (iii) matematičke, (iv) konceptualne i (v) računalne.

#### 2.3.1.1. Mentalni model

Ovaj model se može smatrati posljedicom kognitivnog djelovanja čovjeka, s obzirom na to da mozak nastoji povezivati činjenice i predvidjeti ishod nekog događaja te pojednostavljeno, mentalnim modelom nastoji se predvidjeti posljedice nekog određenog događaja.

Mentalna mapa (engl. *mind mapping*) koja predstavlja vizualno tehniku prikaza ideja i misaonih procesa, predstavlja višu razinu mentalnog modela. Mentalne ili kognitivne mape izravno utječu na spoznaju te je njihova bit korištenje ključnih riječi (tj. osnovnih varijabli koje opisuju model) koje uz pomoć jasne slike, uz posebno isticanje (veličina, oblik i boja slova, strelica, oznaka) vizualizira razmišljanje. Mentalne mape uvrstavaju se u kategoriju vještina kojima se organizira i elaborira udžbenički tekst te se ističu kao put do uspješnijeg učenja (Buzan, 2004). Primjer kako i što se koristi u mentalnim modelima prikazano je na slici 2 koja slijedi.





Slika 2. Prikaz koncepta mentalne mape (Ayoa, 2020)

### 2.3.1.2. Materijalni model

Razvoj znanstvenih disciplina doveo je i do razvoja materijalnih (ili fizičkih) modela koji se koriste u prikazima strukture atoma, molekule, DNK, genima i slično, a vrlo su korisni u prirodnim znanostima (kemija, biokemija, biologija, matematika, fizika, astronomija itd.).

Primjer materijalnog modela je npr. struktura fruktoze (slika 3).



Slika 3. Model strukture fruktoze (ACS, 2017)

### 2.3.1.3. Matematički model

U ovoj vrsti modela se odnosi među promatranim veličinama (varijablama) opisuju jednačinama (Schakel i sur., 2008). Znači matematički model opisuje određeni sustav jednačinom, a matematičko modeliranje predstavlja oblikovanje sustava uz pomoć matematičkih pretpostavki, izraza i jednačbi. Prilikom matematičkog modeliranja, vrlo često se koriste razni algoritmi za metode učenja eksperimentom i metode modeliranja sustava.

Na primjer, matematički modeli mogu se primijeniti i kod staničnih procesa za simuliranje staničnog ponašanja radi boljeg razumijevanja složenih mehanizama u osnovi eksperimentalnih

promatranja. To se razumijevanje može odnositi na specifična istraživačka pitanja poput onoga kako će sustav reagirati na dodavanje određenog supstrata (hranjive tvari) ili brisanje gena (de Graaf i sur., 2009).

Primjer matematičkog modela je Harris-Benedict-ova jednadžba za procjenu bazalnog metabolizma osobe te ovisno o spolu slijedi:

$$BMR_M = 66,5 + (13,75 \cdot TM) + (5,003 \cdot TV) - (6,755 \cdot dob) \quad [1]$$

$$BMR_{\check{z}} = 655 + (9,563 \cdot TM) + (1,85 \cdot TV) - (4,676 \cdot dob) \quad [2]$$

Gdje je:

BMR – bazalni metabolizam za muškarce (M) i žene (Ž)

TM = tjelesna masa (kg)

TV = tjelesna visina (cm)

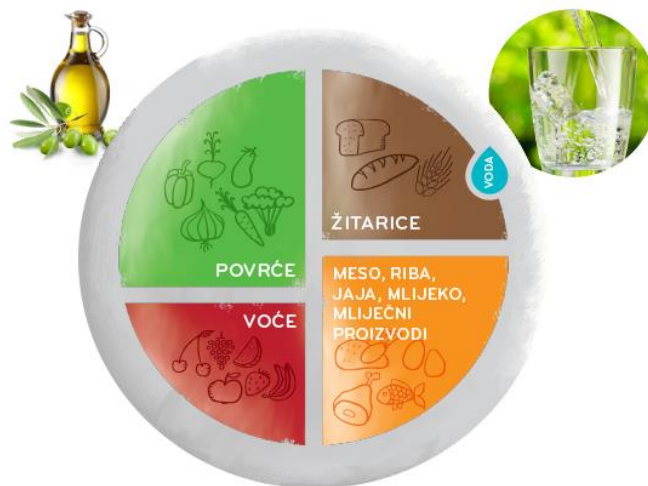
dob = dob osobe (godine)

#### 2.3.1.4. Konceptualni model

U nutricionizmu, se pomoću konceptualnih modela nastoji dati logiku sustavima koji obrađuju problematiku struke (npr. pravilna prehrana, pretilost, sljedivosti procesa i slično). Ovim se modelima vizualizira određena problematika, radi njenog pojednostavljenja. Konceptualni (idejni) model koristi dijagrame strukture kojom prenosi određenu ideju tj. daje logiku radu sustava korištenjem simbola i vizualizacijom problema (Gajdoš Kljusurić, 2020).

Pojam „konceptualni model“ je dvosmislen. Mogao bi značiti model koncepta ili model koji je konceptualan. Razlika se može ustanoviti prema tome *što su modeli i koji modeli su modeli čega*. Vrijednost modela je obično direktno proporcionalna tome koliko on dobro odgovara prošlosti, sadašnjosti, budućnosti, stvarnom ili potencijalnom stanju stvari ili fenomenu kojeg predstavlja. Model koncepta je prilično drugačiji, jer kako bi model bio dobar ne mora imati točnu korespondenciju sa stvarnim svijetom (Gregory, 1993).

Primjer konceptualnog modela kojim se vizualizira određena problematika je primjer ili model tanjura koji služi kao pomoć u vizualizaciji veličine porcije i količine grupa namirnica a preuzet je iz švedske metode planiranja obroka od strane dijetetičara (Brown i sur., 2001). Primjer ovog modela (slika 4) pokazuje kako je korisniku omogućena vizualna predodžba glavnih skupina namirnica koje treba konzumirati u kojem omjeru.



Slika 4. Konceptualni model (metoda) tanjura koji koristi program PETICA (HLZ, 2020)

#### 2.3.1.5. Računalni model

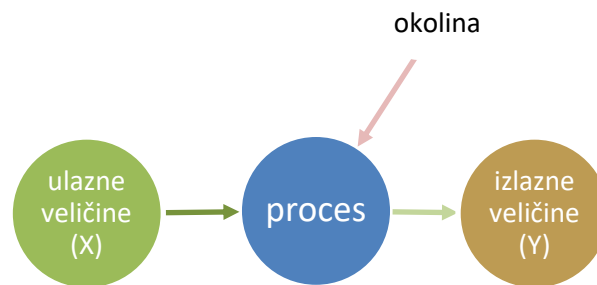
U današnje digitalno doba, ovi modeli postaju sve zastupljeniji. Oni koriste programske jezike i alate čime omogućavaju dobivanje kvantitativnih rezultata o ponašanju sustava. Ovi modeli su vrlo često u službi automatizacije procesa te takvi simulacijski modeli služe za bolje upoznavanje procesa i/ili simulacije regulacije istog, npr. simulacijom procesa sterilizacije, pakiranja, reguliranja razine i sl. Na taj način se može bolje upoznati sam proces, a isto tako i vidjeti je li je broj promatranih varijabli koje opisuju proces dovoljan za što vjerniju simulaciju stvarnog sustava.

Primjer koji je vezan za nutricionizam i ovu vrst modela je razvoj virtualnog modela ljudskog metabolizma koji je predložio tim profesora Palssona sa sveučilišta u Kaliforniji (Duarte i sur., 2007). Testni rezultati ovakvih simulacija su pokazali vrlo dobro slaganje s kliničkim te se očekuje kako će ovi modeli znanstvenicima omogućiti eksperimentiranje s metaboličkim procesima u individualiziranim terapijama.

#### 2.3.2. Modeliranje – općenito

Modeliranje predstavlja oblikovanje sustava u skladu s vrstom modela te je osnova svakog modeliranja – izbor i prikupljanje ulaznih podataka kojima se želi opisati neki sustav. Pojednostavljen prikaz modeliranja koristi pojmove ulazne veličine, proces, izlazne veličine i okolina (slika 5). Ulazne veličine su one varijable koje su izdvojene kao ključne te će procesiranjem rezultirati izlaznim veličinama. Utjecaj okoline se ne smije zanemariti, jer

okolina možda sadrži neku informaciju/varijablu s većim utjecajem nego što je pretpostavljeno (nije u ulaznim veličinama).



Slika 5. Pojednostavljeni prikaz modeliranja

### 2.3.3. Modeli i modeliranje u nutricionizmu

Kao i svaka znanstvena disciplina, tako i nutricionizam trenutno prolazi kroz veliki priljev podataka jer sve veći broj istraživanja uključuje metode iz genomike, metabolomike i drugih grana znanosti. Izazov za istraživanja u području nutricionizma postaje način kako povezati podatke koji se prikupljaju na različitim prostornim, vremenskim i dimenzionalnim ljestvicama. Kvantitativne mehaničke odnose između različitih mjerenja te suočavanje s visokom dimenzionalnošću skupova podataka otvaraju nova područja u nutricionizmu kako što je aktivna primjena e-biologije i računalnog modeliranja (de Graaf i sur., 2009). Individualni pristup svakom korisniku/pacijentu s posebnim prehrambenim potrebama nastoji povezati fiziološke karakteristike fenotipa, odnosa nutrijenata, procijenjenog tjelesnog sastava i slično. Nakon uspješnog modeliranja i analize modela – može se krenuti u stvarni sustav i kliničko istraživanje i primjenu.

