

# Analiza računalnog modela metabolizma fruktoze u razvoju nealkoholne masne bolesti jetre

---

**Buljan, Ivona**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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:159:640244>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2023.

Ivona Buljan

**ANALIZA RAČUNALNOG  
MODELA METABOLIZMA  
FRUKTOZE U RAZVOJU  
NEALKOHOLNE MASNE  
BOLESTI JETRE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ane Jurinjak Tušek.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

## ANALIZA RAČUNALNOG MODELA METABOLIZMA FRUKTOZE U RAZVOJU NEALKOHOLNE MASNE BOLESTI JETRE

*Ivona Buljan, univ. bacc. nutr. 0177052849*

**Sažetak:** U području nutricionizma, sistemsko proučavanje bioloških sustava omogućuje bolje razumijevanje utjecaja prehrane na zdravlje. Sistemsko pristupanje prehrani omogućuje personalizirane preporuke temeljene na individualnim potrebama, genetskim čimbenicima i specifičnim metaboličkim odgovorima. U ovom radu je prikazan i analiziran matematički model metabolizma fruktoze u programskom paketu *CellDesigner*. Glavni cilj istraživanja bio je ispitati kako unos različitih obroka, s obzirom na količinu fruktoze, utječe na metabolizam masti povezan s razvojem nealkoholne masne bolesti jetre. Provedene su simulacije modela koristeći različite početne vrijednosti fruktoze pri različitim obrocima (doručak, marendna, ručak, užina i večera). Rezultati ukazuju da povećane koncentracije fruktoze u prehrani doprinose povećanju nakupljanja triglicerida u jetri. Provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti u kojoj su se gliceraldehid-3-fosfat i piruvat pokazali kao najosjetljivije varijable modela. Model uspješno simulira promjenu koncentracije fruktoze i njenih metabolita.

**Ključne riječi:** *metabolizam fruktoze, matematički model, sistemska biologija, CellDesigner*

**Rad sadrži:** 54 stranice, 32 slike, 7 tablica, 57 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Maja Benković (član)
4. doc. dr. sc. Ivana Rumora Samarin (zamjenski član)

**Datum obrane:** 7. srpnja 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Process Engineering**  
**Laboratory for Measurement, Control and Automatization**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### ANALYSIS OF THE COMPUTATIONAL MODEL OF FRUCTOSE METABOLISM IN THE DEVELOPMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

*Ivona Buljan, univ. bacc. nutr. 0177052849*

**Abstract:** In the field of nutrition, the systemic study of biological systems allows for a better understanding of the impact of nutrition on health. A systemic approach to nutrition enables personalized recommendations based on individual needs, genetic factors and specific metabolic responses. This paper presents and analyzes the mathematical model of fructose metabolism in the *CellDesigner* software package. The main goal of the research was to examine how the intake of different meals, with regard to the amount of fructose, affects fat metabolism associated with the development of non-alcoholic fatty liver disease. Model simulations were carried out using different initial values of fructose at different meals (breakfast, brunch, lunch, snack and dinner). The results indicate that increased concentrations of fructose in the diet contribute to increased accumulation of triglycerides in the liver. An analysis of local parametric sensitivity was performed, in which glyceraldehyde-3-phosphate and pyruvate proved to be the most sensitive variables of the model. The model successfully simulates the change in the concentration of fructose and its metabolites.

**Keywords:** *fructose metabolism, mathematical model, systems biology, CellDesigner*

**Thesis contains:** 54 pages, 32 figures, 7 tables, 57 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** PhD, Ana Jurinjak Tušek, Associate professor

#### Reviewers:

1. Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor (president)
2. Ana Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor (mentor)
3. Maja Benković, PhD, Associate professor (member)
4. Ivana Rumora Samarin, PhD, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** July 7<sup>th</sup>, 2023

## Sadržaj:

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA .....	2
2.1.1. Sistemska biologija u nutricionizmu .....	2
2.1.2. Računalno modeliranje .....	4
<b>2.2. NEALKOHOLNA MASNA BOLEST JETRE</b> .....	4
2.2.1. Liječenje nealkoholne masne bolesti jetre .....	6
<b>2.3. FRUKTOZA</b> .....	7
2.3.1. Metabolizam fruktoze.....	8
2.3.2. Prehrambeni unos fruktoze .....	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	12
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	12
3.1.1. <i>CellDesigner</i> .....	12
3.1.2. Model metabolizma fruktoze .....	15
3.1.3. Smjernice za planiranje jelovnika .....	21
<b>3.2. METODE</b> .....	22
3.2.1. Razvoj i simulacija modela metabolizma fruktoze .....	22
3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti .....	22
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	23
<b>4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA FRUKTOZE</b> .....	23
<b>4.2. PRIKAZ JELOVNIKA</b> .....	24
<b>4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA FRUKTOZE</b> .....	29
<b>4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI</b> .....	41
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	48
<b>6. LITERATURA</b> .....	49

# 1. UVOD

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD) je sve češća kronična bolest jetre koja se javlja kod osoba koje konzumiraju malo ili nimalo alkohola. Glavni karakteristični simptom ove bolesti je nakupljanje masnih naslaga u jetri, poznato kao steatoza jetre. Prevalencija NAFLD-a raste diljem svijeta, s procjenama da će do 2030. godine utjecati na oko 30% populacije. Unatoč tome, svijest o ovoj bolesti je ograničena.

Utjecaj prehrane na razvoj NAFLD-a postao je predmet istraživanja, posebno uloga fruktoze. Sistemska biologija, interdisciplinarno istraživačko područje koje uključuje biologe, kemičare, fizičare, matematičare i inženjere, pruža novi pristup proučavanju složenih bioloških sustava kao što je NAFLD. Kroz korištenje višebrojnih molekularnih kvantitativnih mjerenja i matematičkih modela, sistemski biolozi stvaraju holističko razumijevanje različitih sustava, uključujući stanice, organizme i zajednice.

U području nutricionizma, sistemsko proučavanje bioloških sustava omogućuje bolje razumijevanje utjecaja prehrane na zdravlje. Omičke tehnologije poput genomike, transkriptomike, proteomike i metabolomike pružaju dublji uvid u djelovanje hrane na organizam te identificiraju biološki aktivne nutrijente i varijacije među pojedincima. Sistemsko pristupanje prehrani omogućuje personalizirane preporuke temeljene na individualnim potrebama, genetskim čimbenicima i specifičnim metaboličkim odgovorima.

U ovom radu je prikazan i analiziran matematički model metabolizma fruktoze u programskom paketu *CellDesigner*. Glavni cilj istraživanja bio je ispitati kako unos različitih obroka, s obzirom na količinu fruktoze, utječe na metabolizam masti asociran s razvojem NAFLD-a.



## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA

Sistemska biologija interdisciplinarno je istraživačko područje koje obuhvaća zajednički angažman biologa, kemičara, fizičara, matematičara i inženjera. Oni biologiju složenih živih sustava razrješuju putem implementacije višebrojnih molekularnih kvantitativnih mjerenja uz pomoć dobro osmišljenih matematičkih modela. Znanstvenici u sistenskoj biologiji kombiniraju podatke kreirane kroz višestruke omičke pristupe, uglavnom genomiku/transkriptomiku, proteomiku i metabolomiku, da stvore holističko razumijevanje različitih sustava (poput stanica, organizama i zajednica) referirajući se na njihovu adaptaciju, razvoj, rast i napredak do bolesti (Pinu i sur., 2019).

Sistemska biologija daje novi pristup u biologiji; fokusira se na razumijevanje dinamike i strukture sustava, te promatra sustav kao više od samog skupa proteina i gena. Gleda na crtanje dijagrama međusobnih veza svojstava sustava kao važan prvi korak, no nedovoljan za potpuno razumijevanje njegove kompleksnosti (Kitano, 2002). Ona ispunjava praznine koje nedostaju između fiziologije i molekula, pritom otkrivajući kako funkcije kod dinamičkih interakcija nastaju. Odnosno, ona ispituje mehanizme putem kojih, u interakcijama poznatih komponenti, nastaju funkcionalna svojstva (Bruggeman i Westerhoff, 2007).

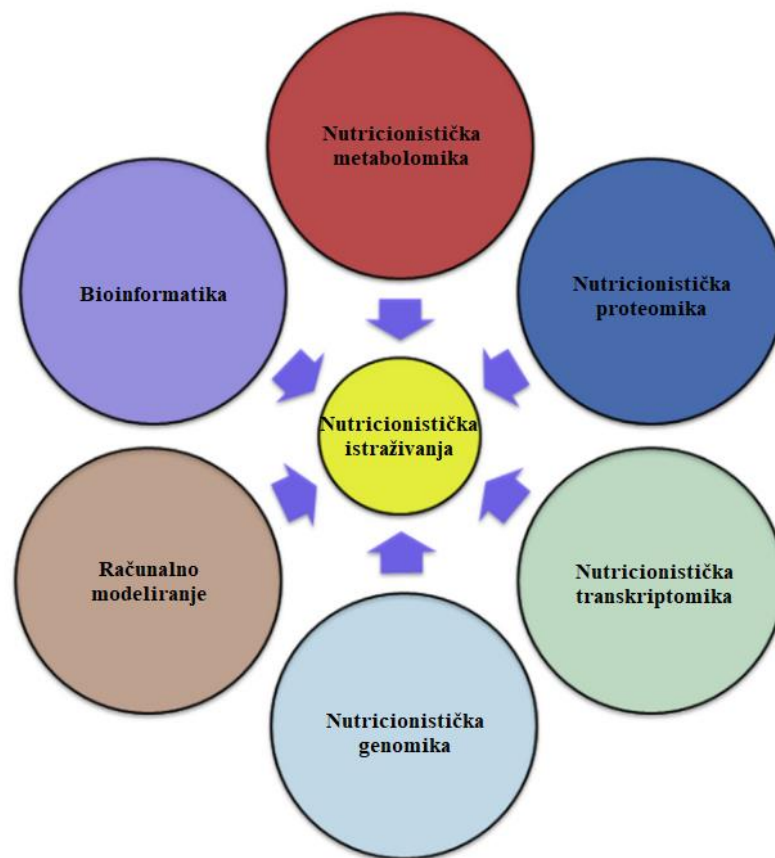
#### 2.1.1. Sistemska biologija u nutricionizmu

Prehrana je za očuvanje zdravlja i prevenciju bolesti najznačajniji okolišni čimbenik. Napredak znanosti i tehnologije u posljednjem desetljeću otvorio je vrata sistenskoj biologiji i njenoj primjeni u nutricionizmu (Badimon i sur., 2016). Sistemska biologija je započela promatranjem pojedinačnih stanica, tkiva te organskih sustava kao bioloških složenih sustava. Brz razvoj tehnologije sekvenciranja i genomike doveo je do otkrivanja osnovnih sastavnica koje tvore sva živa bića (Tavassoly i sur., 2018). Od nedavno svjedočimo uvođenju različitih vrsta omičkih tehnologija u nutricionistička istraživanja (Panagiotou i Nielsen, 2009). Razvoj proteomike, transkriptomike i metabolomike imao je utjecaj na proučavanje učinka hrane na zdravlje, identifikaciju biološki aktivnih nutritivnih spojeva, te razlikovanje osoba koje reagiraju na prehrambenu intervenciju od onih koje ne reagiraju (Badimon i sur., 2016). Na slici 1 dan je prikaz glavnih komponenti sistemske biologije u nutricionizmu.

Transkriptomika daje uvid u sve aktivne gene u određenom trenu u tom uzorku, proteomika kvantificira i karakterizira ekspresiju proteina te identificira posttranslacijske

modifikacije, a metabolomika analizira metabolite, njihov sastav, dinamiku i njihove interakcije, a pri tom pruža najfunkcionalnije podatke od svih omičkih platformi. Metabolomika pruža temeljitu analizu odgovora na prehrambenu intervenciju pojedine osobe i omogućava globalno sustavno razumijevanje utjecaja pojedinih komponenti hrane na zdravlje (Badimon i sur., 2016).

Javnozdravstvene preporuke za pojedince u polju nutricionizma su temeljne na prosječnim podacima o populaciji, no odgovor različitih osoba koji prate te preporuke će se razlikovati zbog složenosti genetskih sustava koji međudjeluju s okolišnim čimbenicima (van Ommen i sur., 2017). Daljnje iskorištenje sistemske biologije u području zdravlja i znanosti o prehrani može donijeti nove prilike usmjerene na individualiziranu i personaliziranu terapiju (Badimon i sur., 2016). Personalizirana prehrana i medicina će u budućnosti sigurno imati velik utjecaj, kako na pojedince, tako i na javno zdravstvo i gospodarstvo (Panagiotou i Nielsen, 2009).



**Slika 1.** Glavne komponente sistemske biologije u nutricionizmu (prema Mc Auley, 2020)

### 2.1.2. Računalno modeliranje

Računalno modeliranje ima integralnu ulogu unutar multidisciplinarnog polja systemske biologije i zato se sve više prepoznaje njegova vrijednost kod poboljšanja razumijevanja složenih putova nutrijenata (Mc Auley i sur., 2013). Systemska biologija je karakterizirana međusobnom sinergijskom komunikacijom između računalnog modeliranja, teorije i eksperimenata (Funahashi i sur., 2008). Danas je dostupno sve više besplatnih softverskih alata za modeliranje pomoću kojih se može sastaviti simulacija dinamičkog sustava različitih hranjivih tvari i zato će računalno modeliranje imati sve veću funkciju u polju nutricionizma (Mc Auley i sur., 2013).

Koristi se jer može kvantitativno prikazati i analizirati međudjelovanje važnih komponenti te zato jer se metaboličke mreže različitih komponenata biokemijskih sustava nutrijenata preklapaju. Također, mnoge od tih interakcija nisu linearne, pa zbog kompleksnosti ovih sustava računalno modeliranje predstavlja alternativnu metodu. Dodatne pozitivne strane računalnog modeliranja su nekorištenje životinja u istraživanjima, smanjenje vremenskih okvira kod istraživanja dugoročnih učinaka i mogućnost predstavljanja patologija povezanih sa starenjem (poput demencije i kardiovaskularnih bolesti). Zbog značajnog napretka brojnih alata računalnog modeliranja koji sada dolaze s grafičkim korisničkim sučeljem, više nije potrebno učiti računalno programiranje i matematiku povezanu s njima; tako da su dostupniji mnogim nutricionistima (Mc Auley i sur., 2013).

Jedan od najvećih izazova s kojim se računalno modeliranje susreće je ograničenje postojećih simulacijskih algoritama. Trenutno niti jedan model ne može prikladno predstaviti brojne interakcije koje se odvijaju, no nedavno je predloženo nekoliko rješenja za ovaj problem (Mc Auley i sur., 2013). Statistička analiza se još uvijek najčešće koristi za analiziranje omičkih skupova podataka velike dimenzionalnosti, no pomoću systemske biologije i računalnog modeliranja počinju se otkrivati mehanički kvantitativni odnosi među mjerenjima tradicionalnih nutricionističkih metoda (indirektne kalorimetrije, metode izotopskog praćenja, procjene sastava tijela i sl.) (de Graaf i sur., 2009).

## 2.2. NEALKOHOLNA MASNA BOLEST JETRE

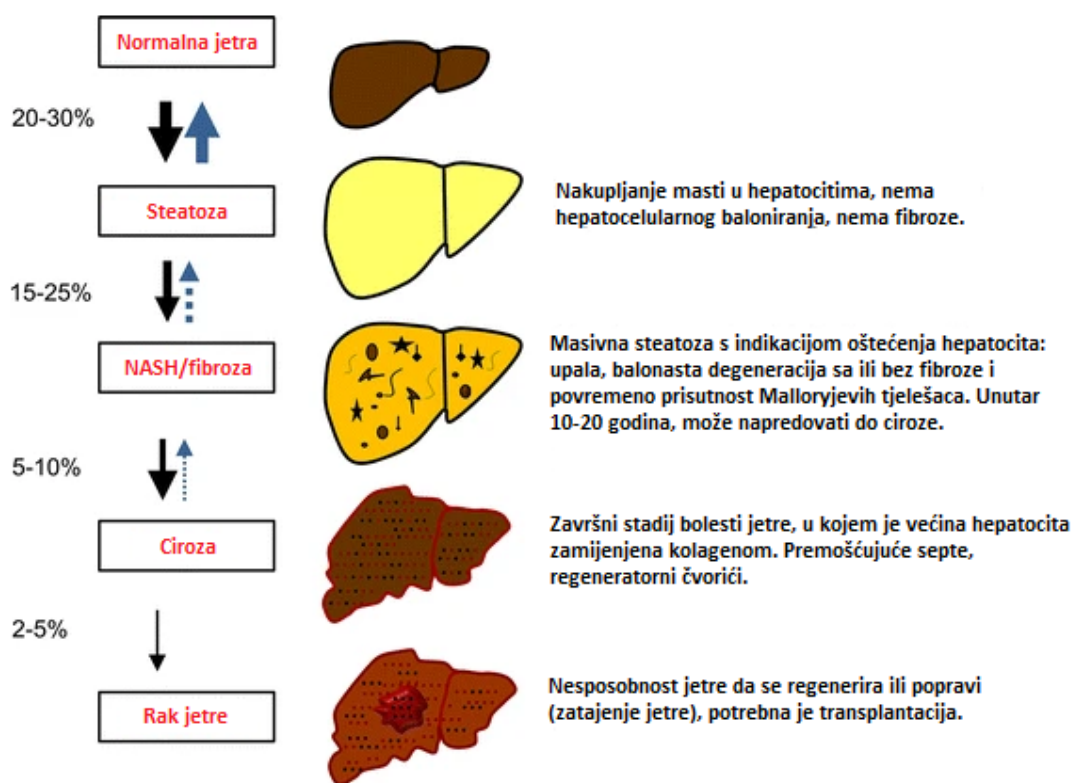
Nealkoholna masna bolest jetre (engl. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD*) najčešća je kronična bolest jetre koju karakterizira > 5 % makrovezikularne steatoze jetre kod

osoba koje konzumiraju malo ili nimalo alkohola (Loomba i Sanyal, 2013). Globalna prevalencija nealkoholne masne bolesti jetre je na oko 25 % i nastavlja rasti diljem svijeta, a procjenjuje se da će do 2030. godine narasti do 30 % (Liao i sur., 2020). Unatoč proširenoj i rastućoj prevalenciji manje od 5 % oboljelih osoba je svjesno svoje bolesti jer su pacijenti često asimptomatski ili imaju nespecifične simptome i zbog ograničene svijesti o NAFLD-u (Cusi i sur., 2022; Rinella i sur., 2022).

NAFLD je pojam koji obuhvaća niz stanja koja imaju različite stope ozbiljnosti ozljede i popratne fibroze te se dijeli na dva glavna podtipa. Pri tom pojam nealkoholna masna jetra (engl. *Non-Alcoholic Fatty Liver, NFL*) označava steatozu jetre bez prisutnog oštećenja hepatocita i predstavlja neprogresivni oblik NAFLD-a koji se rijetko razvije u cirozu. Pojam nealkoholni steatohepatitis (engl. *Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH*) obuhvaća oštećenje i upalu hepatocita s prisutnom pericelularnom fibrozom jetre i označava progresivni oblik NAFLD-a, popraćen velikom opasnošću za razvijanje ciroze jetre.

Osim ciroze jetre, NASH može uzrokovati zatajenje jetre i hepatocelularni karcinom (engl. *Hepatocellular carcinoma, HCC*) (Friedman i sur., 2018). Progresija nealkoholne masne bolesti jetre prikazana je na slici 2. Od ovih stanja reverzibilni su steatoza i NASH, a ireverzibilni fibroza i ciroza (Liao i sur., 2020). Značaj NAFLD-a kod HCC-a i završnog stadija bolesti jetre sve se više povećava i smatra se da će prestići hepatitis C kao najveću indikaciju za transplantaciju jetre (Rinella i Sanyal, 2016).

NAFLD komorbiditeti nisu povezani samo s jetrom, nego je ovo multisistemska bolest koja ima utjecaj na regulacijske putove i ekstrahepatičke organe (Byrne i Targher, 2015). Od štetnih ishoda nepovezanih s jetrom javljaju se kardiovaskularne, dijabetes tipa 2 i zloćudne bolesti (Friedman i sur., 2018). Rizik za razvijanje NASH-a kod osoba s dijabetesom tipa 2 i/ili pretilošću je dva do tri puta veća (Cusi i sur., 2022). Osobe oboljele od NAFLD-a češće umiru od komplikacija povezanih s ekstrahepatičkim bolestima nego od same bolesti jetre (Byrne i Targher, 2015).



**Slika 2.** Progresija nealkoholne masne bolesti jetre (NAFLD-a) s histološkim spektrom i procijenjenom prevalencije stadija bolesti (*prema Alwahsh i Gebhardt, 2017*)

NAFLD se javlja kako u odraslih, tako i kod djece, više pogađa ženski spol; uglavnom u srednjoj životnoj dobi. Dodatni faktori rizika su prekomjerna tjelesna težina, inzulinska rezistencija i aterogena dislipidemija (Bukmir i sur., 2015). Najveći faktor rizika za NAFLD i za NASH koji pojedinac može imati je metabolički sindrom. Povezanost između metaboličkog sindroma i NAFLD-a može biti dvosmjerna; što znači da ne samo da metabolički sindrom povećava rizik od NAFLD-a, već i NAFLD može pospješiti nekoliko obilježja i komorbiditeta metaboličkog sindroma (Friedman i sur., 2018).

