

Primjena programa CellDesigner za analizu modela metabolizma glukoze kod šećerne bolesti

Marić, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:159:484544>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Lucija Marić

7043/N

**PRIMJENA PROGRAMA CELLDISIGNER ZA ANALIZU MODELA METABOLIZMA
GLUKOZE
KOD ŠEĆERNE BOLESTI
ZAVRŠNI RAD**

Predmet: Modeliranje i optimiranje u nutricionizmu

Mentor: doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam**

**Zavod za procesno inženjerstvo
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam**

**Primjena programa CellDesigner za analizu modela metabolizma glukoze
kod šećerne bolesti**

Lucija Marić, 0058206375

Sažetak: Gotovo svi stanični procesi, počevši od ekspresije gena do sinteze i razgradnje proteina mogu biti pod utjecajem prehrane i životnog stila. Nutritivne i nenu nutritivne komponente na kompleksan način utječu na metaboličke promjene u stanici. Primjena metodologije matematičkog modeliranja omogućuje dobivanje detaljnog uvida u složene procese u stanici na brz, jednostavan i ponovljiv način. U ovom radu proveden je dizajn i simulacija modela metabolizma glikolize u programskom paketu CellDesigner. Ispitan je utjecaj različitih početnih koncentracija glukoze te smanjenih aktivnosti glukokinaze, fosfofruktokinaze i piruvat kinaze povezanih sa šećernom bolesti na metabolizam glukoze. Primjena računalnog programa CellDesigner pokazala se kao vrlo koristan alat za analizu specifičnog metabolizma glikolize kod oboljelih od šećerne bolesti s obzirom da je moguća vizualna interpretacija utjecaja promjena koncentracija i brzina reakcija pojedinih enzima.

Ključne riječi: CellDesigner, model glikolize, šećerna bolest

Rad sadrži: 29 stranica, 1 tablicu, 10 slika, 32 literaturna navoda, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

Pomoć pri izradi: dr. sc. Tamara Jurina

Datum obrane: 16. srpnja 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Nutrition**

**Department of Process Engineering
Laboratory for Measurement, Control and Automatisation**

**Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition**

**Application of the CellDesigner for the analysis of the glucose metabolism model
in diabetes**

Lucija Marić, 0058206375

Abstract: Almost all cellular processes, from gene expression to proteins synthesis and degradation can be affected with nutrition and life style. Nutritive and non-nutritive food components affect metabolic changes in the cell in a complex way. The application of the mathematical modelling methodology ensures detailed insight into complex processes in the cell in a fast, simple and repetitive manner. In this paper, the design and simulation of the glycolysis metabolism model was carried out in the CellDesigner software package. The effect of various initial glucose concentrations on glucose metabolism and the effect of reduced glucokinase activity, phosphofruktokinase and pyruvate kinase associated with diabetes mellitus has been studied. The CellDesigner software has been shown to be a very useful tool for the analysis of specific glycolysis metabolism in diabetic patients since it is possible to visually interpretate the effect of the concentration change and reaction rate of certain enzymes.

Key words: CellDesigner, glycolysis, diabetes,

Thesis contains: 29 pages, 1 table, 10 figures, 32 references, 1 supplement

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Ana JurinjakTušek, Assistant professor

Technical support and assistance: PhD. Tamara Jurina

Defence date: July 16th 2018

SADRŽAJ

1. UVOD	5
2. TEORIJSKI DIO.....	6
2.1. Primjena sistemske biologije u nutricionizmu	6
2.2. Personalizirana prehrana.....	7
2.3. Šećerna bolest	8
2.3.1. Šećerna bolest tip II.....	9
2.3.2. Uloga prehrane u liječenju i prevenciji šećerne bolesti tipa II.....	9
2.4. Glikoliza kao kontrola homeostaze glukoze u krvi	10
2.4.1. Utjecaj šećerne bolesti na glikolizu	11
3. MATERIJALI I METODE	13
3.1. Materijali	13
3.1.1. CellDesigner v.4.4.....	13
3.1.2. Model metabolizma glukoze.....	16
3.2. Metode.....	19
3.2.1. Simulacije modela metabolizma glukoze u programskom paketu CellDesigner	19
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	20
4.1. Prikaz modela glikolize u programskom paketu CellDesigner	20
4.2. Simulacija modela glikolize u programskom paketu CellDesigner.....	22
5. ZAKLJUČCI.....	26
6. LITERATURA.....	27
PRILOZI	

1. UVOD

Koncept personalizirane prehrane sve se više popularizirao tijekom posljednjih nekoliko godina zbog tehnološkog, socijalnog i znanstvenog razvoja, a nameće se kao jedno od mogućih rješenja za trenutne preporuke o prehranbenim smjernicama. Sama individualizacija temelji se na preporukama prilagođenima pojedinoj osobi s obzirom na specifične biološke potrebe. S obzirom na složenost biokemijskih reakcija koje se odvijaju u ljudskom tijelu, svaka preporuka trebala bi se temeljiti upravo na specifičnosti tih reakcija i načinu na koje one dolaze u interakciju s nutrijentima iz prehrane i okolišnim uvjetima (van Ommen i sur., 2017). Nutritivne potrebe pojedinca znatno variraju i ovise o: tjelesnoj masi, starosnoj dobi, tjelesnoj aktivnosti, zdravstvenom statusu, spolu i dr. Trenutne preporuke o unosu pojedinih nutrijenata i načinu prehrane namijenjene su općoj populaciji, te je upravo razlika u individualnosti pojedinaca razlog različitog odgovora na opće preporuke. Istraživanja vezana za prehranbene navike i njihov utjecaj na zdravlje posljednjih godina su znatno evoluirala, stoga sve više u fokus dolazi izučavanje interakcije životnog stila, prehrane i gena. Posebno su intezivirana istraživanja o djelovanju sastojaka hrane na ekspresiju gena, gdje se dolazi do pretpostavke da sastojci iz hrane mogu utjecati na razvoj brojnih oboljenja, te da je učinkovitost prehranbenog obrasca ovisna o genetskoj osnovi pojedinca kao i o njegovom zdravstvenom stanju (Regazzi i sur., 2016). Pretpostavlja se da se takvi genetski rizici mogu umanjiti funkcionalnom prehranom. Ta spoznaja pokušava se primijeniti u prevenciji i liječenju kardiovaskularnih bolesti, artritisa, osteoporoze, dijabetesa i dr. Personalizirana prehrana trebala bi omogućiti prehranu baziranu na genetskoj osnovi svakog pojedinca modificiranu s obzirom na pripadajuću dijagnozu (van Ommen i sur., 2017).

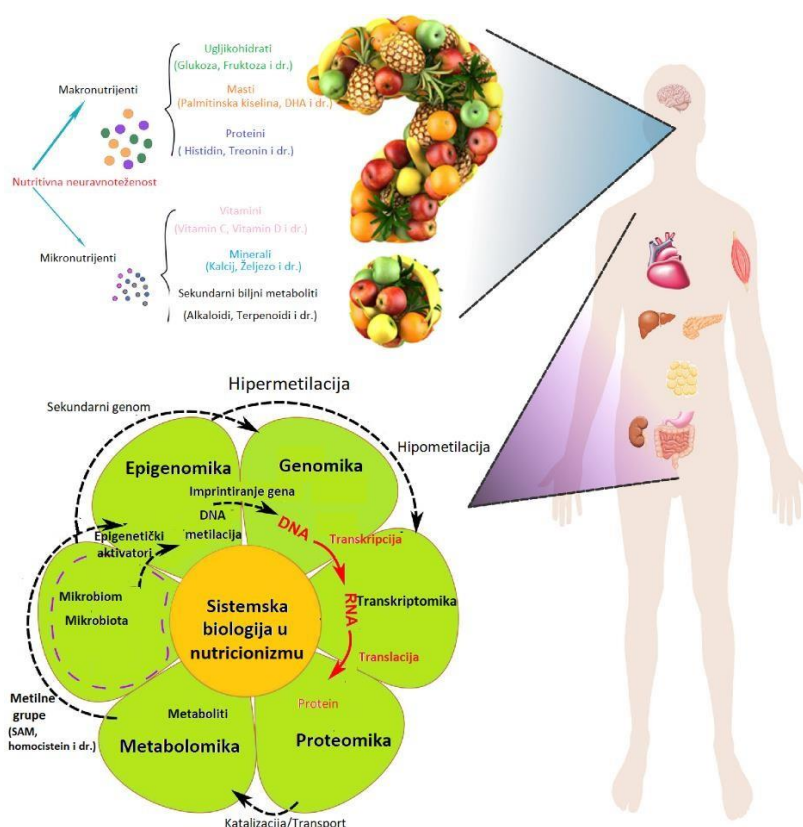
U šećernoj bolesti manifestira se prekomjerna produkcija glukoze u stanicama jetre, relativnog smanjenja aktivnosti enzima glikolize te povećanje aktivnosti enzima glukoneogeneze (Guoa i sur., 2012).

Piruvat kinaza ima ključnu ulogu u zadnjem koraku glikolize, a smanjenje katalitičke aktivnosti tog enzima zabilježeno je kod oboljelih od dijabetesa tip II (Majer i sur., 1998; Huang i sur., 2003). Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih početnih koncentracija glukoze te utjecaj smanjenih aktivnosti glukokinaze, fosfofruktokinaze i piruvat kinaze na metabolizam glukoze u programskom paketu CellDesigner.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Primjena sistemske biologije u nutricionizmu

Tijekom proteklih godina implementacija sistemske biologije u istraživanja u području nutricionizma pokazala se kao vrlo moćan alat za razumijevanje mehanizama kojima komponente hrane utječu na zdravlje i preveniraju bolesti te za otkrivanje biološki aktivnih molekula uključenih u takve mehanizme. Sistemska biologija koristeći i kombinirajući znanja genomike, proteomike i metabolomike stvara velike skupove podataka koji uz pomoć računalne integracije stvaraju prediktivne mreže i omogućuju opširniju analizu individualnog odgovora na pojedinu prehranbenu intervenciju i pružaju sveobuhvatno razumijevanje kako određeni način prehrane može utjecati kako na zdravlje tako i na bolest (slika 1) (Badimon i sur., 2017).



Slika 1. Prikaz međudjelovanja različitih područja znanosti unutar sistemske biologije u nutricionizmu (de Graaf i sur., 2009).

Sve veći broj istraživanja unutar nutricionizma uključuje metode genomike, transkriptomike, metabolomike i proteomike. Međutim, vrlo je nejasno kako se ovi skupovi podataka mogu povezati s fiziološkom karakterizacijom fenotipa uz pomoć tradicionalnih metoda istraživanja u

nutricionizmu poput indirektna kalorimetrije, procjene sastava tijela te metode obilježavanja izotopima. Iako je statistička analiza još uvijek visoko birana metoda za obradu visokodimenzionalnih podataka, sistemska i računalna biologija sve više se počinju primjenjivati kao jedno od mogućih rješenja. S obzirom na široku raznolikost računalnih modela vrlo je laka primjena na široku razinu organizacije ljudskog tijela i razlike s obzirom na molekularne interakcije, signalne puteve, metaboličke puteve, stanični rast, anatomsku strukturu i fiziološke procese (de Graaf i sur., 2009).

Gotovo svi stanični procesi, počevši od ekspresije gena do sinteze i razgradnje proteina mogu biti pod utjecajem prehrane i životnog stila. Nutritivne i nenutritivne komponente na kompleksan način utječu na metaboličke promjene u stanici. Slično djelovanju farmaceutika, svaka komponenta hrane utječe na mrežu reakcija sadržanih u metabolizmu djelujući pritom sasvim drugačije ovisno o komponenti. Istraživanja u tom polju još su uvijek u začetku, a naglasak je stavljen na projektiranje strategija putem kojih bi se objasnilo djelovanje pojedinih komponenata hrane na funkciju ili sudbinu stanice, a manipulacijom istih bi se postigao značajan napredak u prevenciji ili liječenju pojedinih kroničnih bolesti današnjice (Panagiotou i Nielsen, 2009). Komplementiranje znanja omogućit će bolje razumijevanje i predviđanje kvalitativnih i kvantitativnih poveznica između određenog prehranbenog obrasca ili unosa nutrijenta te utjecaja na zdravlje. Složenost se javlja zbog širokog raspona različitih nutrijenata, s različitim kemijskim strukturama, koji mogu imati brojne mehanizme djelovanja s posebnim specifičnostima.