Pretilost je tema na kojoj je načinjen niz mentalnih, materijalnih, matematičkih, konceptualnih i računalnih modela (Barrett i sur., 2016). Međutim to i dalje ostaje tema koja se intenzivno istražuje.

Jedno od recentnih istraživanja je „Ekspresija inzulina u želucu“ (engl. *The expression of insulin in stomach*) prof. dr. Matthias Blühera koje se provodi u Leipzigu u sklopu istraživačkog centra Sveučilišta u Leipzigu. Temelji se na istraživanju Ariyachet i sur. (2016) koji su reprogramiranjem stanica različitih dijelova želuca kod eksperimentalnih miševa nastojali otkriti novi izvor generiranja  $\beta$  - stanica. Pokazalo se kako su stanice na izlaznom dijelu želuca (antrumu) uspješno reprogramirale u inzulinske  $\beta$  - nalik stanice. Ovo znači da bi

reprogramirane želučane endokrine stanice mogle potencijalno biti obnovljivi izvor proizvodnje inzulina. Istraživanje Dr. Blüherera prvi puta se provodi na ljudskim uzorcima želuca koji su biopsijom prikupljeni od pretilih pacijenata. Od svakog pacijenta uzeti su uzorci s ulaznog djela (fundusa), tijela želuca (corpusa) i izlaznog djela (antruma) te su analizirani imunohistokemijskim metodama. U radovima Ariyachet i sur. (2016) i McCauley i Wells (2016) prikazani su različiti modeli koji prikazuju postavke i rezultate tih istraživanja te će upravo oni biti analizirani i opisani u eksperimentalnom dijelu.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

Konceptualni modeli koji se u nastavku analiziraju su preuzeti iz radova: Ariyachet i sur. (2016) i McCauley i Wells (2016). Navedeni radovi predstavljaju osnovu za istraživanje Prof. Dr. Blühera, „Ekspresija inzulina u želucu“ koje se provodi u Leipzigu, u sklopu istraživačkog centra 1052 "Mehanizmi pretilosti" (engl. *Collaborative research centre 1052 "Obesity Mechanisms"*).

#### **3.2. METODE RADA**

Modeli iz radova (Ariyachet i sur., 2016 i McCauley i Wells, 2016) su podijeljeni prema vrstama te su na taj način, primjenom jezičnih varijabli i opisivani.

Načela neizrazite logike primijenjena su kroz analizu jezičnih varijabli, dok su konceptualni modeli analizirani prema osnovnim načelima koncepta koji je u njima korišten (Gajdoš Kljusurić, 2020).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U rezultatima koji slijede, prikazani su (i) konceptualni modeli (slike 6-13) u kojima se promatraju modeli koji je vezan uz pretilost, te (ii) matematički modeli (jednadžbe 3-5).

Modeli koji se prikazuju su model prikaza istraživanja Ariyachet i suradnika (2016) (slika 6), zatim slijedi shematski prikaz tkiva koja se mogu reprogramirati tako da proizvode inzulin (slika 7), dijagram trostruke križne transgene linije miša (slika 8), stvaranje i regeneracija stanica koje ekspimiraju inzulin u gastrointestinalnom traktu (slika 9), imunohistokemijsko bojenje tijekom istraživanja (slika 10), shematski prikaz konstruiranja mini organa (slika 11), razvoj mini organa (slika 12) te dijagram eksperimentalnog dizajna istraživanja Ariyachet i suradnika (2016) (slika 13). Za sve modele u slikama 6-13, korištena su osnovna načela konceptualnog modeliranja, što je korišteno u raspravi i pojašnjenjima modela.

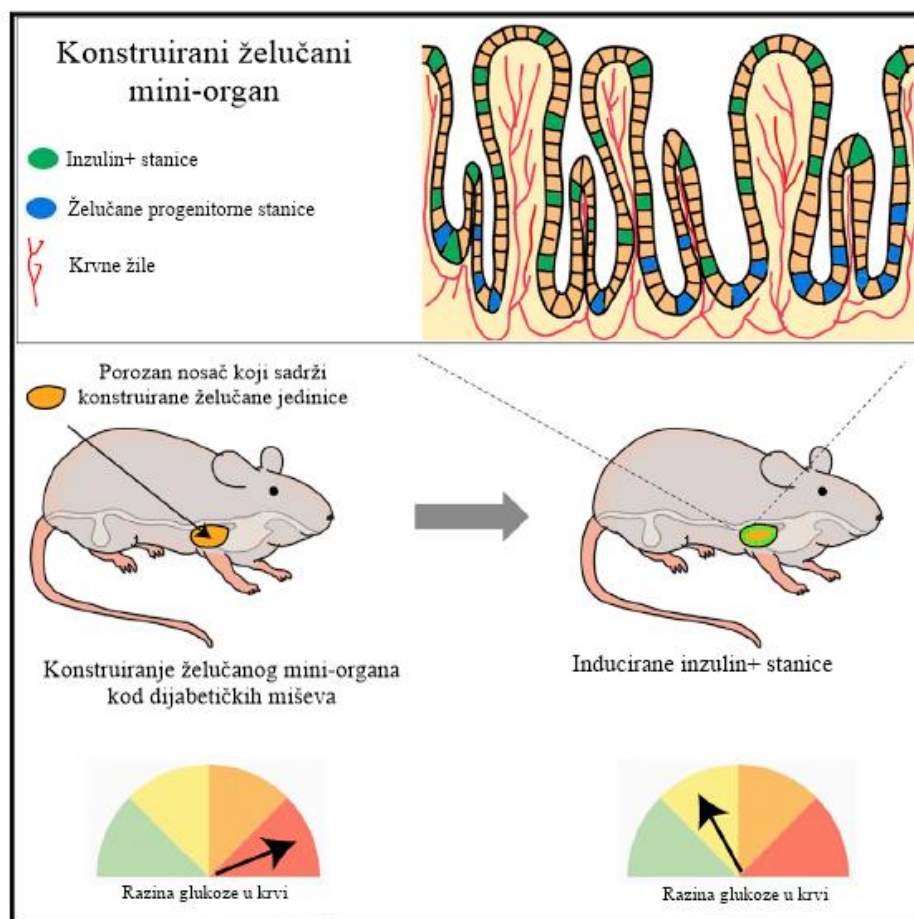
Matematički modeli pojašnjeni su Keysovom jednadžbom koja povezuje koncentraciju kolesterola u serumu i konzumaciju hrane (jednadžba 3), čiji izraz se razvija do tzv. Keys-ove vrijednosti (KV, jednadžba 4), koju modificira Hegsted i modificirana vrijednost, tzv. Hegsted-ova vrijednost (HV) prikazana je jednadžbom 5.

U posljednjih deset godina, puno istraživanja bilo je usmjereno na stvaranje  $\beta$  - stanica iz različitih vrsta stanica. Regenerativne tehnologije uključuju usmjerenu diferencijaciju embrionalnih matičnih stanica i izravnu konverziju iz ne –  $\beta$  - stanica kao što su stanice jetre, acinarne stanice i druge. Međutim, patološka stanja kod dijabetesa kontinuirano oštećuju native i transplantirane  $\beta$  - stanice te je poželjno razviti regenerativni sustav u kojem se  $\beta$  - stanice mogu proizvoditi na obnovljivi način kako bi se „ponišio“ njihov gubitak. Gastrointestinalna tkiva potencijalni su izvori za takvo kontinuirano stvaranje stanica. Želudac i crijeva jedinstveni su među endodermalnim organima po tome što sadrže velik broj odraslih matičnih/progenitornih stanica koje neprestano proizvode epitelne stanice, uključujući enteroendokrine stanice koje luče hormone (Ariyachet i sur., 2016).

Istraživanje Ariyachet i suradnika iz 2016. „Reprogramirano želučano tkivo kao obnovljivi izvor funkcionalnih  $\beta$  - stanica za regulaciju glukoze u krvi“ (engl. „*Reprogrammed Stomach Tissue as a Renewable Source of Functional  $\beta$  Cells for Blood Glucose Regulation*“) pokazalo je da je antralni dio želuca posebno podložan reprogramiranju zbog  $\beta$  - transkripcijske sličnosti (antralne endokrine stanice transkripcijski su povezane s  $\beta$  - stanicama gušterače) i da su konstruirani mini-organi želuca koji sadrže reprogramirane stanice *in vitro* bili izvor transplantabilnih jedinica koje su također smanjivale hiperglikemiju kod dijabetičkih miševa. Ovi rezultati ističu potencijal za razvoj konstruiranih želučanih tkiva kao obnovljivog izvora funkcionalnih  $\beta$  - stanica za kontrolu glikemije.

Slika 6 grafički prikazuje sažetak istraživanja. Ovim konceptualnim prikazom može se vidjeti pojednostavljeni prikaz konstruiranog želuca koji sadrži inzulin+ stanice, želučane progenitorne stanice i krvne žile te kratak dijagram tijekom istraživanja zajedno s rezultatom koji pokazuje kako je nakon transplantacije konstruiranog želučanog mini organa, došlo do smanjenja hiperglikemije u životinja.





