

Računalna analiza modela metabolizma masti

Kosić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:240808>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, travanj 2022.

Martina Kosić

RAČUNALNA ANALIZA MODELA
METABOLIZMA MASTI

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

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc.dr.sc. Ani Jurinjak Tušek na pruženoj pomoći, brojnim savjetima i prijateljskom pristupu pri izradi ovoga diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem svojim roditeljima te sestrama i bratu koji su bili uz mene tijekom svih godina školovanja i pružali bezuvjetnu podršku.

Hvala mome dragom Marku koji me motivirao u teškim vremenima i bio vjetar u leđa tijekom svih godina studija.

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

RAČUNALNA ANALIZA MODELA METABOLIZMA MASTI

Martina Kosić, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058210455

Sažetak: U ovom radu provedena je računalna analiza modela metabolizma masti primjenom programskog paketa *CellDesigner* i *WR Mathematica*. Provedene su simulacije modela primjenom različitih početnih koncentracija glukoze i triacilglicerola u krvnoj plazmi pri različitim obrocima (zajutak, ručak, međuobrok i večera). Metodama lokalne i globalne parametarske osjetljivosti analizirani su najosjetljiviji metaboliti modela. Rezultati simulacija ukazuju na važnost hormona inzulin, ne samo za metabolizam i dostupnost ugljikohidrata u organizmu, nego i za sam metabolizam masti koji se najbolje primjećuje na primjeru dinamike promjene koncentracije neesterificiranih masnih kiselina. Analiza lokalne i globalne parametarske osjetljivosti pokazala je da najveću osjetljivost na promjenu parametara modela ima koncentracija egzogeni triacilglicerola.

Ključne riječi: *metabolizam masti, matematički model, CellDesigner, analiza parametarske osjetljivosti*

Rad sadrži: 62 stranice, 38 slika, 9 tablica, 48 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (predsjednica)
2. doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (mentorica)
3. doc. dr. sc. Maja Benković (članica)
4. doc. dr. sc. Ivana Rumora Samarin (zamjenska članica)

Datum obrane: 29. travnja 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

COMPUTATIONAL ANALYSIS OF FAT METABOLISM MODEL

Martina Kosić, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058210455

Abstract: A computer analysis of the fat metabolism model was performed using the *CellDesigner* and *WR Mathematica* software packages. Simulations of the model were performed using different initial blood plasma glucose and triacylglycerol plasma concentration at different meals (breakfast, lunch, snack and dinner). The most sensitive metabolites of the model were analyzed by local and global parametric sensitivity methods. The results of the simulations indicate the importance of the hormone insulin, not only for the metabolism and availability of carbohydrates in the body, but also for the fat metabolism itself, which is best seen in the dynamics of changes in the concentration of non-esterified fatty acids. Analysis of local and global parametric sensitivity showed that the concentration of exogenous triacylglycerol has the greatest sensitivity to changes in model parameters.

Keywords: *fat metabolism, mathematical model, CellDesigner, parametric sensitivity analysis*

Thesis contains: 62 pages, 38 figures, 9 tables, 48 references, 0 supplements

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: Ana, Jurinjak Tušek, Assistant professor

Reviewers:

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

Thesis defended: April 29th 2022

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU.....	2
2.1.1. Matematički modeli metaboličkih puteva	4
2.2. METABOLIZAM MASTI.....	5
2.2.1. Razgradnja masnih kiselina.....	7
2.2.2. Sinteza masnih kiselina	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. MATERIJALI.....	13
3.1.1. CellDesigner.....	13
3.1.2. WR Mathematica	15
3.1.3. Model metabolizma masti	15
3.1.4. Smjernice za planiranje jelovnika.....	25
3.2. METODE	25
3.2.1. Razvoj i simulacija modela u programu CellDesigner	25
3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti.....	25
3.2.3. Analiza globalne osjetljivosti parametara	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA MASTI U PROGRAMU <i>CELL</i> <i>DESIGNER</i>	28
4.2. PRIKAZ JELOVNIKA	30
4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA MASTI U RAČUNLANOM PROGRAMU <i>CELLDESIGNER</i>	33
4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI.....	43
4.5. ANALIZA GLOBALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI.....	50
5. ZAKLJUČAK.....	57
6. LITERATURA	58

1. UVOD

Hrana koju čovjek unosi u organizam sastoji se različitih nutrijenata (makronutrijenata i mikronutrijenata). Masti predstavljaju vrlo važnu skupinu makronutrijenata koja ima mnogobrojne uloge u organizmu. Važan su prehrambeni izvor energije, prekursori su za sintezu fosfolipida, glikoproteina i drugih signalnih molekula u organizmu, prehrana bez masti bi bila nejestiva s obzirom da su u njima otopljene tvari arome, ali i brojni vitamini. Unutar organizma masti, kao i ostali nutrijenti, podliježu metabolizmu. Ovisno o trenutnim potrebama organizma može doći do sinteze ili razgradnje masti. Na metabolizam masti utjecaj imaju i drugi nutrijenti koji se unose hranom, a prvenstveno ugljikohidrati čiji će se utjecaj promatrati u ovome radu. Važnu ulogu u metabolizmu imaju i hormoni. Kako bi se matematički model pojednostavio kao glavni hormon u ovom radu promatrat će se inzulin, a reakcije će biti prikazane kao inzulin stimulirajuće i inzulin inhibirajuće.

Metabolizam predstavlja skup složenih kemijskih procesa koji organizam održavaju na životu. Kako bi se na što jednostavniji način opisali složeni biokemijski procesi i dinamika metabolizma u nutricionizmu sve veću primjenu nalaze matematički modeli. Pomoću matematičkih modela i popratnih računalnih programa olakšava se razumijevanje i prikazivanje složenih biokemijskih veza i reakcija. Novost koju donose ovakvi pristupi jest holistički pristup proučavanju promjena unutar organizma koje se događaju pri određenim uvjetima i u određenom vremenskom periodu. Pomoću matematičkog modeliranja može se proučavati utjecaj određenih prehrambenih obrazaca na metabolizam. Dobiveni matematički modeli se uspoređuju s već postojećim eksperimentalnim podacima iz čega se potvrđuju već postojeće ili stvaraju neke nove hipoteze koje će olakšati daljnji eksperimentalni rad. U tu svrhu razvijeni su računalni programi koju omogućuju stvaranje matematičkih modela kao što je *CellDesigner* koji je korišten u ovome radu.

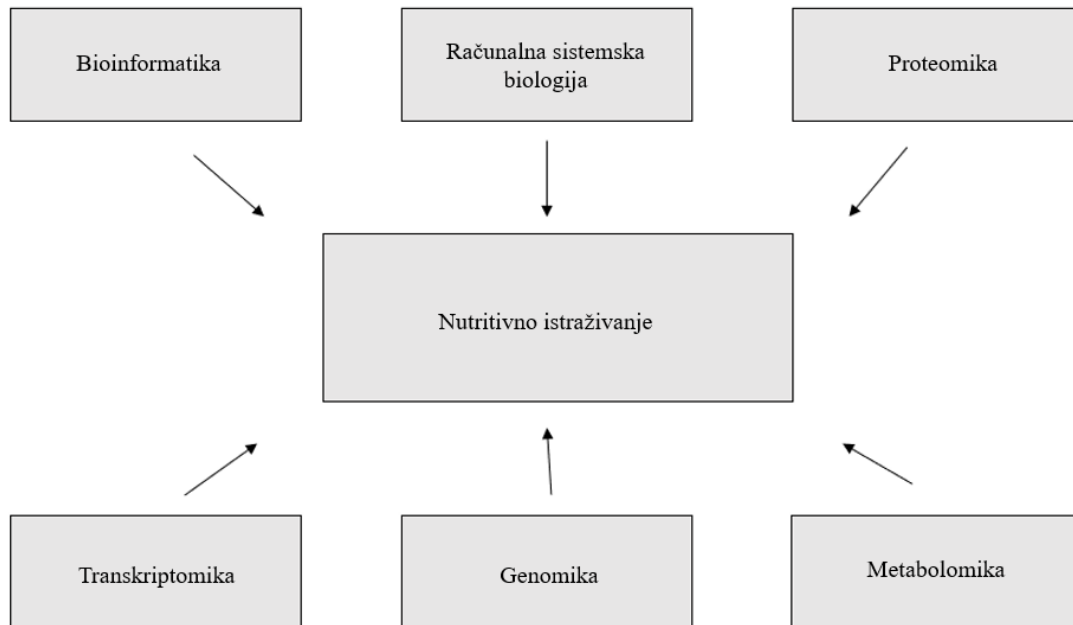
Cilj ovog rada je bio prikazati i analizirati matematički model metabolizma masti u programskom paketu *CellDesigner* te ispitati kako unos različitih obroka s obzirom na udjel makronutrijenata (masti i ugljikohidrata) utječe na sam metabolizam masti.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU

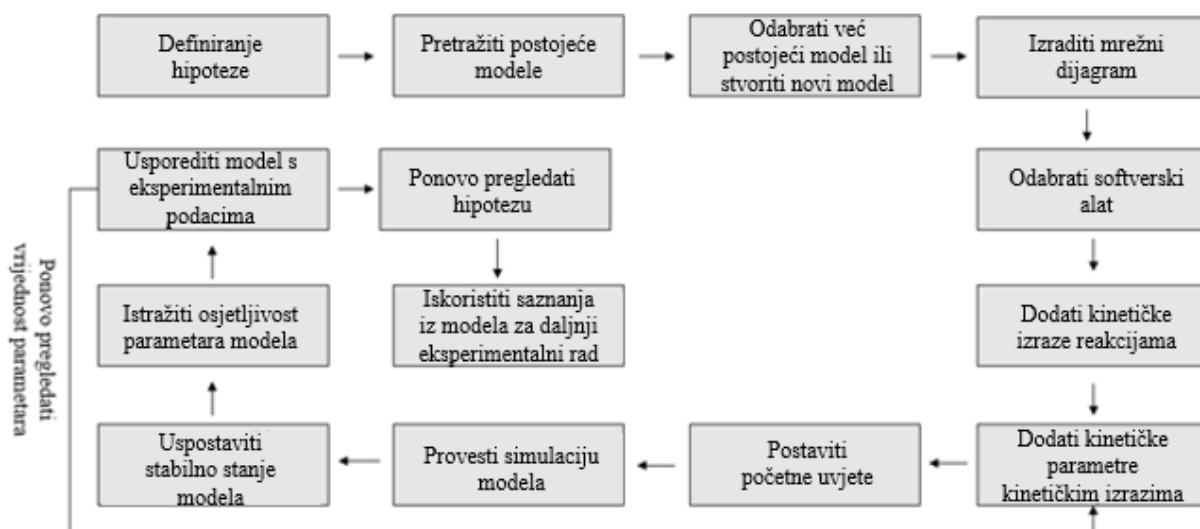
Sistemska ili računalna biologija (engl. *Computational system biology*) se zadnjih godina sve više koristi u raznim znanstvenim disciplinama. Glavna karakteristika ovog pristupa je holističko proučavanje promjena unutar bioloških sustava koje se događaju tijekom određenog vremena i pri određenim uvjetima (Kitano, 2002). Istraživanja koja nisu uključivala sistemska biologija bila su fokusirana na proučavanje pojedinih komponenti sustava i njihovih svojstava. Takva istraživanja su postavila odlične temelje za razumijevanje samog biološkog sustava (Mc Auloy, 2020). Novost koju donosi sistemska biologija jest proučavanje međusobnih interakcija pojedinih komponenti sustava kao i s komponentama drugih bioloških sustava. Sistemska biologija se služi računalnim modeliranjem kako bi olakšala razumijevanje zbivanja unutar bioloških sustava (Tavassoly i sur., 2018). Kombinacijom podataka dobivenih eksperimentalno i matematičkog modeliranja dobivaju se informacije o ponašanju bioloških sustava pri određenim uvjetima. Biološki sustavi se modeliraju i vizualiziraju kao integrirane i međusobno povezane mreže (Moore i Weeks, 2011).

Prehrana čovjeka, kao i stil života, utječe na mnoge reakcija i procese koji se odvijaju u našem organizmu. Takve reakcije se mogu odvijati na razini stanice, tkiva, organa ili cijelog organizma. Unos različitih metabolita (mikronutrijenata, makronutrijenata i nehranjivih komponenata hrane) utječe na metaboličke putove kao i na samu homeostazu u organizmu (Heer i Egert, 2015). Razumijevanje kako prehrana utječe na metabolizam pojedinca i kako određeni prehrambeni obrasci mogu poboljšati ili pogoršati zdravlje pojedinca su ključni znanstveni ciljevi u nutricionizmu (Panagiotou i Nielsen, 2009). Ljudski organizam je izrazito složen biološki sustav te isti obrazac prehrane ne mora imati isti utjecaj na svaki organizam (van Ommen i sur., 2017). Cilj sistemske biologije u nutricionizmu jest predvidjeti način djelovanja pojedinih komponenti hrane, kao i njihovog međusobnog i združenog djelovanja, kako bi se mogle liječiti kronične bolesti te u određenim slučajevima i uspješno prevenirati njihov nastanak (Hood i sur., 2004). Na slici 1 prikazane su komponente nutritivnog istraživanja čiji rezultati nam olakšavaju razumijevanje složenih biokemijskih reakcija i dinamičkih promjena koje nastaju unosom hrane u organizam pri određenim uvjetima i tijekom određenog vremena (Mc Auley, 2020).