### 2.2.1. Liječenje nealkoholne masne bolesti jetre

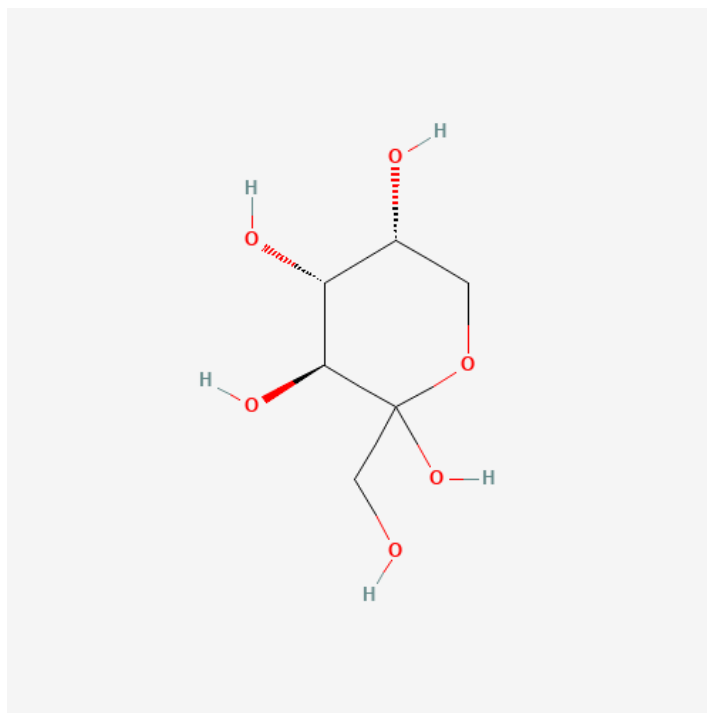
Trenutno ne postoji konsenzus vezan za kirurške zahvate ili farmakološko liječenje NAFLD-a, no međunarodne smjernice preporučuju modifikaciju načina života, prvenstveno smanjenje tjelesne mase uz fizičku aktivnost i zdravu prehranu, kao sastavni dio liječenja NAFLD-a (Raza i sur., 2021). Preporuča se individualizirana hipokalorična prehrana s ograničenim unosom zasićenih masti, dodanih šećera i škroba, poboljšanje obrazaca prehrane

(konzumacija cjelovite i minimalno prerađene hrane) te tjelovježba (Cusi i sur., 2022). Povećani prekidi sjedenja pokazani su kao korisni za reguliranje metabolizma masnih kiselina i metabolizma glukoze te za kontrolu pretilosti (Raza i sur., 2021). Smanjenje masnoće u jetri i kardiometabolička korist primjećuju se već pri gubitku >5 % tjelesne mase, a daljnji gubitak kilograma donosi i veće dobrobiti; gubitak od  $\geq 10$  % tjelesne mase može preokrenuti steatohepatitis ili fibrozu jetre (Cusi i sur., 2022). Kod nekih pacijenata gubitak tjelesne mase dijetom i tjelovježbom može biti težak za postići ili za održati, pa određeni lijekovi za dijabetes i pretilost mogu pomoći oboljelima, kao i barijatrijska kirurgija za smanjenje masnoća u jetri, upalnih markera i za mršavljenje (Cusi i sur., 2022; Raza i sur., 2021).

Identifikacija osoba pod rizikom od razvoja NAFLD-a i NASH-a nije precizna pošto ne postoji primjereno znanje o presudnim patogenim pokretačima ni optimalne *in vitro* ili životinjske modele za imitiranje bolesti (Friedman i sur., 2018). Nadalje, proučavanje *in vivo* modela je skup, dugotrajan i kompliciran proces. Zato je računalni model temeljen na sistemskoj biologiji odlična opcija za detaljniji pregled potencijalnih patofizioloških mehanizama koji su uključeni u razvoj ovih bolesti (Liao i sur., 2020).

### **2.3. FRUKTOZA**

Fruktoza ima i kemijsku formulu  $C_6H_{12}O_6$  i strukturu heksoze, identičnu glukozi. Od nje se razlikuje jer ima na položaju 2 ugljikovog lanca keto skupinu umjesto aldehidne skupine na položaju 1 ugljikovog lanca glukoze. Može biti prisutna kao furanozidni prstenovi i  $\alpha$ - ili  $\beta$ -piranozidni u otopini (Tappy i Lê, 2010). Kemijska struktura fruktoze prikazana je na slici 3.



**Slika 3.** Prikaz kemijske strukture fruktoze

Sama fruktoza je monosaharid, a povezana s glukozom tvori saharozu, poznatiju kao stolni šećer koji je glavni izvor fruktoze u većini zapadnih društava (Johnson i Conforti, 2003; Kohlmeier, 2003). Fruktoza je najsladši šećer i njeni kristali su dvostruko sladi od saharoze, no otapanjem se slatkoća fruktoze smanjuje. Voće čini bogat izvor mono- i disaharida, dok povrće sadrži znatno manje glukoze i fruktoze. Jedan od najvećih izvora fruktoze danas je visoko fruktozni kukuruzni sirup (engl. *High fructose corn syrup, HFCS*) koji uglavnom ima omjer fruktoze i glukoze 1:1, sličan omjeru u saharozu (Tappy i Lê, 2010; Kohlmeier, 2003). HFCS se najviše koristi kao zamjena za konzumni šećer, posebice u konzumnim pićima (Serna Saldivar i Perez-Carrillo, 2016). Iako može nastati endogeno, većina fruktoze kod ljudi unosi se prehranom (Hwang i sur., 2017). U Europi najčešći prehrambeni izvori fruktoze su voćni sokovi, bezalkoholna pića (pića zaslađena šećerom), kolači, voće i mliječni proizvodi (Hengist i sur., 2019).

### 2.3.1. Metabolizam fruktoze

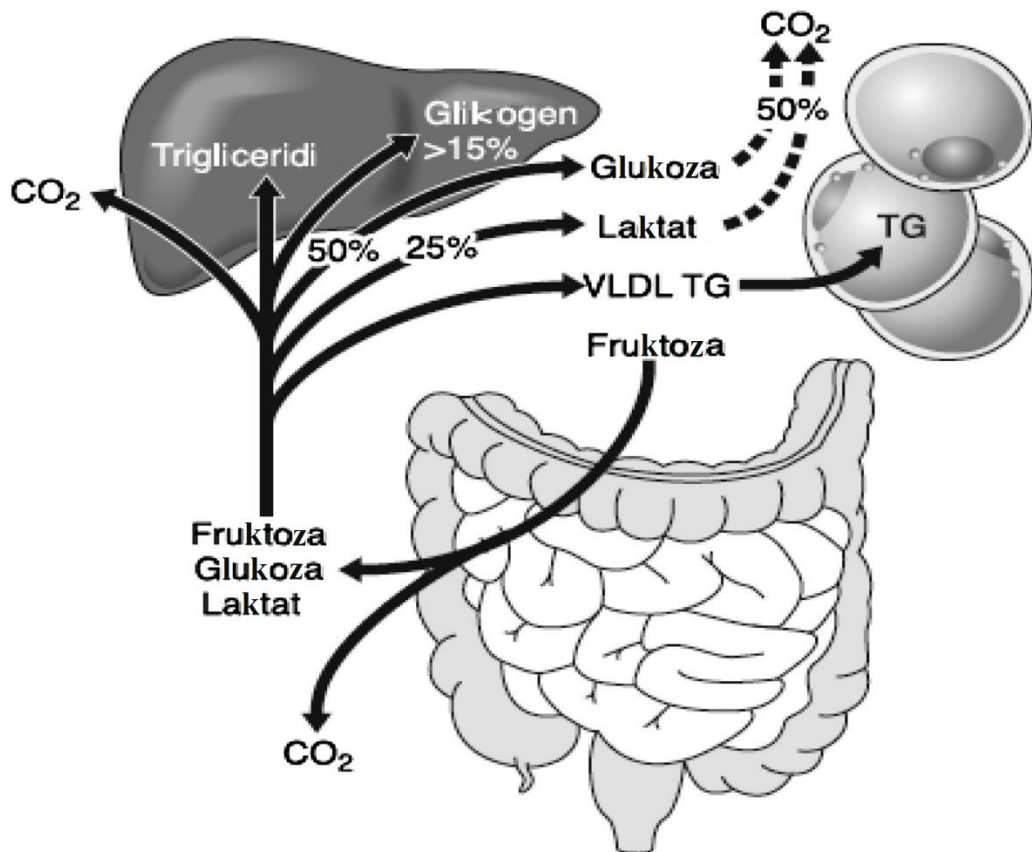
Iako i fruktoza i glukoza imaju sličnu kemijsku formulu, metabolički putevi im se razlikuju i u hepatocitima i u enterocitima. GLUT-5 je transporter koji posreduje apsorpciju fruktoze, izražen je u tankom crijevu, na apikalnoj granici enterocita (Taskinen i sur., 2019). Za razliku od glukoze, ovaj transport nije ovisan o ATP-u i apsorpciji natrija. Nakon ulaska u enterocit, fruktoza putem GLUT-2 posredovanog transporta difundira u krvne žile. Dio

fruktoze, nakon ulaska u enterocit, pretvara se u laktat i otpušta u portalnu cirkulaciju (Tappy i Lê, 2010). Velika količina fruktoze u enterocitima potiče GLUT-5 ekspresiju, pa u kroničnom prekomjernom unosu fruktoze ovaj mehanizam može odgovoriti povećanjem kapaciteta crijeva. Zbog toga se GLUT-5 smatra ključnim regulatorom koncentracije fruktoze unutar portalne vene (Taskinen i sur., 2019).

Fruktozu koja je prisutna u portalnoj krvi vrlo učinkovito i brzo ekstrahira jetra. Transporter glukoze GLUT-2 u jetri upravlja unosom fruktoze (Tappy i Lê, 2010). Iako se i fruktoza i glukoza metaboliziraju glikolitičkim putem, kod fruktoze se zaobilazi enzim koji ograničava brzinu (fosfofruktokinaza) i početni se koraci metabolizma razlikuju (Alwahsh i Gebhardt, 2016). Djelovanjem enzima fruktokinaze, koji je vrlo specifičan za fruktozu, unesena fruktoza se brzo pretvara u fruktoza-1-fosfat, te tako preskače spomenuti regulatorni enzim u glikolizi. Fruktoza-1-fosfat se djelovanjem aldolaze-B metabolizira u dihidroksiaceton fosfat i gliceraldehid. Esencijalni enzim triokinaza fosforilira gliceraldehid u gliceraldehid-3-fosfat. U ovoj fazi spajaju se putovi metabolizma fruktoze i glukoze i postaju isti (Liao i sur., 2020). Gliceraldehid-3-fosfat i drugi fruktolizom dobiveni trioza fosfatni spojevi usmjeravaju se na stvaranje piruvata i acetil-CoA te na lipogenezu. Tako fruktoza ima utjecaj na lipogenezu i na homeostazu glukoze (Taskinen i sur., 2019). Fruktoza je u *de novo* lipogenezi i supstrat i induktor, a moguće je da visok unos fruktoze dovodi do pojačavanja *de novo* lipogeneze i potiskivanja  $\beta$ -oksidacije (Liao i sur., 2020; Jegatheesan i Bandt, 2017). Na *de novo* lipogenezu više ima utjecaj višak ugljikohidrata u prehrani, nego višak masti (Lim i sur., 2010).

Unatoč tome što je na životinjama dokazan utjecaj fruktoze na *de novo* lipogenezu, pitanje je povećava li kod ljudi konzumacija fruktoze *de novo* lipogenezu do te mjere da je uzrok metaboličkim poremećajima (Taskinen i sur., 2019). Kao što je prikazano na slici 4, od egzogeno unesene fruktoze, 50 % se u jetri pretvara u glukoze, 25 % u laktat, 15- 18 % u glikogen, nekoliko posto u ugljikov monoksid, a svega 1- 5 % fruktoze, ovisno o nutritivnim i metaboličkim uvjetima, se pretvara u slobodne masne kiseline (Rippe i Angelopoulos, 2013).





**Slika 4.** Metabolički putevi fruktoze (prema Rippe i Angelopoulos, 2013)

### 2.3.2. Prehrambeni unos fruktoze

Kao i drugi sisavci, ljudi su skloni unošenju prekomjerne količine hrane kada im je ponuđena ukusna hrana, a mnogi preferiraju slatki okus. Prirodna privlačnost prema slatkoj hrani je kod modernog čovjeka uzrokovala znatnu konzumaciju šećera. Može se nagađati da privlačnost čovjeka prema slatkom okusu potječe iz vremena paleolitika, kada je dostupnost škroba bila niska i izvor ugljikohidrata dolazio pretežno iz voća i bobičastog voća. Sve do križarskih ratova i otkrića šećerne trske korištene na Bliskom istoku, kod zapadnih Europljana med je bio glavni zaslađivač i koristio se u ograničenim količinama. Kako su stoljećima šećer i med bili jedini zaslađivači, bili su teško dostupna i skupa roba. Tako je potrošnja šećera ostala niska sve do kraja 18. stoljeća, kada se razvila međukontinentalna trgovina i poboljšala se tehnologija za ekstrakciju i rafiniranje šećera. Tada šećer prestaje biti luksuzan proizvod i postaje popularan. U početku se koristi kao zaslađivač u kavi i čaju, no njegova se upotreba širi i na pripremu novih proizvoda poput slatkiša i pekarskih proizvoda. Između 18. i 19. stoljeća potrošnja šećera u Engleskoj raste za 1500 %, a na prijelazu u 20. stoljeće šećeri dobivaju status jednih od glavnih sastojaka naše prehrane. Sve do 1960-ih, kada prehrambena industrija razvija tehnologiju koja omogućuje proizvodnju zaslađivača iz kukuruza, saharoza je ostala gotovo

isključivi zaslađivač. Na taj način nastao je visokofruktozni sirup koji ima visoku moć zaslađivanja, dug rok trajanja, nisku cijenu i mogućnost dugotrajnog održavanja vlažnosti. Sve to pridonijelo je vrlo brzom povećanju njegove potrošnje nauštrb saharoze, a i ukupnoj potrošnji šećera, koja se povećala za 40 puta u posljednjih 300 godina. Najveći ukupni dio potrošnje fruktoze danas čini konzumacija zaslađenih pića bogatih HFCS-om (Douard i Ferraris, 2012; Tappy i sur., 2010).

Tako se tijekom posljednjih desetljeća u industrijaliziranim zemljama i zemljama u razvoju prehrana uvelike promijenila. Zapadnjački način prehrane karakteriziran je povećanjem ukupnog unosa energije, povećanjem unosa zasićenih masti, rafiniranih ugljikohidrata i zaslađenih pića (He i sur., 2020). Dobro poznat čimbenik rizika za razvoj pretilosti i njenih komplikacija je pretjeran unos dodanih šećera putem zaslađenih pića i visokoprerađenih proizvoda (Inci i sur., 2022). Zaslađena gazirana pića mogu na 330 mL sadržavati i do 40 g šećera (Douard i Ferraris, 2012). U razvijenim zemljama danas, prijavljeni unos slobodnih šećera (uključujući fruktozu) u rasponu je od 40 do 100 g dnevno, što čini otprilike 7-20 % ukupnog energetskog unosa (Hengist i sur., 2019), dok Svjetska zdravstvena organizacija preporuča da unos energije od dodanih šećera ne bude viši od 10 % cjelodnevnog unosa energije. Visok unos dodanih šećera povezuje se s, osim povećanim rizikom od pretilosti, i s povećanim čimbenicima rizika za kardiovaskularne bolesti (KVB), uključujući dijabetes tipa 2, povišeni krvni tlak, dislipidemiju, nealkoholnu masnu bolest jetre, pa čak i kognitivni pad i rak (Rippe i Angelopoulos, 2016).

Iako fruktozu možemo prirodno naći u većim količinama i u koštčavom voću poput jabuka i kruški (oko 6/100 g), bobičastom voću (oko 7,5/100 g), u egzotičnom voću poput šipka i draguna, važno je naglasiti da izvori fruktoze iz voća ne pridonose razvoju gore navedenih stanja zbog svoje niske kalorijske vrijednosti i visokog udjela vlakana, koja mogu usporiti prolazak kroz crijeva, što dovodi do sporijeg oslobađanja fruktoze u crijevnim procesima. To rezultira smanjenim udjelom fruktoze koja izmiče metabolizmu u crijevima i ulazi u jetru (Koene i sur., 2022; Roeb i Weiskirchen, 2021; He i sur., 2020). Ne smijemo zaboraviti da voće, osim vlaknima, obiluje i vitaminima, antioksidansima i flavonoidima, što dodatno neutralizira potencijalne štetne učinke fruktoze. Unos voća se povezuje s smanjenim rizikom od smrtnosti, što podržavaju javnozdravstvene preporuke koje savjetuju povećan unos povrća i voća za prevenciju KVB, raka i preuranjene smrtnosti, a preporuča se unos od 5 serviranja povrća i voća na dan (ne uključujući voćne sokove i krumpir) (Wang i sur., 2021; Aune i sur., 2017).

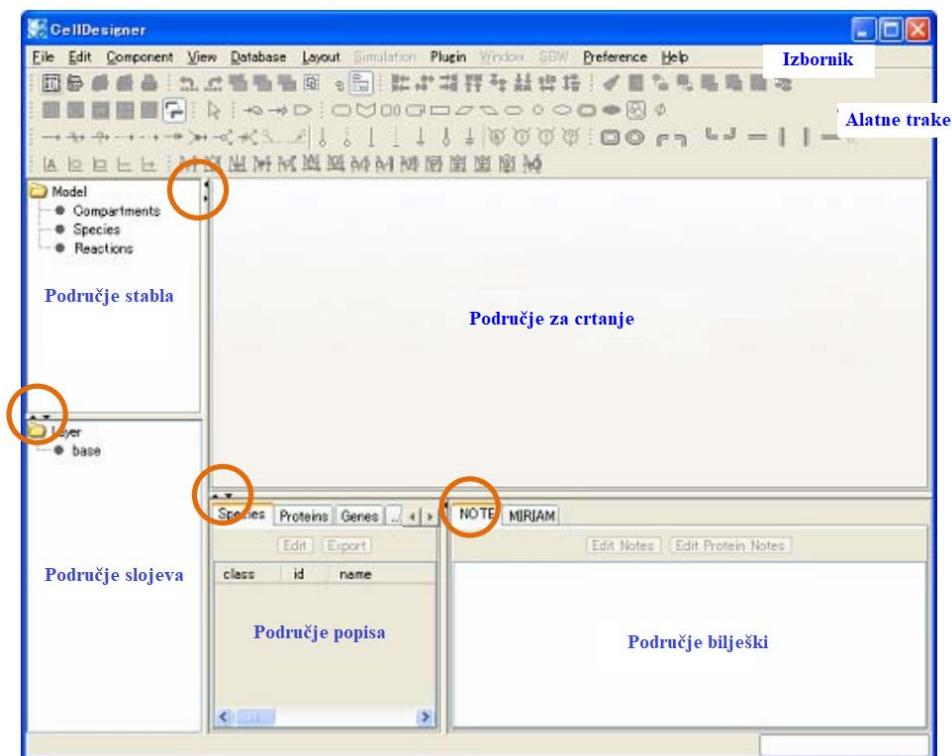
## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. CellDesigner

Za izradu modela metabolizma fruktoze u ovom diplomskom radu korišten je program *CellDesigner 4.4.2* (System Biology Institute, Tokyo, Japan). *CellDesigner* je strukturirani uređivač dijagrama koji se koristi za crtanje biokemijskih i genskih regulatornih mreža. Nacrtane mreže se pohranjuju uz pomoć *Systems Biology Markup Language* (SBML). SBML se smatra standardom za predstavljanje gensko-regulacijskih i biokemijskih mreža. Mreže se mogu povezati sa simulacijom i drugim paketima za analizu putem *Systems Biology Workbench* (SBW) (Funahashi i sur., 2008; Funahashi i sur., 2003).

*CellDesigner* se sastoji od izbornika, alatne trake i pet područja prikazanih na slici 5. Područje za crtanje služi crtanju modela; područje popisa služi za prikaz i uređivanje popisa komponenti i funkcija modela; područje bilješki za prikaz i uređivanje bilješki komponente; područje stabla za prikaz cijelog popisa komponenti u strukturi stabla; a područje slojeva za prikaz svih slojeva modela.

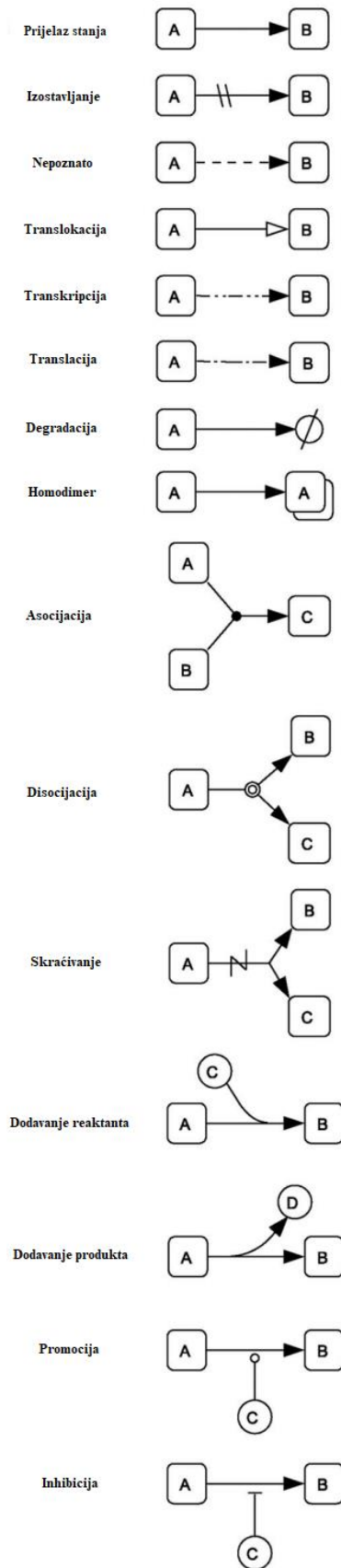


**Slika 5.** Prikaz korisničkog sučelja i navigacije *CellDesignera* (prema CellDesigner.org, 2015)

Pomoću izbornika otvara se nova datoteka kojoj se bira naslov i veličina radne površine. Na radnoj površini se s radom započinje biranjem nove vrste čiji simboli su prikazani na slici 6. Novoj vrsti se daje naziv i moguće ju je pozicionirati po želji na radnoj površini.

Vrste simbola	Modifikacije ostataka
Protein	Fosforilirano (P)
Receptor	Acetilirano (Ac)
Ionski kanal	Ubikvanirano (Ub)
Skrnjeni protein	Metilirano (Me)
Gen	Hidroksilirano (OH)
RNA	Prazno
AntiSense RNA	Nebitno
Fenotip	Nepoznato (?)
Ion	
Jednostavna molekula	
Nepoznato	

**Slika 6.** Vrste simbola i modifikacije ostataka u *CellDesigneru* (prema Funahashi i sur., 2008)



**Slika 7.** Prikaz različitih vrsta reakcija u *CellDesigneru* (prema Funahashi i sur., 2008)

Nakon izbora željenih vrsta one se međusobno povezuju strelicama koje zastupaju reakcije koje se odvijaju i dio kojih je predstavljen na slici 7. Svakoj reakciji dodaje se kinetički izraz uz kinetičke parametre i početne koncentracije. Dobiveni rezultati prikazani su u numeričkom i grafičkom obliku. Završni model se pohranjuje kao SBML dokument.