Slika 6. Model prikaza istraživanja (Ariyachet i sur., 2016)

Jasno je razvidna primjena boje kao osnove u konceptualnom modelu. U psihologiji je zelena boja povezana s prirodom, mirom i sigurnošću te zdravljem i srećom (Elliot i sur., 2015). U marketingu se upravo psihologija boja učestalo koristi te se crvena boja povezuje se s uzbuđljivošću, strasti, opasnosti, energijom i akcijom (Varsha, 2020), a žuta s pažnjom. Upravo navedene tri boje se učestalo koriste te im se pridružuju i određene jezične varijable:

Zelena  $\Rightarrow$  jezična varijabla {izvrsno/vrlo dobro}

Žuta  $\Rightarrow$  jezična varijabla {dobro}

Crvena  $\Rightarrow$  jezična varijabla {loše}

U kontekstu navedenog, u donjem dijelu slike 6, upravo se bojama ukazuje na kakvoću regulacije razine glukoze u krvi i učinak induciranih inzulin+ stanica. U gornjem dijelu iste slike, je u samim crijevima, zelena boja korištena u indikaciji „inzulin+ stanice“, ističući ono što je „vrlo dobro“.

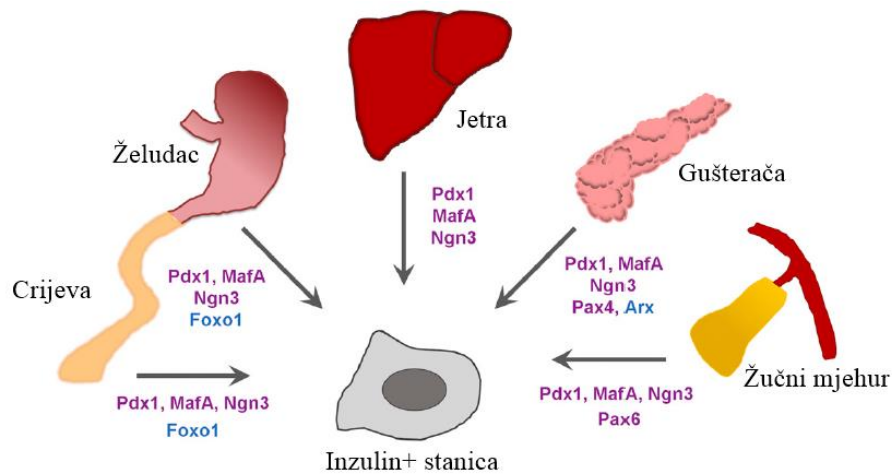
Načela konceptualnog modela (npr. slijed koji je popraćen strelicama) koriste se u srednjem dijelu slike, kojim se ukazuje što slijedi kada se dijabetičnim miševima konstruira želučani mini organ tj. gdje će se naći inducirane inzulin+ stanice.

Kod DT1 prisutno je nepovratno uništavanje  $\beta$  - stanica gušterače. Kako su  $\beta$  - stanice koje luče inzulin ključne za održavanje homeostaze glukoze, pacijenti s DT1 ovise o egzogenom davanju inzulina. Privlačna terapijska alternativa za liječenje DT1 je nadopunjavanje zaliha pacijentovih  $\beta$  - stanica. Tijekom godina, nekoliko strategija je predloženo za proizvodnju novih  $\beta$  - stanica. One uključuju usmjerenu diferencijaciju embrionalnih matičnih stanica, proliferaciju postojećih  $\beta$  - stanica, deriviranje iz odraslih endokrinih progenitornih stanica i u novije vrijeme reprogramiranje ne- $\beta$  - stanica u  $\beta$  - stanice (Zhou i Melton, 2008).

Ektopična ekspresija odabranih transkripcijskih faktora može promijeniti ili transdiferencirati sudbinu somatskih stanica i taj se postupak naziva staničnim reprogramiranjem. Nedavno je postalo očito da je moguće pretvoriti vlastite endogene endokrine stanice pojedinca, smještene unutar crijeva, u stanice koje u lučenje inzulina, inzulinske stanice. Ovaj pristup učinkovite nadomjesne endokrine gušterače kod osoba s DT1, postaje sve privlačniji za liječenje dijabetesa (McKimpson i Accili, 2019).

Transkripcijski faktori reguliraju ekspresiju gena selektivnim vezanjem na druge regulatorne elemente uključujući i tzv. regije pojačivače (engl. *enhancers*). PDX1 (homeobox 1 gušterače i dvanaesnika), Neurog3 (neurogenin-3, Ngn3) i MafA (V-maf muskuloaponeurotični fibrosarkom onkogen homolog A) transkripcijski su faktori ključni za razvoj i sazrijevanje  $\beta$  - stanica. PDX1 je bitan za razvoj egzokrinih i endokrinih stanica gušterače, uključujući  $\beta$  - stanice. Također se veže na regulatorne elemente i povećava transkripciju gena inzulina. NEUROG3 se eksprimira u endokrinim progenitornim stanicama i kontrolira diferencijaciju i regeneraciju Langerhansovih otočića. MafA se veže na promotorsko područje inzulinskog gena i potiče ekspresiju inzulina kao odgovor na glukozu (Zhu i sur., 2017).

FoxO transkripcijski faktori su podskupina faktora transkripcije vilice, karakterizirani domenom vezanja na replikacijsku vilicu DNA. Foxo1 (forkhead transkripcijski faktor FKHR) ključni je regulator homeostaze glukoze, napredovanja staničnog ciklusa i apoptoze. Pokazalo se da Foxo1 fosforilira putem signalnih kaskada inzulina ili faktora rasta, što rezultira njegovim zadržavanjem u citoplazmi i potiskivanjem ekspresije ciljnog gena (Matsuzaki i sur., 2003).

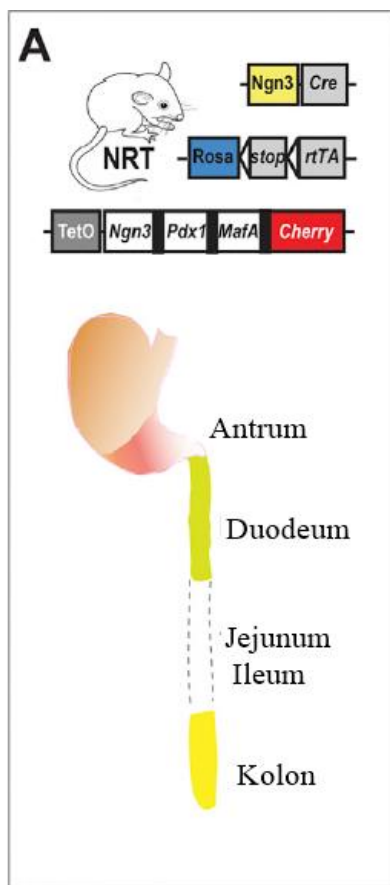


Slika 7. Shematski prikaz tkiva koja se mogu reprogramirati tako da proizvode inzulin (McKimpson i Accili, 2019)

Prethodna istraživanja ukazala su na složenost pronalaženja najboljih i najosjetljivijih stanica za transdiferencijaciju. Embrio u razvoju tvori tri zametna listića, od kojih se dalje stvaraju sve stanice u tijelu: ektoderm, mezoderm i endoderm. Sve stanice epitela različitih organa u tijelu, uključujući gastrointestinalni i respiratorni trakt, kao i gušteraču, potječu od endoderma. Stoga, logična pretpostavka je da bi stanice usko povezane s  $\beta$  - stanicama gušterače bile osjetljivije na proces konverzije u inzulinske stanice. To potvrđuju i rezultati koji su ukazali da su sve vrste stanica za koje se utvrdilo da su eksperimentalno osjetljive na konverziju, izvedene iz endoderma (McKimpson i Accili, 2019).

Slika 7 prikazuje različita tkiva koja se mogu reprogramirati tako da proizvode inzulin. Moguće je transdiferencirati stanice crijeva, želuca, jetre, gušterače i žučnog mjehura (McKimpson i Accili, 2019).

Dva različita pristupa uspješno su reprogramirala stanice gastrointestinalnih tkiva: prekomjerna ekspresija tri transkripcijska faktora, Neurog3, Pdx i MafA, odnosno NPM faktora ili delecija transkripcijskog faktora Foxo1 (McCauley i Wells, 2016).