2.2. Personalizirana prehrana

Jedna od ključnih uloga obećavajućeg područja unutar nutricionizma predstavlja princip personalizirane prehrane prema čijim preporukama bi se znatno utjecalo na liječenje ili prevenciju metaboličkih poremećaja. Preciznim smjernicama omogućio bi se dinamičan pristup klasičnim prehranbenim preporukama koje bi uključivale parametre unutarnjeg i vanjskog sustava čovjeka koji su gotovo konstantno u interakcijama (de Toro-Martín i sur., 2017). Osim genetičkog učinka, takve preporuke sadržavale bi utjecaj prehranbenih navika, prehranbenog ponašanja, tjelesne aktivnosti, skup mikrobiote i metaboličkih reakcija. Prema Međunarodnom Društvu Nutrigenetičara/Nutrigenomičara (ISNN) budućnost personalizirane prehrane trebala bi se promatrati s tri aspekta: stratifikacija konvencionalnih nutritivnih preporuka unutar subpopulacije s obzirom na dob, spol i druge socijalne čimbenike, individualan pristup proizašao iz iscrpnog genetičkog profiliranja s posebnim naglaskom na individualne odgovore na pojedine namirnice te individualan pristup proizašao iz predviđanja fenotipa organizma s

obzirom na dostupne informacije dobivene DNK sekvencioniranjem (Betts i sur., 2016). Kategorizacijom ovih čimbenika u narednih nekoliko godina trebalo bi doći do smanjenja prevalencije pretilosti i metaboličkih poremećaja kao jednih od glavnih uzroka poboljšanja današnje populacije.

2.3. Šećerna bolest

Šećerna bolest predstavlja metabolički poremećaj višestruke etiologije kojeg obilježava stanje kronične hiperglikemije i poremećen metabolizam ugljikohidrata, masti i proteina zbog oštećene sekrecije inzulina i/ili poremećaja u njegovu djelovanju. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization, WHO*) broj oboljelih diljem svijeta porastao je na 422 milijuna (<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>). Prema kriterijima ESC-a (engl. *The European Society of Cardiology*) preporuka za postavljanje dijagnoze šećerne bolesti temeljena je na kombinaciji mjerenja HbA1c i razine glukoze u krvi natašte ili, u slučaju dvojbe dodati OGTT (test oralnog opterećenja glukoze; test opterećenja s ($m =$) 75 g glukoze otopljene u ($V =$) 2 dL vode). Oštećena tolerancija glukoze (engl. *Impaired glucose tolerance - IGT*) i oštećen metabolizam glukoze natašte (engl. *Impaired fasting glucose – IFG*) obuhvaćeni su zajedničkim imenom kao predijabetes te predstavljaju čimbenike rizika ne samo za šećernu bolest već i za kardiovaskularne bolesti. U fazi predijabetesa je 79 milijuna ljudi u svijetu (Rowley i sur., 2017). Vrlo je važno otkriti osobu u ranoj fazi bolesti jer su često u trenutku postavljanja dijagnoze već uočene brojne komplikacije. Hiperglikemija ukazuje na česti problem nekontrolirane šećerne bolesti koji s vremenom uzrokuje ozbiljnije komplikacije raznih organskih sustava kao što je zatajenje bubrega, oštećenje krvnih žila, srčanie i moždanie udare, sljepoću itd. Prema podacima CroDiab registra osoba sa šećernom bolešću u Republici Hrvatskoj je 2014. godine bilo 254.296 odraslih osoba sa šećernom bolešću, 125.506 muškaraca (49,35 %) i 128.790 (50,65 %) žena (<http://www.idb.hr/crodiabweb.htm>). Uz procjene da i do 40 % bolesnika nije otkriveno, ukupan broj oboljelih procjenjuje se na preko 400.000. Bolesnici kojima je bolest dijagnosticirana najčešće ne dosižu ciljeve liječenja, što predstavlja veliki rizik za daljnji razvoj kroničnih komplikacija bolesti. Pored visoke prevalencije šećerne bolesti, izražen je trend porasta bolesti tipa 2, koji se uobičajeno javlja kod odraslih, ali sve češće i kod djece i adolescenata. I procjene Međunarodne dijabetičke federacije (engl. *International Diabetes Federation - IDF*) evidentiraju porast prevalencije šećerne bolesti u Republici Hrvatskoj, tako da najnoviji podaci za 2017. godinu govore da u dobnoj skupini od 20-79 godina prevalencija šećerne bolesti iznosi 5-6 %.

2.3.1. Šećerna bolest tip II

Dijabetes melitus tipa 2 (T2DM) heterogena je skupina oboljenja karakterizirana različitim stupnjevima inzulinske rezistencije, poremećenim djelovanjem i/ili lučenjem inzulina uz uvećanje proizvodnje glukoze u jetri procesom glukoneogeneze (Papademetriou i sur., 2017). Uzrokovana je kako naslijeđem tako i čimbenicima okoliša i načinom života. Tip 2 najčešće se pojavljuje u odrasloj dobi te je odgovoran za 90 % slučajeva oboljelih od šećerne bolesti. Bolest je karakterizirana nedovoljnim lučenjem inzulina iz gušterače i/ili njegove nemogućnosti da pravilno djeluje na ulazak glukoze u periferna tkiva, što se definira pojmom inzulinska rezistencija (Štraus i Petlevski, 2009). Osnovni molekularni poremećaj rezultat je genetičkih i okolišnih čimbenika od kojih ključnu ulogu imaju prekomjerna tjelesna masa i smanjena tjelesna aktivnost. Za razliku od tipa 1, bolest ovog tipa razvija se polagano, dugo ostaje neprepoznata jer se simptomi pojavljuju tek kod uznapredovale bolesti. Najčešće se otkriva slučajno, sistematskim pregledom i nalazom povećane koncentracije glukoze u krvi i u mokraći. Kod osoba oboljelih od ovog tipa bolesti postoji relativni manjak inzulina, ali ga ima dovoljno da spriječi nastanak akutnih komplikacija bolesti. Ipak, povećani je rizik pojave mikrovaskularnih (retinopatija, nefropatija i neuropatija) i makrovaskularnih komplikacija (moždani udar, ishemijske srčane bolesti). Kardiovaskularne komplikacije su vodeći uzrok smrti povezane sa šećernom bolesti (Papademetriou sur., 2017). S obzirom da deficit inzulina nije apsolutan, tj. postoji sekrecija inzulina iz gušterače u nekoj mjeri, ovaj tip bolesti nije ovisan o liječenju inzulinom. Tip 2 šećerne bolesti u početku se liječi i prevenira zdravijim načinom života, dijetom i povećanom tjelesnom aktivnosti. U uznapredovaloj bolesti potrebna je terapija oralnim hipoglikemicima i inzulinom.

2.3.2. Uloga prehrane u liječenju i prevenciji šećerne bolesti tipa II

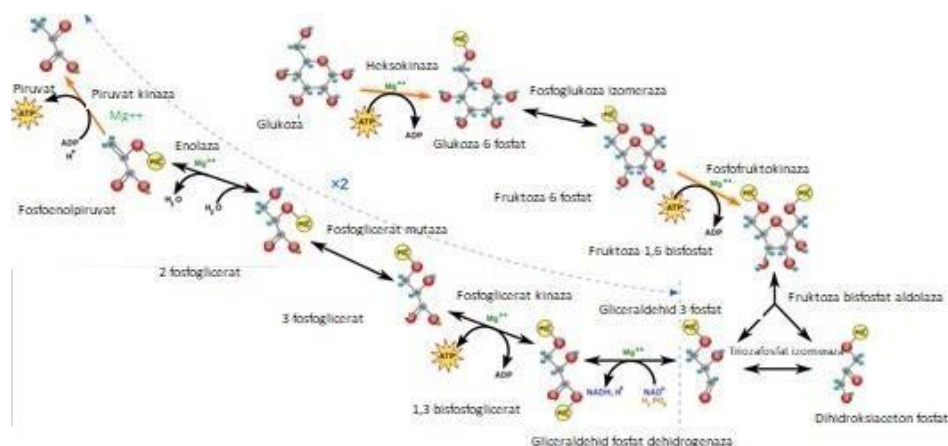
Cilj liječenja šećerne bolesti je otklanjanje simptoma vezanih uz hiperglikemiju, redukcija odnosno eliminacija kroničnih mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija dijabetesa i omogućavanje što normalnijeg načina života. Za postizanje zadanih ciljeva liječenja treba odrediti ciljnu razinu glikemije za svakog pacijenta, osigurati mu edukaciju i liječenje neophodno za dostizanje definirane razine te nadgledati i liječiti komplikacije šećerne bolesti (Schwingshackl i sur., 2017). Simptomi dijabetesa uobičajeno se povlače već nakon smanjenja glukoze u plazmi na razinu ispod $c = 11,1 \text{ mmol L}^{-1}$ (Vrca-Botica i sur., 2008). Prehrana kod dijagnoze dijabetesa treba biti optimalna kombinacija kalorijskog unosa i ostalih vidova liječenja (inzulinska terapija, tjelovježba, gubitak tjelesne mase) (Montonen i sur., 2005). Ciljevi dijabetičke prehrane osoba oboljelih od tipa II razlikuju se od prehrane oboljelih od tipa

I. Većina bolesnika s dijabetesom tip II je pretila zbog čega primarni cilj uvijek predstavlja gubitak tjelesne mase. Novije preporuke navode umjerenu redukciju unošenja energije uz smanjen unos masti, pojačanu tjelesnu aktivnost te medikamentno liječenje hiperlipidemije i hipertenzije (Gucciardi i sur., 2014).

Prehrana kod šećerne bolesti tip I i kod šećerne bolesti tip II se primarno razlikuje ovisno o broju obroka, gdje ritam i broj obroka ovise o terapiji. Ako se osobe liječe prehranom, oralnim hipoglikemicima ili bazal-oralnom terapijom, trebaju imati tri glavna obroka na dan i dva međuobroka. Takav način prehrane je karakterističan za šećernu bolest tip 2. Osobe kojima je liječnik prepisao terapiju predmješanim inzulinskim analogima u dvije ili tri doze ili bazal-bolusnu inzulinsku terapiju u pravilu trebaju tri obroka na dan, bez međuobroka. Takav način prehrane je karakterističan za šećernu bolest tip 1. Obroci se po želji ne smiju spajati ili preskakati.

2.4. Glikoliza kao kontrola homeostaze glukoze u krvi

Glukoza nastaje iz ugljikohidrata unesenih hranom i predstavlja važan izvor energije za većinu organizama. U održavanju odgovarajuće koncentracije glukoze u krvi ključnu ulogu ima jetra. Glikoliza je središnji metabolički put glukoze koji se odvija u citoplazmi stanica u kojem se glukoza razgrađuje do piruvata, tj. u uvjetima nedostatka kisika do laktata. Energija koja je pohranjena u molekuli glukoze se tijekom razgradnje oslobađa u obliku ATP-a i NADH, a najvećim dijelom ostaje pohranjena u molekuli piruvata (Štraus i Petlevski, 2009) Glikolitička razgradnja glukoze jedini je izvor metaboličke energije u nekim tkivima i stanicama sisavaca. Reakcije glikolize mogu se podijeliti u tri vrste biokemijskih reakcija: razgradnju ugljikovog skeleta glukoze u piruvat, fosforilaciju ADP-a u ATP uz spojeve koji imaju visok potencijal za prijenos fosforilnih skupina te prijenos hidronijevog iona na NAD^+ u svrhu nastajanja NADH (Štraus i Petlevski, 2009). Shema puta glikolize prikazana je na slici 2 .