### 3.1.2. Model metabolizma fruktoze

U ovom radu provedena je analiza matematičkog modela metabolizma fruktoze. Model opisuje metabolički odgovor organizma na obroke s različitim koncentracijama fruktoze, a put metabolizma fruktoze predložen je od strane Liao i sur., 2020.

Model se sastoji od 11 biokemijskih reakcija, zajedno s kinetičkim izrazima, prikazanih u tablici 2. U tablici 1 prikazane su korištene jednadžbe brzine za jetrene varijable, a u tablici 3 prikazane su 53 početne koncentracije varijabli modela.

**Tablica 1.** Jednadžbe brzine za jetrene varijable (prema Liao i sur., 2020)

Varijabla	Skraćenica	Bilanca
Fruktoza	Fru	$\frac{dFru}{dt} = T_{Fru} - \mathbb{R}_{KHK}$
Fruktoza-1-fosfat	F1P	$\frac{dF1P}{dt} = \mathbb{R}_{KHK} - \mathbb{R}_{aldB}$
Dihidroksiaceton fosfat	DHAP	$\frac{dDHAP}{dt} = \mathbb{R}_{aldB} - \mathbb{R}_{TPI_{DHAP}} + \mathbb{R}_{TPI_{GA3P}}$
Gliceraldehid	GA	$\frac{dGA}{dt} = \mathbb{R}_{aldB} - \mathbb{R}_{Tri}$
Gliceraldehid-3-fosfat	GA3P	$\frac{dGA3P}{dt} = \mathbb{R}_{TPI_{DHAP}} - \mathbb{R}_{TPI_{GA3P}} + \mathbb{R}_{Tri} - \mathbb{R}_{PK} + \mathbb{R}_{PEPCK} - \mathbb{R}_{FBP} + \mathbb{R}_{PFK}$
Piruvat/Laktat	Pyr	$\frac{dPyr}{dt} = T_{Lac} + \mathbb{R}_{PK} - \mathbb{R}_{PDC} - \mathbb{R}_{PEPCK}$
Acetil-CoA	ACoA	$\frac{dACoA}{dt} = \mathbb{R}_{PDC} - 8 \mathbb{R}_{FAS} + 8 \mathbb{R}_{boxi}$
Masne kiseline (Palmitat)	FA	$\frac{dFA}{dt} = T_{FFA} + \mathbb{R}_{FAS} - \mathbb{R}_{boxi} - 3 \mathbb{R}_{TGS} + 3 \mathbb{R}_{Lply}$
Trigliceridi	TG	$\frac{dTG}{dt} = T_{TG} + \mathbb{R}_{TGS} - \mathbb{R}_{Lply}$

**Tablica 2.** Popis biokemijskih reakcija i pripadajući kinetički izrazi za brzinu reakcije (prema Liao i sur., 2020)

Ključni enzimi/reakcije	Skraćenica	Kinetički izraz
Fruktokinaza	KHK	$\mathbb{R}_{KHK} = V_{KHK} \cdot \frac{Fru^{nFru}}{Km_{KHK}^{nFru} + Fru^{nFru}} \cdot \frac{ATP^{nATP}}{Km_{ATP}^{nATP} + ATP^{nATP}}$
Aldolaza B	aldB	$\mathbb{R}_{aldB} = V_{aldB} \cdot \frac{F1P^{nF1P}}{Km_{F1P}^{nF1P} + F1P^{nF1P}}$
Trioza fosfat izomeraza	TPI	$\mathbb{R}_{TPI\_DHAP} = V_{TPI\_DHAP} \cdot \frac{DHAP^{nDHAP}}{Km_{DHAP}^{nDHAP} + DHAP^{nDHAP}}$ $\mathbb{R}_{TPI\_GA3P} = V_{TPI\_GA3P} \cdot \frac{GA3P^{nGA3P}}{Km_{TPIGA3P}^{nGA3P} + GA3P^{nGA3P}}$
Triokinaza	Tri	$\mathbb{R}_{Tri} = V_{Tri} \cdot \frac{GA^{nGA}}{Km_{GA}^{nGA} + GA^{nGA}} \cdot \frac{ATP_{Mg^{2-}}^{nATP_{Mg^{2-}}}}{Km_{ATP_{Mg^{2-}}}^{nATP_{Mg^{2-}}} + ATP_{Mg^{2-}}^{nATP_{Mg^{2-}}}}$ $\cdot \left(1 - \beta_{ATP} \frac{ATP}{K_i^{ATP} + ATP}\right) \cdot \left(1 - \beta_{ADP} \frac{ADP}{K_i^{ADP} + ADP}\right)$
Piruvat kinaza	PK	$\mathbb{R}_{PK} = V_{PK} \cdot \frac{GA3P^{nGA3P}}{Km_{GA3P}^{nGA3P} + GA3P^{nGA3P}} \cdot \frac{ADP^{nADPpk}}{Km_{ADPpk}^{nADPpk} + ADP^{nADPpk}}$ $\cdot \left(1 - \beta_{ACoA-PK} \frac{ACoA}{K_i^{ACoA-PK} + ACoA}\right)$
Fosfoenolpiruvat karboksikinaza	PEPCK	$\mathbb{R}_{PEPCK} = V_{PEPCK} \cdot \frac{Pyr}{K_m^{PEPCK} + Pyr} \cdot \frac{ATP}{K_m^{ATPpepck} + ATP} \cdot \frac{GTP}{K_m^{GTP} + GTP}$

**Tablica 2.** Popis biokemijskih reakcija i pripadajući kinetički izrazi za brzinu reakcije (prema Liao i sur., 2020)- nastavak

Oksidacija piruvata	PDC	$\mathbb{R}_{PDC} = V_{PDC} \cdot \frac{Pyr}{K_m^{Pyr} + Pyr} \cdot \left( 1 - \beta_{ACoA-PDC} \frac{ACoA}{ACoA + k_i^{CoA-pyr}} \right)$
Sinteza masnih kiselina	FAS	$\mathbb{R}_{FAS} = V_{FAS} \cdot \frac{ACoA}{K_m^{ACoA} + ACoA} \cdot \frac{ATP}{K_m^{ATPfas} + ATP} \cdot \left( 1 - \beta_{FA} \frac{FA}{FA + k_i^{FA-inhib}} \right)$
Beta-oksidacija	boxi	$\mathbb{R}_{boxi} = V_{boxi} \cdot \frac{FA}{K_m^{boxi} + FA} \cdot \frac{ATP}{K_m^{ATPboxi} + ATP} \cdot \left( 1 - \beta_{boxi} \frac{ACoA}{ACoA + k_i^{CoA-boxi}} \right) \cdot \left( 1 - \beta_{PPAR\alpha} \frac{F1P}{F1P + k_i^{F1P-inhib}} \right)$
Sinteza triglicerida	TGS	$\mathbb{R}_{TGS} = V_{TGS} \cdot \frac{FA}{K_m^{FA} + FA} \cdot \frac{GA3P}{K_m^{TGSGA3P} + GA3P}$
Lipoliza	Lply	$\mathbb{R}_{Lply} = V_{Lply} \cdot \frac{TG}{K_m^{TG} + TG}$

**Tablica 3.** Početne koncentracije varijabli modela (prema Liao i sur., 2020)

Varijabla	Oznaka	Početne vrijednosti
Koncentracija fruktoze u hepatocitima	[Fru]	30 $\mu$ M
Koncentracija fruktoza-1- fosfata u hepatocitima	[F1P]	0,2 $\mu$ M
Koncentracija dihidroksiceton fosfata u hepatocitima	[DHAP]	15 $\mu$ M
Koncentracija gliceraldehida u hepatocitima	[GA]	1500 $\mu$ M
Koncentracija gliceraldehid-3- fosfata u hepatocitima	[GA3P]	480 $\mu$ M
Koncentracija piruvata u hepatocitima	[Pyr]	1200 $\mu$ M



**Tablica 3.** Početne koncentracije varijabli modela (prema Liao i sur., 2020)- nastavak

Koncentracija acetil-CoA u hepatocitima	[ACo-A]	40 $\mu\text{M}$
Koncentracija masnih kiselina hepatocitima	[FA]	50 $\mu\text{M}$
Koncentracija triglicerida hepatocitima	[TG]	1050 $\mu\text{M}$

**Tablica 4.** Vrijednosti kinetičkih parametara modela (prema Liao i sur., 2020)

Parametar	Oznaka	Početna vrijednost
Mihaelis-Menten konstanta za fruktozu u brzini pretvorbe fruktoze u fruktozu-1-fosfata	$Km_{KHK}$	800 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za ATP u brzini pretvorbe fruktoze u fruktozu-1-fosfata	$Km_{ATP}$	1430 $\mu\text{M}$
Brzina pretvorbe fruktoze u fruktoza-1-fosfat	$V_{KHK}$	4,5 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za fruktoza-1-fosfat u brzini pretvorbe fruktoza-1-fosfata u dihidroksiaceton fosfat i gliceraldehid	$Km_{F1P}$	230 $\mu\text{M}$
Brzina pretvorbe fruktoza-1-fosfata u dihidroksiaceton fosfat i gliceraldehid	$V_{aldB}$	1,7 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za dihidroksiaceton fosfat u brzini pretvorbe dihidroksiaceton fosfata u gliceraldehid-3-fosfat	$Km_{DHAP}$	590 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za gliceraldehid-3-fosfat u brzini pretvorbe gliceraldehid-3-fosfata u dihidroksiaceton fosfat	$Km_{TPIGA3P}$	400 $\mu\text{M}$
Brzina pretvorbe dihidroksiaceton fosfata u gliceraldehid	$V_{TPI\_DHAP}$	2,7 $\mu\text{M/s}$

**Tablica 4.** Vrijednosti kinetičkih parametara modela (prema Liao i sur., 2020)- nastavak 1

Parametar	Oznaka	Početna vrijednost
Brzina pretvorbe gliceraldehida u dihidroksiaceton fosfat	$V_{TPI\_GA3P}$	0,05 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za gliceraldehid u brzini pretvorbe gliceraldehida u gliceraldehid-3-fosfat	$Km_{GA}$	18 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za $\text{ATP}_{\text{Mg}^{2-}}$ u brzini pretvorbe gliceraldehida u gliceraldehid-3-fosfat	$Km_{\text{ATP}_{\text{Mg}^{2-}}}$	770 $\mu\text{M}$
Konstanta inhibicije za ATP u brzini pretvorbe gliceraldehida u gliceraldehid-3-fosfat	$K_i^{\text{ATP}}$	380
Konstanta inhibicije za ADP u brzini pretvorbe gliceraldehida u gliceraldehid-3-fosfat	$K_i^{\text{ADP}}$	1100
Brzina pretvorbe gliceraldehida u gliceraldehid-3- fosfat	$V_{Tri}$	16,7 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za gliceraldehid-3-fosfat u brzini pretvorbe gliceraldehid-3-fosfata u piruvat	$Km_{GA3P}$	250 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za ADP u brzini pretvorbe gliceraldehid-3-fosfata u piruvat	$Km_{\text{ADPpk}}$	240 $\mu\text{M}$
Konstanta inhibicije piruvat kinaze djelovanjem acetil koenzima A	$K_i^{\text{ACoA-PK}}$	30
Faktor pretvorbe piruvat u acetil koenzim A djelovanjem piruvat kinaze	$\beta_{\text{ACoA-PK}}$	0,8
Brzina pretvorbe gliceraldehid-3-fosfata u piruvat	$V_{PK}$	87 $\mu\text{M/s}$

**Tablica 4.** Vrijednosti kinetičkih parametara modela (prema Liao i sur., 2020)- nastavak 2

Parametar	Oznaka	Početna vrijednosti
Mihaelis-Menten konstanta za piruvat u brzini pretvorbe piruvata u gliceraldehid-3-fosfat	$K_m^{PEPCK}$	500 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za ATP u brzini pretvorbe piruvata u gliceraldehid-3-fosfat	$K_m^{ATPpepck}$	10 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za GTP u brzini pretvorbe piruvata u gliceraldehid-3-fosfat	$K_m^{GTP}$	64 $\mu\text{M}$
Brzina pretvorbe piruvata u gliceraldehid-3-fosfat	$V_{PEPCK}$	35 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za piruvat u brzini pretvorbe piruvata u acetil Co-A	$K_m^{Pyr}$	540 $\mu\text{M}$
Konstanta inhibicije oksidacije piruvata djelovanjem acetil Co-A	$k_i^{CoA-pyr}$	35
Faktor pretvorbe piruvata u acetil Co-A	$\beta_{ACoA-PDC}$	1
Brzina pretvorbe piruvata u acetil Co-A	$V_{PDC}$	15 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za acetil Co-A u brzini pretvorbe acetil Co-A u masne kiseline	$K_m^{ACoA}$	58 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za ATP u brzini pretvorbe acetil Co-A u masne kiseline	$K_m^{ATPfas}$	120 $\mu\text{M}$
Faktor potrošnje masnih kiselina	$\beta_{FA}$	1
Konstanta inhibicije sinteze masnih kiselina djelovanjem masnih kiselina	$k_i^{FA-inhib}$	300
Brzina pretvorbe acetil Co-A u masne kiseline	$V_{FAS}$	4 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za masne kiseline u brzini pretvorbe masnih kiselina u acetil Co-A	$K_m^{boxi}$	5 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za ATP u brzini pretvorbe masnih kiselina u acetil Co-A	$K_m^{ATPboxi}$	87 $\mu\text{M}$
Konstanta inhibicije beta oksidacije djelovanjem acetil Co-A	$k_i^{CoA-boxi}$	47,8
Konstanta inhibicije beta oksidacije djelovanjem fruktoze-1-fosfat	$k_i^{F1P-inhib}$	100

**Tablica 4.** Vrijednosti kinetičkih parametara modela (prema Liao i sur., 2020)- nastavak 3

Parametar	Oznaka	Početna vrijednosti
Faktor potrošnje acetil Co-A	$\beta_{boxi}$	0,4
Faktor potrošnje fruktoze-1-fosfat	$\beta_{PPAR\alpha}$	1
Brzina beta oksidacije	$V_{boxi}$	3,3 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za masne kiseline u brzini pretvorbe masnih kiselina u trigliceride	$K_m^{FA}$	645 $\mu\text{M}$
Mihaelis-Menten konstanta za gliceraldehid-3-fosfat u sintezi triglicerida	$K_m^{TGS\text{GA}3P}$	460 $\mu\text{M}$
Brzina pretvorbe masnih kiselina u trigliceride	$V_{TGS}$	10 $\mu\text{M/s}$
Mihaelis-Menten konstanta za trigliceride u brzini lipolize	$K_m^{TG}$	50715 $\mu\text{M}$
Brzina lipolize	$V_{Lply}$	0,085 $\mu\text{M/s}$

### 3.1.3. Smjernice za planiranje jelovnika

Za potrebe ovog rada napravljena su 3 različita jelovnika: jelovnik s niskim unosom fruktoze (<25 g/dan), jelovnik sa srednjim unosom fruktoze (25-40 g/dan) i jelovnik s vrlo visokim unosom fruktoze (<100 g/dan). Dnevni energetske unos jelovnika iznosi 2200 kcal ( $\pm 100$  kcal). Uz svaki obrok napisana je ukupna količina makronutrijenata i količina fruktoze. Za planiranje obroka i izračun količine fruktoze korištene su USDA (eng. *The United States Department of Agriculture, USDA*) baza namirnica i USDA baza nutrijenata.

Za jelovnik s niskim unosom fruktoze i za jelovnik sa srednjim unosom fruktoze praćene su prehrambene smjernice za opću populaciju, dok se jelovnik s visokim unosom fruktoze bazirao na namirnicama koje sadrže visok udio fruktoze.

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Razvoj i simulacija modela metabolizma fruktoze

U računalnom programu *CellDesigner* napravljen je model i provedena simulacija metabolizma fruktoze prema modelu iz rada Liao i sur., 2020. Nakon provedbe simulacije, analizirane su promjene koncentracija fruktoze, fruktoza-1-fosofata, masnih kiselina i triglicerida nakon obroka različitih početnih koncentracija fruktoze.

### 3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti

Analiza osjetljivosti je tehnika koja utvrđuje kako se oscilacije u izlazima matematičkog modela mogu razdijeliti na varijacije u ulazima tog matematičkog modela (Zi, 2011). Podaci prikupljeni o biološkim sustavima su nesigurni zbog njihove stohastičke prirode i jer imaju velik broj slobodnih parametara, koji onda mogu utjecati na samo ponašanje i na konačno tumačenje modela (Qian i Mahdi, 2020). Zato se, za utvrđivanje točnosti računalnih i matematičkih modela bioloških sustava, može koristiti analiza lokalne parametarske osjetljivosti. Kod analize lokalne parametarske osjetljivosti gledaju se svi parametri modela i procjenjuje se koji od njih imaju najveći utjecaj na rezultat i tako na svojstva stvarnog sustava (Marino i sur., 2018). Matematički definirana, analiza lokalne parametarske osjetljivosti sastoji se od derivacija prvog reda izlaznih podataka modela u odnosu na parametre modela (Zi, 2011).

Relativna osjetljivost izlaznih varijabli se izračunava prema jednadžbama 1 i 2, gdje  $S_{X/i}$  predstavlja koeficijent osjetljivosti,  $k_i$  je vektor koncentracija,  $c_x$  je vektor parametara sustava, a  $\partial c_x / \partial k_i$  je koeficijent lokalne osjetljivosti prvog reda. Parametar  $a$  ima vrijednosti od 0,03.

$$S_{X/i} = \frac{k_i}{c_x} \cdot \frac{\partial c_x}{\partial k_i} \cdot 100 \% \approx \frac{k_i \cdot \Delta c_x}{c_x \cdot \Delta k_i} \cdot 100 \% [1]$$

$$S_{X/i} = \frac{k_i}{c_x} \cdot \frac{c_x \cdot (1,01 \cdot (1+a)) - c_x \cdot k_i}{a \cdot k_i} \cdot 100 \% [2]$$

U ovom radu provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti po principu promjene vrijednosti svakog pojedinačnog ulaznog parametra, dok su vrijednosti drugih parametara ostale konstantne. Nakon toga, promatrao se utjecaj provedene promjene na izlazne rezultate u simulaciji matematičkog modela. Svaki od 56 kinetičkih parametara uvećan je i smanjen pojedinačno za 3 %, a izmjerene su vrijednosti varijabli modela i brzina reakcija nakon simulacije provedene u trajanju od 2 sata. Dobiveni rezultati obrađeni su u *MS Excel 365* (Microsoft, Redmond, Washington, SAD).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Nakon simulacije modela metabolizma fruktoze unutar programa *CellDesigner* promatrana je promjena koncentracije fruktoze, fruktoza-1-fosfata, masnih kiselina i triglicerida u jetri u vremenskom razdoblju od 120 minuta (2 sata).

Fruktoza-1-fosfat je metabolit koji nastaje iz fruktoze prijenosom jedne fosfatne skupine ATP-a, djelovanjem fruktokinaze, enzima karakterističnog za ljudski metabolizam fruktoze. Za razliku od fosforilacije glukoze, ovaj enzim nije regulatorni, što znači da, kada je dovoljno fruktoze prisutno, nastaje značajna količina fruktoza-1-fosfata. Uz to, ovaj enzim je oko 10 puta brži od glukokinaze u fosforilaciji. Ovaj metabolit je iz razloga svog mogućeg velikog i brzog nastajanja, praćen u ovom radu.

Pošto se visoka konzumacija fruktoze povezuje s razvojem NAFLD-a preko putova koji uključuju inhibiciju beta oksidacije, pojačavanje *de novo* lipogeneze i olakšavanje sinteze triglicerida, kao metaboliti za praćenje u ovom radu izabrane su i masne kiseline i trigliceridi, najvažniji pokazatelji koji odražavaju nakupljanje lipida u jetri.

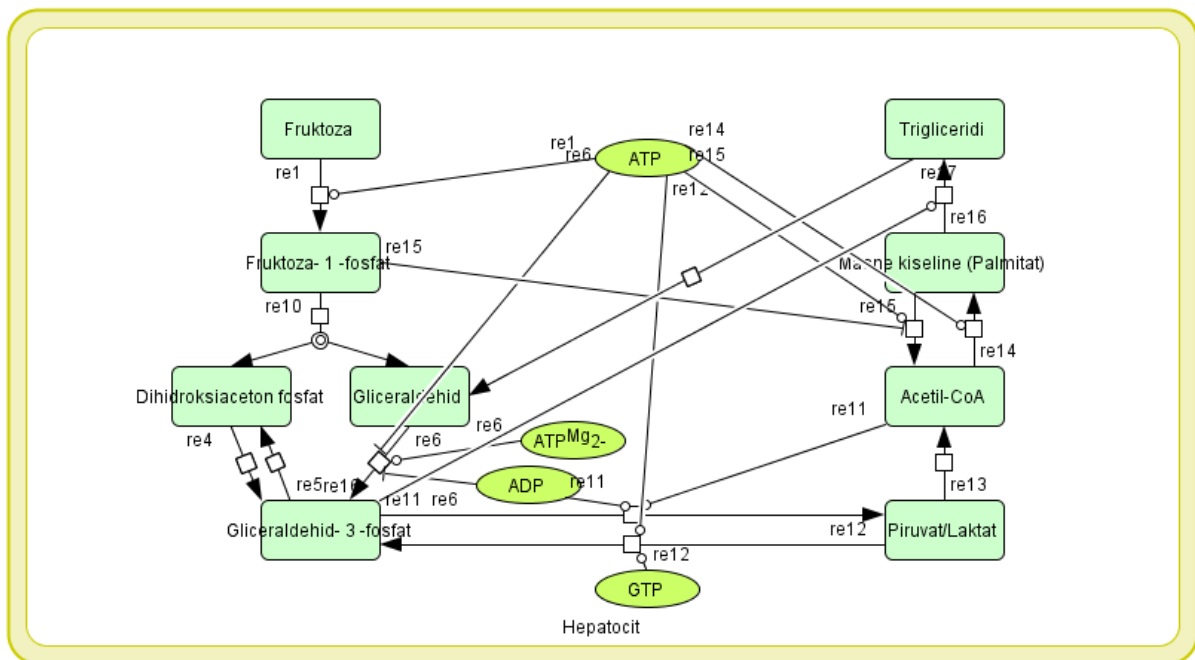
Koncentracije navedenih metabolita promatrane su nakon svakoga obroka iz 3 jelovnika u okviru ovog diplomskog rada, koji se razlikuju po ukupnoj količini fruktoze koju sadrže. Rezultati su prikazani na grafovima u obliku krivulja za svaki metabolit u pojedinačnom obroku, a nalaze se na slikama 9-28.