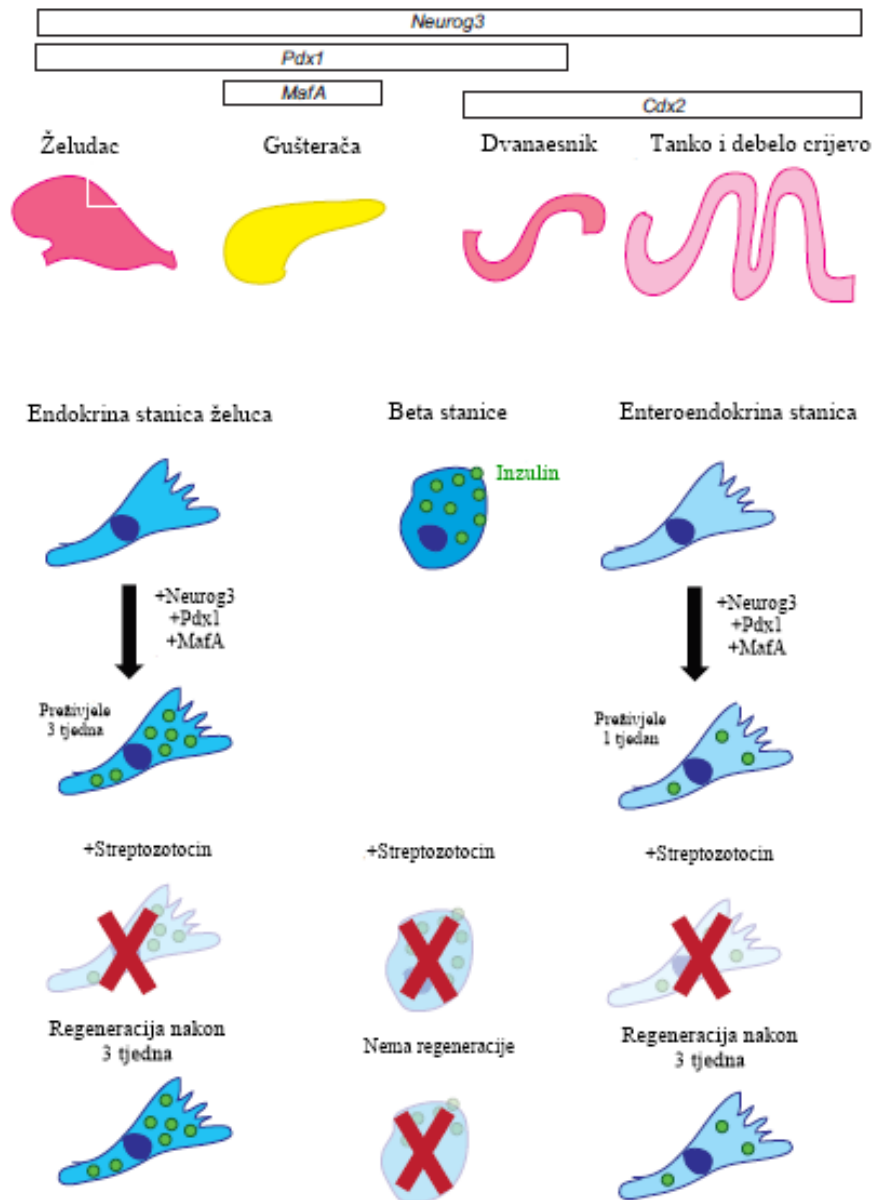


Slika 8. Dijagram trostruke križne transgene linije miša (Ariyachet i sur., 2016)

Na temelju zapažanja da su NPM faktori vrlo učinkoviti u induciranju ekspresije inzulina, Ariyachet i suradnici su konstruirali novu transgenu liniju miša (TetO-NPMcherry) u kojima inducibilni TetO promotor pokreće policistronsku ekspresiju NPM faktora i crveni fluorescentni protein Cherry. Fluorescentni proteini koriste se kao kvantitativni genetski kodirani biljezi za proučavanje interakcije proteina i proteina, praćenja proteina i stanica. mCherry brzo sazrijeva, što omogućuje da se rezultati vide vrlo brzo nakon transfekcije ili aktivacije transkripcije (Stepanenko i sur., 2008). Kako bi se dobila transgena NRT linija, TetO-NPMcherry je križan s linijom bakterijskog umjetnog kromosomom (BAC) Ngn3-Cre i knockin linijom Rosa-floxed-rtTA. Linija Ngn3-Cre označava sve enteroendokrine stanice u crijevu i većinu antralnih enteroendokrinih stanica želuca (Ariyachet i sur., 2016).

Slika 8 prikazuje dijagram trostruke križne transgene linije miša, koji se naziva NRT (Ngn3-Cre; Rosa-floxed rtTA; Teto-NMPcherry). Ngn3-cre se koristi za ciljanje inducibilne ekspresije NPM faktora (Ngn3, Pdx1 i Mafa) u enteroendokrine stanice antralnog želuca i crijeva (Ariyachet i sur., 2016).

Autori su naveli prednost njihovog pristupa, u usporedbi s drugim terapijski putem induciranja inzulin+ stanica (delecijom transkripcijskog faktora Foxo1) to što su prekomjernom ekspresijom NPM faktora inducirane inzulin+ stanice očuvale funkcije FoxO1, za kojeg je poznato da štiti  $\beta$  - stanice od fiziološkog stresa (Matsuzaki i sur., 2003). Njegova delecija može dovesti do zatajenja  $\beta$  - stanica, pa očuvanje funkcije Foxo1-a u induciranim  $\beta$  - sličnim stanicama može biti potrebno za njihovo dugoročno preživljavanje.



Slika 9. Stvaranje i regeneracija stanica koje eksprimiraju inzulin u gastrointestinalnom traktu (McCauley i Wells, 2016)

U konceptualnom modelu (shema prikazu) stvaranja i regeneracije stanica u gastrointestinalnom traktu, slijedom koji je popraćen strjelicama i vremenskim oznakama (nakon 3 tjedna, nakon 1 tjedna), prikazana je sudbina stanice želuca, gušterače i crijeva.

Na gornjem dijelu slike 9 prikazani su različiti transkripcijski faktori i organi u kojima su izraženi. Neurog3 potreban je za specifikaciju svih endokrinih staničnih loza i nalazi se u želucu, crijevima i gušterači. Pdx1 je potreban u ranim fazama razvoja gušterače i za funkciju odraslih  $\beta$  - stanica te MafA, koji je uključen u sazrijevanje  $\beta$  - stanica u gušterači. Faktori poput Cdx2 ograničeni samo na crijeva (Zhu i sur., 2017).

Endokrina stanica želuca i enteroendokrina stanica crijeva su reprogramirane u inzulin+ stanice što je označeno strjelicom pored koje su navedeni NPM transkripcijski faktori. Zelenom bojom koja ističe ono što je vrlo dobro, označen je inzulin. Zahvaljujući izraženoj boji, promatrajući model, odmah se može vidjeti kako su reprogramirane stanice želuca proizvele više inzulina i preživjele dulji vremenski period.

Rezultati pokazuju da su NPM faktori uzrokovali reprogramiranje enteroendokrinih stanica u inzulin+ stanice kroz čitav probavni trakt, s najvećom učinkovitošću (40 %) u antrumu želuca u odnosu na dvanaesnik, ileum ili debelo crijevo. Stanice u želucu koje proizvode inzulin preživjele su 3 tjedna i sličnije su  $\beta$  - stanicama gušterače, dok su stanice u crijevu preživjele 1 tjedan. Inzulin+ stanice antruma nastavile su suzbijati hiperglikemiju nakon što su inzulin+ stanice crijeva nestale. Dakle, inzulin+ stanice antruma imaju duži životni vijek u usporedbi sa stanicama crijeva i mogu neovisno suzbiti hiperglikemiju (Ariyachet i sur., 2016).

Streptozotocin je visoko selektivno  $\beta$  - stanično-citotoksično sredstvo Langerhansovih otočića gušterače čijim tretmanom u visokoj dozi se postiže potpuna nekroza  $\beta$  - stanica i dijabetes. Eksperimentalno se koristi za izradu modela DT1 (Furman, 2015). Crveni znak X koristi se kao primjer onoga što ne može. Prvo je korišten kako bi pokazao da je tretman streptozotocinom rezultirao nekrozom stanica, a zatim kako bi označio da se stanice gušterače nisu regenerirale, dok stanice želuca i crijeva jesu.

Tijekom istraživanja, tretman streptozotocinom provodio se 2 puta. Na početku istraživanja za ablaciju endogenih  $\beta$  - stanica gušterače i staranje hiperglikemije, a zatim u 11. tjednu za procjenu regenerativnog kapaciteta eksperimentalnog sustava.

Doksiciklin je antibiotik klase tetraciklina širokog spektra s baktericidnim djelovanjem, a zabilježeno je i da posjeduje pleiotropne antimikrobne učinke u velikom broju bolesti kao što