Slika 2. Shema puta glikolize (Li i sur., 2015)

2.4.1. Utjecaj šećerne bolesti na glikolizu

Proces glikolize iako na prvi pogled vrlo jednostavan i dobro poznat metabolički put predstavlja vrlo važnu ulogu u različitim fiziološkim stanjima. Glikoliza je usko povezana s proizvodnjom glukoze, sekrecijom inzulina, sintezom glikogena u jetri i mišićima te posredno stimulira lipogenezu u adipoznom tkivu. U šećernoj bolesti, zbog pojačane anaerobne glikolize stvaraju se veće količine laktata koji kao krajnji produkt glikolize ne inducira inzulinsku rezistenciju (Guoa i sur., 2012). Važnost glikolize u nereguliranoj jetrenoj proizvodnji glukoze izražena je preko genetičkih mutacija u genu za glukokinazu. Uz genetičke defekte u metaboličkim enzimima dodatan faktor je i visceralna pretilost koja uzrokuje inzulinsku rezistenciju čime je onemogućeno djelovanje inzulina na periferna tkiva, ali i na samu aktivnost glukokinaze. U šećernoj bolesti dolazi do povećane proizvodnje glukoze u stanicama jetre, relativnog smanjenja aktivnosti enzima glikolize i glikogeneze uz povećanje aktivnosti enzima glikogenolize i glukoneogeneze (Guoa i sur., 2012). U šećernoj bolesti tip II inzulinska rezistencija uzrokuje hiperinzulinemiju koja se kompenzira povećanjem glikolize u jetri, adipoznom tkivu i β -stanicama gušteraće. Potencijalna mjesta regulacije glikolize su enzimi heksokinaza, fosfofruktokinaza i piruvat kinaza koji kataliziraju gotovo ireverzibilne reakcije. Na aktivnost enzima utječu alosterički efektori i kovalentne modifikacije (fosforilacija) dok se sama količina enzima mijenja regulacijom transkripcije ovisno o potrebama metabolizma (Berg i sur., 2013). Piruvat kinaza ima ključnu ulogu u zadnjem koraku glikolize, prevođenju fosfoenolpiruvata u piruvat. Ovaj enzim podložan je alosteričkoj regulaciji i fosforilaciji. Aktivnost piruvat kinaze snižena je tijekom gladovanja i šećerne bolesti, dok se povećava konzumacijom ugljikohidrata i inzulina. Glukoza je ključna regulatorna molekula koja je

potrebna da bi inzulin imao utjecaj na piruvatkinazu (potrebni su i glukoza i inzulin istovremeno) (Guoa i sur., 2012).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

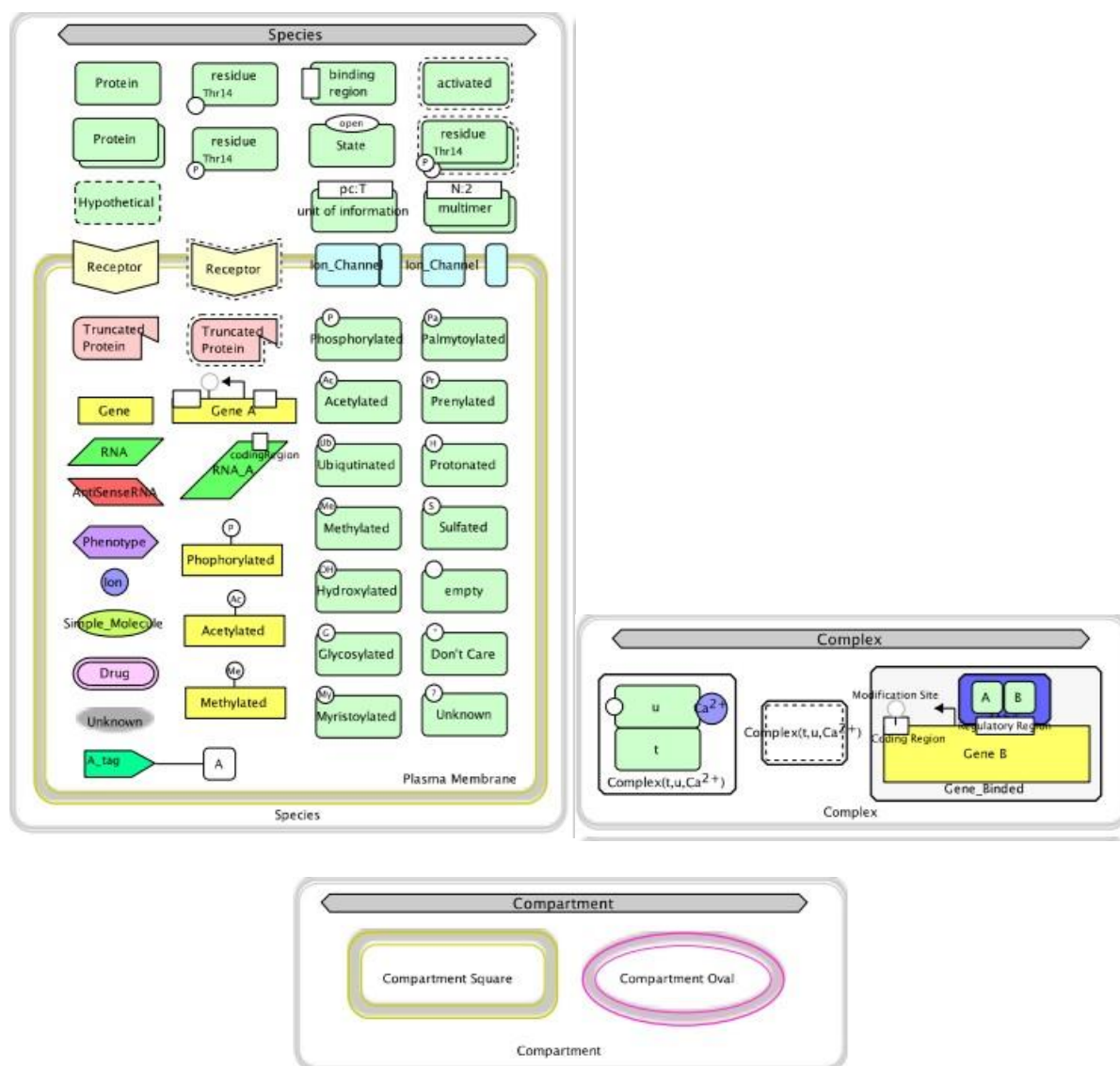
Od materijala u ovom radu korišten je računalni program CellDesigner verzija 4.4. te program MS Excel 2016.

3.1.1. *CellDesigner v.4.4.*

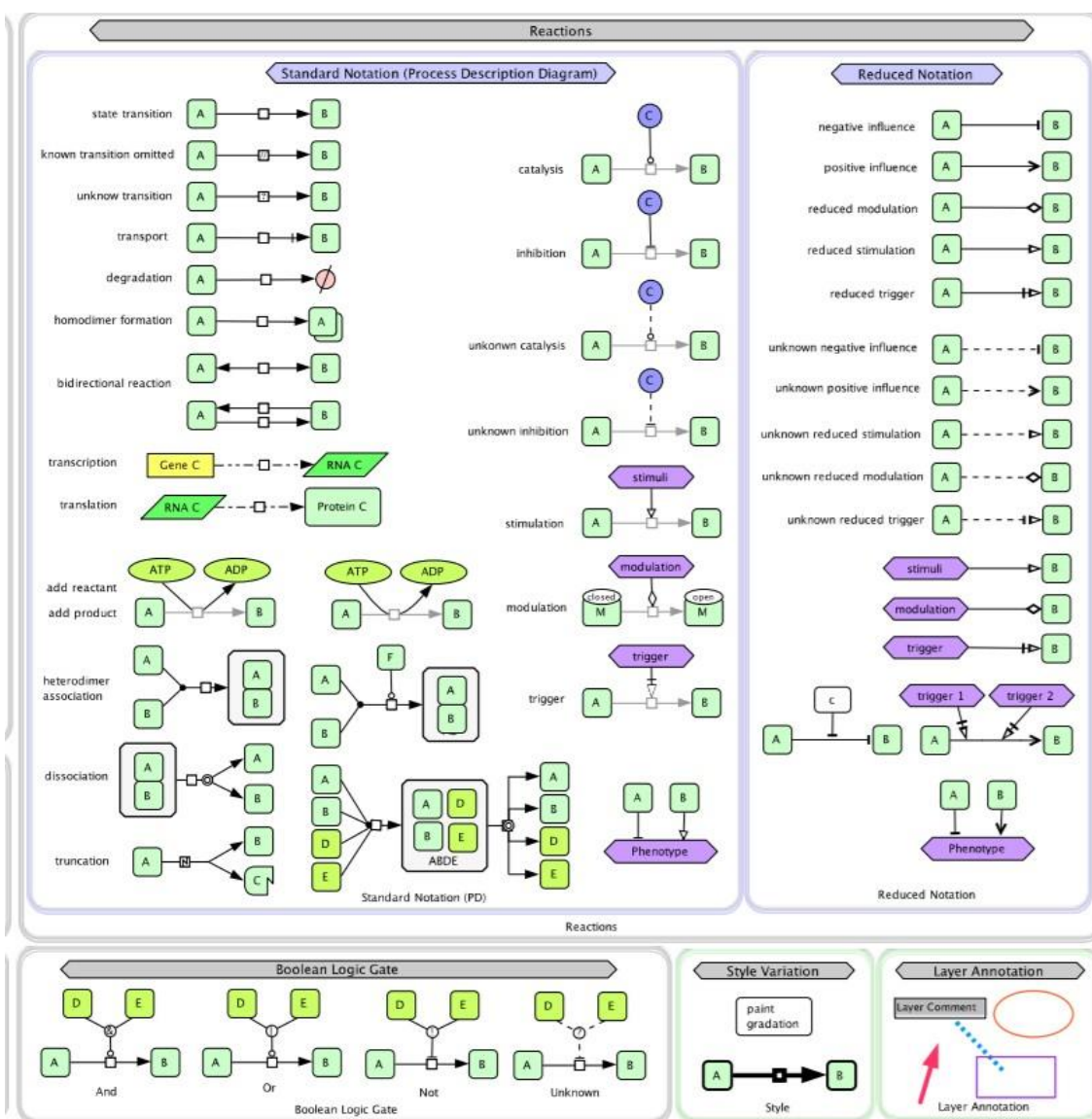
CellDesigner je računalni program koji se koristi za prikaz bioloških procesa u stanici, kao što su grafičko prikazivanje biokemijskih i genski reguliranih mreža (Klipp i sur., 2010). Glavne karakteristike programa uključuju:

- (1) prikaz biokemijske semantike,
- (2) detaljni opis promjene stanja proteina,
- (3) program podržava SBML oblik datoteke (SBML, engl. *Systems Biology Markup Language*, format koji predstavlja modele biokemijskih mreža),
- (4) integriranost sa SBW (SBW, engl. *Systems Biology Workbench*) simulacijama i SBML simulacijskom knjižicom,
- (5) povezanost baza podataka (Funahashi i sur., 2008).

Prikaz modela pomoću CellDesignera započinje odabirom [File]→[New] čime se otvara prozor u koji se upiše naziv dokumenta i odabere veličina radnog prozora. Ispod alatne trake smještene su ikone koje su vezane uz odabir vrste molekula i tipove reakcija. Nakon odabira odgovarajućih molekula (protein, gen, ion, molekula itd.) one se povezuju strelicama koje predstavljaju reakciju (transport, kataliza, degradacija, transkripcija, translacija, inhibicija, aktivacija itd.). Dodavanje potrebnih simbola vrši se odabirom na odgovarajuću ikonu ispod alatne trake. Grafički prikaz simbola u CellDesigneru nalaze se na slikama 3-4.