Osim simulacije modela metabolizma fruktoze, izvršena je i analiza lokalne parametarske osjetljivosti kako bi se utvrdili ključni kinetički parametri modela. Ispitan je utjecaj povećanja i smanjenja pojedinačnih parametara za 3 %, kao i utjecaj povećanja i smanjenja brzina reakcija za 3 %. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 29-32.

### 4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA FRUKTOZE

Model metabolizma fruktoze korišten u ovom radu konstruiran je u računalnom programu *CellDesigner* 4.2.2. Grafički prikaz razvijenog modela prikazan je na slici 8. Model je kinetički i razvijen je na temelju modificiranih Michaelis-Menten i Hillovih jednadžbi, a sastoji se od 11 biokemijskih reakcija i 56 kinetičkih parametara koje se nalaze u tablicama 2 i 4. Fokus u ovom radu je metabolizam hepatocita, pošto se metaboličke aktivnosti fruktoze odvijaju najvećim dijelom u jetrenom parenhimu. U model su uključena tri specijalizirana

enzima za metabolizam fruktoze: fruktokinaza, aldolaza B i triokinaza. Kako postoje dokazi da visoka konzumacija fruktoze može poticati *de novo* lipogenezu, suzbiti razgradnju masnih kiselina i olakšati sintezu triglicerida, u modelu su obuhvaćeni i ovi metabolički putovi. Iako nisu uključene sve postojeće komponente jetrenog metabolizma, ključni metaboliti poput piruvata, acetil-CoA, masnih kiselina i triglicerida odabrani su za praćenje i prilagodbu parametara modela. Ovi metaboliti su odabrani jer su identificirani kao najčešći intermedijeri i krajnji metaboliti metabolizma ugljikohidrata povezanog s nakupljanjem lipida. Također, oni se mogu procijeniti u kliničkim eksperimentima, pa njihovo korištenje dopušta mogućnost prilagođavanja i provjere relevantnih parametara. Premda je stvarnost biokemijskih reakcija kompleksnija, enzimi koji su izabrani u modelu pojednostavljuju procese iz ljudskog tijela i pružaju relevantne informacije o stvarnim brzinama reakcija (Liao i sur., 2020).



**Slika 8.** Matematički model metabolizma fruktoze u programu *CellDesigner*

#### 4.2. PRIKAZ JELOVNIKA

U ovom radu osmišljena su 3 jelovnika koja se razlikuju po ukupnoj količini fruktoze i koji imaju energetska vrijednost od 2200 kcal ( $\pm 100$  kcal). Svaki jelovnik sastoji se od 5 obroka: doručka, marende, ručka, užine i večere. Jelovnici 1 i 2 pisani su po prehranbenim smjernicama

za odraslu populaciju izdanim od strane WHO-a (eng. *World Health Organisation*). WHO preporuča:

- redoviti unos voća, povrća, mahunarki, orašastih plodova i cjelovitih žitarica,
- pet porcija voća i povrća na dan,
- unos iz slobodnih šećera manji od 10 % ukupnog energetskeg unosa (što je ekvivalentno 50 g za osobu zdrave tjelesne mase koja unosi oko 2000 kalorija dnevno), ali idealno je manje od 5 % ukupnog energetskeg unosa za dodatne zdravstvene dobrobiti ,
- manje od 30 % ukupnog energetskeg unosa iz masti, a pri tom su nezasićene masti poželjnije od zasićenih i trans masti. Predlaže se smanjiti unos zasićenih masti na manje od 10 % ukupnog energetskeg unosa i trans masti na manje od 1 % ukupnog energetskeg unosa.
- Manje od 5 g unosa soli na dan.

Jelovnik 3 ne prati WHO-ove prehrambene smjernice za odraslu populaciju i pisan je isključivo s fokusom na namirnice bogate fruktozom. Primjer je zapadnjačke prehrane koju karakterizira nedostatak voća i povrća te visok unos masti i natrija. Ova dijeta često uključuje velike porcije hrane s visokim sadržajem kalorija i viškom šećera. Više od 13% dnevnog unosa kalorija dolazi iz šećera koji se nalazi u pićima, što čini 47% ukupnog dodanog šećera. Ostali izvori dodanog šećera uključuju kolače, kekse i slatkiše. Pretilost je sve češća zbog zapadnjačke prehrane koja se prakticira posljednjih desetljeća. Pretili osobe imaju povećan rizik od razvoja komorbiditeta poput dijabetesa, kardiovaskularnih problema i raka (Rakhra i sur., 2020).

Jelovnik 1 prikazan u tablici 4 osigurava unos od 2133,6 kcal i sadrži 212,4 g ugljikohidrata (39,2 %), 134 g masti (24,7 %) i 86,9 g bjelančevina (36,1 %). Ovaj jelovnik predstavlja niski unos fruktoze na dan i sadrži 12,8 g fruktoze.

Jelovnik 2 prikazan je u tablici 5, osigurava unos od 2237,6 kcal i sadrži 255,5 g ugljikohidrata (44,8 %), 120 g masti (21 %) i 86,8 g bjelančevina (34,2 %). Ovaj jelovnik predstavlja srednji unos fruktoze na dan i sadrži 34,2 g fruktoze.

Jelovnik 3 prikazan je u tablici 6 osigurava 2245,5 kcal i sadrži 325,5 g ugljikohidrata (56,4 %), 89,4 g masti (15,5 %) i 72,1 g bjelančevina (28,1 %). Ovaj jelovnik predstavlja visoki unos fruktoze i sadrži 100,3 g fruktoze.



**Tablica 4.** Jelovnik s niskim unosom fruktoze

JELOVNIK 1			
OBROK	NAZIV JELA	SASTOJCI	FRUKTOZA
<i>doručak</i>	tortilja s jajima i špinatom	tortilja, integralna (45 g) jaje, cijelo (94 g) maslac (5 g) špinat (50 g) sir, svježi, smanjenog udjela masti (30 g) jogurt (200 g)	0,25 g
<i>marenda</i>	kruh s kikiriki maslacem i bananom	kruh, integralni, tost (25 g) kikiriki maslac (13,3 g) banana (154 g)	7,8 g
<i>ručak</i>	tjestenina s piletinom i gljivama	tjestenina, integralna (60 g) piletina, bijelo meso (150 g) gljive, šampinjoni (250 g) vrhnje za kuhanje, 10 % m.m. (200 g) ulje, maslinovo (10 g)	0,49 g
<i>užina</i>	orašasti plodovi i voće	bademi (13,5 g) naranča (176 g)	4,2 g
<i>večera</i>	oslić i rizi-bizi	oslić (150 g) riža, bijela (60 g) grašak (100 g) ulje, maslinovo (5 g)	0,1 g
UKUPNI ENERGETSKI UNOS			<b>2133,6 kcal</b>
ENERGETSKI UDIO MAKRONUTRIJENATA			<b>39,2 % UH</b> <b>(ugljikohidrata)</b> <b>24,7 % M</b> <b>(masti)</b> <b>36,1 % P</b> <b>(proteina)</b>
UKUPNA KOLIČINA FRUKTOZE			<b>12,8 g</b>

**Tablica 5.** Jelovnik sa srednjim unosom fruktoze

<b>JELOVNIK 2</b>			
<b>OBROK</b>	<b>NAZIV JELA</b>	<b>SASTOJCI</b>	<b>FRUKTOZA</b>
<i>doručak</i>	slatka granola	granola (40 g) jogurt, grčki (150 g) maline (100 g) med (8 g) lanene sjemenke (9 g) cijedeći sok od naranče (200 g)	13,1 g
<i>marenda</i>	kruh s marmeladom	kruh, integralni, tost (50 g) marmelada (40 g)	6,3 g
<i>ručak</i>	losos s keljom i krumpirom	krem juha od špinata (250g) losos (150 g) kelj (150 g) krumpir (150 g) ulje, maslinovo (10 g)	1,8 g
<i>užina</i>	orašasti plodovi i voće	sladoled, vanilija (100 g) čokoladno mlijeko (200g)	11 g
<i>večera</i>	puretina i kvinoja s povrćem	Puretina, bijelo meso (150 g) kvinoja (50 g) paprika (50 g) mrkva (50 g) tikvica (50 g) luk, crveni (50 g) ulje, maslinovo (10 g)	2 g
UKUPNI ENERGETSKI UNOS			<b>2237,6 kcal</b>
ENERGETSKI UDIO MAKRONUTRIJENATA			<b>44,8 % UH</b> <b>21 % M</b> <b>34,2 % P</b>
UKUPNA KOLIČINA FRUKTOZE			<b>34,2 g</b>

**Tablica 6.** Jelovnik s visokim unosom fruktoze

<b>JELOVNIK 3</b>			
<b>OBROK</b>	<b>NAZIV JELA</b>	<b>SASTOJCI</b>	<b>FRUKTOZA</b>
<i>doručak</i>	kukuruzne pahuljice	kukuruzne pahuljice (40 g) mlijeko (200 g) kruška (130 g) sok od grožđa, 100 % (200 g)	26,9 g
<i>marenda</i>	kroasan i voće	kroasan (50 g) mango (100 g)	4 g
<i>ručak</i>	Burger King menu	Whopper burger (270 g) Burger King side salata (98 g) umak od jogurta (250 g) vrhnje za kuhanje, 10 % m.m. (15,4 g) Coca-Cola (475 g)	36,1 g
<i>užina</i>	orašasti plodovi	kikiriki (20 g)	0 g
<i>večera</i>	miješana salata	Sprite, boca (500 g) tuna, konzervirana, ocijeđena (100 g) slanutak, konzervirani (150 g) paprika (100 g) krastavac (150 g) luk, crveni (50 g) med (8 g) senf (8 g) limunov sok (10 g)	33,3 g
UKUPNI ENERGETSKI UNOS			<b>2245,5 kcal</b>
ENERGETSKI UDIO MAKRONUTRIJENATA			<b>56,4 % UH</b> <b>15,5 % M</b> <b>28,1 % P</b>
UKUPNA KOLIČINA FRUKTOZE			<b>100,3 g</b>

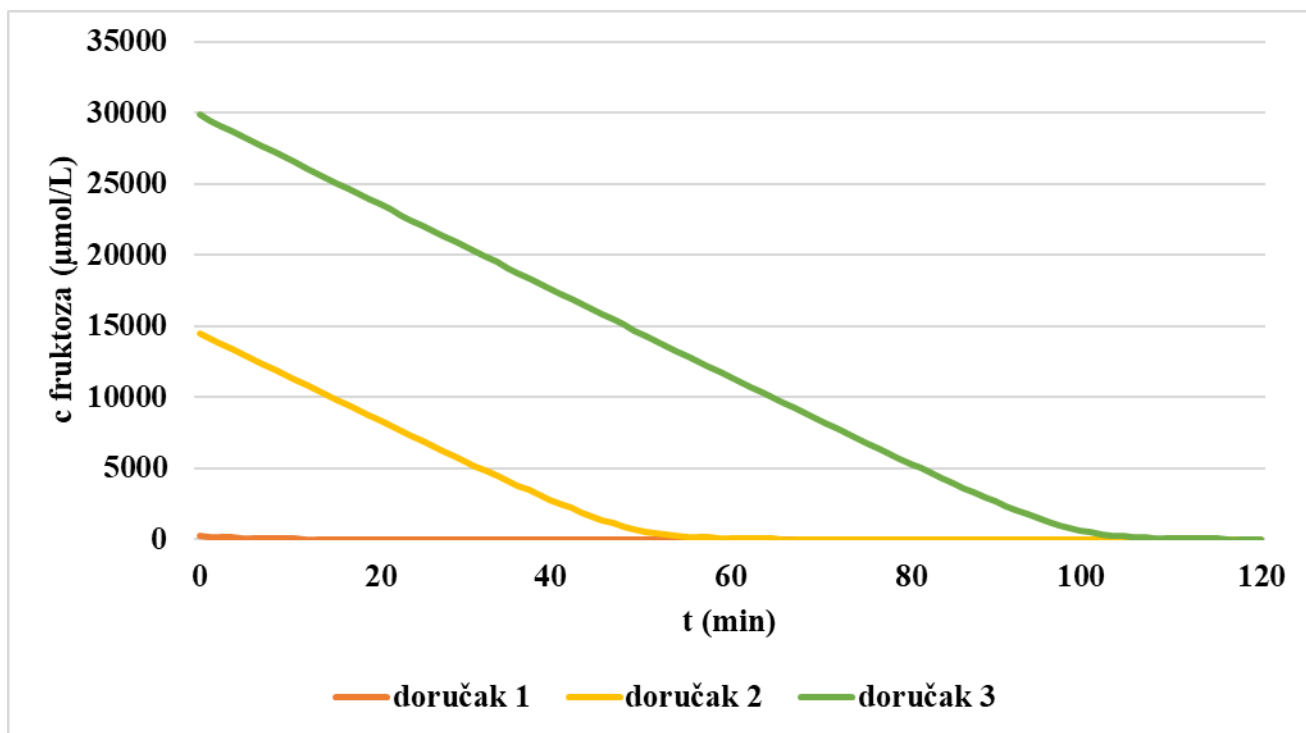
### 4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA FRUKTOZE

Tijekom jednog dana, jetra se suočava s različitim metaboličkim izazovima te provodi kompleksne metaboličke procese kako bi osigurala energiju i skladištenje. Ona ima ključnu ulogu u metabolizmu masnih kiselina, glukoze i aminokiselina. Razumijevanje regulacije metabolizma u jetri je od velike važnosti s obzirom na porast prevalencije nealkoholne masne bolesti jetre (Parry i sur., 2020). Između svih rizičnih čimbenika, višestruko je potvrđeno u kliničkim i eksperimentalnim istraživanjima da prekomjerna konzumacija fruktoze snažno povećava rizik od razvoja nealkoholne masne bolesti jetre (Liao i sur., 2020).

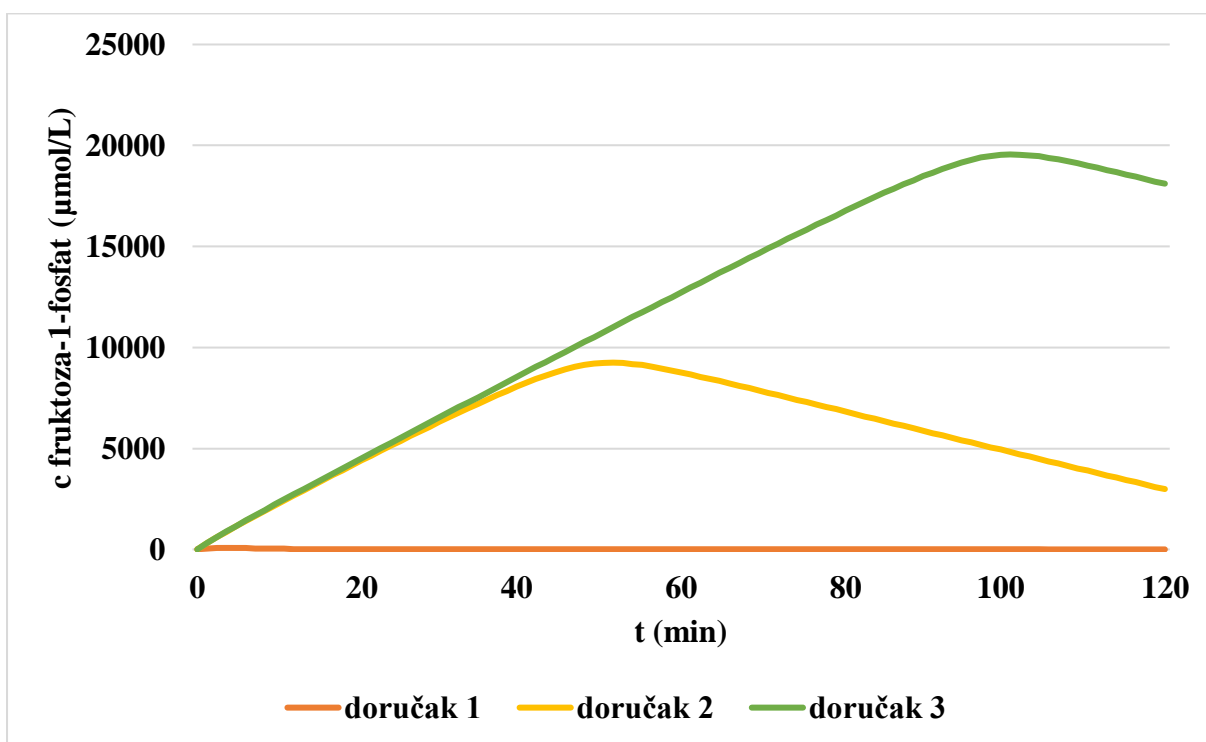
Za potrebe ovog rada provedene su različite simulacije modela metabolizma fruktoze kreiranog u računalnom programu *CellDesigner*. Simulacije su sadržavale različite početne koncentracije fruktoze, prikazane u tablici 7, a koncentracije su prikazane pojedinačno za svaki obrok. Osim promjene koncentracije fruktoze, praćene su promjene i fruktoza-1-fosfata, masnih kiselina i triglicerida. Vremensko razdoblje koje se promatralo trajalo je 2 sata (120 minuta). Na slikama 9-28 prikazani su grafovi promjene koncentracije navedenih metabolita kroz 5 različitih obroka. Obroci iz jelovnika 1 na svim su grafovima prikazani narančastom bojom, obroci iz jelovnika 2 prikazani su žutom bojom, a obroci jelovnika 3 na svim grafovima su obojani zeleno.

**Tablica 7.** Početne vrijednosti fruktoze u obrocima korištene u simulaciji modela fruktoze

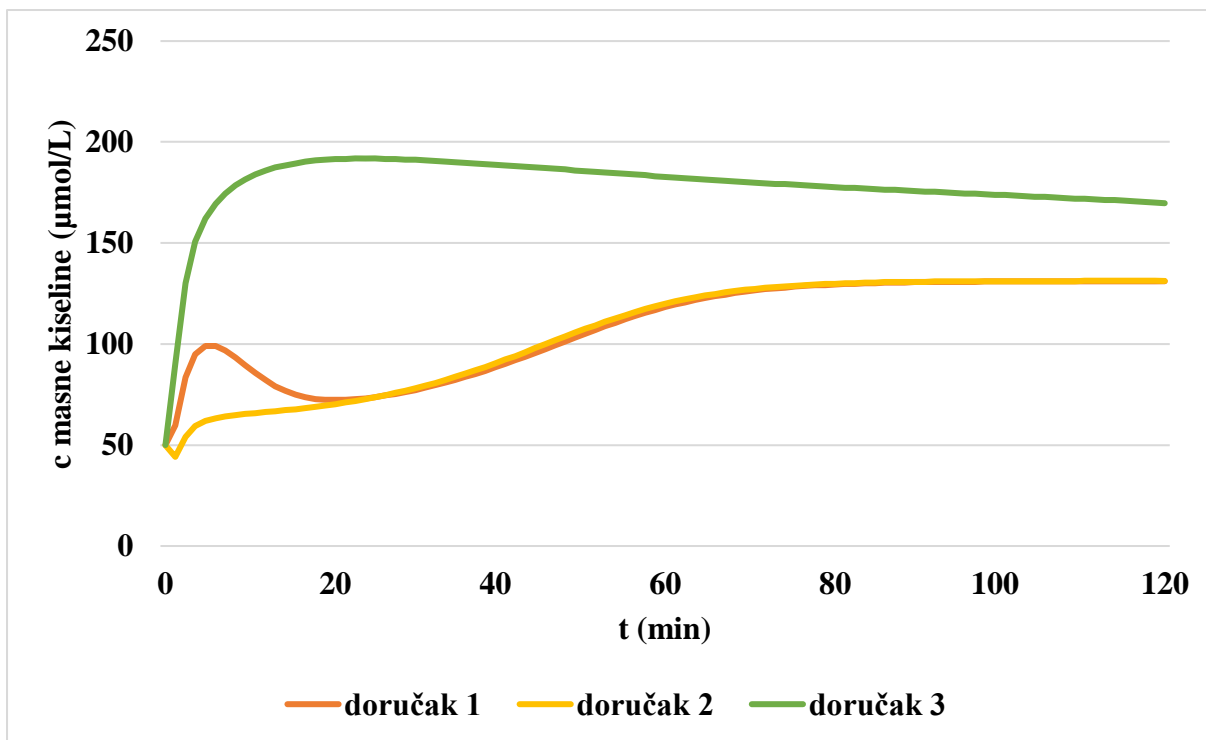
	JELOVNIK 1	JELOVNIK 2	JELOVNIK 3
<i>doručak</i>	0,25 g	13,1 g	26,9 g
<i>marenda</i>	7,8 g	6,3 g	4 g
<i>ručak</i>	0,49 g	1,8 g	36,1 g
<i>užina</i>	4,2 g	11 g	0 g
<i>večera</i>	0,1 g	2 g	33,3 g