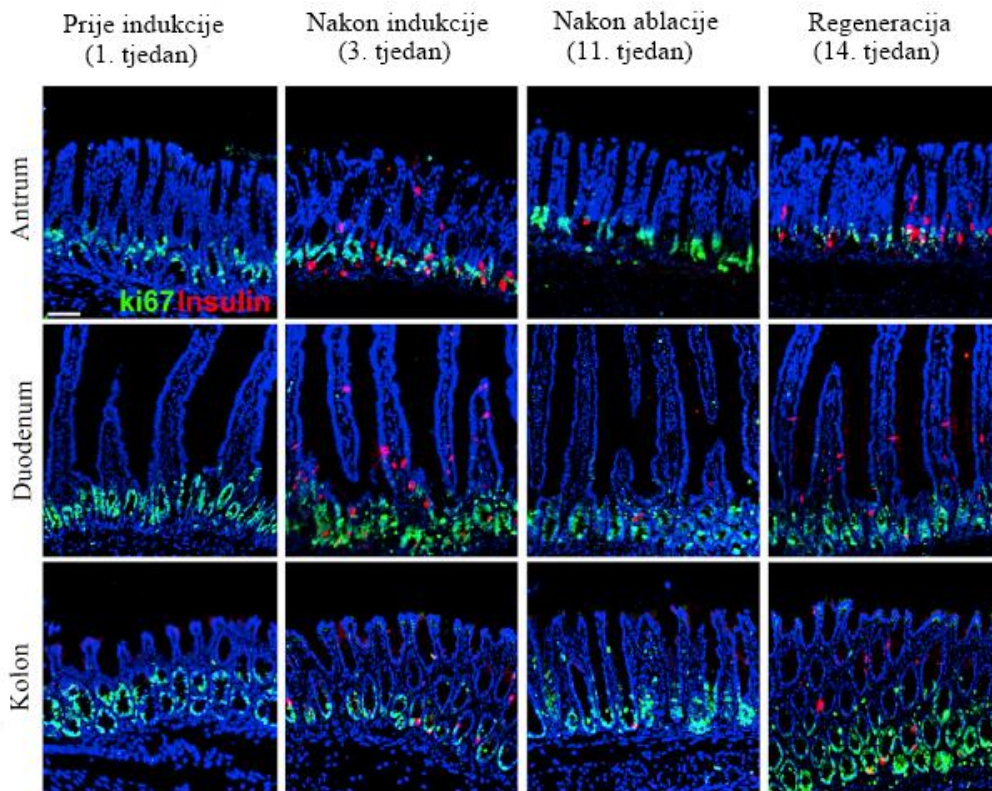
su hipertenzija, ateroskleroza i neuropatija. Nadalje, implicirano je da tetraciklini imaju hipoglikemijske učinke te potencijalno mogu pojačati djelovanje inzulina i kod ljudi i kod životinja. Također utječe i na proupalne markere koji ometaju signalizaciju inzulina. Izravno ciljanje upale stoga može imati blagotvorne učinke na kontrolu glikemije, funkciju  $\beta$  - stanica i rezistenciju na inzulin (Wang i sur., 2017).

Nakon liječenja doksiciklinom (Dox) i indukcije inzulin+ stanica u gastrointestinalnom traktu, gastrointestinalne inzulin+ stanice regenerirale su se i poništile hiperglikemiju nakon 3 tjedna.

Razina glukoze u krvi ostala je normalna sve dok su se životinje pratile (do 6 mjeseci). Za razliku od  $\beta$  - stanica u gušterači, stanice koje eksprimiraju inzulin u gastrointestinalnom traktu mogu se obnoviti nakon ablacije streptozotocinom.

Molekularna i fiziološka istraživanja pokazuju da se NPM čimbenici antralnih endokrinih stanica mogu učinkovitije reprogramirati u inzulin+ stanice, dok je konverzija iz crijevnih endokrinih stanica relativno nepotpuna. Autori su predložili da crijevna ekspresija Cdx2, glavnog regulatora crijevne sudbine, može djelovati kao molekularna barijera za transdiferencijaciju te su proveli niz eksperimenata kako bi testirali ovu teoriju. Rezultati su u skladu s nedavnim otkrićem da uklanjanje Cdx2 iz crijevnih matičnih stanica omogućava njihovo pretvaranje u želučane matične stanice (Simmini i sur., 2014). Zajedno, ovi podaci snažno sugeriraju da Cdx2 ograničava reprogramiranje crijeva u  $\beta$  - stanice in vivo.

Kada se uspoređuju dijelovi želuca, antrum i korpus, pokazalo se da korpus sadrži malo enteroendokrinih stanica izvedenih iz Ngn3, a malo takvih stanica eksprimira inzulin nakon NPM indukcije. Globalna ekspresija NPM faktora također je inducirala manje inzulin+ stanica u fundusu sugerirajući da se stanice fundusa opiru NPM konverziji. Razlog bolje indukcije u antrumu želuca mogao bi se objasniti većom sličnošću razvojnog podrijetla s gušteračom, gdje oba organa proizlaze iz zajedničke endodermalne domene Pdx1+ tijekom embriogeneze (Wells i Melton, 1999). Pretpostavka je da se epigenetski krajolik endokrinih stanica iz fundusa razlikuje od onih iz antruma, što ih čini težim za pretvaranje u  $\beta$  - stanice. Kako bi se bolje razumjele regionalne razlike potrebna su buduća istraživanja.



Slika 10. Imunohistokemijsko bojenje tijekom istraživanja (Ariyachet i sur., 2016)

Imunohistokemijsko bojenje jest metoda detekcije prisutnosti i lokalizacije specifičnih antigena u stanici ili tkivu. Temeljni koncept imunohistokemije je demonstracija antigena unutar tkivnih presjeka pomoću specifičnih antitijela. Jednom kada se dogodi antigen-antitijelo vezanje, pokazuje se obojenom histokemijskom reakcijom vidljivom svjetlosnom mikroskopijom ili fluorokromima s ultraljubičastom svjetlošću. Osim u dijagnostičke svrhe, koristi se i u znanstveno-istraživačke svrhe kako bi se bolje razumjela distribucija i lokalizacija biomarkera i ekspresija pojedinih proteina u različitim tkivima (Ramos-Vara, 2005).

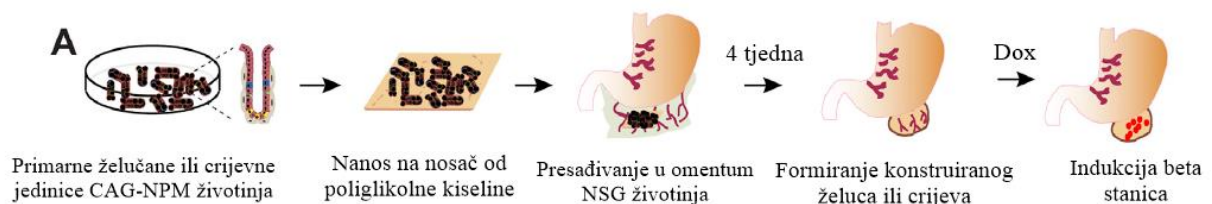
Na slici 10, prikazano je imunohistokemijsko bojanje stanica antruma, duodenuma i kolona. Na gornjem dijelu slike označene su vremenske oznake – prije indukcije (1. tjedan), nakon indukcije (2. tjedan), nakon ablacije (11. tjedan) i regeneracija (14. tjedan). Sa strane su označeni dijelovi želuca i crijeva na kojima je provedeno imunohistokemijsko bojanje.

U prva dva stupca možemo vidjeti stanje prije i nakon indukcije inzulin+ stanica. Inzulin+ stanice obojene su crvenom bojom. Najveća količina bila je u antrumu želuca. Tretman streptozotocinom korišten je u 11. tjednu kako bi se uklonile inducirane inzulin+ stanice gastrointestinalnog trakta i provjerila njihova sposobnost regeneracije (treći stupac). Jasno je vidljiva neprisutnost crveno obojenog inzulina, odnosno ablacija inzulin+ stanica. U 14. tjednu

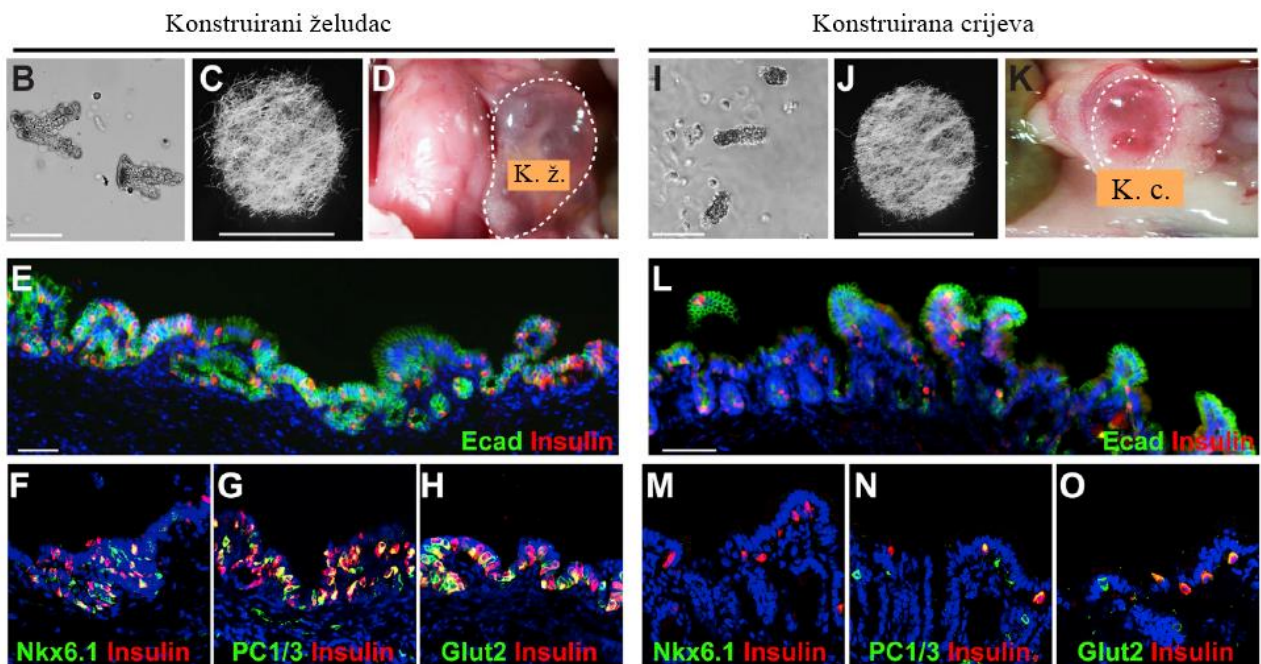


(četvrti stupac), 3 tjedna nakon, ponovno se može vidjeti prisutnost brzo regeneriranih inzulinskih stanica. Najveća količina regeneriranih stanica bila je u stanicama antruma.