Slika 1. Komponente nutritivnog istraživanja (*prema* Mc Auley, 2020)

Genomika pruža podatke o učincima hranjivih tvari na ekspresiju gena. Osim toga daje i informaciju kako pojedini genotipovi utječu na metabolizam hranjivih tvari unutar organizma (Burn i Watson, 2016). Transkriptomika se bavi proučavanjem svih transkripata RNA u pojedinoj stanici ili tkivu (Manzoni i sur., 2018). Tehnike koje se koriste jesu RNA sekvencioniranje i mikročipovi (engl. *Microarray*) (Lowe i sur., 2017). Metabolomika pruža informaciju o ukupnom profilu metabolita u određenom biološkom sustavu. U nutricionizmu sve više dobiva na važnosti jer pomaže u donošenju nekih novih zaključaka vezanih uz utjecaj prehrambenih obrazaca na profil metabolita i sveukupno metaboličko stanje organizma (Morgan i sur., 2016). Bioinformatika omogućuje računalnu obradu, analizu i tumačenje svih eksperimentalno dobivenih podataka iz raznih bioloških istraživanja. Sve informacije koje pružaju genomika, transkriptomika, proteomika i metabolomika se pohranjuju u bioinformatičke sustave. Unutar njih se vrši manipulacija, analiza i interpretacija pohranjenih informacija (Mc Auley, 2020). Računalna sistemska biologija se koristi informacijama dobivenim iz -omičkih pristupa, obrađuju ih i koristi za kreiranje novih modela i simulacija koji će olakšati razumijevanje zbivanja unutar biološkog sustava pri određenim uvjetima (Panagiotou i Nielsen, 2009). Princip računalnog modeliranja prikazan je na slici 2.



Slika 2. Koraci računalnog modeliranja u sistemskoj biologiji (prema Mc Auley, 2020)

Osnova računalnog modeliranja jest postavljanje hipoteze koja mora biti jasno i precizno definirana. Hipoteza predstavlja ideju ili pitanje na koje će se dobiti odgovor pomoću modela. Prije stvaranja samog modela potrebno je pregledati bazu već postojećih modela i ukoliko ne postoji isti model kreće se u izradu samog modela. Sljedeći korak je izrada mrežnog dijagrama koja podrazumijeva definiranje svi vrsta tj. varijabli koje će biti prisutne u modelu. Nakon toga potrebno je odabrati jedan od postojećih softverskih alata, najčešće korišteni su *CellDesigner* i COPASI. Unutar softverskog alata dodaju se kinetičke reakcije i izrazi te se postavljaju početni uvjeti i započinje simulacija dobivenog modela. Rezultati simulacije se uspoređuju s „normalnim“ ponašanjem biološkog sustava, ukoliko rezultati nisu zadovoljavajući potrebno je pregledati vrijednosti parametara i usavršiti model. Zadovoljavajući rezultati omogućuju korištenje modela za istraživanje početne hipoteze. U tom slučaju dobivena saznanja se koriste za usmjeravanje sljedećih eksperimentalnih istraživanja što samo modeliranje čini cikličkim postupkom (Mc Auley, 2020).

2.1.1. Matematički modeli metaboličkih puteva

Matematički modeli metaboličkih puteva daju uvid u karakterizaciju fiziologije stanice i procjenu iskorištenja metaboličkih puteva unutar stanice, što omogućuje karakterizaciju

metaboličkog ponašanja stanične populacije (Yasemi i Jolicoeur, 2021). Matematički modeli su se tijekom vremena razvijali, prvo su u njih integrirane reakcijske mreže i stehiometrija, a zatim kinetika reakcije i regulacija mehanizma (Jolicoeur, 2014). Danas razlikujemo:

- (i) matematičke modele koji istražuju metabolizam stanice u stabilnom stanju u skladu s ograničenjima koja nameću zakon održavanja mase i termodinamika reverzibilnosti reakcija (engl. *Constraint based models – CBMs*).
- (ii) dinamičke kinetičke matematičke modele (Yasemi i Jolicoeur, 2021).

Prvo su razvijeni matematički modeli koji se temelje na hipotezi stabilnog metaboličkog ponašanja koji se koriste informacijama iz stehiometrije reakcijske mreže i eksperimentalnim podacima o koncentracijama izvanstaničnih metabolita u određenom vremenu (Schauer i Heinrich, 1983). Hipotezu od stabilnom metaboličkom stanju podupire opažanje da se promjene unutarstaničnih tokova događaju brže nego promjene izvanstaničnih koncentracija. Prednost ovakvih matematičkih modela je u tome da se ne bave posttranslacijskim regulacijskim mehanizmima niti kinetikom metabolita (Smallbone i sur., 2007).

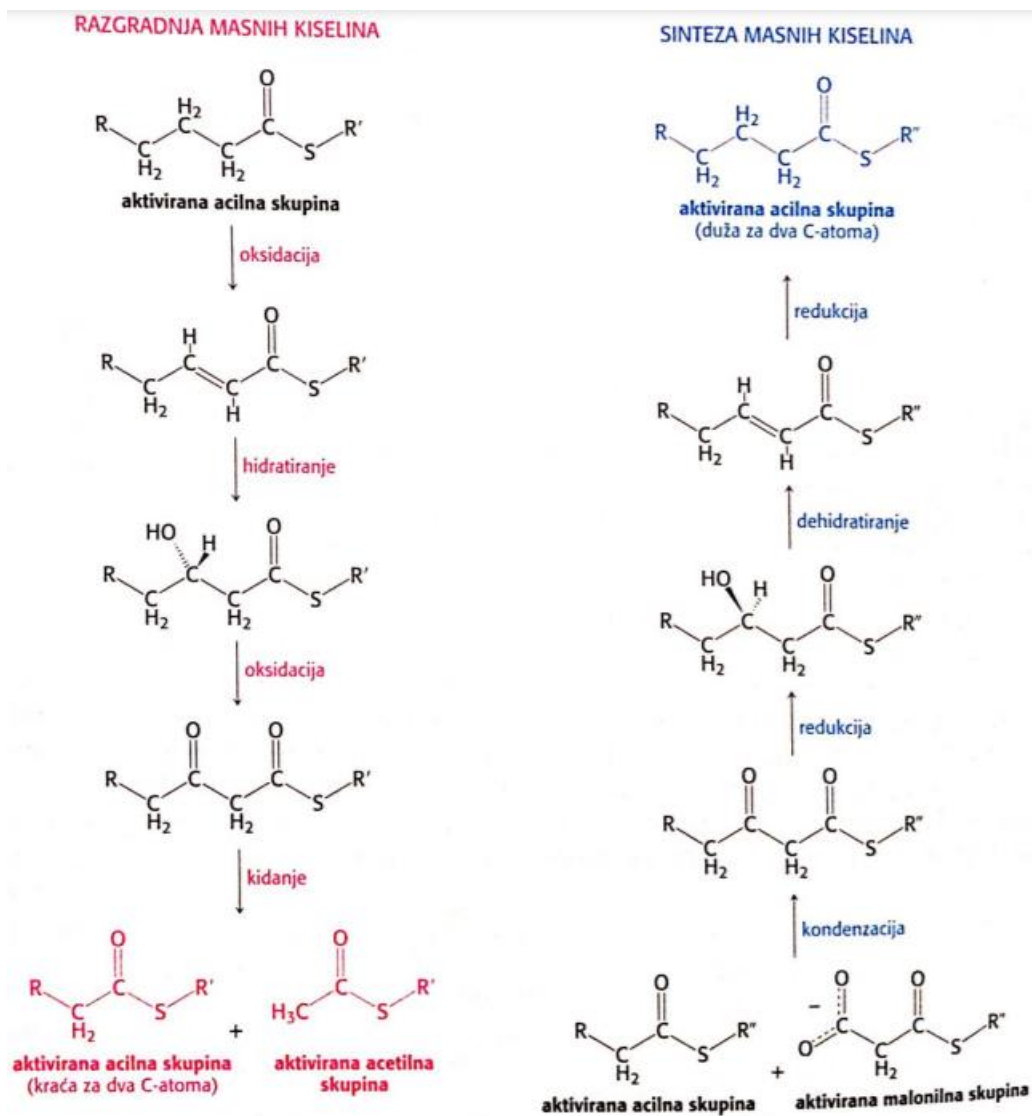
Dinamički kinetički matematički modeli pokušavaju opisati mehanizam unutar bioloških sustava u pogledu enzimske aktivnosti i ravnoteže mase u odnosu na unutarstanične metabolite, ne samo u stabilnom stanju nego tijekom određenog vremena (Strutz i sur., 2019). U takvim matematičkim modelima koriste se sustavi diferencijalni jednadžbi koje odražavaju ravnotežu mase (Nijhout i sur., 2015). Vrijednosti unutarstaničnih tokova i koncentracija izvode se kao broičano rješenje jednadžbi očuvanja. Ovakvi matematički modeli mogu simulirati sve promjene koje su u funkciji navedenih kinetičkih parametara i početnih koncentracija (Ederer i Gilles, 2007). Zbog svega toga predstavljaju boljeg kandidata za proučavanje bioloških sustava u odnosu na prethodni matematički model. Glavni nedostaci dinamičkih kinetičkih matematičkih modela jesu ograničena dostupnost podataka o koncentracijama unutarstaničnih molekula i složen postupak odabira kinetičkog zakona brzine s pripadajućim kinetičkim parametrima (Yasemi i Jolicoeur, 2021).

2.2. METABOLIZAM MASTI

Masne kiseline, zajedno s ugljikohidratima, su najvažniji izvor energije za organizam. Neke od drugih uloga masti su:

- (i) služe kao medij za apsorpciju vitamina topljivih u mastima,
- (ii) važne su za rast i razvoj,
- (iii) prekursori su za sintezu fosfolipida i nekih hormona itd. (Berg i sur., 2007).

Metabolizam masti podrazumijeva sintezu novih masnih kiselina i razgradnju već postojećih masnih kiselina (Large i sur., 2004). Kao što se vidi na slici 3 i razgradnja i sinteza uključuju po 4 koraka čiji je mehanizam u osnovi međusobno suprotan (Berg i sur., 2007).

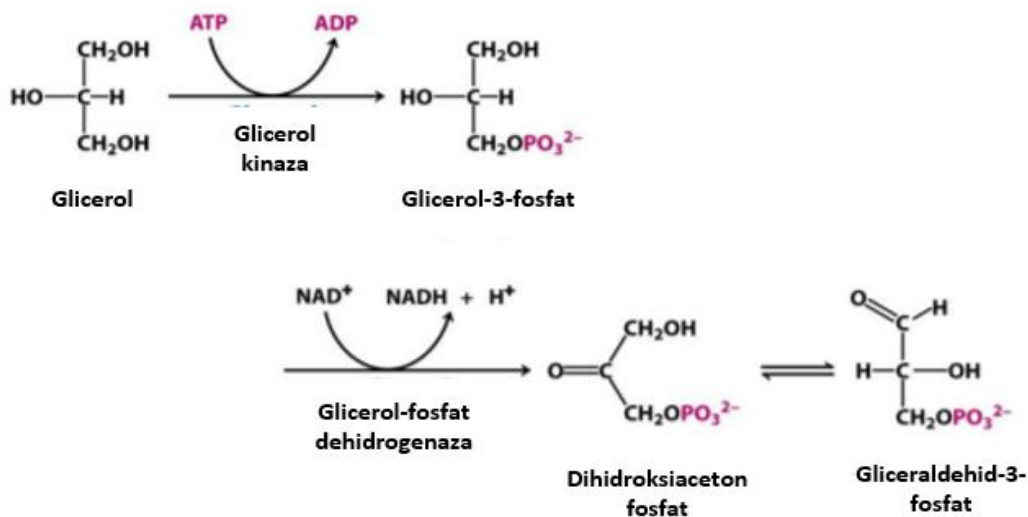


Slika 3. Koraci u razgradnji i sintezi masnih kiselina (prema Berg i sur., 2007)

2.2.1. Razgradnja masnih kiselina

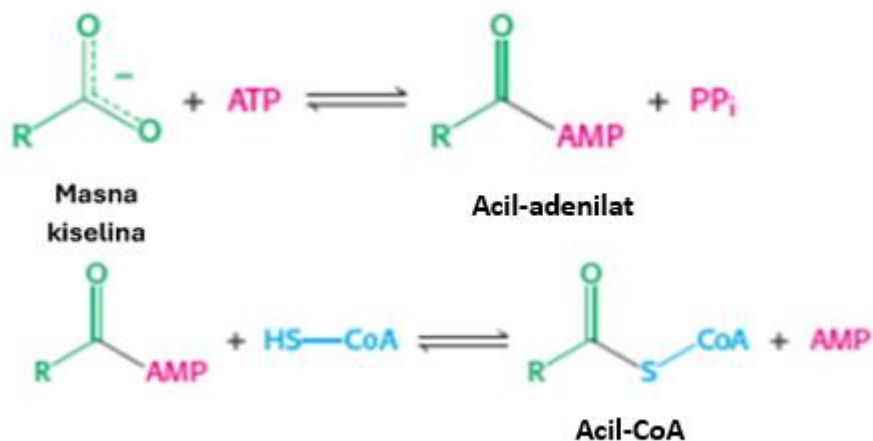
Masne kiseline se skladište u obliku triacilglicerola. Triacilglicerole čine tri masne kiseline povezane s molekulom glicerola. Postupak razgradnje triacilglicerola naziva se lipoliza. Razgradnja triacilglicerola događa se postepeno, preko diacilglicerola i monoacilglicerola, do konačnih produkata: 3 slobodne masne kiseline i jedne molekule glicerola (Large i sur., 2004). Enzim koji je zaslužan lipolizu jest lipaza. Lipaza djeluje pod utjecajem hormona. Niska koncentracija glukoze u krvi stimulira lučenje hormona glukagona i adrenalina. Navedeni hormoni aktiviraju enzim lipazu, ali i protein kinazu A koja djeluje na pirilipin A na površini masne kapljice. Struktura ovojnice se mijenja pa triacilgliceroli unutar masne kapljice postaju dostupniji za djelovanje enzima lipaze (Nelson i sur., 2004a). Nastali produkti razgradnje triacilglicerola odlaze u različite metaboličke puteve.