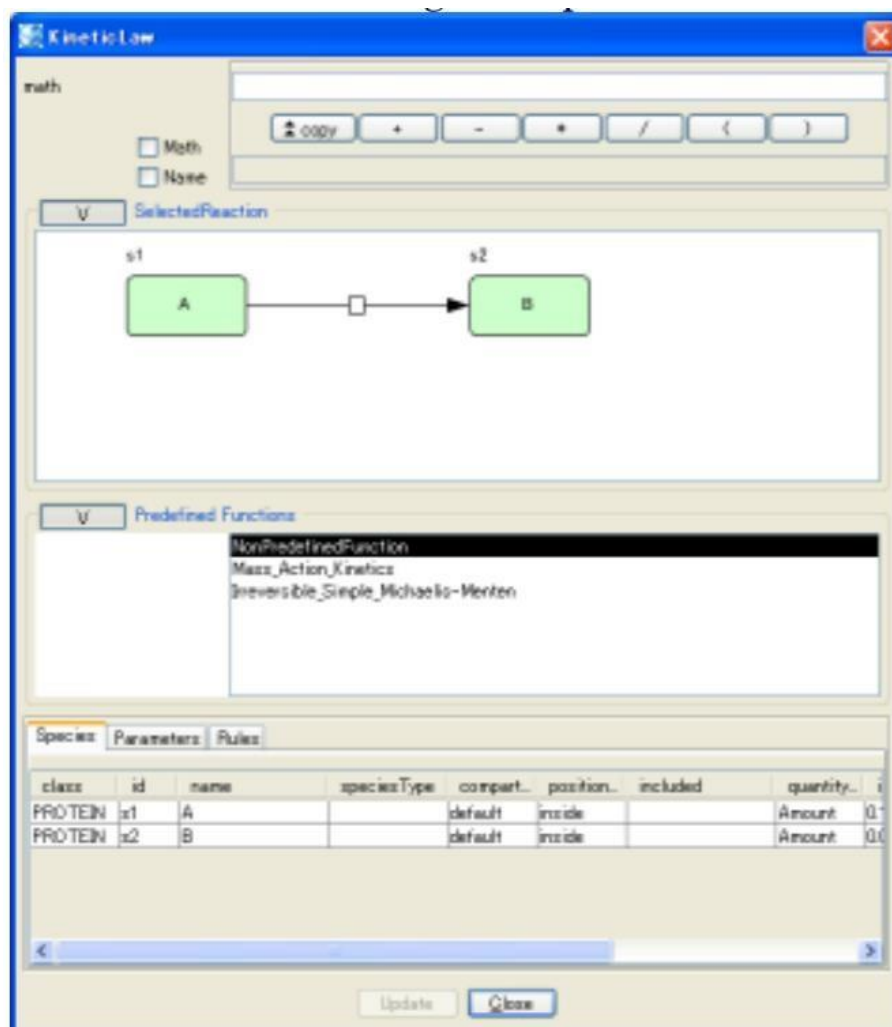


Slika 3. Simboli za vrste, komplekse i odjeljke u CellDesigner programu (Anonymous, 2018).



Slika 4. Simboli za reakcije, Booleove logičke sklopke, promjene stila i anotacije (Anonymous, 2018).

Desnim klikom pokazivača miša na reakciju dodaje se odgovarajuća kinetika reakcije [Edit Kinetic Law], čime se otvara novi prozor u koji se upisuju jednažba i kinetički parametri. Grafički prikaz prozora u koji se dodaje izraz za kinetiku reakcije nalazi se na slici 5.



Slika 5. Grafički prikaz prozora za unos kinetičkog izraza (Anonymous, 2018).

Početne koncentracije molekula upisuju se prije pokretanja simulacije odabirom [Simulations]→[Control Panel]. Dobiveni rezultati mogu se pregledati u grafičkom ili numeričkom obliku. Modeli se spremaju kao SBML dokumenti te kao takvi sadržavaju sve potrebne informacije koje se odnose na vrstu molekula, reakcije, geometrijski položaj u dokumentu, kinetiku reakcije i sl.

3.1.2. Model metabolizma glukoze

U ovome radu provedena je analiza matematičkog modela metabolizma glukoze u stanicama jetre koji su predložili König i sur., 2012. Model uključuje 36 biokemijskih reakcija, 44 metabolita te 185 kinetičkih parametara. U tablici 1 dan je popis biokemijskih reakcija opisanih korištenim matematičkim modelom za brzinu reakcija metabolizma glukoze u jetri.

Tablica 1. Popis reakcija metabolizma glukoze u jetri (König i sur., 2012).

V	REAKCIJA	Enzim
V1	glukoza (vanjs.) → glukoza (unutr.)	GLUT2 transporter
V2	glukoza + ATP → glukoza-6-fosfat + ADP	Glukokinaza
V3	glukoza-6-fosfat + H ₂ O → glukoza + P	glukoza-6-fosfataza
V4	glukoza-6-fosfat → fruktoza-6-fosfat	glukoza-6-fosfat izomeraza
V5	glukoza-1-fosfat → glukoza-6-fosfat	glukoza-1-fosfat 1,6-fosfomutaza
V6	glukoza-1-fosfat + UTP → UDP-glukoza + PP	UTP: glukoza-1-fosfat uridiltransferaza
V7	PP + H ₂ O → 2P	pirofosfat fosfohidrolaza
V8	UDP-glukoza → UDP + glikogen-glukoza	glikogen sintaza
V9	glikogen-glukoza + P → glukoza-1-fosfat	glikogen fosforilaza
V10	ATP + GDP → ADP + GTP	nukleozid difosfat kinaza (GTP)
V11	ATP + UDP → ADP + UTP	nukleozid difosfat kinaza (GTP)
V12	ATP + AMP → 2 ADP	adenilat kinaza
V13	ATP + fruktoza-6-fosfat → ADP + fruktoza-2,6-bisfosfat	fosfofruktokinaza II
V14	fruktoza-2,6-bisfosfat - H ₂ O → P + fruktoza-6-fosfat	fruktoza-2,6-bisfosfataza
V15	ATP + fruktoza-6-fosfat → fruktoza-1,6-bisfosfat + ADP	fosfofruktokinaza I
V16	fruktoza-1,6-bisfosfat + H ₂ O → fruktoza-6-fosfat + P	fruktoza-2,6-bisfosfataza
V17	fruktoza-1,6-bisfosfat → dihidroksiaceton fosfat + gliceraldehid-3-fosfat	Aldolaza

V18	dihidroksiacetone fosfat → gliceraldehid-3-fosfat	triozafosfat izomeraza
V19	gliceraldehid-3-fosfat + P + NAD → NADH + H + 1,3-bisfosfoglicerat	gliceraldehidfosfat dehidrogenaza
V20	ADP + 1,3-bisfosfoglicerat → ATP + 3-fosfoglicerat	fosfoglicerat kinaza
V21	3-fosfoglicerat → 2-fosfoglicerat	3-fosfoglicerat mutaza
V22	2-fosfoglicerat → fosfoenolpiruvat + H ₂ O	Enolaza
V23	ADP + fosfoenolpiruvat → piruvat + ATP	piruvat kinaza
V24	oksaloacetat + GTP → fosfoenolpiruvat + GTP + CO ₂	fosfoenolpiruvat karboksikinaza (cit)
V25	oksaloacetat + GTP → fosfoenolpiruvat + GTP + CO ₂	fosfoenolpiruvat karboksikinaza (mit)
V26	piruvat + ATP + CO ₂ → oksaloacetat + ADP + P	piruvat karboksilaza
V27	piruvat + NADH + H → laktat + NAD	laktat dehidrogenaza
V28	laktat (vanjs.) → laktat (unut.)	transporter laktata
V29	piruvat → piruvat (mit.)	transporter piruvata
V30	fosfoenolpiruvat (mit.) → fosfoenolpiruvat	transporter fosfoenolpiruvata
V31	piruvat (mit.) + CoA (mit.) + NAD → acetil-CoA + CO ₂ + NADH + H	piruvat dehidrogenaza

V32	oksaloacetat (mit.) + acetil-CoA (mit.) + H ₂ O (mit.) → citrat (mit.) + CoA (mit.)	citrat sintaza
V33	ATP (mit.) + GDP (mit.) → ADP (mit.) + GTP (mit.)	nukleozid difosfat kinaza (GTP)
V34	→ oksaloacetat (mit.)	transporter oksaloacetata
V35	acetil-CoA (mit.) →	transporter acetil CoA
V36	citrat (mit.) →	transporter citrata

3.2. Metode

3.2.1. *Simulacije modela metabolizma glukoze u programskom paketu CellDesigner*

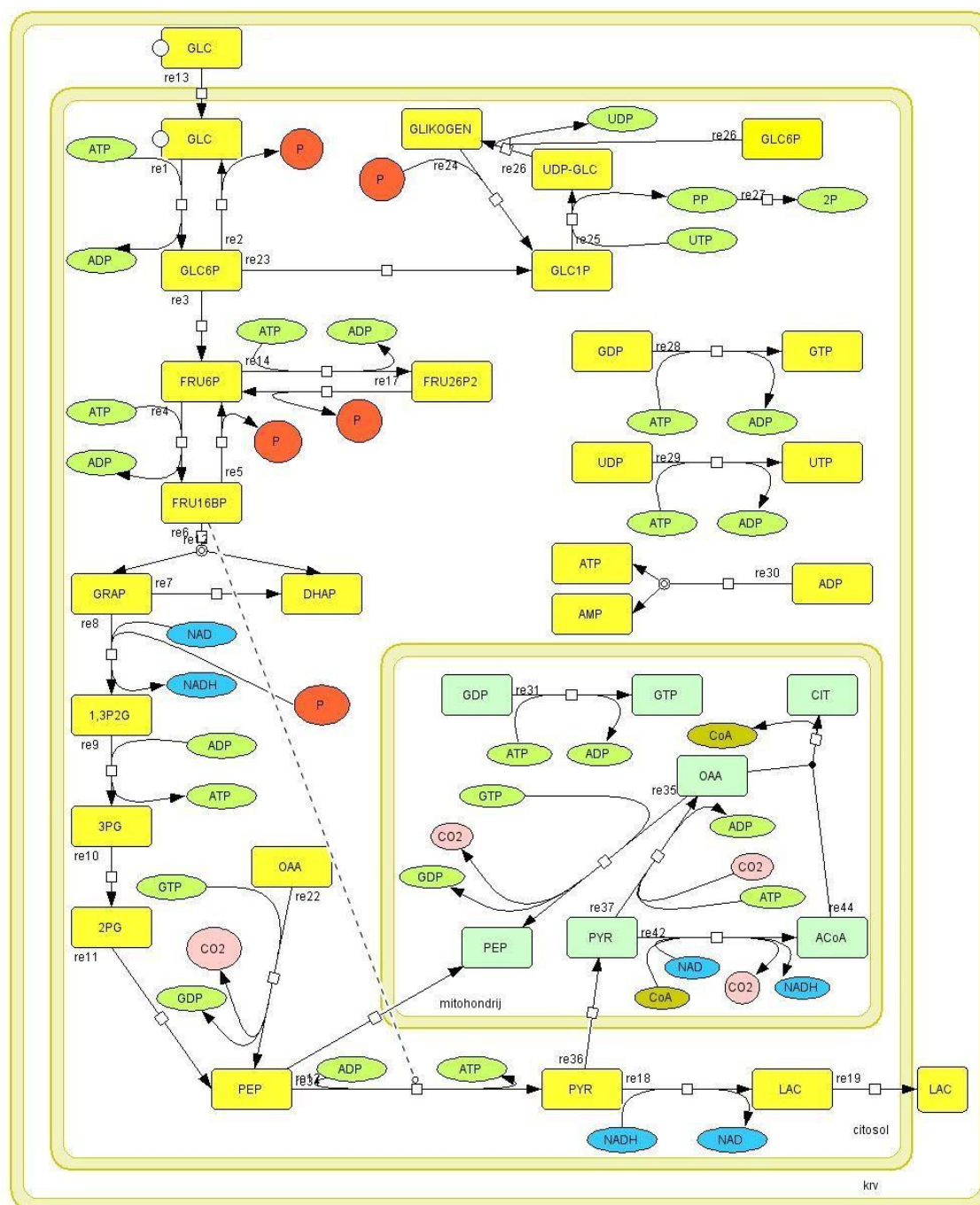
Provedene su simulacije modela metabolizma glukoze konstruiranog u programskom paketu CellDesigner. Ispitan je utjecaj različitih početnih koncentracija glukoze ($c_{0, \text{GLC}} = 4, 5, 6, 7$ i $7,7 \text{ mmol L}^{-1}$) na brzinu razgradnje glukoze u procesu glikolize. Ispitan je također utjecaj smanjenja maksimalne brzine reakcije (za 3 %, za 5 % i za 10 %) ključnih enzima glikolize (glukokinaza, fosfofruktokinaza, piruvat kinaza) na brzinu razgradnje glukoze ($c_{0, \text{GLC}} = 5 \text{ mmol L}^{-1}$) u procesu glikolize. Vrijednosti dobivene računalnom simulacijom u CellDesigneru grafički su prikazane pomoću Microsoft Excell 2016 programa.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Prikaz modela glikolize u programskom paketu CellDesigner

U ovom radu prikazan je model glikolize u stanicama jetre pomoću programskog paketa CellDesigner v.4.4. Model se sastoji od 36 biokemijskih reakcija koje opisuju promjenu koncentracije metabolita glikolize tijekom vremena. U model je uključeno 44 metabolita glikolize te 185 kinetičkih parametara. Popis reakcija prikazan je u tablici 1 dok je popis svih korištenih kinetičkih izraza dan u prilogima.