Stanice antruma već su se prethodno bile istraživane u svrhu mogućnosti i izvedivosti genske terapije dijabetesa. Cilj istraživanja Zhukova i suradnika „Ekspresija gena humanog inzulina u želučanim G stanicama transgenih miševa“ (engl. *Expression of the human insulin gene in the gastric G cells of transgenic mice*) bio je konstruirati G stanice želučanog antruma koje proizvode gastrin za proizvodnju inzulina. Konstruiran je himerni gen za gastrin-inzulin, u kojem promotor gastrina pokreće ekspresiju gena humanog inzulina. Himerni gen Gas-Ins korišten je za generiranje transgenih miševa. Rezultati su pokazali da se promotor gastrina može koristiti za ciljanje ekspresije humanog inzulina na antralne G stanice i da antralne G stanice mogu ekspimirati humani inzulin (Zhukova i sur., 2001). Daljnja istraživanja i eksperimentalan rad su potrebni kako bi se pojačala ekspresija himernog gena u G stanicama.



Slika 11. Shematski prikaz konstruiranja mini organa (Ariyachet i sur., 2016)

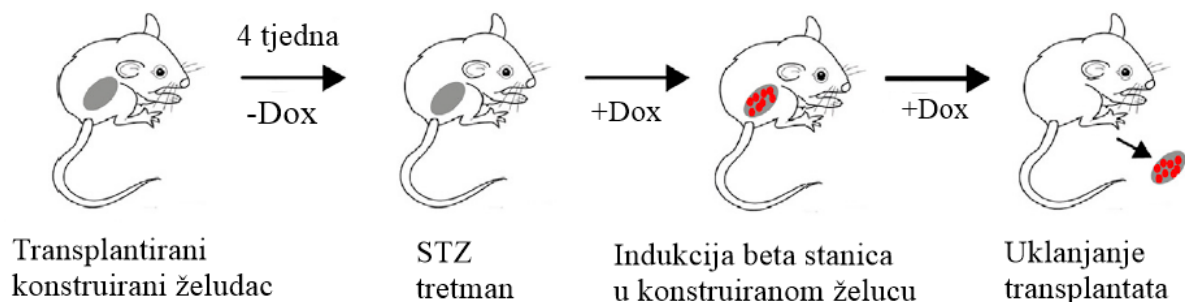


Slika 12. Razvoj mini organa (Ariyachet i sur., 2016)

Među gastrointestinalnim tkivima, antralni dio želuca je superiorni izvor funkcionalnih  $\beta$  - stanica NPM-posredovanom konverzijom. Međutim, Ariyachet i suradnici su prepoznali da promjenom normalne hormonske ekspresije gastrointestinalnih endokrinih stanica i njihovo reprogramiranje u  $\beta$  - stanice može imati različite fiziološke posljedice. Nativne gastrointestinalne endokrine stanice reguliraju mnoge fiziološke procese. Odgovorne su za sintezu i otpuštanje raznih hormona i signalnih molekula, i zajedno čine najveći endokrini organ u tijelu. Također imaju ulogu u kontroli funkcija kao što su probava, izlučivanja gušterače, unos hrane i metabolička regulacija (Bewick, 2012). Inducirane  $\beta$  - stanice smještene duž nativnog gastrointestinalnog epitela mogu nenamjerno reagirati na prehranbenu glukozu kao i na glukozu u krvi. Upravo zato njihovo reprogramiranje u  $\beta$  - stanice može poremetiti normalnu endokrinu homeostazu. Kako bi se izbjegle potencijalne zapreke terapijskoj primjeni, autori su odlučili istražiti opciju konstruiranja i ugrađivanja želučanih i crijevnih mini organa koji sadrže genetski modificirana antralna tkiva kao rezervoar novih  $\beta$  - stanica.

Konceptualnim modelom na slici 11 prikazan je tijek razvoja konstruiranja mini-organa želuca i crijeva za proizvodnju inzulina+ stanica. Strjelicama je označen slijed razvoja mini-organa. Crvenom bojom označene su  $\beta$  - stanice inducirane u mini-organu.

Na slici 12 vide se izolirane stanice antruma želuca ili dvanaesnika životinja (B i I) koje su nanese na nosač od poliglikolne kiseline (C i J) te postavljene unutar omentalnog poklopca imunodeficitarnih laboratorijskih životinja (NSG). Nakon 4 tjedna se formirao konstruirani želudac (K.c.) i konstruirana crijeva (K. ž.) (D i K, zaokruženo). U konstruiranom želucu tretman doksiciklinom je rezultirao indukcijom mnogih inzulina+ stanica (E i L). Učinkovitost indukcije i sadržaj inzulina su veći kod želučanih tkiva. U donjem dijelu slike 11, može se vidjeti kako većina inzulina+ stanica iz konstruiranog želuca eksprimira Nkx6.1, PC1/3 i Glut2 (F, G, H i R), dok inzulina+ stanicama iz konstruiranog crijeva nedostaje Nkx6.1 i smanjena je ekspresija PC1/3 (M, N, O i R).



Slika 13. Dijagram eksperimentalnog dizajna (Ariyachet i sur., 2016)

Na slici 13, shematski je prikazan dijagram eksperimentalnog dizajna. Kako bi se provjerilo mogu li transplantirani želučani mini-organi „ponišiti“ hiperglikemiju u NSG životinja s presađenim želučanim sferama starim 4 tjedna, korišten je tretman streptozotocinom za ablaciju endogenih  $\beta$  - stanica. Zatim je slijedio kontinuirani tretman induciranja inzulin+ stanica doksiciklinom. Na kraju eksperimenta, projektirani želuci uklonjeni su kirurški.

Tretman streptozotocinom rezultirao je brzim nastankom hiperglikemije koja je prisutna i nakon prestanka tretmana. Od 22 tretirane životinje, 5 je pokazalo kontinuirano smanjenje razine glukoze u krvi nakon liječenja doksiciklinom (grupa 1, G1, n = 5), dok je kod ostalih i dalje bila prisutna hiperglikemija (grupa 2, G2, n = 12). Životinje su bile nadzirane narednih 6 tjedana, a potom su projektirani želuci kirurški uklonjeni, što je obnovilo hiperglikemiju kod G1. G1 životinje pokazale su poboljšani odgovor u testu tolerancije na glukozu i znatno više razine inzulina u krvi u usporedbi s G2 životinjama ili kontrolnim životinjama liječenim streptozotocinom bez indukcije doksiciklinom.

Prije nastavka istraživanja, treba se obratiti pažnja na nekoliko bitnih stavki. Dijabetes se, unatoč alternativnim oblicima liječenja, može dugoročno i učinkovito liječiti inzulinom. Bilo koja stanična terapija koja se temelji na novim  $\beta$  - stanicama mora se pažljivo nadzirati kako bi zadovoljila stroge kriterije. Prvo, očekuje se da nove  $\beta$  - stanice nalikuju funkcionalnim endogenim  $\beta$  - stanicama, a to zahtijeva formiranje strukture Langerhansovih otočića. Drugo, nove  $\beta$  - stanice moraju biti specifične za pacijenta. Treće, moraju biti sigurne za dugoročnu upotrebu. Prije kliničke primjene valja pravilno razmotriti razne čimbenike rizika. Trenutni pristupi za proizvodnju  $\beta$  - stanica i dalje su u ranim fazama istraživanja i razvoja. S obzirom na ozbiljnost i rastuću prevalenciju dijabetesa, svaki potencijalno novi inovativni pristup treba ozbiljno provoditi. Iz šire perspektive, glavni cilj regenerativne medicine je generiranje novih stanica koje će nadomjestiti one izgubljene zbog bolesti ili oštećenja (Zhou i Melton, 2008).

Istraživanje Ariyachet i suradnika, nudi novi pristup iskorištavanju regenerativne sposobnosti želučanog epitela za nadopunu  $\beta$  - stanične mase in vivo. S obzirom na trajna patološka stanja koja kontinuirano uništavaju native ili transplantirane  $\beta$  - stanice kod dijabetesa, dugotrajno liječenje može zahtijevati ponovljene transplantacije. Regenerativni sustav koji se predlaže mogao bi eliminirati tu potrebu, a broj i veličina presađenih želučanih sfera mogli bi se prilagoditi, ovisno o kontroli broja  $\beta$  -stanica. Zajedno s nedavnim napretkom u inženjerstvu genoma i pristupom ljudskom želučanom epitelu (iz biopsija i diferenciranim induciranim pluripotentnim matičnim stanicama ili embrionalnim matičnim stanicama) terapijske primjene ovog pristupa su značajne (Ariyachet i sur., 2016).