Metabolizam glicerola prikazan je na slici 4. i odvija se u jetri. Glicerol se u prvom koraku fosforilira djelovanjem enzima glicerol kinaze uz utrošak jedne molekule ATP i nastaje glicerol-3-fosfat. Glicerol-3-fosfat u sljedećem koraku prelazi u dihidroksiaceton fosfat djelovanjem enzima glicerol-fosfat dehidrogenaze. Glikolitički enzima trioza fosfat izomeraza pretvara dihidroksiaceton fosfat u gliceraldehid-3-fosfat koji je prekursor glikolitičkog i glukoneogenog metaboličkog puta (Berg i sur., 2007).



Slika 4. Metabolički put glicerola (prema Berg i sur., 2007)

Daljnja razgradnja masnih kiselina odvija se u mitohondriju i proces se naziva β -oksidacija. Iz toga razloga masne kiseline moraju biti transportirane iz citosola (gdje odvijala razgradnja triacilglicerola) u mitohondrij (Nelson i sur., 2004a). Kako bi došlo do transporta potrebno je masne kiseline aktivirati (slika 5). Aktivacija se događa pod utjecajem enzima acil-CoA sintetaze i u reakciji sudjeluju masne kiseline i molekula ATP. Kao produkti reakcije nastaju pirofosfat i acil-adenilat koji predstavlja aktivirani oblik masne kiseline. U sljedećem koraku aktivirane masne kiseline se prebacuje na koenzim A (CoA) koji je univerzalni nosač aktiviranih acilnih grupa. Krajnji produkti aktivacije masne kiseline su acil-CoA i AMP (adenozin monofosfat). Pirofosfat nastao u prvom koraku se razgrađuje do dva ortofosfata (spontano ili uz enzim pirofosfatazu) što stimulira reakciju u smjeru nastajanja acil-adenilata tj. acil-CoA (Berg i sur., 2007).



Slika 5. Shema aktivacije masne kiseline (prema Berg i sur., 2007)

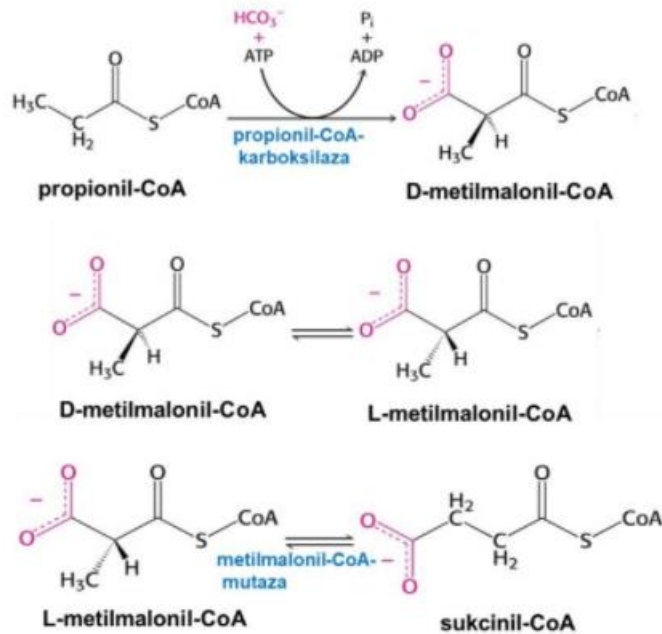
Transport nastalog acil-CoA kroz membranu mitohondrija odvija se pomoću dipolarnog alkohola karnitina. Reakciju katalizira enzim karnitin acil-transferaza I (vezan je vanjsku mitohondrijsku membranu) pri čemu nastaje acil-karnitin koji se transportira kroz unutarnju membranu mitohondrija u matriks mitohondrija. U matriksu mitohondrija enzim karnitin acil-transferaza II prebacuje masnu kiselinu s karnitina ponovno na CoA, a nastali karnitin se vraća u citosol pomoću transportnih proteina (Berg i sur., 2007). Unesena aktivirana masna kiselina u matriksu mitohondrija se razgrađuje ponavljanjem slijeda od 4 reakcije: oksidacija, hidratacija, oksidacija i tioliza. Budući da se oksidacija odvija na β - ugljikovom atomu, niz navedenih reakcija

se naziva β -oksidacija (Nelson i sur., 2004a). Koraci β -oksidacije, enzimi koji kataliziraju reakciju i nastali produkti napisani prikazani su u tablici 1. Na kraju svakog ciklusa nastaje molekula acetil-CoA i skraćenog acil-CoA koji ponovno ulazi u slijed reakcija. U konačnom krugu oksidacije nastaju dvije molekule acetil-CoA koji odlaze u ciklus limunske kiseline i tamo se oksidiraju do CO_2 i H_2O (Berg i sur., 2007).

Tablica 1. Glavne reakcije oksidacije masnih kiselina (prema Berg i sur., 2007)

Reakcija	Enzim	Produkti
Oksidacija	Acil-CoA dehidrogenaza	Trans- Δ^2 -enoil-CoA i FADH_2
Hidratacija	hidrataza	L-3- hidroksi acil-CoA (b-hidroksi acil-CoA)
Oksidacija	L-3-hidroksi acil dehidrogenaze	3-keto acil-CoA i NADH
Tioliza	Tiolaza + CoA	acetil-CoA i acil-CoA

Put β -oksidacije je za zasićene masne kiseline i masne kiseline s parnim brojem ugljikovih atoma dovoljan za potpunu oksidaciju. Nezasićene masne kiseline i one s neparnim brojem ugljikovih atoma imaju još neke dodatne korake u procesu oksidacije. Za razgradnju takvih masnih kiselina potrebna su još dva enzima enoil-CoA izomeraza i 2,4-dienoil-CoA reduktaza. Enoil-CoA izomeraza pretvara cis veze u trans veze koje su pogodan reaktant za enzim enoil-CoA hidratazu. Prilikom oksidacije višestruko nezasićenih masnih kiselina dolazi do nastanka 2,4-dienoilnog međuprodukta koji nije supstrat za slijedeći enzim u β -oksidacijskom ciklusu. Enzim 2,4-dienoil-CoA reduktaza pomoću NADPH reducira navedeni međuprodukt u trans- Δ^3 -enoil-CoA kojeg ranije spomenuti enzim enoil-CoA izomeraza prevodi u trans- Δ^2 -enoil-CoA (Berg i sur., 2007). Masne kiseline s neparnim brojem ugljikovih atoma u konačnom krugu oksidacije ne daju dvije molekule acetil-CoA nego acetil-CoA i propionil-CoA. Nastali propionil-CoA se prevodi u sukcionil-CoA koji ulazi u ciklus limunske kiseline. Kao koenzim jedne od reakcija pretvorbe koristi je vitamin B12 (Nelson i sur., 2004a), a potpuna pretvorba je prikazana na slici 6.



Slika 6. Prevođenje propionil-CoA u sukcionil-CoA (prema Nelson i sur., 2004a)

Kako je ranije navedeno nastale dvije molekule acetil-CoA odlaze u ciklus limunske kiseline, ali samo u uvjetima kada su razgradnje ugljikohidrata i masti uravnotežene. Naime, za ulazak u ciklus limunske kiseline acetil-CoA se mora spojiti s oksaloacetatom, čija dostupnost ovisi o količini ugljikohidrata. Ako ugljikohidrata nema ili se pogrešno upotrebljavaju onda se koncentracija oksaloacetata smanji i acetil-CoA ne može ući u ciklus limunske kiseline. U takvim uvjetima dolazi do nakupljanja acetil-CoA u mitohondrijima i usmjeravanja acetil-CoA u sintezu ketonskih tijela tj. acetoacetata i D-3-hidroksibutirata (Berg i sur., 2007).

2.2.2. Sinteza masnih kiselina

Sinteza masnih kiselina se odvija u citosolu i može se podijeliti na 3 faze (Berg i sur., 2007):

- (i) Faza pripreme u kojoj se acetil-CoA prenosi iz mitohondrija u obliku citrata u citoplazmu. Uneseni citrat se cijepa na acetil-CoA i oksaloacetat.
- (ii) Početna faza koja obuhvaća sintezu malonil-CoA.
- (iii) Faza sinteze gdje se acetil-CoA i malonil-CoA na protein prenositelj acilnih skupina te se provodi ponavljajući niz adicija i redukcija jedinica od 2 C-atoma dok se ne sintetizira masne kiseline od 16 ugljikovih atoma.

Nakon što je acetil-CoA unesen u citosol dolazi do njegove karboksilacije u malonil-CoA, a enzim koji to katalizira naziva se acetil-CoA-karboksilaza (slika 7). Reakcija se odvija uz utrošak jedne molekule ATP, a nastali produkt malonil-CoA je donor acetilnih skupina u procesu sinteze masnih kiselina (Nelson i sur., 2004b).



Slika 7. Nastajanje malonil-CoA (prema Nelson i sur., 2004b)

Sintezu zasićenih masnih kiselina katalizira multienzimskim kompleks koji se naziva sintaza masnih kiselina. Svi međuprodukti sinteze masnih kiselina kovalentno se vežu na acil-nosač-protein (ACP). ACP se nalazi u središtu multienzimskog kompleksa i njegova uloga je prijenos rastućeg lanca masnih kiselina iz aktivnog mjesta jedno enzima do aktivnog mjesta drugog enzima. Do hidrolize masne kiseline sa ACP dolazi tek kad je cijeli proces sinteze završen (Nelson i sur., 2004b). Prijenos aktivirane acetilne skupine s CoA (u slučaju masnih kiselina s neparnim brojem C atoma radi se o aktiviranoj propionilnoj jedinici) na ACP katalizira enzim acetil-transacilaza, a malonilne jedinice enzim malonil-transacilaza (Berg i sur., 2007). Prva reakcija sinteze masnih kiselina jest kondenzacija acetil-ACP i malonil-ACP uz dekarboksilaciju. Nakon toga dolazi do redukcije, dehidratacije te ponovne redukcije. Navedeni niz se ponavlja sve dok se ne sintetizira konačna molekula masne kiseline (najviše 16 C atoma) (Nelson i sur., 2004b). U tablici 2. su prikazane sve reakcije, enzimi koji sudjeluju te produkti koji nastaju u ciklusu sinteze masne kiseline.

Tablica 2. Glavne reakcije sinteze masnih kiselina (prema Berg i sur., 2007)

Reakcija	Enzim	Produkti
Kondenzacija i dekarboksilacija	Enzim za kondenzaciju acil-malonil-ACP	Acetoacetyl-ACP + ACP + CO ₂
Redukcija	B-ketoacil-ACP-reduktaza	D-3-hidroksibutiril-ACP + NADP ⁺
Dehidratacija	3-hidroksiacil-ACP-dehidrataza	Krotonil-ACP + H ₂ O
Redukcija	Enoil-ACP-reduktaza	Butiril-ACP + NADP ⁺

Za sintezu nezasićenih masnih kiselina zaslužni su enzimi koji se nalaze na membrani endoplazmatskog retikuluma. Međutim sisavcima nedostaju enzimi koji mogu uvoditi dvostruke veze iza atoma C-9 u lancu masne kiseline. Iz toga razloga ne mogu sintetizirati linoleat i linolenat koji su esencijalne masne kiseline i potrebno ih je unositi prehranom (Berg i sur., 2007).