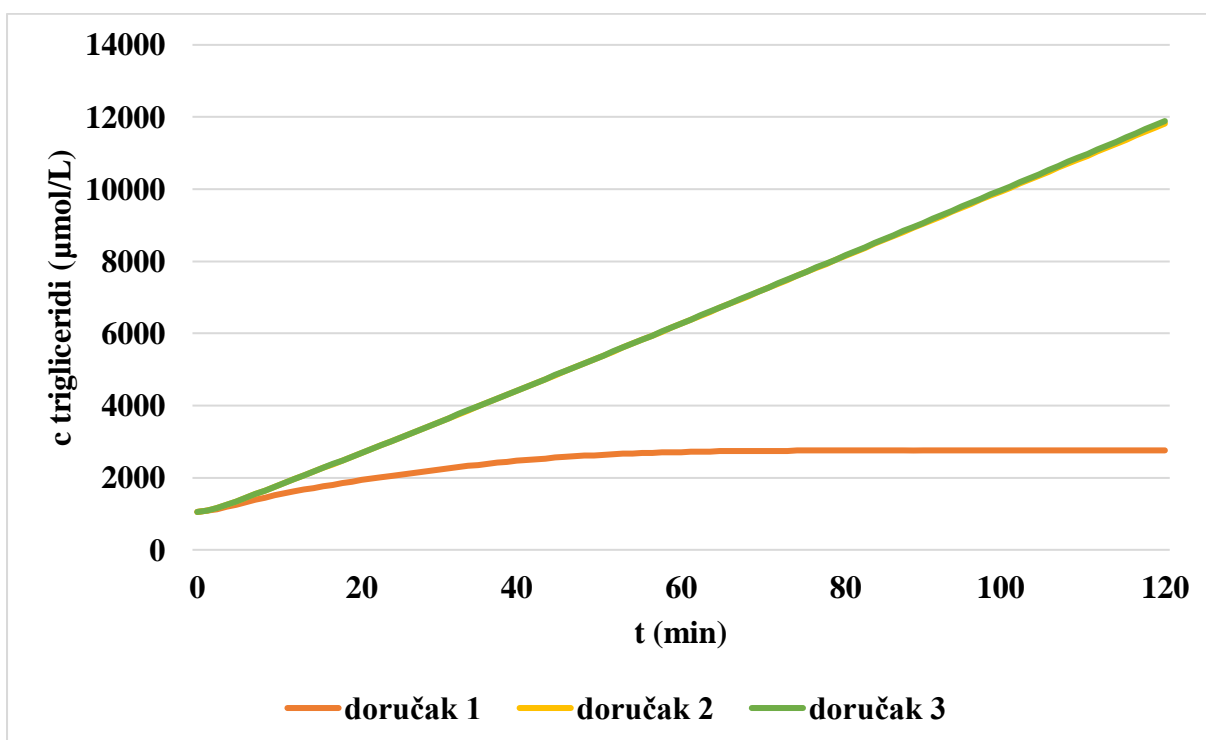
**Slika 9.** Promjena koncentracije fruktoze nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (doručak 1= 0,25 g, doručak 2= 13,1 g, doručak 3= 26,9 g)



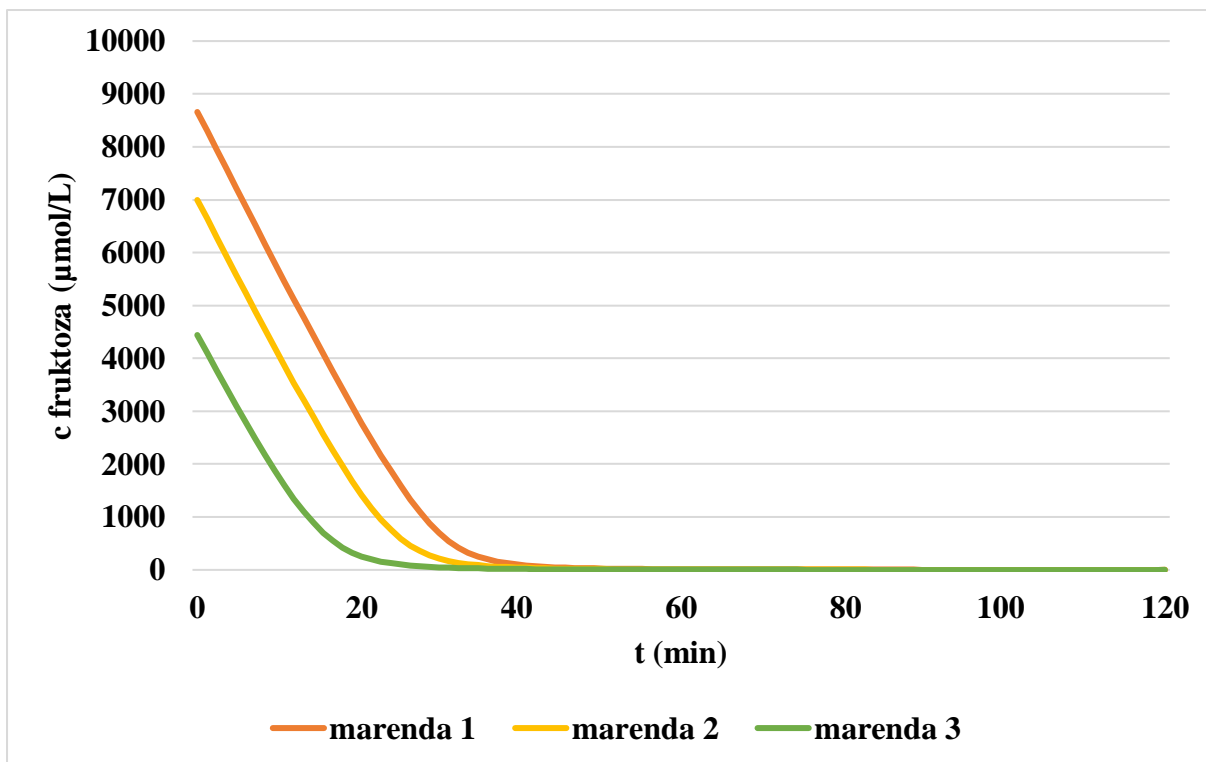
**Slika 10.** Promjena koncentracije fruktoza-1-fosfata nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (doručak 1= 0,25 g, doručak 2= 13,1 g, doručak 3= 26,9 g)



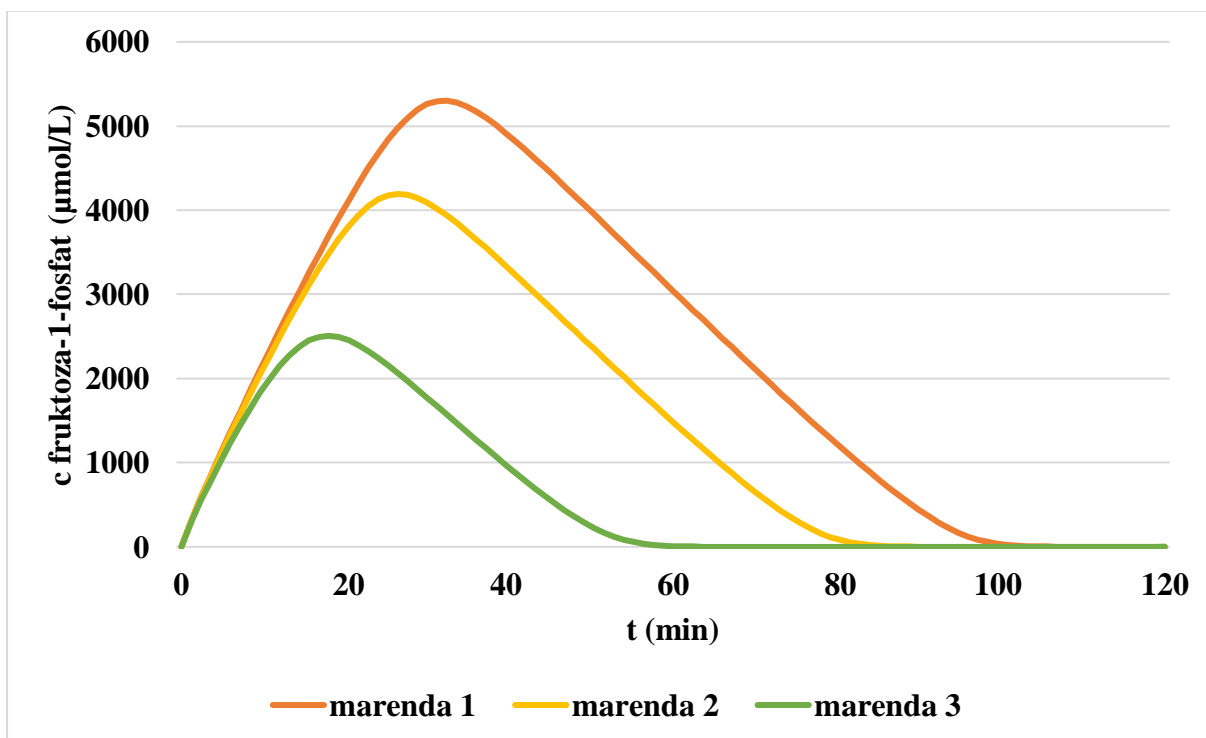
**Slika 11.** Promjena koncentracije masnih kiselina nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (doručak 1= 0,25 g, doručak 2= 13,1 g, doručak 3= 26,9 g)



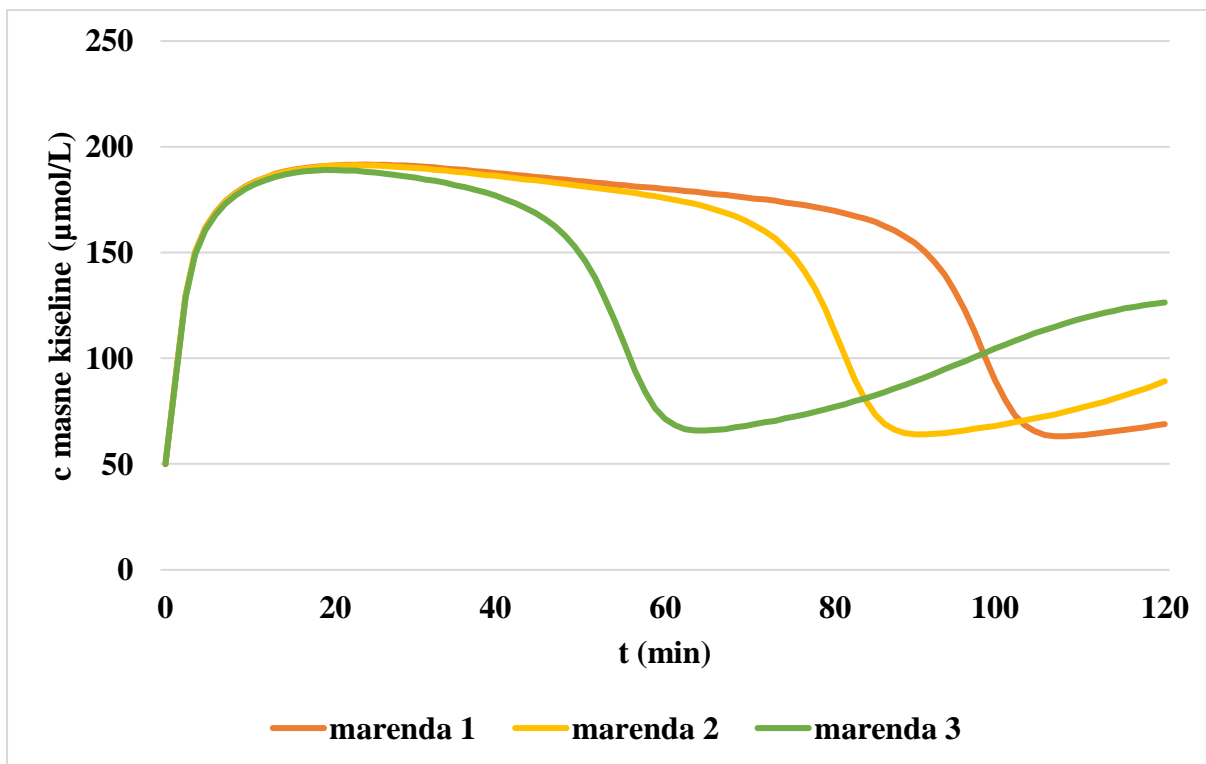
**Slika 12.** Promjena koncentracije triglicerida nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (doručak 1= 0,25 g, doručak 2= 13,1 g, doručak 3= 26,9 g)



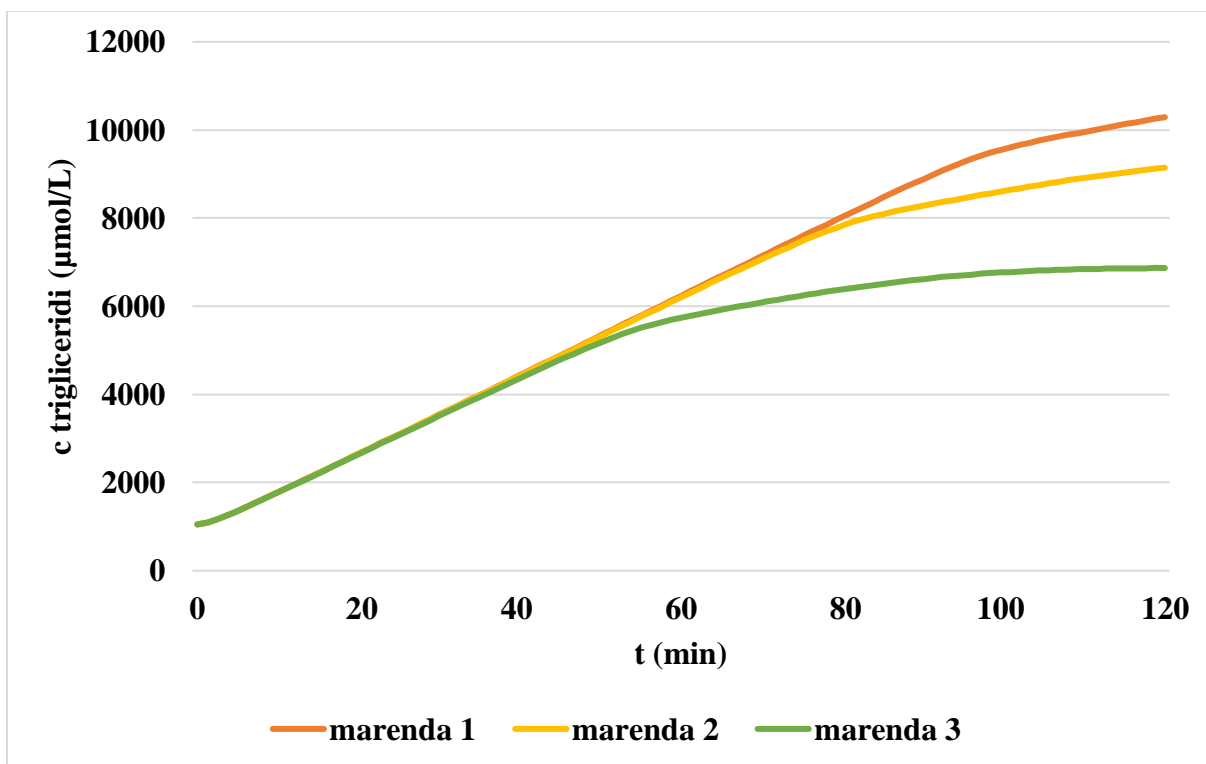
Slika 13. Promjena koncentracije fruktoze nakon marende pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (marenda 1= 7,8 g, marenda 2= 6,3 g, marenda 3= 4 g)



Slika 14. Promjena koncentracije fruktoza-1-fosfata nakon marende pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (marenda 1= 7,8 g, marenda 2= 6,3 g, marenda 3= 4 g)

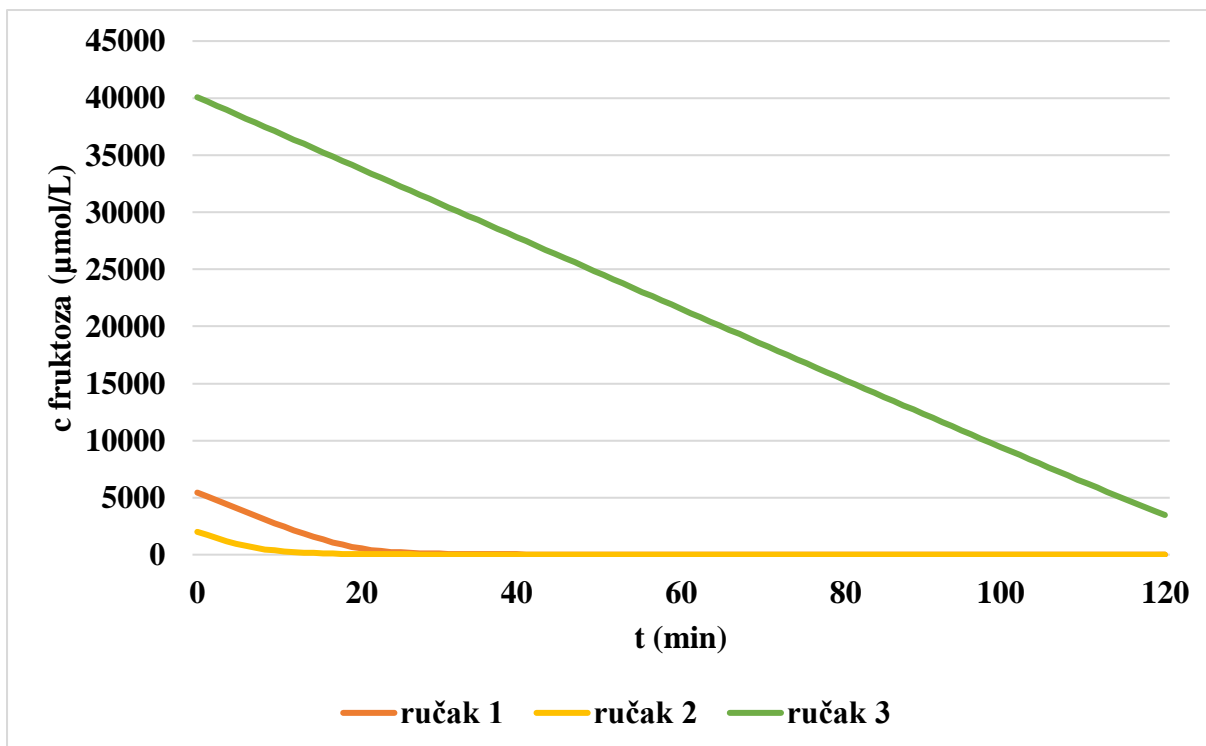


**Slika 15.** Promjena koncentracije masnih kiselina nakon marende pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (marenda 1= 7,8 g, marenda 2= 6,3 g, marenda 3= 4 g)

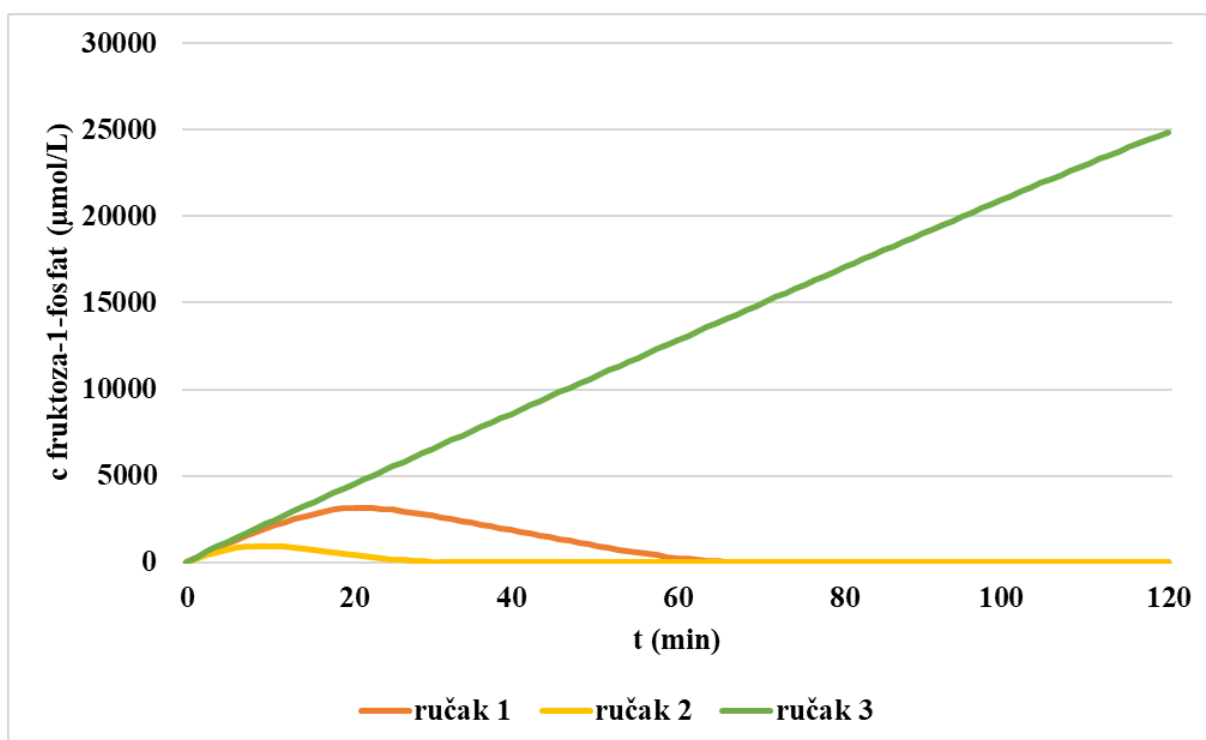


**Slika 16.** Promjena koncentracije triglicerida nakon marende pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (marenda 1= 7,8 g, marenda 2= 6,3 g, marenda 3= 4 g)