Na slici 6. nalazi se prikaz modela glikolize u stanicama jetre izrađenim u računalnom programu CellDesigner. Vrlo je raširena upotreba CellDesignera za analizu biokemijskih puteva upravo zbog jednostavne vizualizacije i prikaza logike i dinamike složenih reakcija uključenih u većinu metaboličkih puteva (Funahashi i sur., 2008).

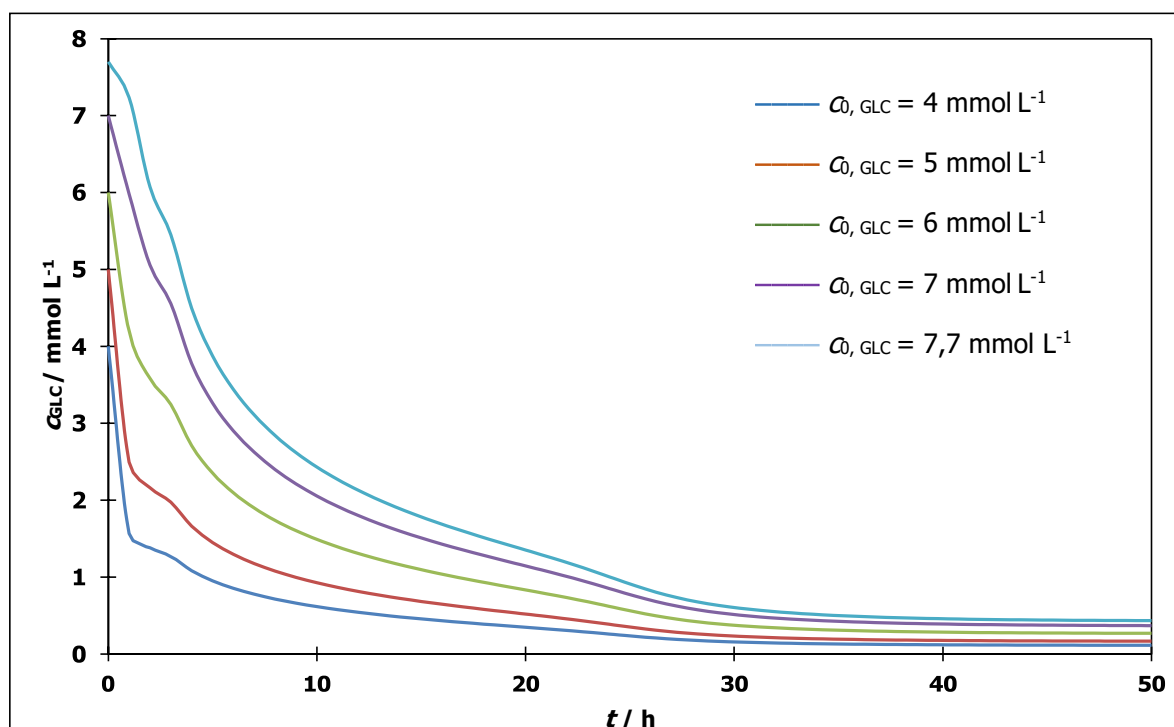


Slika 6. Prikaz modela glikolize izrađenog u računalnom programu CellDesigner (ATP – adenozin trifosfat, ADP – adenozin difosfat, AMP – adenozin monofosfat, UTP – uridin trifosfat, UDP – uridin difosfat, GTP – gvanozin trifosfat, GDP – gvanozin difosfat, NAD⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid, NADH – nikotinamid adenin dinukleotid, P - fosfat, PP - pirofosfat, CO₂ – ugljikov(II) oksid, GLC1P - glukoza-1-fosfat, UDP-GLC-UDP-glukoza, GLC - glukoza, GLC6P - glukoza-6-fosfat, FRU6P - fruktoza-6-fosfat, FRU16BP - fruktoza-1,6-bisfosfat, FRU26BP - fruktoza-2,6-bisfosfat, GRAP - gliceraldehid 3-fosfat, DHAP - dihidroksiaceton fosfat, 1,3P2G - 1,3-bisfosfoglicerat, 3PG - 3-fosfoglicerat, 2PG - 2-fosfoglicerat, PEP - fosfoenol piruvat, PYR - piruvat, OAA - oksaloacetat, LAC - laktat)

4.2. Simulacija modela glikolize u programskom paketu CellDesigner

U ovome istraživanju korišten je računalni program CellDesigner za analizu metabolizma glukoze tj. za analizu enzima čije je ponašanje specifično kod šećerne bolesti, što je opisano u literaturi (Iori i sur., 2008; Lee i sur., 2014; Mali i sur., 2016). Stupanj glikolize može se odrediti na temelju mjerenja aktivnosti enzima koji kataliziraju ireverzibilne, jednosmjerne reakcije: heksokinaza (u jetri glukokinaza), fosfofruktokinaza i piruvat kinaza. Podaci dostupni u literaturi navode da aktivnost navedenih enzima kod oboljelih od šećerne bolesti opada te se vraća u normalu 24 sata nakon terapije inzulinom. Osobe koje boluju od šećerne bolesti tipa II za razliku od osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa I u krvi raspolažu s manjim količinama hormona inzulina ključnog u regulaciji homeostaze glukoze što dovodi do zaključka da enzimi glikolize nisu u potpunosti inhibirani, njihova aktivnost je smanjena onoliko koliko je potrebno za metabolizam manjih količina glukoze koje pokušavaju ući u stanicu (Lee i sur., 2014). U znanstvenoj literaturi do sada nije analiziran metabolizam ključnih enzima glikolize kod osoba oboljelih od šećerne bolesti stoga je ta tema postala predmetom ovog istraživanja.

Ispitan je utjecaj različitih početnih koncentracija glukoze ($c_{0, \text{GLC}} = 4, 5, 6, 7$ i $7,7 \text{ mmol L}^{-1}$) na brzinu razgradnje glukoze u procesu glikolize.

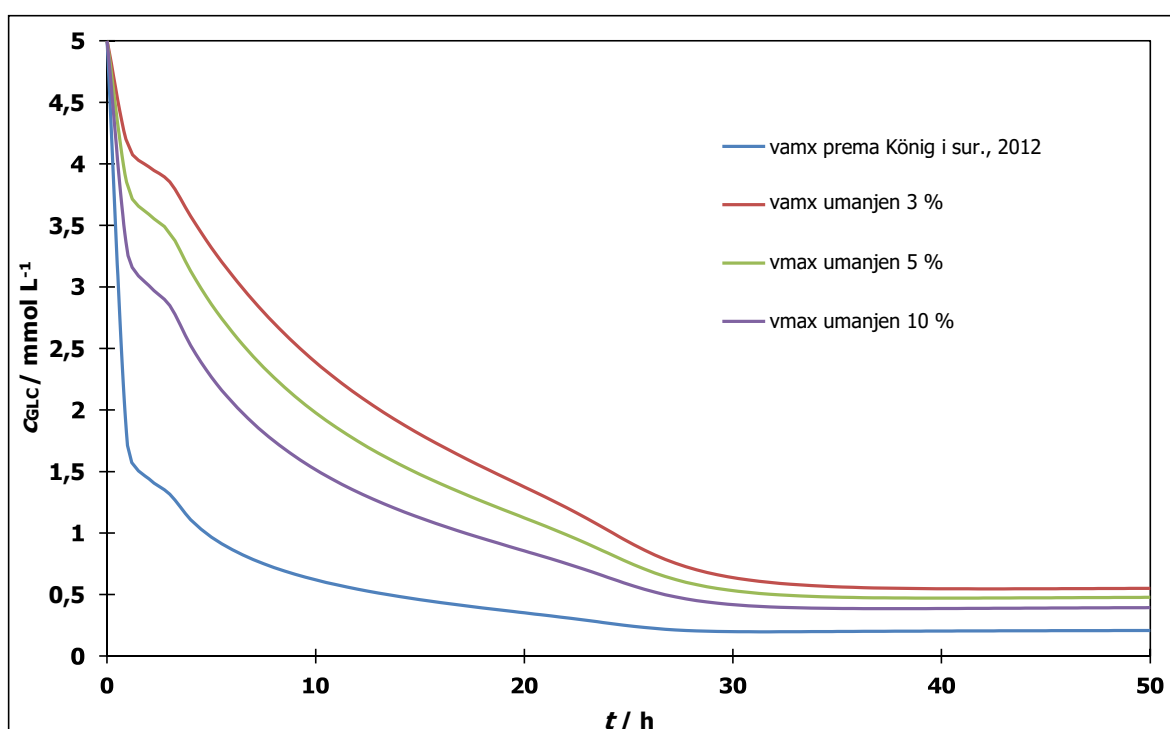


Slika 7. Utjecaj različitih početnih koncentracija glukoze na brzinu razgradnje glukoze.

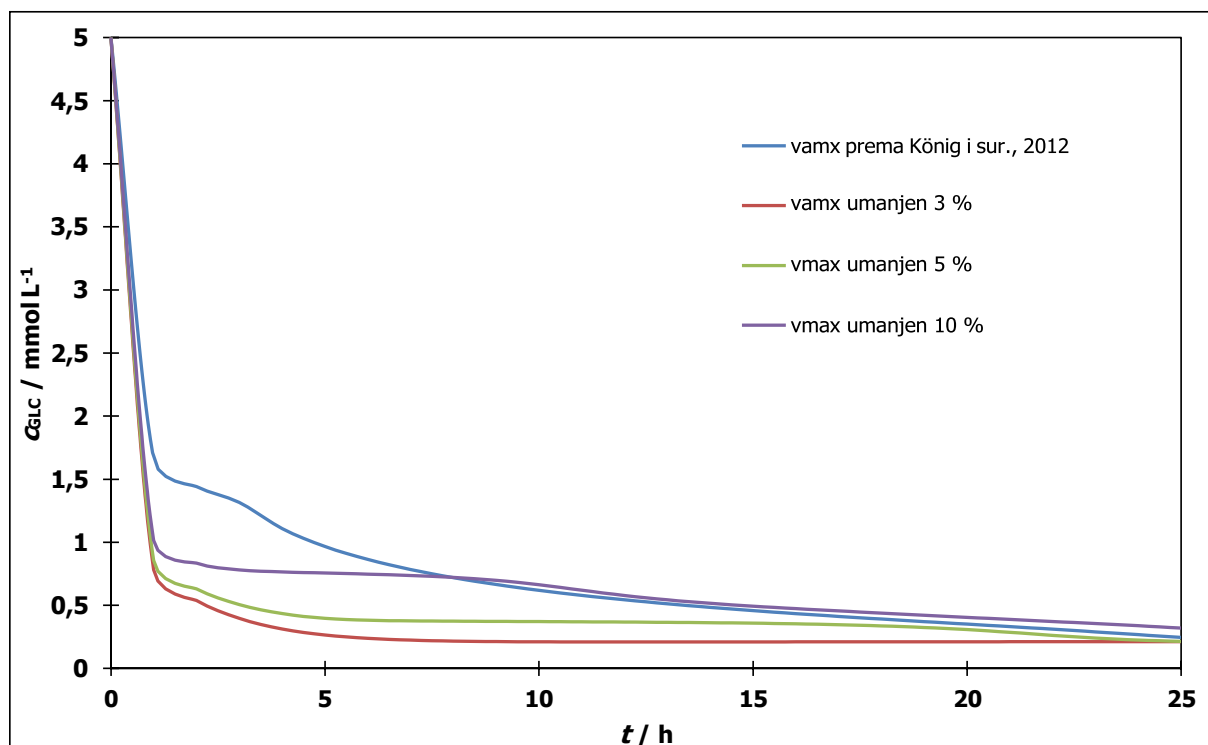
Na slici 7. nalazi se prikaz promjene početnih koncentracija glukoze u vrijednostima od $c_{0, \text{GLC}} = 4, 5, 6, 7$ i $7,7 \text{ mmol L}^{-1}$. Nakon obroka bogatog ugljikohidratima vrijednosti koncentracije