Koji će od mehanizam prevladavati sinteza ili razgradnja masnih kiselina strogo je kontrolirano hormonima glukagonom, adrenalinom i inzulinom. Glukagon i adrenalin stimuliraju razgradnju masnih kiselina dok inzulin ima obratni učinak, stimulira sintezu masnih kiselina. Do sinteze masne kiseline će doći ukoliko ugljikohidrata i energije ima u obilju i kada masnih kiselina nema dovoljno. U suprotnom ukoliko je ugljikohidrata malo i nema energije dolazi do razgradnje masnih kiselina. Ključnu ulogu u regulaciji ovih dvaju procesa, sinteze i razgradnje, ima enzim acetyl-CoA karboksilaza. Hormoni glukagon i adrenalin inhibirati će acetyl-CoA karboksilazu i onemogućiti sintezu masnih kiselina u uvjetima kada je energijska razina organizma niska, a doći će do mobilizacije lipida i stimulacije razgradnje masnih kiselina. U slučaju kada je energijska razina organizma visoka dolazi do inhibicije mobilizacije masnih kiselina inzulinom i potiče se nakupljanje masnih kiselina u obliku triacilglicerola u mišićima i masnom tkivu, tj. dolazi do sinteze masnih kiselina. Hormoni inzulin, glukagon i adrenalin djeluju usklađeno na metabolizam masti u organizmu te tako reguliraju pohranu i iskorištenje masnih kiselina (Berg i sur., 2007).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

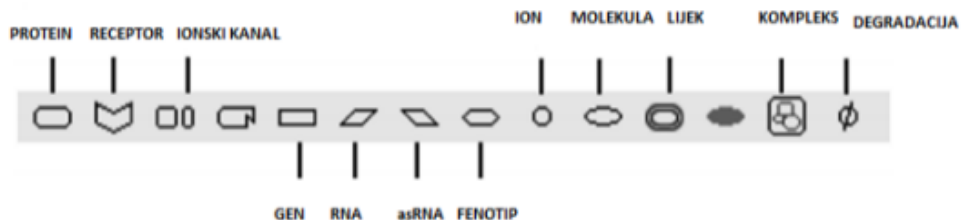
Za izradu ovog diplomskog rada korišten je program *CellDesigner 4.4.2* (System Biology Institute, Tokyo, Japan) te programski paket *Mathematica 10.0* (Wolfram Reserch, Inc., Champaign, SAD).. *CellDesigner* omogućuje prikazivanje gensko-regulatornih i biokemijskih mreža što predstavlja jedan od glavnih izazova sistemske biologije.

3.1.1. CellDesigner

Jedan od ciljeva sistemske biologije jest razumijevanje logike i dinamike gensko-regulatornih i biokemijskih mreža, te je u tu svrhu razvijen program *CellDesigner*. Unutar programa moguće je modeliranje biokemijskih mreža s grafičkim sučeljem. Dobiveni modeli se pohranjuju se u sustavu SBML (engl. *System Biology Markup Language*) (Matsuoka i sur., 2014). Glavne karakteristike programa su:

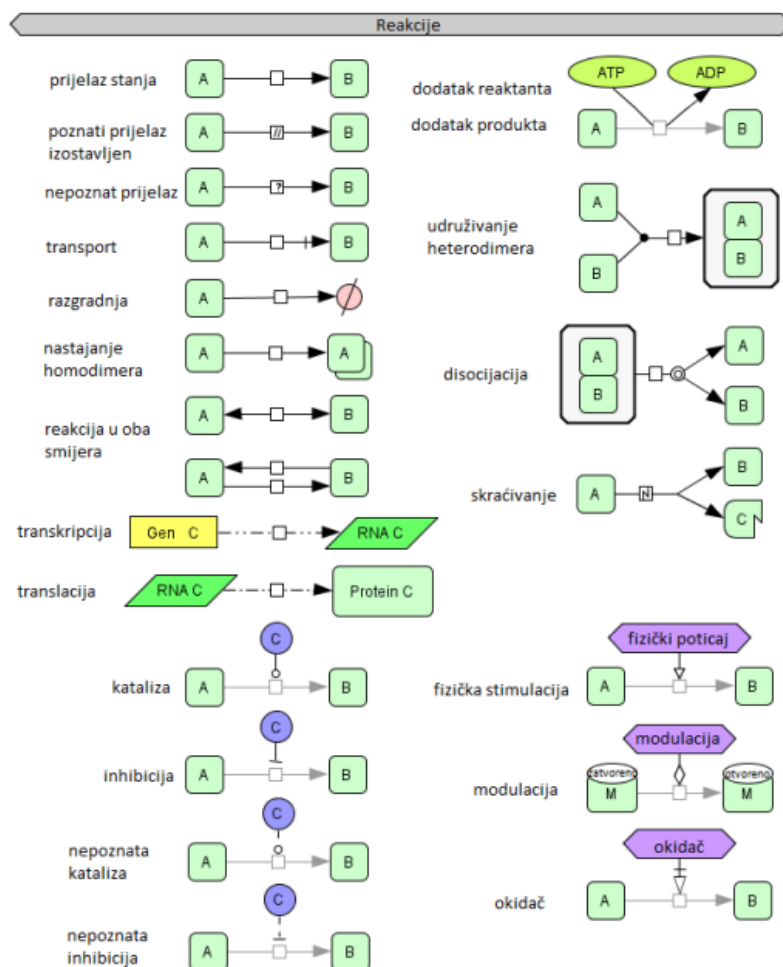
- vizualno jednostavan i lako razumljiv grafički prikaz
- sukladan sa SBML-om
- moguća integracija s alatima za analizu
- povezan je s bazama podataka
- detaljan opis vrsta, reakcija i odjeljaka
- pretvaranje slika u PNG, SVG, JPG i PDF formate (Matsuoka i sur., 2014).

Rad unutar *CellDesigner*-a počinje odabirom nove datoteke iz izbornika. Nakon toga se otvara prozor koji nudi mogućnost upisivanja veličine radnog prostora kao i naziva dokumenta. U stvoreni radni prostor unose se vrste koje je moguće izabrati iz alatne trake (slika 8). Svako izabranoj vrsti dodjeljuje se naziv te postavlja određena veličina. Pokazivačem miša je moguće izabrane vrste pozicionirati bilo gdje unutar radnog prostora.



Slika 8. Vrste simbola u *CellDesigner*-u (prema Matsuoka i sur., 2014)

Nakon unosa svih vrsta, iste se povezuju strelicama koje označavaju reakcije koje se zbivaju između njih. Neke od reakcija koje je moguće odabrati su transport, kataliza, inhibicija, prijelaz stanja i slično (slika 9).



Slika 9. Simboli za različite vrste reakcija u programu *CellDesigner* (prema Funahashi i sur., 2008)

Za svaku reakciju potrebno je napisati pripadajući kinetički izraz. Desnim klikom pokazivača miša na strelicu reakcije otvara se prozor u kojem se odabire unos kinetičkog izraza (engl. *Edit Kinetic Law*). U otvorenom prozoru unosi se kinetički izraz kao i vrijednosti kinetičkih parametara i početnih koncentracija bez kojih simulacija ne bi mogla funkcionirati. Rezultati se dobivaju u grafičkom i numeričkom obliku, a izrađeni model se sprema u obliku SBML dokumenta koji sadrži sve informacije koje su vezane uz samu simulaciju (Funahashi i sur., 2003).

3.1.2. WR Mathematica

WR Mathematica je računalni sustav sa preko 6000 funkcija koje pokrivaju sva područja tehničkog računarstva. Unos podataka je omogućen u raznim formatima, pomoću fleksibilnih funkcija omogućena je kombinacija teksta, tablica, grafičkih prikaza, proračuna i drugih elemenata. Sastoji se od radnog prostora gdje korisnik unosi svoje podatke, jezgre i dijela koji obavlja računske zadatke (Wolfram, 2003). Navedeni računalni sustav je korišten kako bi se provela analiza lokalne i globalne parametarske osjetljivosti.

3.1.3. Model metabolizma masti

U ovom redu provedena je analiza matematičkog modela metabolizma masti. Model u obliku 24 diferencijalnih jednadžbi opisuje metabolički odgovor organizma na obroke s različitim udjelima makronutrijenata s posebnim naglaskom na masti odnosno triacilglicerole. Put metabolizma makronutrijenata predložen je od strane Pratta i sur.(2015).

Model se sastoji od 24 biokemijske reakcije prikazane u tablici 3 zajedno s kinetičkim izrazima. U tablici 4 se nalaze nazivi i vrijednosti 81 kinetičkih parametara korištenih u ovom modelu. Model se sastoji od 4 odjeljka: jetre, mišićnog tkiva, masnog tkiva i krvne plazme.

Tablica 3. Popis biokemijskih reakcija i pripadajući kinetički izrazi (prema Pratt i sur., 2015)

REAKCIJA	KINETIČKI IZRAZ	
Promjena koncentracije inzulina u plazmi (I)	$\frac{dI}{dt} = k_{11} + k_{22} \cdot \operatorname{erf}\left(\frac{G_B - v}{cc}\right) - k_d \cdot I$	[1]
Promjena koncentracije glukoze u jetri (G _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dG_L}{dt} = S_G(t) - k_{gl} \cdot G_L + k_{gl2} \cdot G_B - \frac{v_{LG} \cdot G_L}{k_{LG} + G_L} - \frac{v_{LH} \cdot G_L}{k_{LH} + G_L} \cdot \left(\frac{1}{1 + k_{rep} \cdot P_L}\right) \cdot k_{61} \cdot P_L$	[2]
Promjena koncentracije glukoza-6-fosfata u jetri (P _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dP_L}{dt} = -\frac{1}{2} \cdot k_{yl} \cdot I \cdot P_L \cdot \left(1 + \tanh \cdot \left(\frac{l_{max} - Y_L}{c_0}\right)\right) + \frac{\beta_L}{1 + k_{p6} \cdot I} \cdot \left(\frac{Y_L}{Y_L + y_0}\right) - k_p \cdot I \cdot P_L + k_{gp} \cdot L_A + \frac{\beta_6 \cdot R_L}{1 + k_{p6} \cdot I} + \frac{v_{LG} \cdot G_L}{k_{LG} + G_L} + \frac{v_{LH} \cdot G_L}{k_{LH} + G_L} \cdot \left(\frac{1}{1 + k_{rep} \cdot P_L}\right) - k_{61} \cdot P_L$	[3]
Promjena koncentracije glikogena u jetri (Y _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dY_L}{dt} = \frac{1}{2} \cdot k_{yl} \cdot I \cdot P_L \cdot \left(1 + \tanh \cdot \left(\frac{l_{max} - Y_L}{c_0}\right)\right) - \frac{\beta_L}{1 + k_{al} \cdot I} \cdot \left(\frac{Y_L}{Y_L + y_0}\right)$	[4]
Promjena koncentracije piruvata u jetri (R _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dR_L}{dt} = k_{pp} \cdot R_M + \mu_B + k_p \cdot I \cdot P_L - \frac{\beta_6}{1 + k_{p6} \cdot I} \cdot R_L - k_{al} \cdot I \cdot R_L + \mu_B$	[5]
Promjena koncentracije slobodnih masnih kiselina u jetri (A _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dA_L}{dt} = 3 \cdot k_{cl} \cdot T_{CB} + k_{bl} \cdot A_B + 3 \cdot k_r \cdot T_{LB} + k_{al} \cdot I \cdot R_L - \frac{3 \cdot v_6 \cdot A_L}{k_6 + A_L} + \frac{3 \cdot v_{10} \cdot T_L}{k_{10} + T_L} - \frac{3 \cdot v_8 \cdot A_L}{1 + k_5 \cdot I} - \frac{k_7 \cdot A_L}{1 + k_5 \cdot I}$	[6]
Promjena koncentracije triacilglicerola sekrecijom u jetri (S _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dS_L}{dt} = \frac{v_6 \cdot A_L}{k_6 + A_L} - k_{9a} \cdot S_L$	[7]
Promjena koncentracije triacilglicerola skladištenjem u jetri (T _L)	$\alpha_L \cdot \frac{dT_L}{dt} = \frac{v_8 \cdot A_L}{k_8 + A_L} - F(I) \cdot \frac{v_9 \cdot T_L}{k_9 + T_L} - \frac{v_{10} \cdot T_L}{k_{10} + T_L}$	[8]
Prijenos inzulina	$F(I) = k_{12} \cdot \tanh\left(\frac{v_{12} \cdot I}{k_{13}}\right) + k_{14}$	[9]

Tablica 3. Popis biokemijskih reakcija i pripadajući kinetički izrazi (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