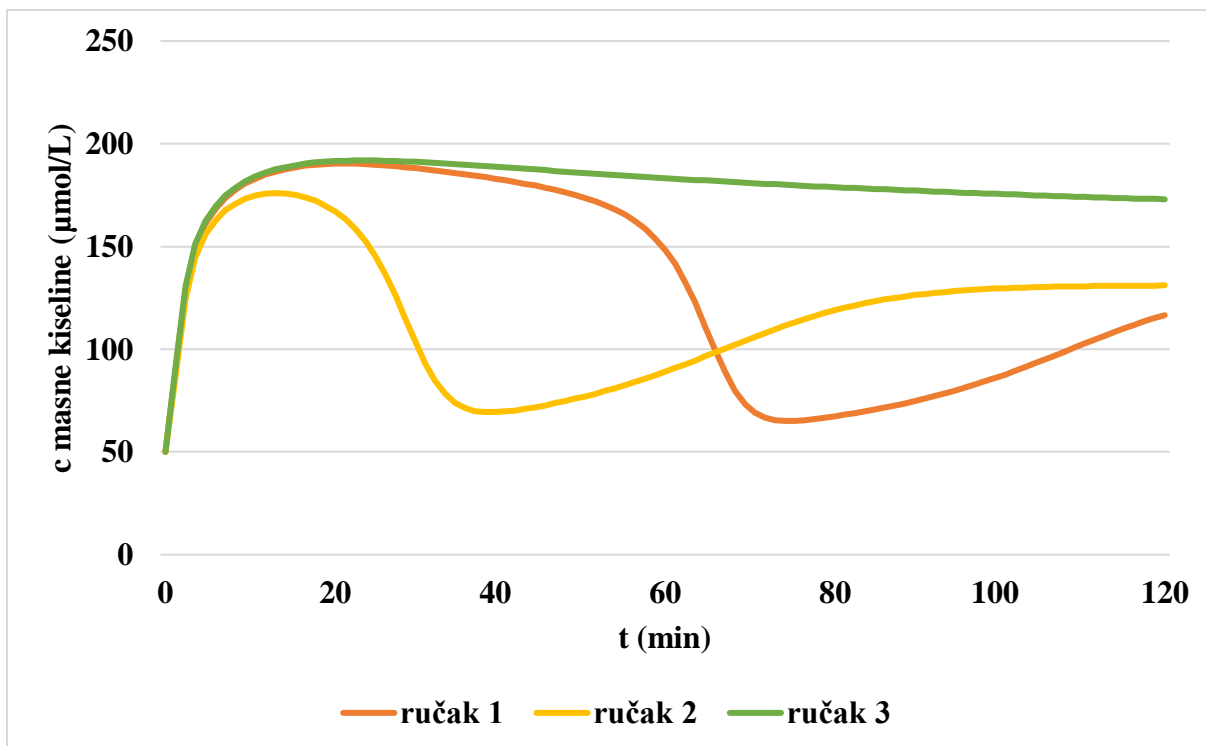




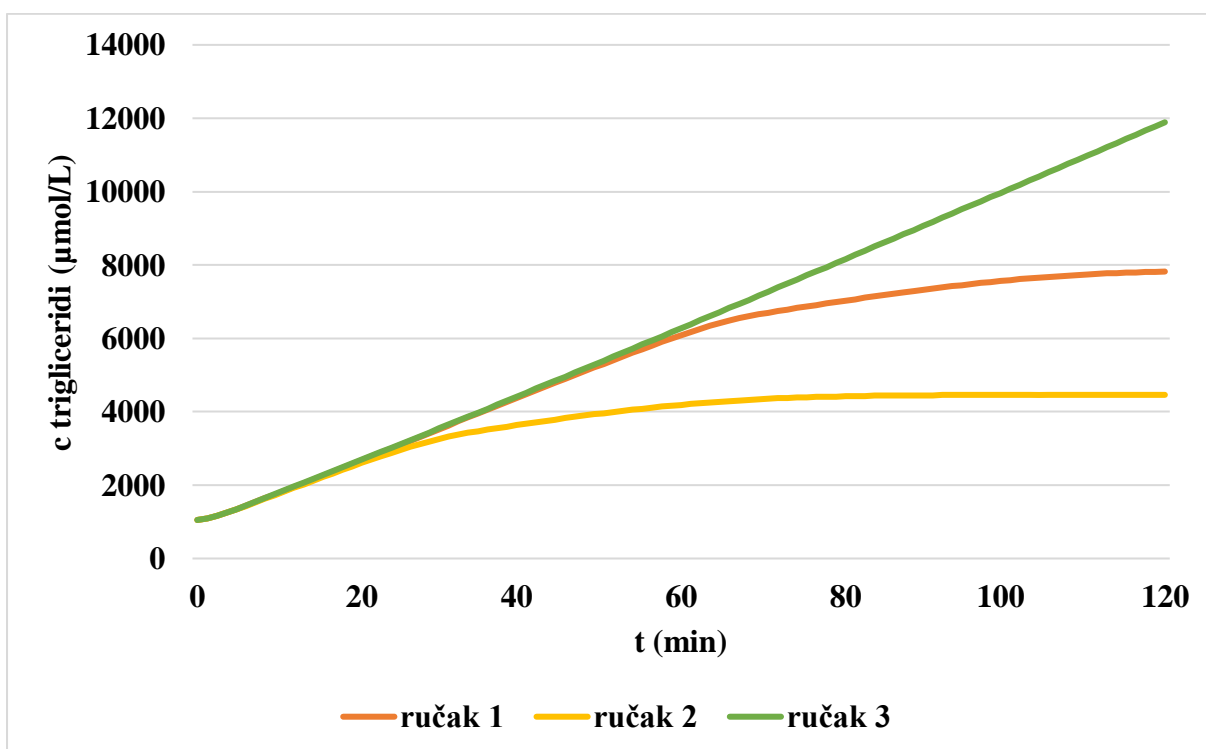
**Slika 17.** Promjena koncentracije fruktoze nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (ručak 1= 0,49 g, ručak 2= 1,8 g, ručak 3= 36,1 g)



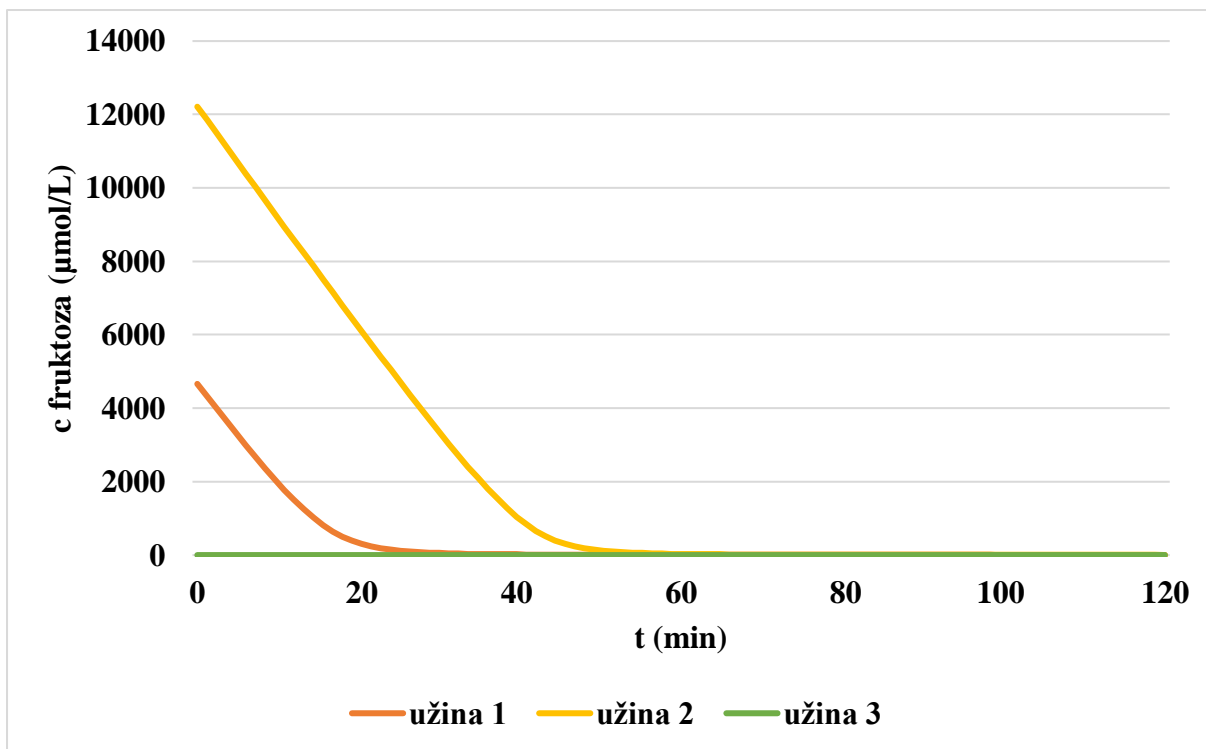
**Slika 18.** Promjena koncentracije fruktoza-1-fosfata nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (ručak 1= 0,49 g, ručak 2= 1,8 g, ručak 3= 36,1 g)



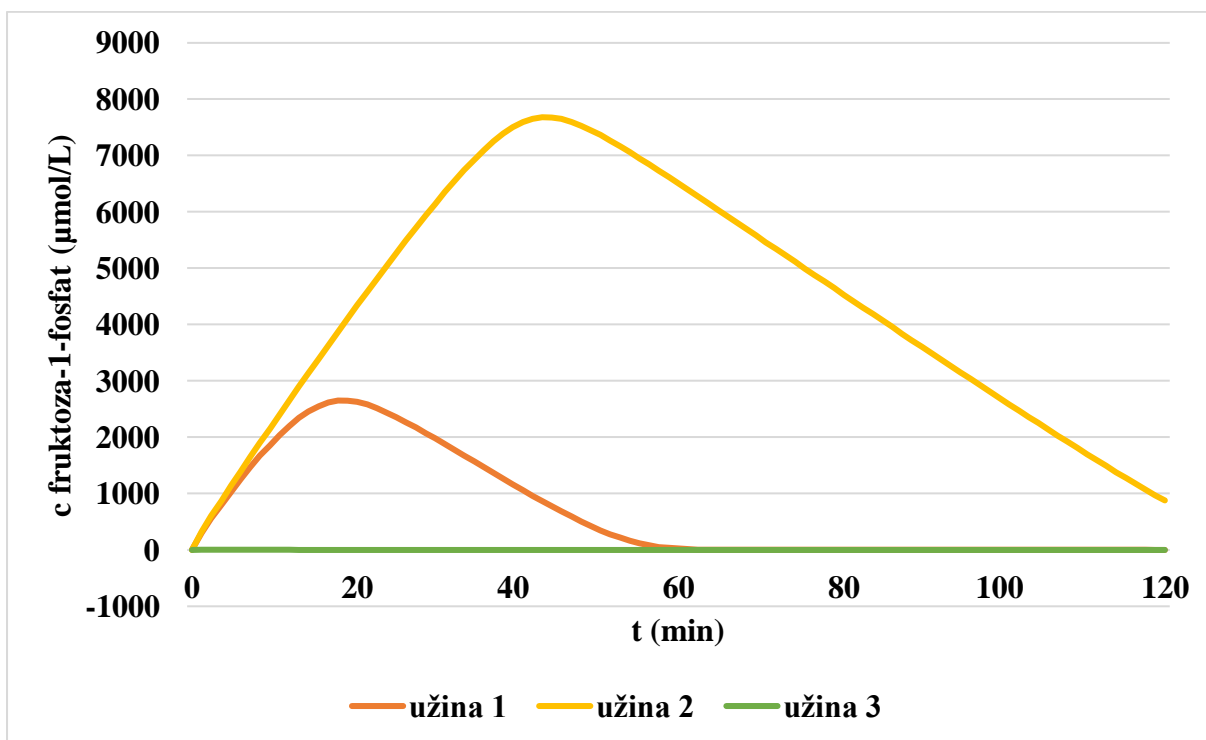
Slika 19. Promjena koncentracije masnih kiselina nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (ručak 1= 0,49 g, ručak 2= 1,8 g, ručak 3= 36,1 g)



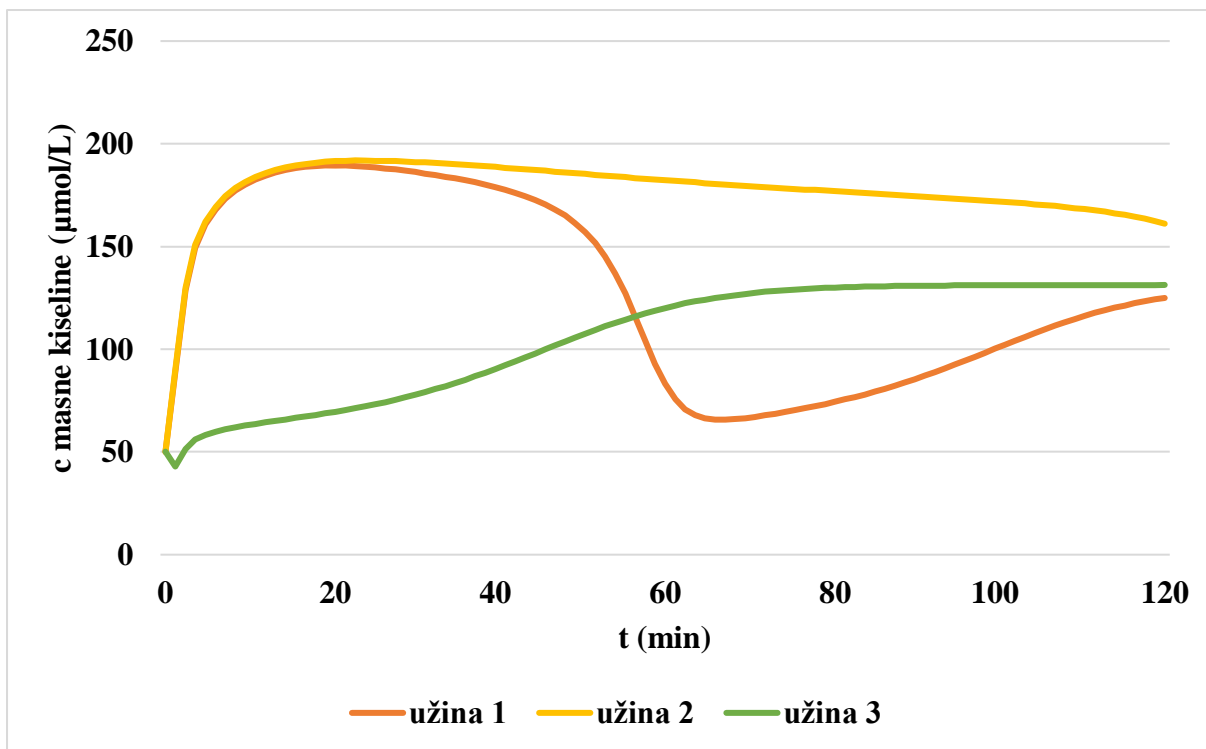
Slika 20. Promjena koncentracije triglicerida nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (ručak 1= 0,49 g, ručak 2= 1,8 g, ručak 3= 36,1 g)



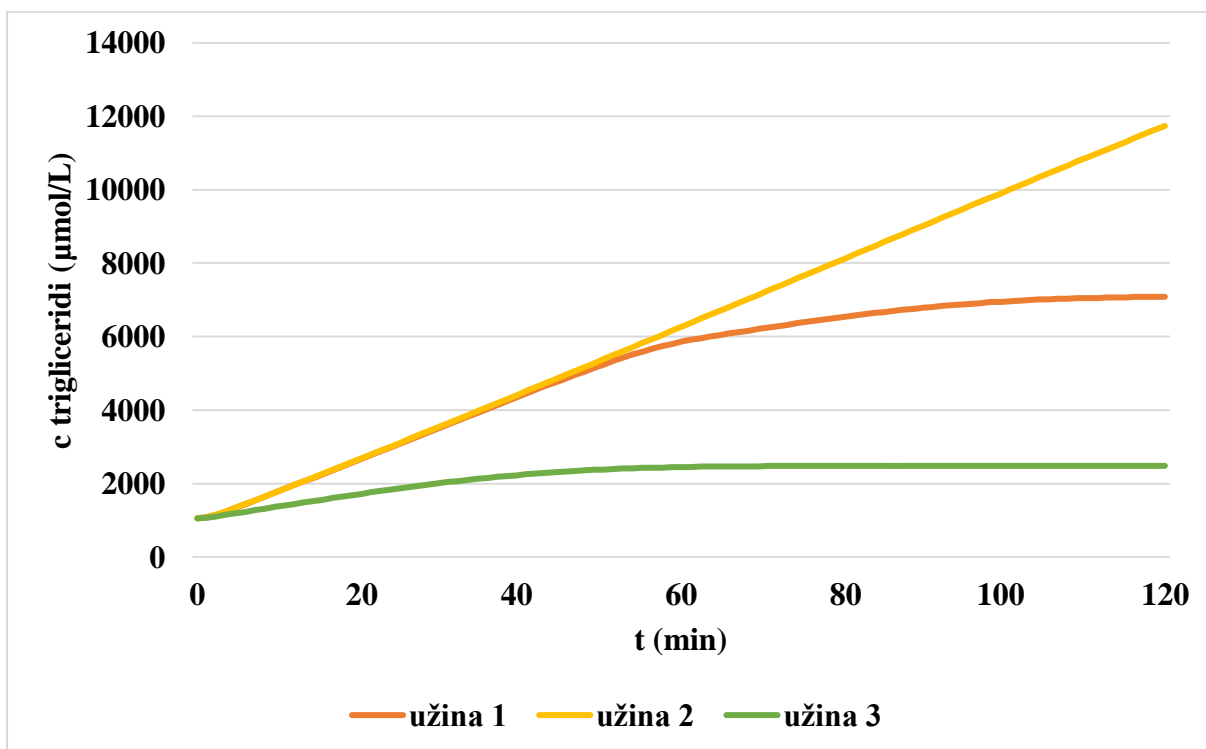
**Slika 21.** Promjena koncentracije fruktoze nakon užine pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (užina 1= 4,2 g, užina 2= 11 g, užina 3= 0 g)



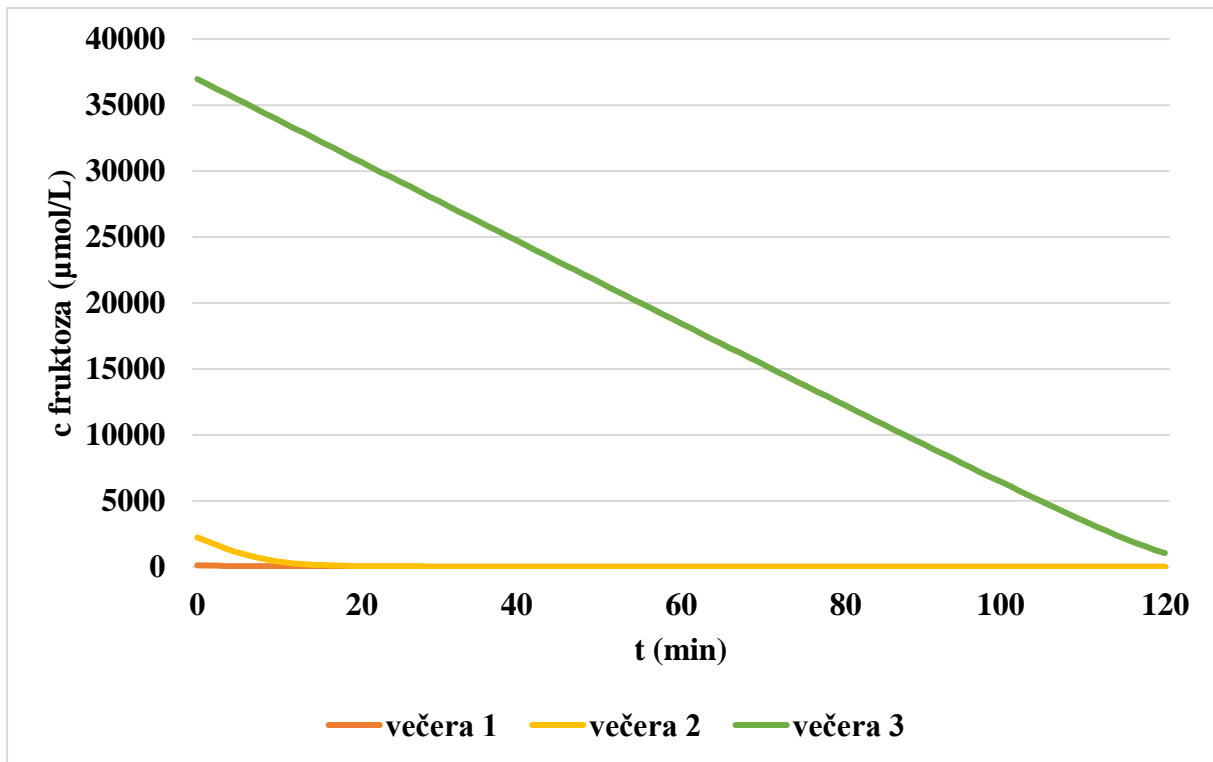
**Slika 22.** Promjena koncentracije fruktoza-1-fosfata nakon užine pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (užina 1= 4,2 g, užina 2= 11 g, užina 3= 0 g)



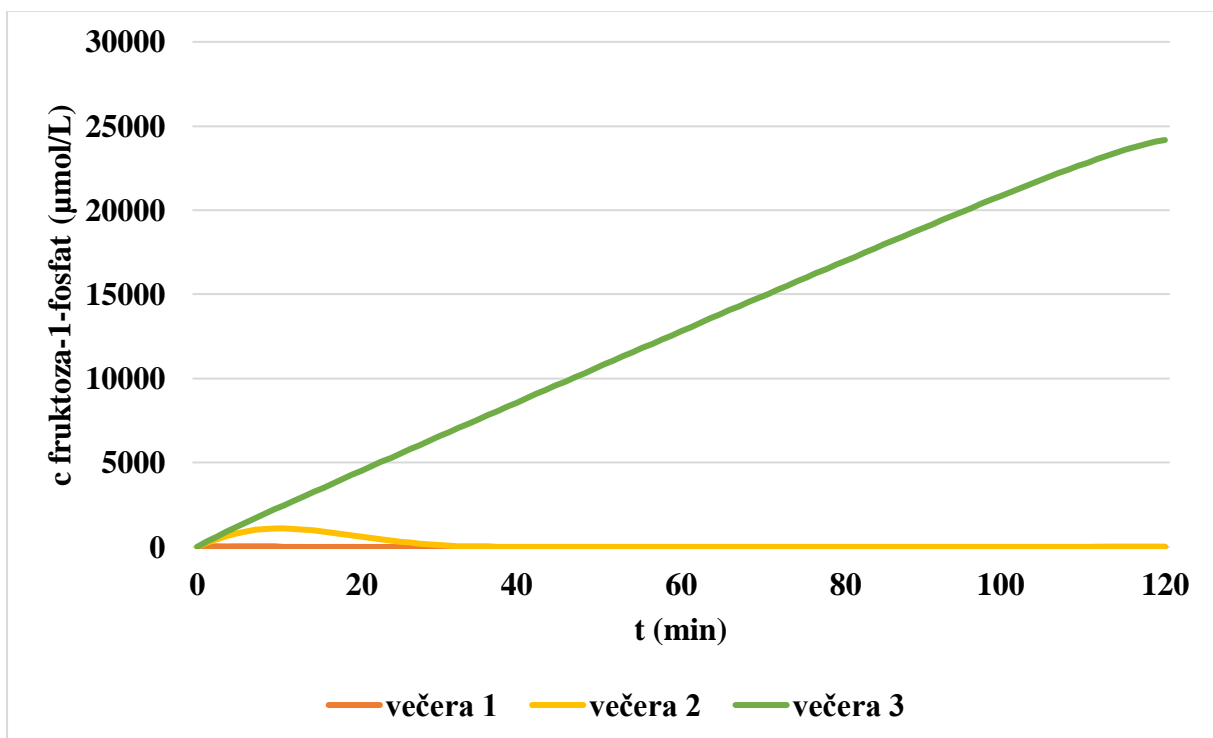
**Slika 23.** Promjena koncentracije masnih kiselina nakon užine pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (užina 1= 4,2 g, užina 2= 11 g, užina 3= 0 g)