U promatranju biokemijskih promjena, i matematički modeli također imaju značajnu ulogu već niz godina. Njemački patolog Rudolf Virchow prvi je put opisao nakupljanje lipida u arterijskim zidovima, godine 1856., ali veza između arterioskleroze i prehranbenog kolesterola postavljena je tek istraživanjem ruskog patologa Nikolaja Aničkova 1913. godine, koji je u svojoj studiji pokazao kako su kunići hranjeni kolesterolom u svojim arterijama razvili lezije slične aterosklerozi, što sugerira ulogu kolesterola u aterogenezi (Blackburn, 2012; Steinberg, 2004; McMillan, 1951; Anitschkow, 1913; Anitschkow i Chatalov, 1913; Duff i Virchow, 1856). Ancel Keys svojim istraživanjima koja uključuju i Studiju sedam zemalja, uz koju se nepravredno veže niz kontroverzi o probiru podataka, potvrđuje uzročno - posljedičnu povezanost rizika za srčani udar te visokog krvnog tlaka s razinom kolesterola u krvi i pušenjem (Keys i sur., 1963). Veza kojom Keys povezuje koncentraciju kolesterola u serumu i konzumaciju hrane prikazana je sljedećom jednadžbom (Keys i sur., 1974):

$$\Delta Chol[mg dL^{-1}] = b_1 \cdot \Delta S + b_2 \cdot \Delta M + b_3 \cdot \Delta P \quad [3]$$

Gdje su S, M i P postoci od ukupnih kalorija u prehrani iz glicerida zasićenih (S, engl. *saturated*), mono (M, engl. *monosaturated*) i polinezasićenih (P, engl. *polysaturated*) masnih kiselina.

Izračunati koeficijenti  $b_1=2,74$ ;  $b_2=0$  i  $b_3=1,31$  ukazuju kako udio mono-zasićenih masnih kiselina ne utječu na promjenu kolesterola te su one izostavljene iz daljnjih usavršavanja jednadžbe (Keys i sur., 1974). Nastavkom razvoja jednadžbe 3, Keys prezentira tzv. Keys-ovu vrijednost (KV, engl. *Keys score*) koja izražava sadržaj lipida u hrani:

$$KV = 1,26 \cdot (2 \cdot \Delta S - \Delta P) + 1,5 \cdot \sqrt{Chol_{hrana}} \quad [4]$$

Navedenu jednadžbu (jednadžba 4) modificira Hegsted i Hegsted-ova vrijednost (HV) i računa na sljedeći način (Haffner i sur., 1985):

$$HV = 2,16 \cdot \Delta S - 1,65 \cdot \Delta P - 0,0677 \cdot Chol_{hrana} \quad [5]$$

Gdje su:

$\Delta S$  i  $\Delta P$  izraženi u istim vrijednostima kao u jednadžbi 3.

$Chol_{hrana}$  predstavlja kolesterol iz hrane, a u jednadžbi 4 predstavlja udio u dnevnom energetske unosu (Ed [kcal]), dok je u jednadžbi 5 izražen u mg na dan.

Iz navedenih jednadžbi 4 i 5 razvidno je kako zasićene masti povećavaju ukupne vrijednosti HV i KV te Keys i sur. (1984) zaključuju kako time i LDL kolesterol raste dvostruko više pod utjecajem zasićenih masti, za razliku od nezasićenih masnih kiselina koje smanjuju takav kolesterol.

Složenim linearnim regresijskim modelom u kojem se pojašnjava samo odnos kolesterola i potencijalnog rizika od kardiovaskularnih bolesti, prikazana je nužnost modela u jasnijem shvaćanju složenih procesa stanja koja su vezana za prekomjeren unos hrane.

Navedenim konceptualnim modelima i jednostavnim matematičkim modelom prikazan je način kako bolje razumjeti problem s ciljem pravovaljanog djelovanja.

## 5. ZAKLJUČCI

1. Analiza modela prema osnovnim načelima koncepta koji je u njima korišten pokazuje kako je proizvodnja novih  $\beta$  - stanica privlačna terapijska alternativa za liječenje DT1.
2. Stanično reprogramiranje somatskih stanica u inzulinske stanice odnosno pristup učinkovite nadomjesne endokrine gušterače kod osoba s DT1, postaje sve istraživaniji pristup za liječenje dijabetesa.
3. Postojeći rezultati istraživanja objašnjavaju kako se regionalne razlike bolje indukcije u antrumu želuca (u usporedbi s fundusom i korpusom) mogu objasniti većom sličnošću razvojnog podrijetla s gušteračom.
4. Konceptualnim modelima može se prikazati kako se konstrukcijom mini organa koji sadrže genetski modificirana antralna tkiva kao rezervoar novih  $\beta$  - stanica, može utjecati na hiperglikemiju bez narušavanja normalne endokrine homeostaze.
5. Modelima (konceptualnim, matematičkim) se mogu prikazati različita složena stanja te predstavljaju način boljeg razumijevanja problema s ciljem pravovaljanog djelovanja, što potvrđuju zaključci od 1-4, te matematički modeli Keys-a i Hegsted-a u kojima je jasno istaknuto koje ulazne veličine utječu i na koji način na izlaznu veličinu, a to je sadržaj lipida u hrani, koji indirektno utječe i na pretilost.

## 6. LITERATURA

ACS (2017) Fructose. ACS - American Chemical Society, <<https://www.acs.org/content/acs/en/molecule-of-the-week/archive/f/fructose.html>>.

Pristupljeno 15. rujna 2020.

American Diabetes Association (2014) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. **37**, S81-90.

Anitschkow, N. N. (1913) Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. *Beitrage zur pathologischen Anatomie und zur allgemeine Pathologie*. **56**, 379–404.

Anitschkow, N. N., Chatalov, S. (1913) Über experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. *Zentralbl. Allg. Pathol.* **24**, 1–9.

Apovian, C. M. (2016) Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am. J. Manag. Care*. **22**, s176-185.

Ariyachet, C., Tovaglieri, A., Xiang, G., Lu, J., Shah, M. S., Richmond, C. A., Verbeke, C., Melton, D. A., Stanger, B. Z., Mooney, D., Shivdasani, R. A., Mahony, S., Qing Xia, Q., Breault, D. T., Zhou, Q. (2016) Reprogrammed Stomach Tissue as a Renewable Source of Functional  $\beta$  Cells for Blood Glucose Regulation. *Cell Stem. Cell*. **18**, 410-421.

Ayoa (2020) How to Mind Map, <<https://www.ayoa.com/mind-mapping/how-to-mind-map/>>.  
Pristupljeno 15. rujna 2020.

Barrett P., Mercer, J. G., Morgan P. J (2016) Preclinical models for obesity research. *Dis. Model. Mech.* **9**, 1245-1255.

Benjamin, K. S. (2012) Food Biochemistry and Food Processing, 2. izd., Wiley-Blackwell, Boston.

Berg, J. M., Tymoczko J. L., Stryer, L. (2002) Biochemistry, 5. izd., W. H. Freeman, New York.

Bewick, G. A. (2012) Bowels control brain: gut hormones and obesity. *Biochem. Med.* **22**, 283-297.

- Blackburn, H. (2012) 20th-Century "Medical Marco Polos" in the Origins of Preventive Cardiology and Cardiovascular Disease Epidemiology. *Am. J. Cardiol.* **109**, 756–767.
- Bray, G. A., Heisel, W. E., Afshin., A. (2018) The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr. Rev.* **39**, 79-132.
- Brown, M. D., Lackey, H. D., Miller, T. K., Priest, D. (2001) Controlling Calories – The Simple Approach. *Diabetes Spectr.* **14**, 110-112.
- Buzan, T. (2004) Kako izrađivati mentalne mape, 1. izd., Veble, Zagreb.
- Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (2005) Encyclopedia of Human Nutrition, 2. izd., Academic Press, Oxford.
- Chan, J. M., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Willett, W. C. (1994) Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care.* **17**, 961-969.
- Crowley, V. E. (2008) Overview of human obesity and central mechanisms regulating energy homeostasis. *Ann. Clin. Biochem.* **45**, 245-255.
- de Graaf, A. A., Freidig, A. P., De Roos, B., Jamshidi, N., Heinemann, M., Rullmann, J. A. C., Hall, K. D., Adiels, M., van Ommen, B. (2009) Nutritional systems biology modeling: from molecular mechanisms to physiology. *PLoS. Comput. Biol.* **5**, e1000554.
- Duarte, N. C., Becker, S. A., Jamshidi, N., Thiele, I., Mo, M. L, Vo, T. D., Srivas, R., Pelsson, B. (2007) Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 1777-1782.
- Duff, G. L., McMillan, G. C. (1951) Pathology of atherosclerosis. *Am. J. Med.* **11**, 92–108.
- Elliot, A. J., Fairchild, M. D., Franklin, A. (2015) Handbook of Color Psychology, 1. izd., Cambridge University press. United Kingdom.
- Fernández-Real, J. M., Ricart, W. (2003) Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr. Rev.* **24**, 278-301.
- Furman, B. L. (2015) Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr. Protoc. Pharmacol.* **70**, 5-47.