Promjena koncentracije glukoze u mišićima (G_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dG_M}{dt} = (1 + k_{gi} \cdot I) \cdot (k_{gm} \cdot G_B - k_{gm2} \cdot G_M) - \frac{v_{MH} \cdot G_M}{k_{MH} + G_M} \cdot \left(\frac{1}{1 + k_{rep} \cdot P_M} \right)$	[10]
Promjena koncentracije glikogena u mišićima (Y_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dY_M}{dt} = \frac{1}{2} \cdot k_{ym} \cdot I \cdot P_M \cdot \left(1 + \tanh \cdot \left(\frac{m_{max} - Y_M}{c_0} \right) \right) - \frac{\beta_M}{1 + k_{dy} \cdot I} \cdot \left(\frac{Y_M}{Y_M + y_0} \right)$	[11]
Promjena koncentracije glukoza-6-fosfata u mišićima (P_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dP_M}{dt} = \frac{v_{MH} \cdot G_M}{k_{MH} + G_M} \cdot \left(\frac{1}{1 + k_{rep} \cdot P_M} \right) - \frac{1}{2} \cdot k_{ym} \cdot I \cdot P_M \cdot \left(1 + \tanh \left(\frac{m_{max} - Y_M}{c_0} \right) \right) + \frac{\beta_M}{1 + k_{dy} \cdot I} \cdot \left(\frac{Y_M}{Y_M + y_0} \right) - k_{6p} \cdot I \cdot P_M$	[12]
Promjena koncentracije piruvata u mišićima (R_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dR_M}{dt} = k_{6p} \cdot I \cdot P_M - k_{pp} \cdot R_M - \mu_3 \cdot R_M \cdot I \cdot P$	[13]
Promjena koncentracije slobodnih masnih kiselina u mišićima (A_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dA_M}{dt} = -3m_s \cdot I \cdot A_M + 3m_e + 3k_{cm} \cdot T_{CB} + k_{bm} \cdot A_B + 3k_t \cdot T_{LB} - \mu_4 \cdot A_M \cdot P$	[14]
Promjena koncentracije triacilglicerola u mišićima (T_M)	$\alpha_L \cdot \frac{dT_M}{dt} = m_s \cdot I \cdot A_m - m_e$	[15]
Promjena koncentracije adenzin monofosfata (P) u mišićima	$\frac{dP}{dt} = \mu_{amp} - \mu_4 \cdot A_M \cdot P - \mu_3 \cdot R_M \cdot I \cdot P$	[16]
Promjena koncentracije triacilglicerola u masnom tkivu (T_A)	$\alpha_L \cdot \frac{dT_A}{dt} = k_{aa} \cdot I \cdot A_A \cdot G_A - \frac{\beta_f}{1 + k_{ft} \cdot I^2}$	[17]
Promjena koncentracije masnih kiselina u masnom tkivu (A_A)	$\alpha_L \cdot \frac{dA_A}{dt} = -3 \cdot k_{aa} \cdot I \cdot A_A \cdot G_A + 3 \cdot k_a \cdot (1 + k_{ai} \cdot I) \cdot T_{CB} + 3 \cdot k_{ba} \cdot T_{LB} + k_{na} \cdot A_B$	[18]

Tablica 3. Popis biokemijskih reakcija i pripadajući kinetički izrazi (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

Promjena koncentracije glicerola u masnom tkivu (L_A)	$\alpha_L \cdot \frac{dL_A}{dt} = \frac{\beta_f}{1+k_{ft} \cdot I^2} - k_{gp} \cdot L_A$	[19]
Promjena koncentracije glukoze u masnom tkivu (G_A)	$\alpha_L \cdot \frac{dG_A}{dt} = d_{ba} \cdot (1 + k_{ga} \cdot I) \cdot (G_B \cdot G_A) - k_{aa} \cdot I \cdot A_A \cdot G_A$	[20]
Promjena koncentracije egzogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi (T_{CB})	$\frac{dT_{CB}}{dt} = S_F(t) - k_{cm} \cdot T_{CB} - k_{cl} \cdot T_{CB} - k_a \cdot (1 + k_{ai} \cdot I) \cdot T_{CB}$	[21]
Promjena koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvnoj plazmi (A_B)	$\frac{A_B}{dt} = -k_{bm} \cdot A_B - k_{bl} \cdot A_B - k_{na} \cdot A_B + \frac{3 \cdot \beta_f}{1+k_{ft} \cdot I} + 3 \cdot k_a$	[22]
Promjena koncentracije endogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi (T_{LB})	$\frac{dT_{LB}}{dt} = F(I) \cdot \frac{v_9 \cdot T_L}{k_9 + T_L} + k_{9a} \cdot S_L - k_r \cdot T_{LB} - k_t \cdot T_{LB} - k_{ba} \cdot T_{LB}$	[23]
Promjena koncentracije glukoze u krvnoj plazmi (G_B)	$\frac{dG_B}{dt} = k_{gl} \cdot G_L - k_{gl2} \cdot G_B - (1 + k_{gi} \cdot I) \cdot (k_{gm} \cdot G_B - k_{gm2} \cdot G_M) - d_{ba} \cdot (1 + k_{ga} \cdot I) \cdot (G_B - G_A) - \mu_1$	[24]

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (prema Pratt i sur., 2015)

	PARAMETAR	OPIS	VRIJEDNOST
1.	α_A	Volumen masnog tkiva	15,6 L
2.	α_L	Volumen jetre	1,6 L
3.	α_M	Volumen mišićnog tkiva	26,4 L
4.	β_G	brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru)	31,6 min
5.	β_6	Stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri	31,6 mmol min ⁻¹
6.	β_f	Oslobađanje triacilglicerola iz masnog tkiva u neesterificirane masne kiseline	0,117 mmol min ⁻¹
7.	β_l	Glikogenoliza u jetri	12 L min ⁻¹
8.	β_m	Glikogenoliza u mišićnom tkivu	82,5 L min ⁻¹
9.	μ_{amp}	Stvaranje adenzin monofosfata iz adenzin trifosfata tijekom tjelovježbe	1,8 mmol min ⁻¹
10.	μ_b	Stvaranje laktata u crvenim krvnim stanicama	0,133 mmol min ⁻¹
11.	μ_e	Razgradnja triacilglicerola u slobodne masne kiseline u mišićnom tkivu	0,420 mmol min ⁻¹
12.	μ_s	Esterifikacija masnih kiselina u mišićnom tkivu	$7,19 \cdot 10^6$ L mmol ⁻¹ min ⁻¹
13.	μ_1	Potrošnja glukoze u krvnoj plazmi	0,588 mmol min ⁻¹
14.	μ_3	Potrošnja glukoza-6-fosfata u mišiću	$7,839 \cdot 10^7$ L mmol ⁻¹ min ⁻¹
15.	μ_4	Potrošnja slobodnih masnih kiselina u mišiću	100 L min ⁻¹
16.	c_0	Mali parametar	0,1 mmol L ⁻¹
17.	c_c	Raspon koncentracije glukoze iznad koje dolazi do prekomjernog lučenja inzulina	2,5 mmol L ⁻¹

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

18.	d_{ba}	Potrošnja glukoze u masnom tkivu	$0,3 \text{ mmol min}^{-1}$
19.	k_{10}	Afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju	$0,625 \text{ mmol L}^{-1}$
20.	k_{11}	Bazalna brzina sekrecije inzulina	48 mmol min^{-1}
21.	k_{12}	Povećano lučenje <i>VLDL</i> (engl. <i>very low density lipoprotein</i>) djelovanjem inzulina	0,2
22.	k_{13}	Brzina pri kojoj inzulini stimulira udio sekrecije <i>VLDL</i> / <i>VLDL</i> 2	15 mmol L^{-1}
23.	k_{14}	Bazalno lučenje <i>VLDL</i>	0,6
24.	k_{22}	Prekomjerno lučenje inzulina zbog stimulacije glukozom	48 mmol min^{-1}
25.	k_5	Koeficijent kontrole toka inhibicije oksidacije slobodnih masnih kiselina inzulinom	$8,23 \cdot 10^7 \text{ mmol}^{-1}$
26.	k_6	Afinitet za ulazak slobodnih masnih kiselina u sekrecijski bazen u jetri	$0,3 \text{ mmol L}^{-1}$
27.	k_{61}	Brzina defosforilizacije glukoze u jetri	4 L min^{-1}
28.	k_{6p}	Brzina pretvorbe glukoze-6-fosfata u piruvat u mišićnom tkivu	$6,56 \cdot 10^8 \text{ L}^2 \text{ mmol}^{-1} \text{ min}^{-1}$
29.	k_7	Maksimalna brzina oksidacije slobodnih masnih kiselina	$0,759 \text{ L min}^{-1}$
30.	k_8	Afinitet esterifikacije slobodnih masnih kiselina u triacilglicerole	$0,625 \text{ mmol L}^{-1}$
31.	k_9	Afinitet za otpuštanje otpuštanja triacilglicerola u krvnu plazmu	$43,583 \text{ mmol L}^{-1}$
32.	k_{9a}	Lučenje <i>VLDL</i> iz sekrecijskog puta	1 L min^{-1}
33.	k_a	Potrošnja slobodnih masnih kiselina iz hilomikrona u masnom tkivu (neovisno o inzulinu)	$0,1497 \text{ L min}^{-1}$

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (*prema* Pratt i sur., 2015) - nastavak

34.	k_{aa}	Esterifikacije slobodnih masnih kiselina iz masnog tkiva u triacilglicerole	$3,11 \cdot 10^5 \text{ L}^2 \text{ mmol}^{-2} \text{ min}^{-1}$
35.	k_{ai}	Potrošnja slobodnih masnih kiselina iz hilomikrona u masnom tkivu (ovisno o inzulinu)	$2,08 \cdot 10^6 \text{ mmol}^{-1}$
36.	k_{al}	Stopa pretvorbe piruvata u acetil-CoA	$0,00002 \text{ L}^2 \text{ mmol}^{-1} \text{ min}^{-1}$
37.	k_{ba}	Potrošnja endogenih triacilglicerola u masnom tkivu	$0,0104 \text{ L min}^{-1}$
38.	k_{bl}	Potrošnja neesterificiranih masnih kiselina iz plazme u jetri	$0,156 \text{ L min}^{-1}$
39.	k_{bm}	Potrošnja neesterificiranih masnih kiselina iz plazme u mišić	$0,226 \text{ L min}^{-1}$
40.	k_{cl}	Potrošnja egzogenih triacilglicerola u jetri	$0,0075 \text{ L min}^{-1}$
41.	k_{cm}	Potrošnja egzogenih triacilglicerola u mišićnom tkivu	$0,0449 \text{ L min}^{-1}$
42.	k_d	Brzina razgradnje inzulina	$1,733 \cdot 10^{14} \text{ mmol}^{-1}$
43.	k_{dl}	Glikogenoliza u jetri (inhibicija inzulinom)	$3,5 \cdot 10^8 \text{ L mmol}^{-1}$
44.	k_{dy}	Glikogenoliza u mišićnom tkivu (inhibicija inzulinom)	$4 \cdot 10^8 \text{ mmol}^{-1}$
45.	k_{ft}	Pretvorba triacilglicerola u neesterificirane masne kiseline u masnom tkivu (inhibirano inzulinom)	$1,67 \cdot 10^{14} \text{ mmol}^{-1}$
46.	k_{ga}	GLUT4 prijenosnici	$1,67 \cdot 10^6$
47.	k_{gi}	Prijenos glukoze iz krvne plazme u mišićno tkivo	$2,632 \cdot 10^8 \text{ mmol L}^{-1}$
48.	k_{gl}	Prijenos glukoze iz jetre u krvnu plazmu	$0,9277 \text{ mmol L}^{-1}$

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (*prema* Pratt i sur., 2015) - nastavak

49.	k_{gl2}	Prijenos glukoze iz krvne plazme u jetru	$0,396 \text{ mmol L}^{-1}$
50.	k_{gm}	Prijenos glukoze iz krvne plazme u mišićno tkivo	$0,0380 \text{ mmol L}^{-1}$
51.	k_{gm2}	Prijenos glukoze iz mišićnog tkiva u krvnu plazmu	$0,0380 \text{ mmol L}^{-1}$
52.	k_{gp}	Potrošnja glicerola iz masnog tkiva za stvaranje glukoza-6-fosfata u jetri	$0,311 \text{ L min}^{-1}$
53.	k_{ip}	Udio egzogenih triacilglicerola u masnom tkivu	0,25
54.	k_{LG}	Konstanta zasićenja u reakciji pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat	$8,95 \text{ mmol L}^{-1}$
55.	k_{LH}	Konstanta zasićenja u reakciji pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat (katalizirana heksokinazom)	$0,0115 \text{ mmol L}^{-1}$
56.	k_{MH}	Konstanta zasićenja u reakciji pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat	$8,98 \text{ mmol L}^{-1}$
57.	k_{na}	Potrošnja slobodnih masnih kiselina iz krvne plazme u masnom tkivu	$0,0697 \text{ L min}^{-1}$
58.	k_p	Pretvorba glukoza-6-fosfata u piruvat	$1,41 \cdot 10^7 \text{ mmol L}^{-1}$
59.	k_{p6}	Brzina pretvorbe glukoze-6-fosfata u piruvat u mišićnom tkivu	$6,56 \cdot 10^8 \text{ L}^2 \text{ mmol}^{-1} \text{ min}^{-1}$
60.	k_{pp}	Prijenos laktata iz mišićnog tkiva u jetru	0,5
61.	k_r	Ostatak endogeno stvorenih triacilglicerola u jetri	0,00058 mmol
62.	k_{rep}	Koeficijent kontrole fluksa	$2,98 \text{ mmol L}^{-1}$
63.	k_t	Potrošnja endogeno stvorenih triacilglicerola u mišićnom tkivu	$0,00348 \text{ mmol L}^{-1}$