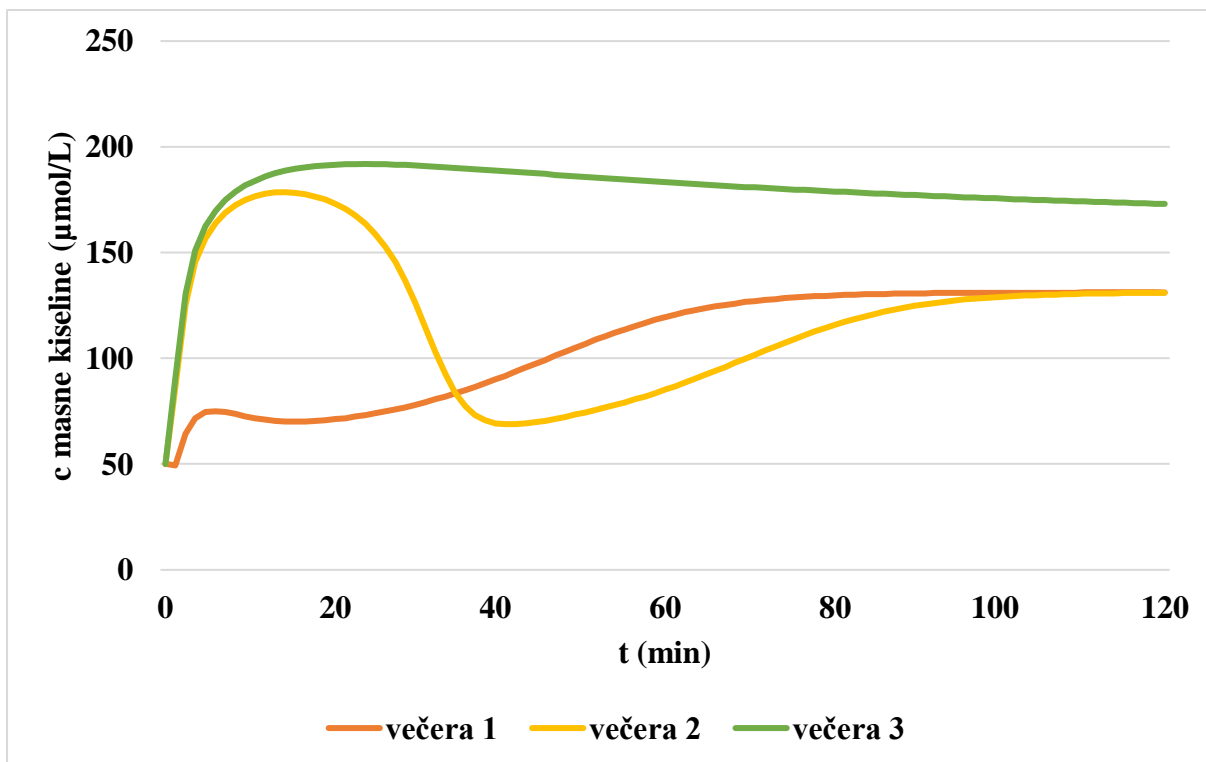
**Slika 24.** Promjena koncentracije triglicerida nakon užine pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (užina 1= 4,2 g, užina 2= 11 g, užina 3= 0 g)



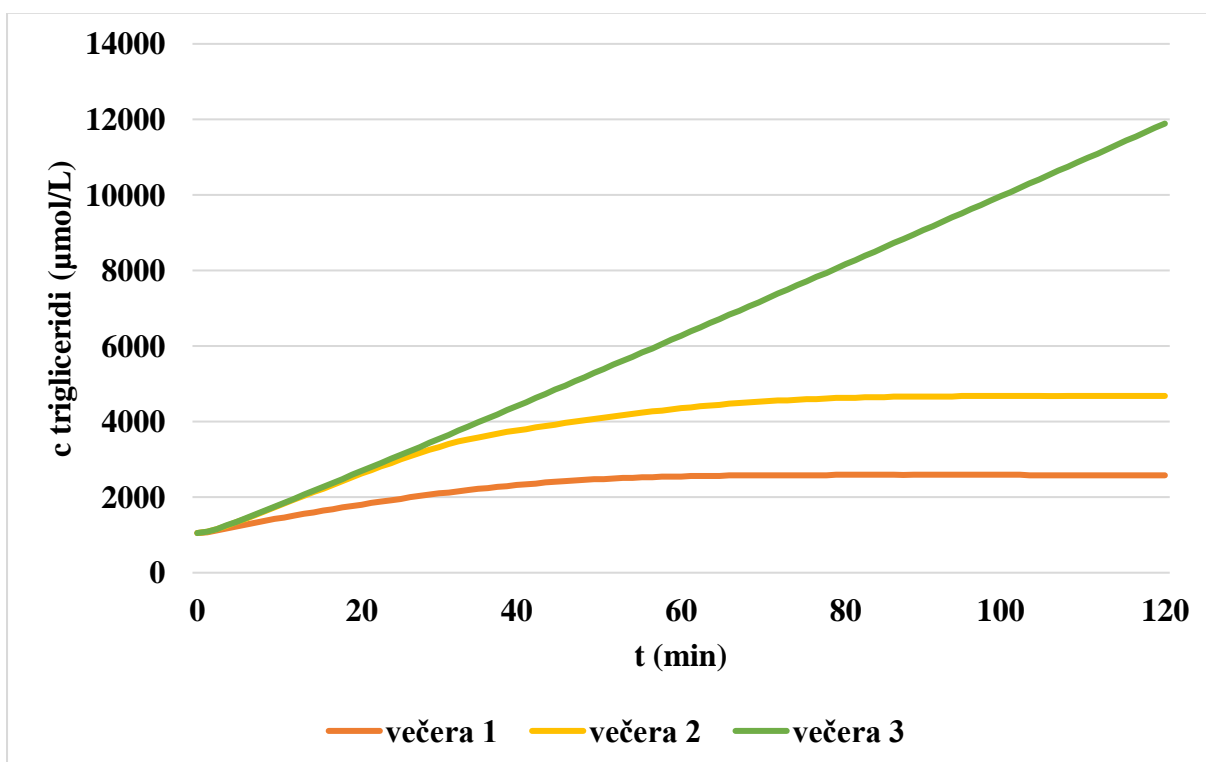
**Slika 25.** Promjena koncentracije fruktoze nakon večere pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (večera 1= 0,1 g, večera 2= 2 g, večera 3= 33,3 g)



**Slika 26.** Promjena koncentracije fruktoza-1-fosfata nakon večere pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (večera 1= 0,1 g, večera 2= 2 g, večera 3= 33,3 g)



**Slika 27.** Promjena koncentracije masnih kiselina nakon večere pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (večera 1= 0,1 g, večera 2= 2 g, večera 3= 33,3 g)



**Slika 28.** Promjena koncentracije triglicerida nakon večere pri različitim početnim vrijednostima fruktoze (večera 1= 0,1 g, večera 2= 2 g, večera 3= 33,3 g)

Nakon završetka izrade modela u *CellDesigner*-u provedeno je nekoliko simulacija kako bi se odredilo koje je vrijeme trajanja simulacije, te je određeno optimalno vrijeme trajanja simulacije od 2 sata, odnosno 120 minuta.

U odnosu na metabolizam glukoze, metabolizam i ekstrakcija fruktoze u jetri jako su visoki. Razlog tome je prisutnost velike količine enzima fruktokinaze s visokim afinitet za fruktozu u jetri, kao i zaobilaznje regulatornog koraka u daljnjem metabolizmu fruktoza-1-fosfata u trioza fosfate. Zato se fruktoza metabolizira i iskoristi brže od glukoze te je se više pretvara u jetreni glikogen (Bizeau i Pagliassotti, 2005). Na grafovima 10, 14, 18, 22 i 26 može se uočiti da fruktoza-1-fosfat, uz manjak negativne povratne sprege, nastaje brzo dok je prisutna veća količina fruktoze, a smanjenjem koncentracije fruktoze, opada brzina nastajanja fruktoza-1-fosfata. Prema Brouwersu (2022) fruktoza-1-fosfat vjerojatno je evoluirala kao signalna molekula koja potiče apsorpciju hranjivih tvari, skladištenje lipida i reprodukciju. Ova uloga može objasniti zašto fruktoza doprinosi razvoju bolesti povezanih s neprilagođenim evolucijskim uvjetima, poput NAFLD-a, u doba prehrambenog obilja. Nadalje, studije koja se bave osobama koji nemaju aldolazu B, enzim koji potiče razlaganje fruktoza-1-fosfata u gliceraldehid i dihidroksiaceton fosfat, pokazuju da ti pacijenti imaju povećanu količinu masnoće u jetri, zbog posljedičnog nakupljanja fruktoza-1-fosfata. Ova istraživanja sugeriraju da možda čak ne igraju lipogeni učinci fruktoze ključnu ulogu u patogenezi NAFLD-a, već akumulacija međuprodukata fruktolize, odnosno fruktoza-1-fosfata (Aldámiz-Echevarría i sur., 2020; Buziau i sur., 2020; Simons i sur., 2019).

Na grafovima 11, 15, 19, 23 i 27 vidi se trend nastajanja masnih kiselina u jetri. Može se uočiti pad koncentracije masnih kiselina na određenim dijelovima krivulja, koje nastaje zbog potrebe za tri masne kiseline koje se koriste u sintezi triglicerida tijekom postprandijalnog procesa stvaranja triglicerida. Nakon 2 sata vidljivo je da je najviše masnih kiselina u jetri nastalo pri najvišim prisutnim početnim koncentracijama fruktoze. To je sukladno dosadašnjim istraživanjima koja govore kako fruktoza i saharoza povećavaju jetrenu sintezu masnih kiselina u bazalnom stanju (Geidl-Flueck i sur., 2021), te kako dijeta s ograničenim unosom fruktoze rezultira smanjenjem jetrenih masnih kiselina (Simons i sur., 2021).

Grafovi 12, 16, 20, 24 i 28 prikazuju nastanak triglicerida u jetri i može se uočiti kako povećanje početne koncentracije fruktoze dovodi do veće koncentracije triglicerida u jetri. U usporedbi s masnim kiselinama, trigliceridi se u jetri progresivno nakupljaju. U jetri, ukupna proizvodnja lipida rezultat je smanjenog procesa  $\beta$ -oksidacije, pojačane lipogeneze ili njihove

kombinacije. Prethodna istraživanja ukazuju da fruktoza povećava lipogene procese u jetri, dok istovremeno postoje dokazi koji sugeriraju da fruktoza inhibira  $\beta$ -oksidaciju u hepatocitima štakora i ljudi, što dodatno pridonosi neto proizvodnji lipida. Također, dugotrajna konzumacija fruktoze kod štakora rezultirala je povećanjem ekspresije lipogenih gena u jetri, istovremeno smanjujući aktivnost jetrenog enzima CPT1, prisutnog kod nastanka masnih kiselina. Ovi rezultati ukazuju da fruktoza povećava neto proizvodnju lipida u jetri putem više mehanizama, a ne samo povećanjem lipogeneze (Hengist i sur., 2019).

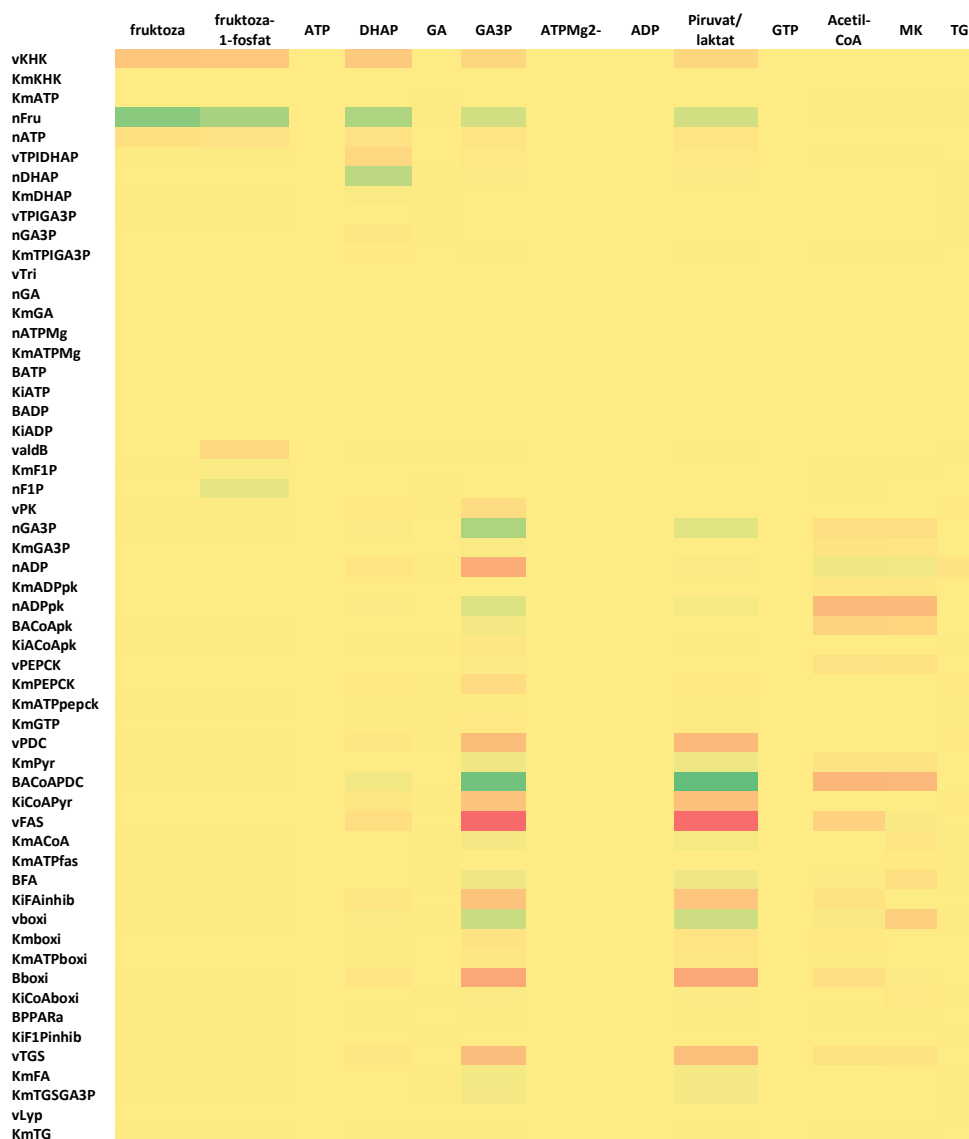
Praćenjem grafova 12, 20 i 28, koji prikazuju nastajanje triglicerida u obrocima s količinom fruktoze koji koreliraju s ukupnom količinom fruktoze u jelovnicima, može se zaključiti da povećane količine fruktoze u prehrani pridonose povećanju razine triglicerida u jetri, što može dovesti do daljnjeg oslabljenog metabolizma lipida u jetri i razvoja nealkoholne masne bolesti jetre. Podaci se podudaraju s rezultatima iz kohorte Framingham gdje su povezali povećanu konzumaciju pića zaslađenih šećerom s masnom jetrom, neovisno o mogućim zbunjujućim faktorima kao što je ukupni energetski unos (Ma i sur., 2015). Pretpostavlja se da će se ovaj učinak više ispoljiti na metabolički kompromitiranim ljudima nego na metabolički zdravim pojedincima, za koje se očekuje da mogu, barem privremeno, kompenzirati povećani unos fruktoze (Smajis i sur., 2020).

#### **4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI**

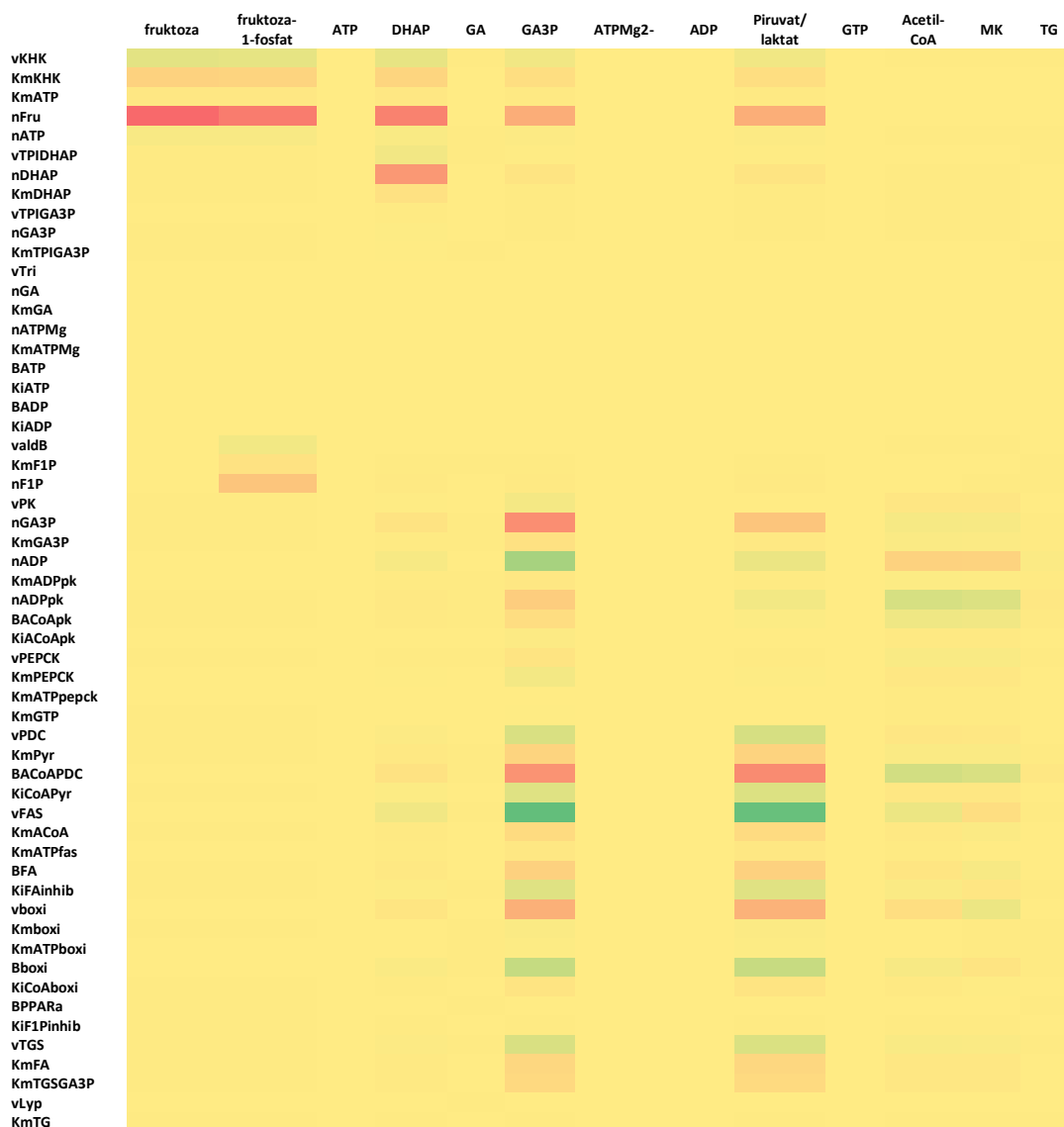
Metode lokalne analize parametarske osjetljivosti istražuju osjetljivost ulaza modela na određenoj točki unutar ulaznog prostora (Qian i Mahdi, 2020). Provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti koja je istraživala kako se promjena svih parametara za 3 %, kao i promjena brzine svake reakcije za 3 % odražava na varijable modela metabolizma fruktoze. Istraživanje je izvršeno putem postupka u kojem su početne vrijednosti svakog parametra povećane za 3 %, dok su vrijednosti ostalih parametara ostale nepromijenjene. Simulacija je provedena pod tim uvjetima za svaki parametar pojedinačno, a rezultati su analizirani na konačnom vremenskom intervalu od 2 sata. Isti postupak je ponovljen i za smanjenje svih parametara za 3 %, kao i za povećanje i smanjenje brzina reakcija za 3 %. Kao početne vrijednosti fruktoze korištena je vrijednost od 30  $\mu$ M. Rezultati su prikazani pomoću *MS Excel 365* na slikama 29-32. Rezultati su obrađeni na sljedeći način: negativna promjena mase ili koncentracije metabolita označena je crvenom bojom, dok je pozitivna promjena označena zelenom bojom. Polja svijetlo žute boje označavaju zanemarivu promjenu u usporedbi s



simulacijom bez ikakvih promjena parametara. U slikama 29-32 su vidljive tri različite nijanse crvene i zelene boje. Intenzivnije boje označavaju značajniju promjenu u masi ili koncentraciji metabolita, dok manje intenzivne nijanse ukazuju na manje izražene promjene.