glukoze u krvi porastu na oko $c_{0,GLC} = 5 \text{ mmol L}^{-1}$ što su također referentne vrijednosti za period tzv. gladovanja, također vrijednost glukoze raste unutar $t = 30\text{-}60 \text{ min}$ do otprilike $c_{GLC} = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$ što je vrijednost koja se ne prelazi u zdravim tkivima. Dijagnoza šećerne bolesti postavlja se ukoliko je u dva navrata glukoza u krvi natašte iznosila $c_{GLC} = 7 \text{ mmol L}^{-1}$ ili ukoliko je u bilo koje vrijeme tijekom dana vrijednost bila veća od $c_{GLC} = 11 \text{ mmol L}^{-1}$ (Bergman Marković, 2014). Na prikazu grafa vidljivo je da se koncentracija glukoze smanjuje s vremenom; najznačajniji pad zabilježen je kod vrijednosti glukoze od $c_{0,GLC} = 4 \text{ mmol L}^{-1}$ i to unutar prvih sat vremena što je također i granična vrijednost prilikom koje se javlja stanje hipoglikemije. Vidljivo je da se vrijednost glukoze od $c_{0,GLC} = 7 \text{ mmol L}^{-1}$ unutar $t = 2,5$ sata vratila na vrijednost od $c_{GLC} = 5 \text{ mmol L}^{-1}$ što potvrđuje podatke opisane u literaturi o vrijednostima glukoze u krvi nakon konzumiranja obroka bogatog ugljikohidratima (Bergman Marković, 2014).

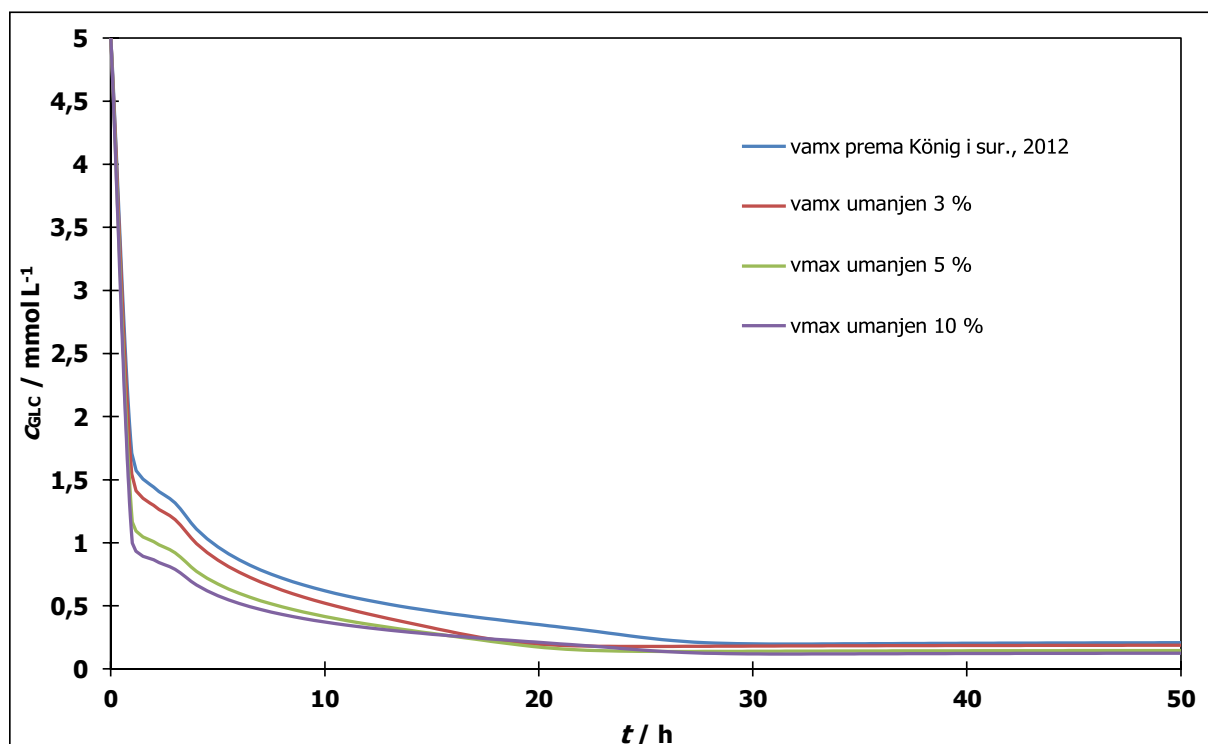
Ispitan je također utjecaj smanjenja maksimalne brzine reakcije (za 3 %, za 5 % i za 10 %) ključnih enzima glikolize (glukokinaza, fosfofruktokinaza, piruvat kinaza) na brzinu razgradnje glukoze ($c_{0,GLC} = 5 \text{ mmol L}^{-1}$) u procesu glikolize.



Slika 8. Utjecaj promjene vrijednosti maksimalne brzine reakcije enzima glukokinaze na brzinu razgradnje glukoze.



Slika 9. Utjecaj promjene vrijednosti maksimalne brzine reakcije enzima fosfofruktokinaze na brzinu razgradnje glukoze.



Slika 10. Utjecaj promjene vrijednosti maksimalne brzine reakcije enzima piruvat kinaze na brzinu razgradnje glukoze.

Na slikama 8-10 prikazan je utjecaj smanjenja maksimalne brzine reakcije enzima glukokinaze, fosfofruktokinaze i piruvat kinaze na brzinu razgradnje glukoze u procesu glikolize. Na slici 8 vidljivo je da smanjenje maksimalne brzine enzima glukokinaze utječe na dinamiku promjene koncentracije glukoze. Glukokinaza je enzim koji katalizira pretvorbu glukoze u glukozu-6-fosfat i što je maksimalna brzina toga enzima manja, pretvorba je sporija (Berg i sur., 2013). Rezultati simulacija procesa glikolize s maksimalnim brzinama reakcije za glukokinazu smanjenim za 3 %, 5 % i 10 % pokazuju da je smanjenjem maksimalne brzine reakcije potrebno duže vrijeme za potrošnju glukoze. Fosfofruktokinaza je enzim koji katalizira biokemijsku reakciju prevođenja fruktoze-6-fosfat u fruktozu-1,6-bisfosfat. Rezultati simulacije procesa glikolize s maksimalnim brzinama reakcije za fosfofruktokinazu smanjenim za 3 %, 5 % i 10 % pokazuju da u tome slučaju dolazi do brže razgradnje glukoze u metabolizmu glikolize (slika 9). Isti efekt je uočen i kod smanjenja maksimalne brzine reakcije za piruvat kinazu (slika 10). Fosfofruktokinaza je alosterički regulirana nizom efektora (ADP, AMP, cAMP, fruktoza-1,6-bisfosfat, fruktoza-2,6-bisfosfat, ATP, citrat, fosfoenolpiruvat). O koncentraciji navedenih efektoru ovisi kojom će se brzinom glikoliza odvijati. Glukoza iz glikogena u mišićima izravno ulazi u glikolizu. Jetra čuva veliku količinu glikogena koji se po potrebi razgrađuje, a glukozu šalje u ostale dijelove organizma gdje manjka. Pri određenoj koncentraciji glukoze dolazi do zasićenja aktivnih mjesta na enzimu koji veže supstrat te on više ne može vezati supstrat čime maksimalna brzina reakcije postaje konstantna (Berg i sur., 2013). Rezultati ovoga rada potvrđuju druge rezultate izvedene iz literature koji opisuju smanjenje aktivnosti ključnih enzima glikolize u oboljelih od šećerne bolesti (Lee, 2014; Čunović, 2017; Qi, 2017; Vuljanić, 2017).

5. ZAKLJUČCI

Na temelju prikazanih rezultata i provedene rasprave mogu se donijeti slijedeći zaključci:

1. Početne vrijednosti koncentracija glukoze smanjuju se s vremenom prilikom čega je zabilježen najveći pad unutar $t = 2,5$ h, također pad koncentracije je veći što je početna koncentracija glukoze manja.
2. Promjena maksimalnih brzina ključnih enzima glikolize (glukokinaza, fosfofruktokinaza, piruvat kinaza) značajno utječe na brzinu razgradnje glukoze.
3. Primjena računalnog programa CellDesigner pokazala se kao vrlo koristan alat za analizu glikolize kod oboljelih od šećerne bolesti s obzirom da je moguća vizualna interpretacija smanjenja aktivnosti glukokinaze, fosfofruktokinaze i piruvat kinaze.
4. Računalni program CellDesigner može se upotrijebiti za predviđanje optimalne početne koncentracije glukoze kako bi aktivnost enzima glikolize bila maksimalna.

6. POPIS LITERATURE

Anonymus 1 (2018) CellDesigner, <<http://www.celldesigner.org/>> Pristupljeno 20 lipnja 2018.

Anonymus 2 (2018) World Health Organization, <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>> Pristupljeno 20 lipnja 2018.

Anonymus 3 (2018) CroDiab, <<http://www.idb.hr/crodiabweb.htm>> Pristupljeno 20 lipnja 2018.

Badimon L., Vilahur G., Padro T. (2017) Systems biology approaches to understand the effects of nutrition and promote health. *British Journal of Clinical Pharmacology* **83**: 38-45.

Berg J. M., Tymoczko J., Stryer L. (2013) Biokemija. U: Školska knjiga, Zagreb, 6.izd., Weygand-Đurašević I., Jernej B., Kućan,Ž.,ur., Školska knjiga, Zagreb. str. 586. i 701.

Bergman Marković B. (2014) Šećerna bolest u obiteljskoj medicini. 1.izd., Alfa d.d., str. 1-5.

Betts J. A, Chowdhury E. A., Gonzalez J. T., Richardson J. R., Tsintzas K., Thompson D. (2016) Is breakfast the most important meal of the day? *Proceedings of the Nutrition Society* **75**: 464-467.

Čunović I. (2017) Hipoglikemijski učinak *Betule pendule*, Roth. (Betulaceae) na aktivnost piruvat kinaze u HepG2 stanicama u hiperglikemijskim uvjetima. Diplomski rad Zagreb: Farmaceutsko-Biokemijski fakultet.

de Graaf A. A., Freidig A. P., Roos B. D., 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 psychology. *Annual Review of Nutrition* **29**: 329-339.

de Toro-Martín J., Arsenault B. J., Després J. P., Vohl M. C. (2017) Precision nutrition: A review of personalized nutritional approaches for the prevention and management of metabolic syndrome. *Nutrients* **29**: 13.