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

64.	k_{yl}	Pretvorba glukoza-6-fosfata u glikogen u jetri	$1,28 \cdot 10^6$
65.	k_{ym}	Brzina sinteze glikogena	$21,3641 \text{ mmol L}^{-1}$
66.	I_{max}	Maksimalna koncentracija glikogena koja se može uskladištiti u jetri	400 mmol
67.	m_{max}	Maksimalna koncentracija glikogena	100 mmol
68.	v	Granična vrijednost pri kojoj dolazi do lučenja inzulina iz β - stanica gušterače	7 mmol
69.	v_{10}	Brzina pretvorbe triacilglicerola u slobodne masne kiseline	$0,1 \text{ mmol min}^{-1}$
70.	v_{12}	Brzina lučenja VLDL1 djelovanjem inzulina	40 mmol L^{-1}
71.	v_6	Brzina ulaska slobodnih masnih kiselina u sekrecijski bazen u jetri	$0,0158 \text{ mmol L}^{-1}$
72.	v_8	Brzina pretvorbe slobodnih masnih kiselina u triacilglicerole	$0,333 \text{ mmol min}^{-1}$
73.	v_9	Brzina otpuštanja triacilglicerola u krvnu plazmu	$0,0159 \text{ mmol L}^{-1}$
74.	v_{LG}	Brzina pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat (katalizirana glukokinazom)	$14,3 \text{ mmol min}^{-1}$
76.	v_{LH}	Brzina pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat (katalizirana heksokinazom)	$5,57 \text{ mmol min}^{-1}$
76.	v_{MH}	Brzina pretvorbe glukoze u glukoza-6-fosfat (katalizirana heksokinazom) u mišićnom tkivu	$54,288 \text{ mmol min}^{-1}$
77.	y_0	Mali parametar	0,1
78.	α_G	Promjena koncentracije glukoze u vremenu	2 mmol
79.	α_F	Promjena koncentracije fruktoze u vremenu	2 mmol L^{-1}

Tablica 4. Popis kinetičkih parametara (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

80.	m_s	Skladištenje slobodnih masnih kiselina u mišićnom tkivu u obliku triacilglicerola (ovisno o inzulinu)	0,8
81.	m_e	Razgradanja triacilglicerola u mišićnom tkivu	0,9

Tablica 5. Početne koncentracije varijabli modela (prema Pratt i sur., 2015)

Varijabla	Oznaka	Koncentracija / mmol L ⁻¹
Koncentracija glukoze u jetri	G_L	8,0000
Koncentracija glikogena u jetri	Y_L	50,0000
Koncentracija glukoza-6-fosfat u jetri	P_L	2,0600
Koncentracija piruvata u jetri	R_L	0,3700
Koncentracija slobodnih masnih kiselina u jetri	A_L	0,5700
Sekrecijski bazen u jetri	T_L	40,0000
Skladišni bazen u jetri	S_L	0,0149
Koncentracija glukoze u mišićnom tkivu	G_M	0,5000
Koncentracija glikogena u mišićnom tkivu	Y_M	20,000
Koncentracija glukoza-6-fosfat u mišićnom tkivu	P_M	0,1330
Koncentracija piruvata u mišićnom tkivu	R_M	0,0090
Koncentracija slobodnih masnih kiselina u mišićnom tkivu	A_M	0,5300
Koncentracija triacilglicerola u mišićnom tkivu	T_M	14,8000
Koncentracija inzulina u krvnoj plazmi	I	60,0000
Koncentracija neesterificiranih masnih kiselina u krvnoj plazmi	A_{NB}	0,5000
Koncentracija endogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi	T_{LB}	1,0000
Koncentracija glukoze u masnom tkivu	G_A	2,5300

Tablica 5. Početne koncentracije varijabli modela (prema Pratt i sur., 2015) - nastavak

Koncentracija slobodnih masnih kiselina u masnom tkivu	A_A	0,5700
Koncentracija triacilglicerola u masnom tkivu	T_A	500,0000
Koncentracija glicerola u masnom tkivu	L_A	0,1700

*Početne koncentracije glukoze i egzogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi preračunate su iz sastava obroka iz jelovnika sastavljenih za ovaj rad

3.1.4. Smjernice za planiranje jelovnika

Prilikom planiranja jelovnika za ovaj rad korištene su prehrambene smjernice za opću populaciju, kao i smjernice za ketogenu dijetu. Prehrambene smjernice za opću populaciju uključuju tri osnovna principa: raznolikost, umjerenost i uravnoteženost. U slučaju ketogene dijetе naglasak se stavlja na povećan unos masti, dok je unos ugljikohidrata izrazito smanjen (maksimalno 5% dnevnog unosa energije) (Phinney, 2004). U radu su prikazana 4 jelovnika: jelovnik za opću populaciju, jelovnik po principima ketogene dijetе i 2 jelovnika s vrijednostima ugljikohidrata i masti koji se nalaze između prva dva navedena jelovnika. Za planiranje obroka i izračun količine nutrijenata korištene su USDA baza namirnica i USDA baza nutrijenata.

3.2. METODE

3.2.1. Razvoj i simulacija modela u programu *CellDesigner*

U računalnom programu *CellDesigner* simulacija metabolizma masti u jetri provedena je prema modelu koji je prikazan u radu Pratt i sur. (2015). Kao ulazni parametri su promatrani koncentracija glukoze u krvnoj plazmi (G_B) i koncentracija triacilglicerola u krvnoj plazmi (TAG) pri različitim obrocima (zajutak, ručak, međuobrok i večera). Iz vrijednosti ulaznih parametara praćene su promjene u koncentraciji inzulina, neesterificiranih masnih kiselina i glukoze u krvnoj plazmi tijekom vremena.

3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti

Vrijednosti parametara koje se koriste prilikom stvaranja modela imaju veliki utjecaj na svojstva stvarnog sustava. Proučavanjem modela potrebno je procijeniti koji od svih navedenih parametara imaju najveći utjecaj na rezultat modeliranja. Iz tog razloga se koriste analize parametarske osjetljivosti (Marino i sur., 2008). Analize parametarske osjetljivosti su pronašle primjenu između

ostalog i u biološkim sustavima. Modeli u biološkim sustavima imaju veliki broj slobodnih parametara koji imaju utjecaj na ponašanje modela i sami rezultat modeliranja (Qian i Mahdi, 2020).

Metoda lokalne osjetljivosti parametara se primjenjuje ukoliko su prisutne male nesigurnosti u ulaznim parametrima ili postoji mala interakcija između ulaznih parametara. Primjenom ove metode mijenja se vrijednosti jednog po jednog ulaznog parametra dok vrijednosti ostalih parametara ostaju iste. Prilikom promjene vrijednosti prati se utjecaj na izlazne parametre odnosno izlazne rezultate modela (Marino i sur., 2008).

U ovom radu promatrana je osjetljivost svih varijabli modela pri dvije različite početne koncentracije glukoze ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$ i $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$) i triacilglicerola ($TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$ i $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$) prema razvijenim jelovnicima na povećanje i smanjenje početne vrijednosti pojedinog parametra modela za 3 %. Prema navedenoj jednadžbi 25 računa se relativna osjetljivost izlaznih veličina. $S_{X/i}$ predstavlja parametarski koeficijent osjetljivosti, k_i je vektor koncentracija, c_x je vektor parametara sustava, a izraz $\frac{\partial c_x}{\partial k_i}$ predstavlja koeficijent lokalne osjetljivosti prvog reda.

$$S_{X/i} \% = \frac{k_i}{c_x} \cdot \frac{\partial c_x}{\partial k_i} \cdot 100\% \approx \frac{k_i \cdot \Delta c_x}{c_x \cdot \Delta k_i} \cdot 100\% = \frac{k_i}{c_x} \cdot \frac{c_x \cdot (1,03k_i) - c_x \cdot k_i}{0,3 \cdot k_i} \cdot 100\% \quad [25]$$

U ovom radu je napravljena analiza lokalne parametarske osjetljivosti za 81 kinetički parametar u programu *WR Mathematica 10*. Dobiveni rezultati su obrađeni u Microsoft Office Excelu 2016 (Microsoft Corporation, 2015, SAD).

3.2.3. Analiza globalne osjetljivosti parametara

Analiza globalne parametarske osjetljivosti računa vrijednosti u širem rasponu od početne vrijednosti koja je definirana. Prema njoj osjetljivost parametra može imati i negativan i pozitivan utjecaj na sustav (Kent i sur., 2013).

Test osjetljivosti Fourierove amplitude (FAST) je metoda koja se najčešće koristi za analizu globalne osjetljivosti parametara (Qian i Mahdi, 2020). Ovom metodom se mjere amplitude pri različitim frekvencijama svakog parametra na kraju modela (Marino, 2008). Neke od karakteristika ove metode su: mjerenje sadrži utjecaj svih zadanih varijacija svakog faktora, sadrži efekte interakcije i više se faktora može definirati kao jedan faktor (Crosetto i sur., 2000).

Jednadžba 26 prikazuje nelinearnu promjenu normaliziranih parametara x_i do koje dolazi korištenjem FAST metode.

$$x_i = \frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \arcsin(\sin(\pi\omega_i s + \varphi_i)) \quad [26]$$

Promjene parametra su povezane s parametrima frekvencije (ω_i) i faznog kuta (φ_i). Promjena normaliziranih parametara x_i u realni parametar k_i prikazane su u narednoj jednadžbi, gdje k_i predstavlja nominalnu vrijednost parametra, dok eksponent n predstavlja raspon varijacije parametara.

$$k_i = \frac{k_i}{2} [10^n + 10^{-n} + x(10^n - 10^{-n})] \quad [27]$$

Zatim se dobiveni izlazni parametri proširuju Fourierovom serijom. U tom slučaju varijanca D izlazne funkcije je rastavljena na zbrojeve kvadrata Fourierovih koeficijenata A_ω i B_ω što je prikazano jednadžbama [28]-[30].

$$D = 2 \sum_{\omega=1}^{\infty} (A_\omega^2 + B_\omega^2) \quad [28]$$

$$A_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \cos(\omega s) \cdot ds \quad [29]$$

$$B_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \sin(\omega s) \cdot ds \quad [30]$$

Jednadžbom 30 izračunava se parcijalni zbroj članova Taylorovog niza (s), gdje M predstavlja maksimalnu frekvenciju u Fourierovom proširenju. Koeficijent osjetljivosti S_i određeni su prema Fourierovim koeficijentima, a djelomična suma usklađenosti prema jednadžbama [31] i [32].