- Gajdoš Kljusurić, J. (2020) Modeliranje i optimiranje u nutricionizmu, 1. izd., Element, Zagreb.
- Gilbert, J. K. (2004) Models and Modelling: Routes to More Authentic Science Education. *Int. J. Sci. Math. Educ.* **2**, 115–130.
- Gregory, F. (1993) Cause, effect, efficiency and soft systems models. *J. Oper. Res. Soc.* **44**, 333-344.
- Gropper, S. S., Smith, J. L. (2018) Advanced nutrition and human metabolism, 7. izd., Cengage Learning, Boston.
- Haffner, S. M., Knapp, J. A., Hazuda, H. P., Stern, M. P., Young, E. A. (1985) Dietary intakes of macronutrients among Mexican Americans and Anglo Americans: the San Antonio heart study. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 1266-1275.
- Harvey, R. A, Ferrier, D. R. (2011) Biochemistry, 5. izd., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- HLZ (2020) Program PETICA – Što je zdrav tanjur?. HLZ - Hrvatski liječnički zbor, <<https://petica.hr/zdravi-tanjur/>>. Pristupljeno 15. rujna 2020.
- Hrvoj, J., Slišković, A. M., Šimić, I. (2015) Metabolički sindrom i tjelesna aktivnost. *Hrvatski športskomedicinski vjesnik.* **30**, 3-14.
- HZJZ (2019) Hrvatski dan osviještenosti o debljini, 16.03.2019. HZJZ - Hrvatski zavod za javno zdravstvo, <<https://www.hzjz.hr/sluzba-promicanje-zdravlja/hrvatski-dan-osvijestenosti-o-debljini-16-03-2019/>> . Pristupljeno 26. listopada 2020.
- Ibrahim, M. M. (2010) Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes. rev.* **11**, 11-18.
- Ikramuddin, S. (2007) Energy metabolism and biochemistry of obesity. U: Surgical management of Obesity, (Buchwald, H., S.M. Cowan, G., J. Pories, W., ured.), Saunders. Elsevier Inc., Philadelphia, str. 29-33.
- Jebb, S., Wells, J. (2005) Measuring body composition in adults and children. U: Clinical Obesity in Adults and Childrenm, (Kopelman, P.G., Caterson, I.D., Dietz, W.H., ured.), Blackwell Publishing, Oxford, str. 12–28.

- Kershaw, E. E., Flier, J. S. (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2548-2556.
- Keys, A., Grande, F., Anderson, J. T. (1974) Bias and misrepresentation revisited: Perspective" on saturated fat. *Am. J. Clin. Nutr.* **27**, 188–212.
- Keys, A., Menotti, A., Aravanis, C., Blackburn, H., Djorđević, B. S., Buzina, R., Dontas, A. S., Fidanza, F., Karvonen, M. J., Kimura, N., Mohaček, I., Nedeljković, S., Puddu, V., Punsar, S., Taylor, H. L., Conti, S., Kromhout, D., Toshima, H. (1984) The seven countries study: 2,289 deaths in 15 years. *Prev. Med.* **13**, 141-154.
- Keys, A., Taylor, H. L., Blackburn, H., Brozek, J., Anderson, J. T., Simonson, E. (1963) Coronary Heart Disease among Minnesota Business and Professional Men Followed Fifteen Years. *Circulation.* **28**, 381–95.
- Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. K., Baker, R. J., Bloom, S. R., Lechler, R. I. (1998) Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* **394**, 897-901.
- Lustig, R. H. (2008) Which comes first? The obesity or the insulin? The behavior or the biochemistry?. *J Pediatr.* **152**, 601-602.
- Maslarda, D., Uršulin-Trstenjak, N., Bressan, L. (2020) Poremećaj u prehrani–pretilost: prehrambene navike, tjelesna aktivnosti i samoprocjena BMI u Hrvatskoj. *J. Appl. Health sci.* **6**, 83-90.
- Matsuzaki, H., Daitoku, H., Hatta, M., Tanaka, K., Fukamizu, A. (2003) Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 11285-11290.
- McCauley, H. A., Wells, J. M. (2016) Sweet Relief: Reprogramming Gastric Endocrine Cells to Make Insulin. *Cell Stem. Cell.* **18**, 295-297.
- McKimpson, W. M., Accili, D. (2019) Reprogramming cells to make insulin. *J. Endocr. Soc.* **3**, 1214-1226.
- McMillan, D. C., Sattar, N., McArdle, C. S. (2006) ABC of obesity. Obesity and cancer. *BMJ.* **333**, 1109-1111.

- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W. (2003) Harper's illustrated biochemistry, 26. izd., McGraw-Hill Education, New York.
- Nelson, D. L., Cox, M. M. (2004) Lehninger Principles of Biochemistry, 4. izd., W. H. Freeman, New York.
- NICE (2006) Clinical Guideline 43: Obesity – guidance on the prevention, identification, assessment and management of overweight and obesity in adults and children. NICE - National Institute for Health and Clinical Excellence, <<https://www.nice.org.uk/guidance/cg189>>. Pristupljeno 25. kolovoza 2020.
- OpenStax College (2013) Anatomy & physiology, 1. izd., OpenStax [online], <<http://cnx.org/content/col11496/1.8>>. Pristupljeno 25. rujna 2020.
- Pan, A., Hu, F. B. (2011) Effects of carbohydrates on satiety: differences between liquid and solid food. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* **14**, 385-390.
- Prins, J. B. (2002) Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **16**, 639-651.
- Ramos-Vara, J. A. (2005) Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet. Pathol.* **42**, 405-426.
- Rosenbaum, M., Leibel, R. L., Hirsch, J. (1997) Obesity. *N. Engl. J. Med.* **337**, 396-407.
- Schakel, S., Schauer, R., Himes, J., Harnack, L., Van Heel, N. (2008) Development of a glycemic index database for dietary assessment. *J. Food Compos. Anal.* **21**, s50-55.
- Schoeler, M., Caesar, R. (2019) Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **20**, 461-472.
- Schwarz, C. V., Reiser, B. J., Davis, E. A., Kenyon, L., Achér, A., Fortus, D., Shwartz, Y., Hug, B. Krajcik, J. (2009) Developing a learning progression for scientific modeling: Making scientific modeling accessible and meaningful for learners. *J. Res. Sci. Teach.*, **46**, 632-654.
- Schwarz, C. V., White, B. Y. (2005) Metamodeling Knowledge: Developing Students' Understanding of Scientific Modeling. *Cognition Instruct.* **23**, 165-205.
- Serván, P. R. (2013) Obesity and diabetes. *Nutr. Hosp.* **28**, 138-143.

- Sikaris, K. A. (2004) The clinical biochemistry of obesity. *Clin. Biochem. Rev.* **25**, 165.
- Sikaris, K. A. (2007) The clinical biochemistry of obesity—more than skin deep. *Heart Lung Circ.* **16**, s45-50.
- Simmini, S., Bialecka, M., Huch, M., Kester, L., van de Wetering, M., Sato, T., Beck, F., van Oudenaarden, A., Clevers, H., Deschamps, J. (2014) Transformation of intestinal stem cells into gastric stem cells on loss of transcription factor Cdx2. *Nat. Commun.* **5**, 1-10.
- Steinberg, D. (2004) Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy: Part I. *J. Lipid. Res.* **45**, 1583–1593.
- Stepanenko, O. V., Verkhusha, V. V., Kuznetsova, I. M., Uversky, V. N., Turoverov, K. K. (2008) Fluorescent proteins as biomarkers and biosensors: throwing color lights on molecular and cellular processes. *Curr. Protein Pept. Sci.*, **9**, 338-36.
- Varsha, I. (2020) Color Psychology in Marketing: The Color Guide - Understanding Each Color (Resourceful Insights Book 1), 1. izd., Kindle Edition.
- Velíšek, J. (2014) The chemistry of food, 1. izd., Wiley-Blackwell, Chichester.
- Virchow, R. (1856) Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin, 1. izd., Staatsdruckerei Frankfurt, Frankfurt a. M.
- Wang, N., Tian, X, Chen, Y, Tan, H. Q., Xie, P. J., Chen, S. J., Fu, Y. C., Chen, Y. X., Xu, W. C., Wei, C. J. (2017) Low dose doxycycline decreases systemic inflammation and improves glycemic control, lipid profiles, and islet morphology and function in db/db mice. *Sci. Rep.* **7**, 1-15.
- Weiss, R., Caprio, S. (2005) The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **19**, 405-419.
- Wells, J. M., Melton, D. A. (1999) Vertebrate endoderm development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **15**, 393-410.
- WHO (2020) Obesity and overweight. WHO - World Health Organization, <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Pristupljeno 1. kolovoza 2020.
- Wright, S. M., Aronne, L. J. (2012) Causes of obesity. *Abdom. Imaging.* **37**, 730-732.

Zhou, Q., Melton, D. A. (2008) Pathways to new  $\beta$  cells. *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.* **73**, 175-181.

Zhu, Y., Liu, Q., Zhou, Z., Ikeda, I. (2017) PDX1, Neurogenin-3, and MAFA: critical transcription regulators for beta cell development and regeneration. *Stem. Cell Res. Ther.* **8**, 1-7.

Zhukova, E., Afshar, A., Ko, J., Popper, P., Pham, T., Sternini, C., Walsh, J. H. (2001) Expression of the human insulin gene in the gastric G cells of transgenic mice. *Transgenic Res.* **10**, 329-341.

Žmire, J. (2004) Debljina i metabolička inzulinska rezistencija. *Medicus*, **13**, 27-35.

## **IZJAVA O IZVORNOSTI**

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Ime i prezime