Funahashi Y., Hernandez S. L., Das I., Ahn A., Huang J., Vorontchikhina M., Sharma A., Kanamaru E., Borisenko V., Desilva D. M., Suzuki A., Wang X., Shawber C. J., Kandel J. J., Yamashiro D. J., Kitajewski J. (2008) A notch1 ectodomain construct inhibits endothelial notch signaling, tumor growth, and angiogenesis. *Cancer Research* **68**: 4727-4735.

Gucciardi F., Mahoney J., Ntoumanis N., Mallet C. (2014) Mental toughness in sport: motivational antecedents and associations with performance and psychological health. *Journal of Sport and Exercise Psychology* **36**: 281-292.

Guoa X., Lia H., Xua H., Woa S., Dongb H., Lub F., Langec A. J., Wua C. (2012) Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2**: 358–367.

Huang B., Wu P., Popov K. M., Harris R. A. (2003) Starvation and diabetes reduce the amount of pyruvate dehydrogenase phosphatase in rat heart and kidney. *Diabetes* **52**: 1371–1376.

Iori E., Millionsi R., Puricelli L., Arrigoni G., Lenzini L., Trevisan R., James P., Rossi P. G., Pinna A. L., Tessari P. (2008) Glycolytic enzyme expression and pyruvate kinase activity in cultured fibroblasts from type 1 diabetic patients with and without nephropathy. *Biochimica et Biophysica Acta* **1782**: 627–633.

Klipp E., Wade R. C., Kummer U. (2010) Biochemical network-based drug-target prediction. *Current Opinion in Biotechnology* **21**: 511-516.

König M., Bulik S., Holzhütter H. G. (2012) Quantifying the contribution of the liver to glucose homeostasis: A detailed kinetic model of human hepatic glucose metabolism. *Computational Biology* **8**: 6.

Lee D. W., Gardner R., Porter D. L., Louis C. U., Ahmed N., Jensen M., Grupp S. A., Mackall C. L. (2014) Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood* **124**: 188-195.

Li X., Gu J., Zhou Q. (2015) Review of aerobic glycolysis and its key enzymes – new targets for lung cancer therapy *Thoracic Cancer* **6**: 17-24.

Mali A. V., Bhise S. S., Hegde M. V., Katyare S. S. (2016) Altered erythrocyte glycolytic enzyme activities in type-II diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* **31**: 321-325.

Mayer K. F., Schoof H., Haecker A., Lenhard M., Jürgens G., Laux T. (1998) Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the Arabidopsis shoot meristem. *Cell* **95**: 805-815.

Montonen J., Knekt P., Härkänen T., Järvinen R., Heliövaara M., Aromaa A., Reunanen A. (2005) Dietary patterns and the incidence of type 2 diabetes. *American Journal of Epidemiology* **161**: 219-227.

Panagiotou G., Nielsen J. (2009) Nutritional systems biology: definitions and approaches. *Annual Review of Nutrition* **29**: 329-339.

Papademetriou V., Lovato L., Tsioufis C., Cushman W., Applegate W.B., Mottle A., Punthakee Z., Nysten E., Dumas M. (2017) Effects of high density lipoprotein raising therapies on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus, with or without renal

impairment: The action to control cardiovascular risk in diabetes study. *American Journal of Nephrology* **45**: 136-145.

Qi K. S., Pajonk F., McCloskey S., Low D. A., Kupelian P., Steinberg M., Sheng K. (2017) Radioresistance of the breast tumor is highly correlated to its level of cancer stem cell and its clinical implication for breast irradiation. *Radiotherapy and Oncology* **124**: 455-461.

Regazzi R., Guay C. (2016) New emerging tasks for micro RNAs in the control of β -cell activities. *Biochimica Biophysica Acta* **1861**: 2121-2129.

Rowley W.R., Bezold C., Arikan Y., Byrne E., Krohe S. (2017) Diabetes 2030: Insights from yesterday, today and future trends. *Population Health Management* **20**: 6-12.

Schwingshackl L., Schwedhelm C., Hoffmann G., Lampousi A. M., Knüppel S., Iqbal K., Bechthold A., Schlesinger S., Boeing H. (2017) Food groups and risk of all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *American Journal of Clinical Nutrition* **105**: 1462-1473.

Štraus B, Petlevski R. (2009) Ugljikohidrati. U: Štrausova Medicinska biokemija, 3.izd., Štraus B., ur., Medicinska naklada str. 112-118.

van Ommen B., van denBroek T., de Hoogh,I., van Erk M., van Someren E., Rouhani- Rankouhi T., Anthony J. C., Hogenelst K., Pasma W., Boorsma A., Wopereis S.(2017) Systems biology of personalized nutrition. *Nutrition Reviews* **75**: 579-599.

Vrca-Botica M., Katić M., Katić-Milošević I. (2007) Rano otkrivanje dijabetesa melitusa u obiteljskoj medicini. *Medica Jadertina* **37**:81-84.

Vuljanić D. (2017) Utjecaj različitih koncentracija glukoze na aktivnost piruvat kinaze u HepG2 stanicama. Diplomski rad Zagreb: Farmaceutsko-Biokemijski fakultet.

PRILOZI

Prilog 1. Izrazi za brzinu reakcija metabolizma glukoze u jetri (König i sur., 2012)

1. GLUT2 transporter

$$v1([glc],[glc_ext]) = \frac{\frac{v \max}{km^{glc}} * ([glc_ext] - \frac{[glc]}{keq})}{1 + \frac{[glc_ext]}{km^{glc}} + \frac{[glc]}{km^{glc}}}$$

2. Glukokinaza

$$gkfree([glc],[fru6p]) = \frac{[glc]^{nglcp}}{[glc]^{nglcp} + (k^{glc})^{nglcp}} \cdot \left(1 - \frac{b_{glcp}[fru6p]}{[fru6p] + k^{fru6p}} \right)$$
$$v2([glc],[atp],[fru6p]) = v \max \cdot gkfree \cdot \frac{[atp]}{km^{atp} + [atp]} \cdot \frac{[glc]^n}{[glc]^n + (km^{glc})^n}$$

3. Glukoza-6-fosfataza

$$v3([glc6p]) = v \max \cdot \frac{[glc6p]}{km^{glc6p} + [glc6p]}$$

4. Glukoza-6-fosfat izomeraza

$$v4([glc6p],[fru6p]) = \frac{\frac{v \max}{km^{glc6p}} \cdot ([glc6p] - \frac{[fru6p]}{keq})}{1 + \frac{[glc6p]}{km^{glc6p}} + \frac{[fru6p]}{km^{fru6p}}}$$

5. Glukoza-1-fosfat 1,6-fosfomutaza

$$v5([glc1p],[glc6p]) = \frac{\frac{v \max}{km^{glc1p}} \cdot ([glc1p] - \frac{[glc6p]}{keq})}{1 + \frac{[glc1p]}{km^{glc1p}} + \frac{[glc6p]}{km^{glc6p}}}$$

6. Glukoza-1-fosfat uridiltransferaza

$$v_6([glc1p], [utp], [udpglc], [pp]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_m^{utp} k_m^{glc1p}} \cdot \left([glc1p][utp] - \frac{[udpglc] \cdot [pp]}{k_{eq}} \right)}{\left(1 + \frac{[utp]}{k_m^{utp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[glc1p]}{k_m^{glc1p}} \right) + \left(1 + \frac{[udpglc]}{k_m^{udpglc}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[pp]}{k_m^{pp}} \right) - 1}$$

7. Pirofosfat fosfohidrolaza

$$v_7([pp]) = v_{\max} \cdot \frac{[pp]}{[pp] + k_m^{pp}}$$

8. Glikogen sintaza

$$v_8^{\Phi}([udpglc], [glc6p], [glyglc]) = v_{\max} \cdot f_{\max} \frac{[udpglc]}{[udpglc] + \left(\frac{k_1^{\Phi}}{k_2^{\Phi} + [glc6p]} \right)}$$

$$v_8^P([udpglc], [glc6p], [glyglc]) = v_{\max} \cdot f_{\max} \frac{[udpglc]}{[udpglc] + \left(\frac{k_1^P}{k_2^P + [glc6p]} \right)}$$

$$v_8([udpglc], [glc6p], [glyglc]) = (1 - YGS) \cdot v_8^{\Phi} + YGS \cdot v_8^P$$

$$f_{\max}([glyglc]) = (1 + k_1^{\max}) \cdot \frac{(C - [glyglc])}{(C - [glyglc]) + k_1^{\max C}}$$

9. Glikogen fosforilaza

$$v_9^{\Phi}([glyglc], [p], [glc1p], [amp]) = \frac{\frac{v_{\max}^{\Phi}}{k_{\Phi}^{glyc} k_{\Phi}^p} \cdot \left([glyglc] \cdot [p] - \frac{[glc1p]}{k_{eq}} \right)}{\left(1 + \frac{[glyglc]}{k_{\Phi}^{glyc}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[p]}{k_{\Phi}^p} \right) + \left(\frac{[glc1p]}{k_{\Phi}^{glc1p}} \right) - 1}$$

$$v_9^P([glyglc], [p], [glc1p], [amp]) = \frac{\frac{v_{\max}^P}{k_p^{glyc} k_p^p} \cdot \left([glyglc] \cdot [p] - \frac{[glc1p]}{k_{eq}} \right)}{\left(1 + \frac{[glyglc]}{k_p^{glyc}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[p]}{k_p^p} \right) + \left(\frac{[glc1p]}{k_p^{glc1p}} \right) - 1}$$

$$v_9([glyglc], [p], [glc1p], [amp], [glc]) = (1 - yGP) \cdot v_9^{\Phi} + yGP \cdot v_9^P$$

10. Nukleozid difosfat kinaza

$$v_{10}([atp],[adp],[gtp],[gdp]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_m^{atp} k_m^{gdp}} \cdot \left([atp] \cdot [gdp] - \frac{[adp] \cdot [gtp]}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[atp]}{k_m^{atp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gdp]}{k_m^{gdp}} \right) + \left(1 + \frac{[adp]}{k_m^{adp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gtp]}{k_m^{gtp}} \right) - 1}$$

11. Nukleozid difosfat kinaza

$$v_{11}([atp],[adp],[utp],[udp]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_m^{atp} \cdot k_m^{udp}} \cdot \left([atp] \cdot [udp] - \frac{[adp] \cdot [utp]}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[atp]}{k_m^{atp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[udp]}{k_m^{udp}} \right) + \left(1 + \frac{[adp]}{k_m^{adp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[utp]}{k_m^{utp}} \right) - 1}$$

12. Adenilat kinaza

$$v_{12}([atp],[adp],[amp]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_m^{atp} \cdot k_m^{amp}} \left([atp] \cdot [amp] - \frac{[adp]^2}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[atp]}{k_m^{atp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[amp]}{k_m^{amp}} \right) + \frac{2[adp]}{k_m^{adp}} + \frac{[adp]^2}{(k_m^{adp})^2}}$$

13. Fosfofruktokinaza 2

$$v_{13}^{dp}([fru6p],[atp]) = v_{\max}^{dp} \cdot \frac{[fru6p]^{n_{dp}}}{[fru6p]^{n_{dp}} + (k_{dp}^{fru6p})^{n_{dp}}} \cdot \frac{[atp]}{[atp] + k_{dp}^{atp}}$$

$$v_{13}^p([fru6p],[atp]) = v_{\max}^p \cdot \frac{[fru6p]^{n_p}}{[fru6p]^{n_p} + (k_p^{fru6p})^{n_p}} \cdot \frac{[atp]}{[atp] + k_p^{atp}}$$

$$v_{13}([fru6p],[atp]) = (1 - y_{pfk2}) \cdot v_{13}^{dp} + y_{pfk2} \cdot v_{13}^p$$