$$D_i = 2 \cdot \sum_{p=1}^M A_{p\omega_i}^2 + B_{p\omega_i}^2 \quad [31]$$

$$S_i = \frac{D_i}{D} \quad [32]$$

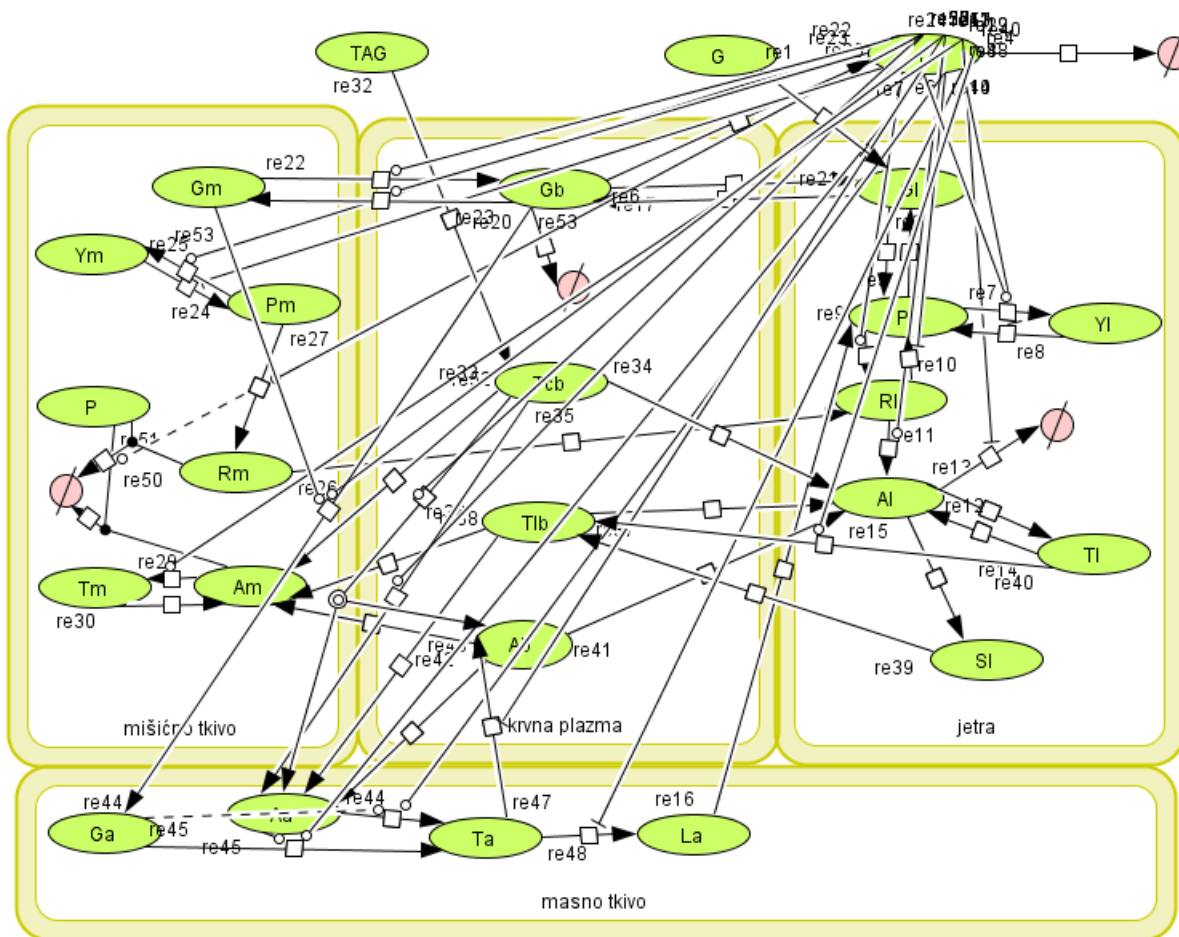
Kako bi se odredila globalna osjetljivost parametara u radu korišten je program *WR Mathematica 10*, a rezultati su obrađeni i prikazani u Microsoft Office Excelu 2016.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Simulacijom modela metabolizma masti u programu *CellDesigner* promatrana je promjena u koncentraciji metabolita u krvnoj plazmi: glukoze (G_B), triacilglicerola (TAG), neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) i inzulina (I) u periodu od 500 minuta. Koncentracije navedenih metabolita su promatrane nakon svakog obroka, a ukupno su 4 obroka u danu. Za istraživanje su osmišljena 4 jelovnika koja se razlikuju s obzirom na udjel ugljikohidrata i masti i prikazana su u tablicama 6-9. Slika 10 prikazuje konačni izgled modela metabolizma masti u računalnom programu *CellDesigner*. U navedenom programu provedene su 4 simulacije koje su se razlikovale u početnim koncentracijama glukoze i egzogenih triacilglicerola. Pomoću analiza lokalne i globalne osjetljivosti određeni su ključni kinetički parametri u programu *WR Mathematica 10*. Rezultati dobiveni simulacijom u *CellDesigneru* prikazani su grafički na slikama 11-26. Grafički su prikazani i rezultati analize lokalne i globalne osjetljivosti prikazani su na slikama 27-38.

4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA MASTI U PROGRAMU CELL DESIGNER

Za konstrukciju modela metabolizma masti korišten je računalni program *CellDesigner 4.4.2*. Model se sastoji od 24 biokemijske reakcije prikazane u tablici 3 i 81 kinetičkog parametra prikazanog u tablici 4. Izgled modela prikazanog u programu *CellDesigner* može se vidjeti na slici 10. Do sada su provedena matematička modeliranja metabolizma masti, ali u pojedinim dijelovima organizma npr. u mozgu, mišićnom tkivu, masnom tkivu i slično. U svim tim istraživanjima metabolizam masti promatran je samo u stabilnom stanju, u obzir nije uzeta postprandijalna dinamika. Model prikazan u ovom radu za cilj ima proučavanje metabolizma masti u stabilnom stanju, ali proučavaju se i promjene u metabolitima nastale nakon unosa hrane u vremenu od 500 min. Kako bi se olakšalo razumijevanje biokemijskih promjena model metabolizma masti podijeljen je u 4 odjeljka: jetra, krvna plazma, mišićno tkivo i masno tkivo. Jetra predstavlja važan organ jer regulira dostupnost metabolita ostalim tkivima, transport metabolita između tkiva vrši se krvnom plazmom, masno tkivo je glavno skladište energije u organizmu i zajedno s mišićnim tkivom ima veliki utjecaj na metabolizam (Pratt i sur., 2015).



Slika 10. Matematički model metabolizma masti u programu *CellDesigner*

Svaki metabolit ima svoju oznaku: *G* je korišteno za glukozu, *P* za glukozu-6 -fosfat, *R* za piruvat, *Y* za glikogen, *A* za neesterificirane masne kiseline, *L* za glicerol i *T* (i *S*) za triacilglicerole. Kako bi razlikovali podrijetlo metabolita korišteni su indeksi koji označavaju svaki od odjeljaka i to: *m* za mišićnom tkivo, *l* za jetru, *a* za masno tkivo i *b* za krvnu plazmu. Kao ulazni podaci koriste se koncentracije triacilglicerola (*TAG*) i glukoze (*G*). Metabolizam glukoze i triacilglicerola se razlikuje i ne teče istim metaboličkim putevima. Prilikom metabolizma glukoze, glukoza prvo odlazi u jetrenu portalnu venu iz intestinalnog trakta, ali radi pojednostavljenja modela pretpostavlja se direktni prijenos glukoze iz intestinalnog trakta u jetru. Važnu ulogu u metabolizmu masti imaju hormoni. Jedini hormon koji je korišten prilikom konstrukcije modela jest inzulin (*I*). Kako bi model ostao što jednostavniji zanemareno je djelovanje hormona koji imaju suprotan učinak inzulinu, kao što je glukagon. Biokemijske reakcija ovisne o inzulinu prikazane su kao inzulin stimulirajuće ili inzulin inhibirajuće.

4.2. PRIKAZ JELOVNIKA

U ovom radu osmišljena su 4 jelovnika koja se razlikuju prema udjelu makronutrijenata na naglasku na ugljikohidratima i mastima. Svaki od jelovnika ima energetska vrijednost od 2000 kcal (\pm 100 kcal). Za planiranje obroka i izračun količine nutrijenata korištene su USDA baza namirnica i USDA baza nutrijenata. Jelovnik 1 prikazan u tablici 6 prati pravila ketogene dijeta. Posljednjih godina navedena dijeta je doživjela veliku popularnost. Veliki broj osoba primjenjuje ketogenu dijetu u svrhu smanjenja tjelesne mase. Osnovni princip ketogene dijeta je drastično smanjenje unosa ugljikohidrata i postizanje ketoze. Ketoza je stanje organizma u kojemu zbog nedostatka ugljikohidrata dolazi do stvaranje ketonskih tijela kao što su beta-hidroksibutirat, acetoacetat i aceton (Bender, 2014). Kako bi se postigla ketoza potrebno je ograničiti unos ugljikohidrata na 20 do 50 g dnevno, a glavni dio dnevnog unosa energije čine masti (Phinney, 2004).

Tablica 6. Jelovnik 1 prema smjernicama ketogene dijeta s unosom energije, ugljikohidrata i masti

OBROK	UGLJIKOHIDRATI / g	MASTI / g	ENERGIJA / kcal
ZAJUTRAK: 2 žumanjka i slanina pripremljeni na maslinovom ulju i gauda sir	2,7	82,4	859,2
RUČAK: Losos pripremljen na maslinovom ulju i zelena salata s lan sjemenkama	5,7	32,6	408,6
MEĐUOBROK: Šaka oraha	4,1	19,5	209,9
VEČERA: Piletina pripremljena s vrhnjem za kuhanje i brokulom	12,6	44,4	584
UKUPNO:	25,1	178,9	2061,7

Sljedeći jelovnik 2 (tablica 7) osmišljen je prema prehrambenim smjernicama za opću populaciju s obzirom na udjel makronutrijenata. Prema tome udio masti bi trebao biti između 20-35 % od ukupnog dnevnog unosa energije (EFSA 2010a), udjel ugljikohidrata bi trebao biti između 45-60 % od ukupnog dnevnog unosa energije (EFSA, 2010b). Iz toga slijedi da pri energetske unosu od 2000 kcal, unos ugljikohidrata treba biti između 225 i 300 g, a unos masti između 44,4 i 77,8 g.

Tablica 7. Jelovnik 2 za opću populaciju s unosom energije, ugljikohidrata i masti

OBROK	UGLJIKOHIDRATI / g	MASTI / g	ENERGIJA / kcal
ZAJUTRAK: Kukuruzne pahuljice s jogurtom (2,8 % m.m.) i čaj kamilica sa šećerom	80,4	5,9	421,9
RUČAK: Tanjur povrtnje juhe, pileća prsa pripremljena na maslinovom ulju s kuskusom, zelena salata s lan sjemenkama, 2 šnite graham kruha i čaša soka od naranče	89,7	33,9	904,7
MEĐUOBROK: Banana i šaka badema	29,3	15,3	284,1
VEČERA: Tuna odrezak s krumpirom pripremljen s maslinovim uljem i šalica kompota od jabuka	39,1	15,1	395,1
UKUPNO	238,5	70,2	2005,8

Ostala dva jelovnika (tablica 8 i 9) udjele ugljikohidrata i masti imaju između prva dva navedena obrasca prehrane kako bi dodatno ispitali utjecaj različitog unosa ugljikohidrata i masti na metabolizam masti.

Tablica 8. Jelovnik 3 s unosom energije, ugljikohidrata i masti

OBROK	UGLJIKOHIDRATI / g	MASTI / g	ENERGIJA / kcal
ZAJUTRAK: 2 žumanjka i slanina pripremljeni na maslinovom ulju i šnita kruha	13,9	57,7	612,9
RUČAK: Tanjur povrtnje juhe, odrezak tune s krumpirom i blitvom pripremljen na maslinovom ulju	25,2	27,7	517,3
MEĐUOBROK: 1 šalica jogurta (3,2 % m.m.) i 30 g orašastih plodova	14,9	32,4	403,6
VEČERA: Piletina i riža sa salatoma od povrća	47,9	18,2	461,8
UKUPNO	101,9	136,0	1995,6

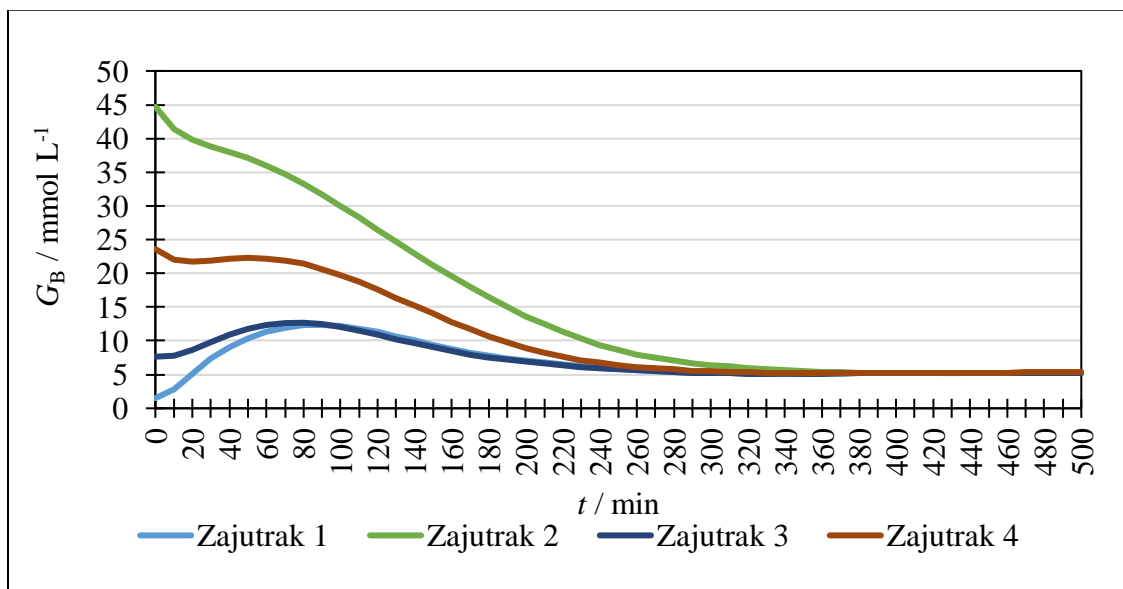
Tablica 9. Jelovnik 4 s unosom energije, ugljikohidrata i masti