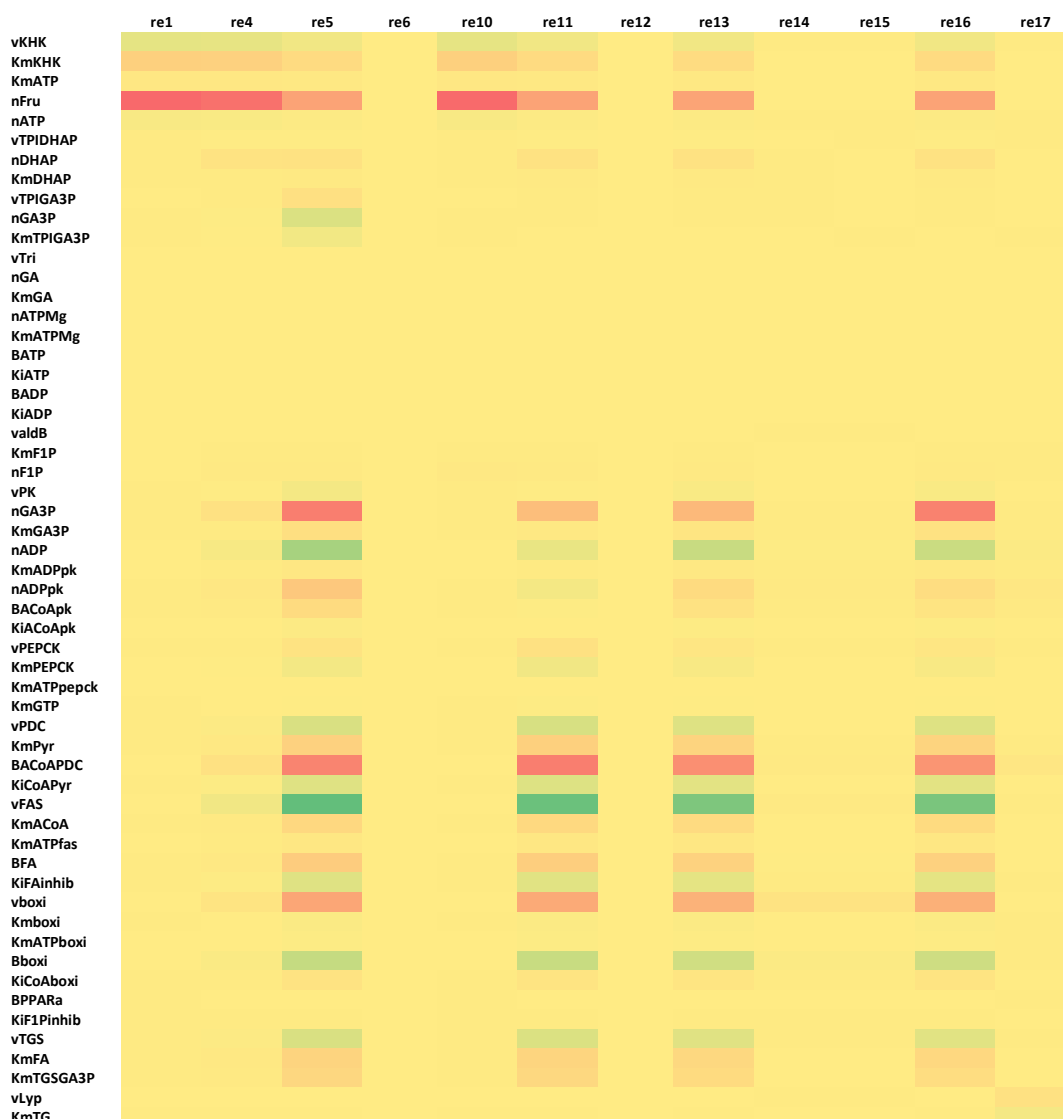


**Slika 29.** Prikaz koeficijenata lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma fruktoze na povećanje vrijednosti parametra za 3 %, s početnom vrijednosti fruktoze od 30  $\mu\text{M}$  u vremenskom trajanju od 120 min (parametri prikazani u recima: vKHK, KmKHK, KmATP, nFru, nATP, vTPIDHAP, nDHAP, KmDHAP, vTPIGA3P, nGA3P, KmTPIGA3P, vTri, nGA, KmGA, nATPMg, KmATPMg, BATP, KiATP, BADP, KiADP, valdB, KmF1P, nF1P, vPK, nGA3P, KmGA3P, nADP, KmADPpk, nADPpk, BACoApk, KiACoApk, vPEPCK, KmPEPCK, KmATPpepck, KmGTP, vPDC, KmPyr, BACoAPDC, KiCoAPyr, vFAS, KmACoA, KmATPfas, BFA, KiFAinhib, vboxi, Kmboxi, KmATPboxi, Bboxi, KiCoAboxi, BPPARa, KiF1Pinhib, vTGS, KmFA, KmTGSGA3P, vLyp, KmTG; varijable prikazane u stupcima: fruktoza, fruktoza-1-fosfat, ATP, DHAP, GA, GA3P, ATPMg2-, ADP, Piruvat/ laktat, GTP, Acetil-CoA, MK, TG)



**Slika 30.** Prikaz koeficijenata lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma fruktoze na smanjenje vrijednosti parametra za 3 %, s početnom vrijednosti fruktoze od 30  $\mu\text{M}$  u vremenskom trajanju od 2 sata (parametri prikazani u recima: vKHK, KmKHK, KmATP, nFru, nATP, vTPIDHAP, nDHAP, KmDHAP, vTPIGA3P, nGA3P, KmTPIGA3P, vTri, nGA, KmGA, nATPMg, KmATPMg, BATP, KiATP, BADP, KiADP, valdB, KmF1P, nF1P, vPK, nGA3P, KmGA3P, nADP, KmADPpk, nADPpk, BACoApk, KiCoApk, vPEPCK, KmPEPCK, KmATPpepck, KmGTP, vPDC, KmPyr, BACoAPDC, KiCoAPyr, vFAS, KmACoA, KmATPfas, BFA, KiFAinhib, vboxi, Kmboxi, KmATPboxi, Bboxi, KiCoAboxi, BPPARa, KiF1Pinhib, vTGS, KmFA, KmTGSGA3P, vLyp, KmTG; varijable prikazane u stupcima: fruktoza, fruktoza-1-fosfat, ATP, DHAP, GA, GA3P, ATPMg2-, ADP, Piruvat/ laktat, GTP, Acetil- CoA, MK, TG)





**Slika 32.** Prikaz koeficijenata lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma fruktoze na smanjenje vrijednosti brzina reakcija za 3 %, s početnom vrijednosti fruktoze od 30  $\mu\text{M}$  u vremenskom trajanju od 2 sata (parametri prikazani u recima: vKHK, KmKHK, KmATP, nFru, nATP, vTPIDHAP, nDHAP, KmDHAP, vTPIGA3P, nGA3P, KmTPIGA3P, vTri, nGA, KmGA, nATPMg, KmATPMg, BATP, KiATP, BADP, KiADP, valdB, KmF1P, nF1P, vPK, nGA3P, KmGA3P, nADP, KmADPpk, nADPpk, BACoApk, KiACoApk, vPEPCK, KmPEPCK, KmATPpepck, KmGTP, vPDC, KmPyr, BACoAPDC, KiCoAPyr, vFAS, KmACoA, KmATPfas, BFA, KiFAinhib, vboxi, Kmboxi, KmATPboxi, Bboxi, KiCoAboxi, BPPARa, KiF1Pinhib, vTGS, KmFA, KmTGSGA3P, vLyp, KmTG; varijable prikazane u stupcima: re1, re4, re5, re6, re10, re11, re12, re13, re14, re15, re16, re17)

Na temelju prikazanih rezultata na slikama 29 i 30, može se vidjeti da promjenom od 3 % kod parametara vFAS (brzine pretvorbe acetil Co-A u masne kiseline) dolazi do promjene u masi parametara GA3P (gliceraldehid-3-fosfata), piruvata/laktata i acetil-CoA. Kod povećanja za 3 % dolazi do smanjenja navedenih metabolita, a kod smanjenja parametra vFAS za 3 % dolazi do povećanja nabrojanih metabolita. Također, promjena parametra vboxi (brzina beta oksidacije) utječe na GA3P, piruvat/laktat i masne kiseline, a vTGS (brzina pretvorbe masnih kiselina u trigliceride) na masu GA3P i piruvata/laktata. Povećanje parametra vboxi za 3 % dolazi do povećanja GA3P, piruvata/laktata i masnih kiselina, a povećanje vTGS-a dolazi do smanjenja mase GA3P i piruvata/laktata. Za smanjenje navedenih parametara dolazi do obrnutih promjena masa. Iz navedenih rezultata može se zaključiti da su GA3P i piruvat/laktat metaboliti najosjetljiviji na promjenu parametara. U modelu se koristi samo jedna varijabla za označavanje pretvorbe piruvata u laktat, budući da ta konverzija može brzo i reverzibilno nastati. GA3P se razgrađuje do piruvata kroz niz enzimskih reakcija, pri čemu je piruvat kinaza regulatorni enzim koji kontrolira brzinu tog procesa (Liao i sur., 2020).

Iz slika 31 i 32 može se vidjeti da parametri koji sudjeluju u procesu nastanka masnih kiselina najviše utječu na promjene brzina reakcija. Reakcije na koje utječu su re5 (povratna reakcija pretvorbe GA3P u dihidroksiaceton fosfat), re11 (pretvorba GA3P u piruvat/laktat), re13 (pretvorba piruvata/laktata u acetil-CoA) i re16 (sinteza triglicerida). U modelu je glicerol-3-fosfat, čija glicerolska okosnica sudjeluje u nastanku triglicerida, prikazan je kao GA3P zbog brze međusobne izmjene ta dva metabolita, što objašnjava njegov utjecaj na promjenu brzine re16. re13 prikazuje reakciju nastanka acetil-CoA, metabolita koji veže metabolizam fruktoze i glukoze s metabolizmom lipida i koji je ujedno supstrat u DNL. U jetrenoj lipogenezi, dolazi do stvaranja novih masnih kiselina iz acetil-CoA ili malonil-CoA, koje se zatim dalje obrađuju u trigliceride. U sisavaca, ova sinteza masnih kiselina katalizira se pomoću dvaju enzima: acetil-CoA karboksilaze (ACC) i sintaze masnih kiselina (FAS). FAS je kompleksno regulirani enzim koji podliježe utjecaju različitih nuklearnih receptora. Povezanost između metabolizma glukoze/fruktoze i lipida je jasno naznačena time što nuklearni receptori igraju važnu ulogu kao posrednici inzulinske signalizacije, te što se DNL javlja u anaboličkim uvjetima. Ova veza je dodatno potvrđena činjenicom da inzulin potiče izražaj FAS-a putem putanje fosfoinozimid-3-kinaze. Nadalje, na razini transkripcije, faktor vezan za sterol-regulacijski element 1c (SREBP-1c) i protein koji reagira na ugljikohidrate (ChREBP), sinergistički potiču izražaj FAS-a i ACC-a (Bechmann i sur., 2012).

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju analize dobivenih rezultata simulacije metabolizma fruktoze, dolazi se do sljedećih zaključaka:

- 1) Računalna simulacija modela metabolizma fruktoze u programu *CellDesigner* je bila uspješna, pri čemu su promjene u koncentraciji fruktoze u hepatocitima i drugih prikazanih metabolita usklađene s prethodno prikupljenim eksperimentalnim podacima.
- 2) U modelu, zbog jednostavnosti prikaza, nisu uključene slobodne masne kiseline u plazmi i trigliceridi u plazmi, što predstavlja jedan od nedostataka napravljenog modela, pošto su oni direktnije mjerljive mjere usklađenosti dokumentirane u kliničkim i eksperimentalnim podacima.
- 3) Uočeno je da povećane koncentracije fruktoze u prehrani doprinose povećanju nakupljanja triglicerida u jetri.
- 4) Lokalna analiza parametarske osjetljivosti pokazala je kako su gliceraldehid-3-fosfat i piruvat najosjetljiviji parametri, te je ukazala na povezanost metabolizma fruktoze s metabolizmom lipida.
- 5) Sistemska biologija predstavlja inovativan pristup u biološkim istraživanjima koji koristi integraciju različitih znanstvenih disciplina kako bi se holistički razumjela kompleksnost živih sustava, a primjena ove discipline u nutricionizmu otvara vrata za razvoj personalizirane dijetoterapije temeljene na individualnim potrebama organizma.

## 6. LITERATURA

Aldámiz-Echevarría L, de Las Heras J, Couce ML, Alcalde C, Vitoria I, Bueno M, i sur. (2020). Non-alcoholic fatty liver in hereditary fructose intolerance. *Clin Nutr* **39**, 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.02.019>

Alwahsh SM, Gebhardt R (2017) Dietary fructose as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Arch Toxicol* **91**, 1545–1563. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1892-7>

Aune D, Giovannucci E, Boffetta P, Fadnes LT, Keum N, Norat T, i sur. (2017) Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Int J Epidemiol* **46**,1029-1056. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw319>

Badimon L, Vilahur G, Padro T (2017) Systems biology approaches to understand the effects of nutrition and promote health. *Br J Clin Pharmacol* **83**, 38–45. <https://doi.org/10.1111/bcp.12965>

Bechmann LP, Hannivoort RA, Gerken G, Hotamisligil GS, Trauner M, Canbay A (2012) The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *J Hepatol* **56**, 952-964. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.08.025>

Bizeau ME, Pagliassotti MJ (2005) Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metab* **54**, 1189-1201. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.04.004>.

Brouwers MCGJ (2022) Fructose 1-phosphate, an evolutionary signaling molecule of abundancy. *Trends Endocrinol Metab* **33**, 680-689. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.07.007>

Bruggeman FJ, Westerhoff HV (2007) The nature of systems biology. *Trends Microbiol* **15**, 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.11.003>

Bukmir L, Smokrović H, Diminić-Lisica I, Ljubotina A, Popović B (2015) Nealkoholna masna bolest jetre. *Acta Med Croatica* **69**, 305-310.

Buziau AM, Schalkwijk CG, Stehouwer CDA, Tolan DR, Brouwers MCGJ (2020) Recent advances in the pathogenesis of hereditary fructose intolerance: implications for its treatment and the understanding of fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Mol Life Sci* **77**, 1709-1719. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03348-2>



Byrne CD, Targher G (2015) NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* **62**, S47-S64. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.012>

CellDesigner.org (2015) CellDesigner™ Ver2.1.1 Startup Guide. The Systems Biology Institute, Mizuho Information & Research Institute, <https://www.celldesigner.org/documents/StartupGuide211.htm>. Pristupljeno 5. lipnja 2023.

Cusi K, Isaacs S, Barb D, Basu R, Caprio S, Garvey WT, i sur. (2022) American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocr Pract* **28**, 528-562. <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2022.03.010>

de Graaf AA, Freidig AP, De Roos B, Jamshidi N, Heinemann M, Rullmann JA, i sur. (2009) Nutritional systems biology modeling: from molecular mechanisms to physiology. *PLoS Comput Biol* **5**, e1000554. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000554>

Douard V, Ferraris RP (2013) The role of fructose transporters in diseases linked to excessive fructose intake. *J Physiol.* **591**, 401–414. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.215731>

Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ (2018) Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med* **24**, 908–922. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9>

Funahashi A, Matsuoka Y, Jouraku A, Morohashi M, Kikuchi N, Kitano H (2008) CellDesigner 3.5: A versatile modeling tool for biochemical networks. *Proc IEEE* **96**, 1254-1265. <https://doi.org/10.1109/JPROC.2008.925458>

Funahashi A, Tanimura N, Morohashi M, Kitano H, (2003) CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *BIOSILICO* **1**, 159-162. [https://doi.org/10.1016/S1478-5382\(03\)02370-9](https://doi.org/10.1016/S1478-5382(03)02370-9)

Geidl-Flueck B, Hochuli M, Németh Á, Eberl A, Derron N, Köfeler HC, i sur. (2021) Fructose- and sucrose- but not glucose-sweetened beverages promote hepatic *de novo* lipogenesis: A randomized controlled trial. *J Hepatol* **75**, 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.02.027>

He K, Li Y, Guo X, Zhong L, Tang S (2020) Food groups and the likelihood of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* **124**, 1-13. <https://doi.org/10.1017/S0007114520000914>

- Hengist A, Koumanov F, Gonzalez JT (2019) Fructose and metabolic health: governed by hepatic glycogen status? *J Physiol* **597**, 3573–3585. <https://doi.org/10.1113/JP277767>
- Hwang JJ, Jiang L, Hamza M, Dai F, Belfort-DeAguiar R, Cline G i sur. (2017) The human brain produces fructose from glucose. *JCI Insight* **2**, e90508. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.90508>
- Inci MK, Park SH, Helsley RN, Attia SL, Softic S (2022) Fructose impairs fat oxidation: Implications for the mechanism of western diet-induced NAFLD. *J Nutr Biochem* **114**, 109224. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109224>
- Jegatheesan P, De Bandt JP (2017) Fructose and NAFLD: The Multifaceted Aspects of Fructose Metabolism. *Nutrients* **9**, 230. <https://doi.org/10.3390/nu9030230>
- Johnson JM, Conforti FD (2003) FRUCTOSE. U: Caballero B (ured.) Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2. izd., Academic Press, Oxford, str. 2748-2752. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012227055X005290>
- Kitano H (2002) Systems biology: a brief overview. *Science* **295**, 1662–1664. <https://doi.org/10.1126/science.1069492>
- Koene E, Schrauwen-Hinderling VB, Schrauwen P, Brouwers MCGJ (2022) Novel insights in intestinal and hepatic fructose metabolism: from mice to men. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **25**, 354-359. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000853>
- Kohlmeier M (2003) Fructose. *Food Sci Technol*, 210-216. <https://doi.org/10.1016/B978-012417762-8.50037-5>
- Liao Y, Davies NA, Bogle IDL (2020) Computational modeling of fructose metabolism and development in NAFLD. *Front Bioeng Biotechnol* **8**, 762. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00762>
- Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH (2010) The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **7**, 251-64. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.41>
- Loomba R, Sanyal A (2013) The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **10**, 686–690. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.171>

- Ma J, Fox CS, Jacques PF, Speliotes EK, Hoffmann U, Smith C, i sur. (2015) Sugar-sweetened beverage, diet soda, and fatty liver disease in the Framingham Heart Study cohorts. *J Hepatol* **63**, 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.03.032>
- Marino S, Hogue IB, Ray CJ, Kirschner DE (2008) A methodology for performing global uncertainty and sensitivity analysis in systems biology. *J Theor Biol* **254**, 178-196. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.04.011>
- Mc Auley MT (2020) Systems biology and nutrition. U: Marriott BP, Birt DF, Stalling VA, Yates AA (ured.) Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism, 11. izd., Elsevier, str. 593-604.
- Mc Auley MT, Proctor CJ, Corfe BM, Cuskelly GJ, Mooney KM (2013) Nutrition research and the impact of computational systems biology. *J Comput Sci Syst Biol* **6**, 271-285. <https://doi.org/10.4172/jcsb.1000122>
- Panagiotou G, Nielsen J (2009) Nutritional system biology: Definitions and approaches. *Annu Rev Nutr* **29**, 329-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141138>
- Parry SA, Turner MC, Hodson L (2020) Lifestyle interventions affecting hepatic fatty acid metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **23**, 373-379. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000687>
- Pinu FR, Beale DJ, Paten AM, Kouremenos K, Swarup S, Schirra HJ, i sur. (2019) Systems biology and multi-omics integration: Viewpoints from the metabolomics research community. *Metabolites* **9**, 76. <https://doi.org/10.3390/metabo9040076>
- Qian G, Mahdi A (2020) Sensitivity analysis methods in the biomedical sciences. *Math Biosci* **323**, 108306. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2020.108306>
- Rakhra V, Galappaththy SL, Bulchandani S, Cabandugama PK (2020) Obesity and the western diet: How we got here. *Mo Med* **117**, 536-538.
- Raza S, Rajak S, Upadhyay A, Tewari A, Anthony Sinha R (2021) Current treatment paradigms and emerging therapies for NAFLD/NASH. *Front Biosci (Landmark Ed)* **26**, 206-237. <https://doi.org/10.2741/4892>
- Rinella M, Cryer DR, Artico A, Fisher T, Schneider J, Nadolsky K (2022) Nonalcoholic steatohepatitis medical patient journey from the perspective of hepatologists,

gastroenterologists and patients: a cross-sectional survey. *BMC Gastroenterol* **22**, 335. <https://doi.org/10.1186/s12876-022-02410-x>

Rinella, M, Sanyal, A (2016) Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **13**, 196–205. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.3>

Rippe JM, Angelopoulos TJ (2013) Sucrose, high-fructose corn syrup, and fructose, their metabolism and potential health effects: what do we really know?. *Adv Nutr* **4**, 236-245. <https://doi.org/10.3945/an.112.002824>

Rippe JM, Angelopoulos TJ (2016) Relationship between added sugars consumption and chronic disease risk factors: Current understanding. *Nutrients* **8**, 697. <https://doi.org/10.3390/nu8110697>

Roeb E, Weiskirchen R (2021) Fructose and non-alcoholic steatohepatitis. *Front Pharmacol* **12**, 634344. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.634344>

Serna Saldivar SO, Perez-Carrillo E (2016) Maize. *Encycl. Food Health*, **2016**, 601-609. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00436-0>

Simons N, Debray FG, Schaper NC, Kooi ME, Feskens EJM, Hollak, i sur. (2019) Patients with aldolase B deficiency are characterized by increased intrahepatic triglyceride content. *J Clin Endocrinol Metab* **104**, 5056-5064. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-02795>

Simons N, Veeraiah P, Simons PIHG, Schaper NC, Kooi ME, Schrauwen-Hinderling VB, i sur. (2021) Effects of fructose restriction on liver steatosis (FRUITLESS); A double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **113**, 391-400. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa332>

Smajis S, Gajdošik M, Pflieger L, Traussnigg S, Kienbacher C, Halilbasic E i sur. (2020) Metabolic effects of a prolonged, very-high-dose dietary fructose challenge in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* **111**, 369–377. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz271>

Tappy L, Lê KA (2010) Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol. Rev.* **90**, 23–46. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2009>

Tappy L, Lê KA, Tran C, Paquot N (2010) Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition* **26**, 1044-1049. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.02.014>

Taskinen MR, Packard CJ, Borén J (2019) Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Nutrients* **11**, 1987. <https://doi.org/10.3390/nu11091987>

Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R (2018) Systems biology primer: the basic methods and approaches. *Essays Biochem* **62**, 487–500. <https://doi.org/10.1042/EBC20180003>

van Ommen B, van den Broek T, de Hoogh I, van Erk M, van Someren E, Rouhani-Rankouhi T, i sur. (2017) Systems biology of personalized nutrition. *Nutr Rev* **75**, 579–599. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nux029>

Wang DD, Li Y, Bhupathiraju SN, Rosner BA, Sun Q, Giovannucci EL, i sur. (2021) Fruit and vegetable intake and mortality: Results from 2 prospective cohort studies of US men and women and a meta-analysis of 26 cohort studies. *Circulation* **143**, 1642-1654. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048996>

Zi Z (2011) Sensitivity analysis approaches applied to systems biology models. *IET Syst Biol* **5**, 336-346. <https://doi.org/10.1049/iet-syb.2011.0015>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Ivona Buljan, 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.

---

Vlastoručni potpis