14. Fruktosa-2,6-bisfosfataza

$$v_{14}^{dp}([fru6p],[fru26bp]) = \frac{v_{\max}^{dp}}{1 + \frac{[fru6p]}{k_{i,dp}^{fru6p}}} \cdot \frac{[fru26bp]}{k_{m,dp}^{fru26bp} + [fru26bp]}$$

$$v_{14}^p([fru6p],[fru26bp]) = \frac{v_{\max}^p}{1 + \frac{[fru6p]}{k_{i,p}^{fru6p}}} \cdot \frac{[fru26bp]}{k_{m,p}^{fru26bp} + [fru26bp]}$$

$$v_{14}^p = (1 - y_{FBP2}) \cdot v_{14}^{dp} + y_{FBP2} \cdot v_{14}^p$$

15. Fosfofruktokinaza 1

$$v_{15}([fru6p],[atp],[fru26bp]) = v_{\max} \cdot \left(1 + \frac{[fru26bp]}{k_a^{fru26bp}} \right) \cdot \left(\frac{[fru6p] \cdot [atp]}{k_i^{fru6p} \cdot k_m^{atp} + k_m^{fru6p} \cdot [atp] + k_m^{atp} \cdot [fru6p] + [atp] \cdot [fru6p]} \right)$$

16. Fruktosa-2,6-bisfosfataza

$$v_{16}([fru16bp],[fru26bp]) = \frac{v_{\max}}{1 + \frac{[fru26bp]}{k_i^{fru26bp}}} \cdot \left(\frac{[fru16bp]}{[fru16bp] + k_m^{fru16bp}} \right)$$

17. Aldolaza

$$v_{17}([fru16bp],[dhap],[grap]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_m^{fru16bp}} \cdot \left([fru16bp] - \frac{[grap] \cdot [dhap]}{k_{eq}} \right)}{1 + \frac{[fru16bp]}{k_m^{fru16bp}} + \frac{[grap]}{k_{i1}^{grap}} + \frac{[dhap] \cdot ([grap] + k_m^{grap})}{k_m^{dhap} \cdot k_{i1}^{grap}} + \frac{[fru16bp][grap]}{k_m^{fru16bp} \cdot k_{i2}^{grap}}}}$$

18. Triozafosfat izomeraza

$$v_{18}([dhap],[grap]) = \frac{v_{\max}}{k_m^{dhap}} \cdot \left(\frac{[dhap] - \frac{[grap]}{k_{eq}}}{1 + \frac{[dhap]}{k_m^{dhap}} + \frac{[grap]}{k_m^{grap}}} \right)$$

19. Glicerahid fosfat dehidrogenaza

$$v_{19}([grap], [p], [nad], [nadh], [bpg13]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_{nad} \cdot k_{grap} \cdot k_p} \left([nad] \cdot [grap] \cdot [p] - \frac{[bpg13] \cdot [nadh]}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[nad]}{k_{nad}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[grap]}{k_{grap}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[p]}{k_p} \right) + \left(1 + \frac{[nadh]}{k_{nadh}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[bpg13]}{k_{bpg13}} \right) - 1}$$

20. Fosfoglicerat kinaza

$$v_{20}([adp], [atp], [bpg13], [pg3]) = \frac{\frac{v_{\max}}{k_{adp} k_{pg13}} \cdot \left([adp] \cdot [bpg13] - \frac{[atp] \cdot [pg3]}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[adp]}{k_{adp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[bpg13]}{k_{bpg13}} \right) + \left(1 + \frac{[atp]}{k_{atp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[pg3]}{k_{pg3}} \right) - 1}$$

21. 3-fosfoglicerat mutaza

$$v_{21}([pg3], [pg2]) = \frac{v_{\max} \cdot \left([pg3] - \frac{[pg2]}{keq} \right)}{[pg3] + k_{pg3} \cdot \left(1 + \frac{[pg2]}{k_{pg2}} \right)}$$

22. Enolaza

$$v_{22}([pg2], [pep]) = \frac{v_{\max} \cdot \left([pg2] - \frac{[pep]}{keq} \right)}{[pg2] + k_{pg2} \cdot \left(1 + \frac{[pep]}{k_{pep}} \right)}$$

23. Piruvat kinaza

$$f^{adp} = \frac{[fru16bp]^{n_{ru}}}{[fru16bp]^{n_{ru}} + (k_{fru}^{adp})^{n_{ru}}}$$

$$f^p = \frac{[fru16bp]^{n_{ru}}}{[fru16bp]^{n_{ru}} + (k_{fru}^p)^{n_{ru}}}$$

$$a_{inp}^{adp} = (1-f) \cdot (a^{adp} - a_{end}) + a_{end}$$

$$a_{inp}^p = (1-f) \cdot (a^p - a_{end}) + a_{end}$$

$$k_{pep,inp}^{adp} = (1-f) \cdot (k_{pep}^{adp} - k_{pep}^{\min}) + k_{pep}^{\min}$$

$$k_{pep,inp}^p = (1-f) \cdot (k_{pep}^p - k_{pep}^{\min}) + k_{pep}^{\min}$$

$$v_{23}^{adp} = v_{\max} a_{inp}^{adp} \cdot \left(\frac{[pep]^{n_{mv}}}{[pep]^{n_{mv}} + (k_{pep,inp}^{adp})^{n_{mv}}} \right) \cdot \left(\frac{[adp]}{[adp] + k_{adp}} \right) \cdot (a_{base}^{adp} + (1 - a_{base}^{adp}) \cdot f^{adp})$$

$$v_{23}^p = v_{\max} a_{inp}^p \cdot \left(\frac{[pep]^{n_{mv}}}{[pep]^{n_{mv}} + (k_{pep,inp}^p)^{n_{mv}}} \right) \cdot \left(\frac{[adp]}{[adp] + k_{adp}} \right) \cdot (a_{base}^p + (1 - a_{base}^p) \cdot f^p)$$

$$v_{23}([pep], [adp]) = (1 - y_{PK}) \cdot v_{23}^{adp} + y_{PK} \cdot v_{23}^p$$

24. Fosfoenolpiruvat karboksikinaza

$$v_{24}([oaa], [gtp], [pep], [gdp], [co2]) =$$

$$\frac{v_{\max}}{km^{gtp} km^{oaa}} \cdot \left([oaa] \cdot [gtp] - \frac{[pep] \cdot [gdp] \cdot [co2]}{keq} \right)$$

$$\frac{1}{\left(1 + \frac{[oaa]}{km^{oaa}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gtp]}{km^{gtp}} \right) + \left(1 + \frac{[pep]}{km^{pep}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gdp]}{km^{gdp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[co2]}{km^{co2}} \right)} - 1$$

25. Fosfoenolpiruvat karboksikinaza

$$v_{25}([oaa_mit], [gtp_mit], [pep_mit], [gdp_mit], [co2_mit]) =$$

$$\frac{v_{\max}}{km^{gtp} \cdot km^{oaa}} \cdot \left([oaa_mit] \cdot [gtp_mit] - \frac{[pep_mit] \cdot [gdp_mit] \cdot [co2_mit]}{keq} \right)$$

$$\frac{1}{\left(1 + \frac{[oaa_mit]}{km^{oaa}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gtp_mit]}{km^{gtp}} \right) + \left(1 + \frac{[pep_mit]}{km^{pep}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gdp_mit]}{km^{gdp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[co2_mit]}{km^{co2}} \right)} - 1$$

26. Piruvat karboksilaza

$$v_{26} \left(\frac{[pyr_mit]}{k_{m1}^{pyr} + [pyr_mit]} \right) \cdot \left(\frac{[atp_mit]}{k_{m2}^{atp} + [atp_mit]} \right) \cdot \left(\frac{[c\alpha_mit]}{k_{m3}^{c\alpha} + [c\alpha_mit]} \right) \cdot \left(\frac{[aco_mit]}{k_{m4}^{aco} + [aco_mit]} \right) =$$

27. Laktat dehidrogenaza

$$v_{27}([lac], [pyr], [nadh], [nad]) = \frac{\frac{v_{max}}{k_{m1}^{pyr} \cdot k_{m2}^{nadh}} \cdot \left([pyr] \cdot [nadh] - \frac{[lac] \cdot [nad]}{keq} \right)}{\left(1 + \frac{[nadh]}{k_{m2}^{nadh}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[pyr]}{k_{m1}^{pyr}} \right) + \left(1 + \frac{[lac]}{k_{m3}^{lac}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[nad]}{k_{m4}^{nad}} \right) - 1}$$

28. Transporter laktata

$$v_{28}([lac], [lac_ext]) = \frac{\frac{v_{max}}{k_{m1}^{lac}} \cdot \left([lac_ext] - \frac{[lac]}{keq} \right)}{1 + \frac{[lac_ext]}{k_{m1}^{lac}} + \frac{[lac]}{k_{m2}^{lac}}}$$

29. Transporter piruvata

$$v_{29}([pyr], [pyr_mit]) = \frac{\frac{v_{max}}{k_{m1}^{pyr}} \cdot \left([pyr] - \frac{[pyr_mit]}{keq} \right)}{1 + \frac{[pyr_mit]}{k_{m2}^{pyr}} + \frac{[pyr]}{k_{m3}^{pyr}}}$$

30. Transporter fosfoenolpiruvata

$$v_{30}([pep_mit], [pep]) = \frac{\frac{v_{max}}{k_{m1}^{pep}} \cdot \left([pep_mit] - \frac{[pep]}{keq} \right)}{1 + \frac{[pep_mit]}{k_{m2}^{pep}} + \frac{[pep]}{k_{m3}^{pep}}}$$

31. Piruvat dehidrogenaza

$$v_{31}^{dp}([pyr],[coa],[nad],[nadh],[acoa]) =$$

$$v_{\max} \cdot adp \cdot \left(\frac{[pyr]}{[pyr] + k^{pyr}} \right) \cdot \left(\frac{[nad]}{[nad] + k^{nad} \left(1 + \frac{[nadh]}{k_i^{nadh}} \right)} \right) \cdot \left(\frac{[coa]}{[coa] + k^{coa} \left(1 + \frac{[acoa]}{k_i^{acoa}} \right)} \right)$$

$$v_{31}^p([pyr],[coa],[nad],[nadh],[acoa]) =$$

$$v_{\max} \cdot adp \cdot \left(\frac{[pyr]}{[pyr] + k^{pyr}} \right) \cdot \left(\frac{[nad]}{[nad] + k^{nad} \left(1 + \frac{[nadh]}{k_i^{nadh}} \right)} \right) \cdot \left(\frac{[coa]}{[coa] + k^{coa} \left(1 + \frac{[acoa]}{k_i^{acoa}} \right)} \right)$$

$$v_{23}([pyr],[coa],[nadh],[nad],[acoa]) = (1 - y_{PDH}) \cdot v_{31}^{dp} + y_{PDH} \cdot v_{31}^p$$

32. Citrat sintaza

$$v_{32}([oaa_mit],[acoa_mit],[cit_mit],[coa_mit]) =$$

$$\frac{v_{\max}}{k^{oaa} \cdot k^{acoa}} \cdot \left(\frac{[oaa_mit] \cdot [acoa_mit] - \frac{[cit_mit] \cdot [coa_mit]}{keq}}{\left(1 + \frac{[oaa_mit]}{k^{oaa}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[acoa_mit]}{k^{acoa}} \right) + \left(1 + \frac{[cit_mit]}{k^{cit}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[coa_mit]}{k^{coa}} \right)} - 1 \right)$$

33. Nukleozid difosfat kinaza

$$v_{33}([atp_mit],[adp_mit],[gtp_mit],[gdp_mit]) =$$

$$\frac{v_{\max}}{km^{atp} \cdot km^{gdp}} \cdot \left(\frac{[atp_mit] \cdot [gdp_mit] - \frac{[adp_mit] \cdot [gtp_mit]}{keq}}{\left(1 + \frac{[atp]}{km^{atp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gdp_mit]}{km^{gdp}} \right) + \left(1 + \frac{[adp_mit]}{km^{adp}} \right) \cdot \left(1 + \frac{[gtp_mit]}{km^{gtp}} \right)} \right)$$

34. Transporter oksaloacetata

$$v_{34} = v_{\max}$$

35. Transporter acetil-CoA

$$v_{35} = v_{\max}$$

36. Transporter citrata

$$v_{36} = v_{\max}$$

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

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

Lucija Marić

ime i prezime studenta