OBROK	UGLJIKOHIDRATI / g	MASTI / g	ENERGIJA / kcal
ZAJUTRAK: 2 šnite graham kruha s maslacem i medom i čaj kamilica sa šećerom	42,5	16,7	343,9
RUČAK: Tanjur povrtnje juhe, juneći gulaš s tjesteninom i salata od povrća	77,8	52,0	971,2
MEĐUOBROK: Jabuka narezana na ploške s kikiriki maslacem	24,3	5,6	164,4
VEČERA: Losos pripremljen na maslinovom ulju s bulgurom, salata od povrća i čaša soka od naranče	55,4	20,8	533,6
UKUPNO	200,0	95,1	2013,1

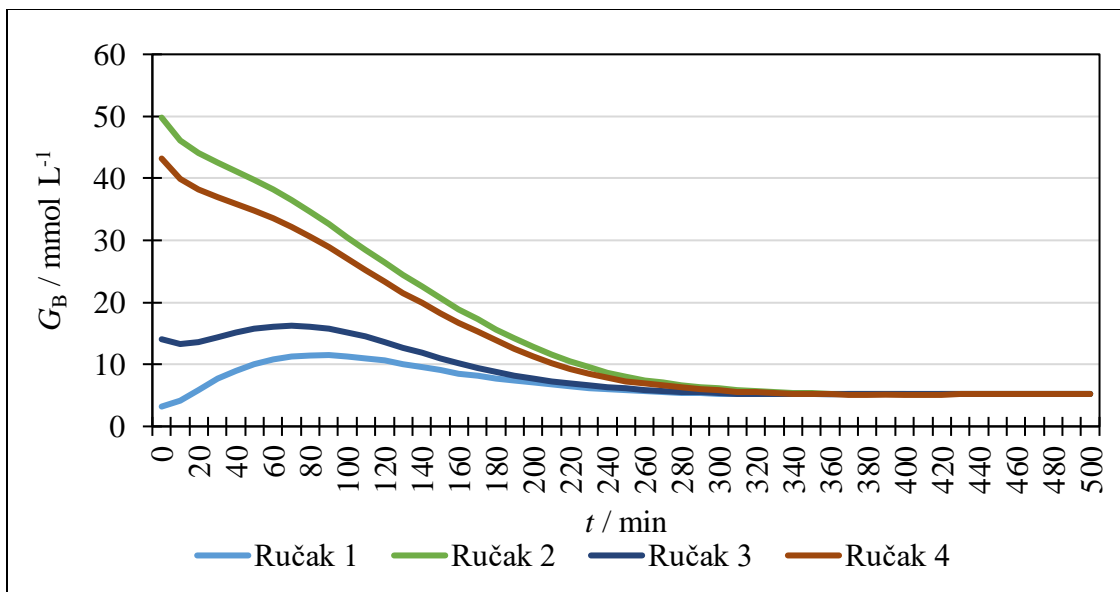
4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA MASTI U RAČUNALNOM PROGRAMU *CELLDESIGNER*

Masti čine jako važan dio prehrane čovjeka. Prehranom se najviše unose triacilgliceroli. Glavno mjesto skladištenja triacilglicerola jesu masne stanice. Unutar masnih stanica moguća je sinteza i razgradnja triacilglicerola, a ukoliko je potrebno moguća je i mobilizacija triacilglicerola do drugih tkiva (Berg i sur., 2007). Iz tog razloga promjene koje nastaju u metabolizmu masti mogu dovesti do razvoja mnogih poremećaja i bolesti u organizmu.

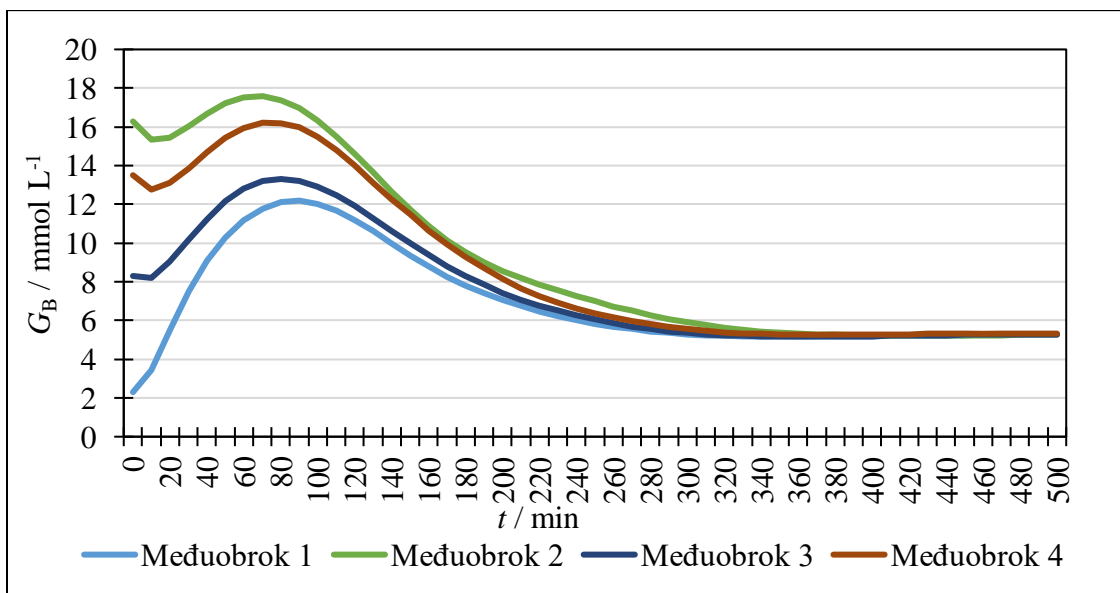
U sklopu ovog rada provedene su 4 simulacije s obzirom na različite koncentracije početnih veličina: glukoze u krvi i triacilglicerola. Za izračun navedenih veličina korištene su količine ugljikohidrata i masti iz jelovnika prikazanih u tablicama 6-9 i izračun je rađen pojedinačno za svaki obrok. Osim promjene u koncentraciji glukoze (G_B) i triacilglicerola (T_{LB}) u krvnoj plazmi praćene su i promjene u koncentraciji inzulina (I) i neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) u krvnoj plazmi tijekom vremena od 500 min. Na slikama 11-14 prikazane su promjene u koncentraciji glukoze u krvnoj plazmi.



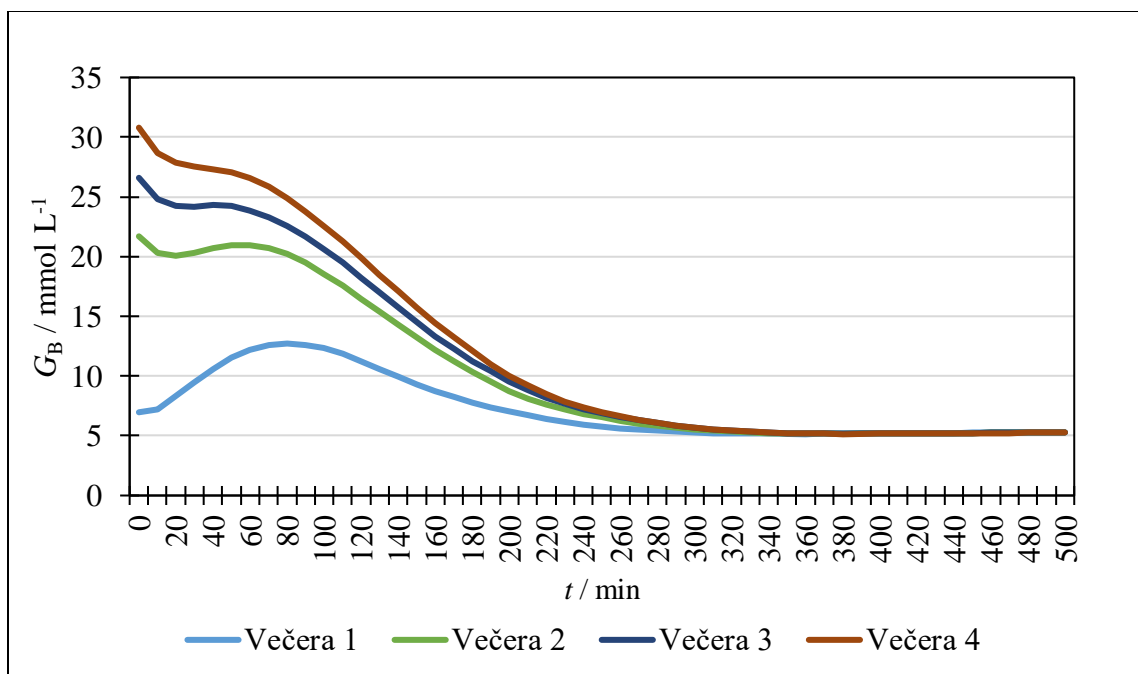
Slika 11. Promjene koncentracije glukoze (G_B) u krvnoj plazmi za različite sastave zajutraga ($G_{B,1} = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 23 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 44,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 16,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 23,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 4,7 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 12. Promjene koncentraciji glukoze (G_B) u krvnoj plazmi za različite sastave ručaka ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 14,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 43,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 14,5 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 13. Promjene koncentraciji glukoze (G_B) u krvnoj plazmi za različite sastave međuobroka ($G_{B,1} = 2,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 5,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 16,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 8,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 9,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 13,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$)

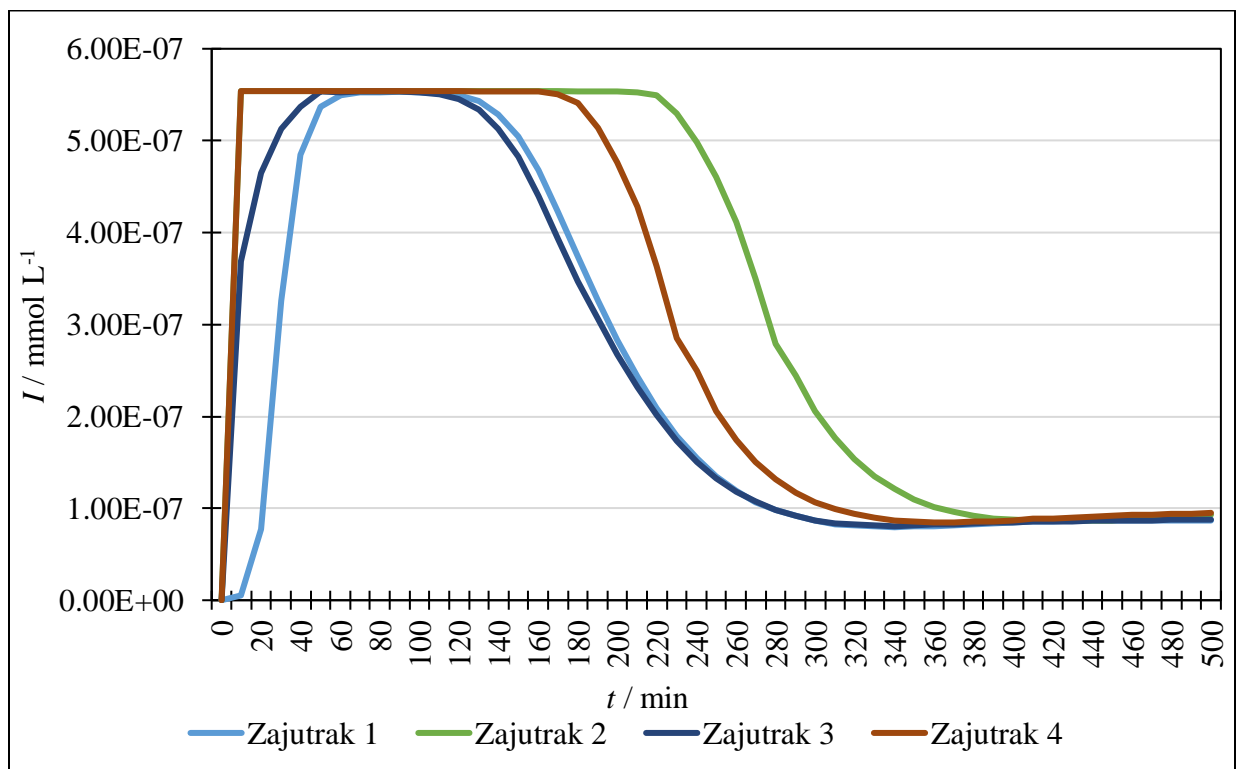


Slika 14. Promjene koncentraciji glukoze (G_B) u krvnoj plazmi za različite sastave večera ($G_{B,1} = 7,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 12,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 21,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 26,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 5,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 30,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 5,8 \text{ mmol L}^{-1}$)

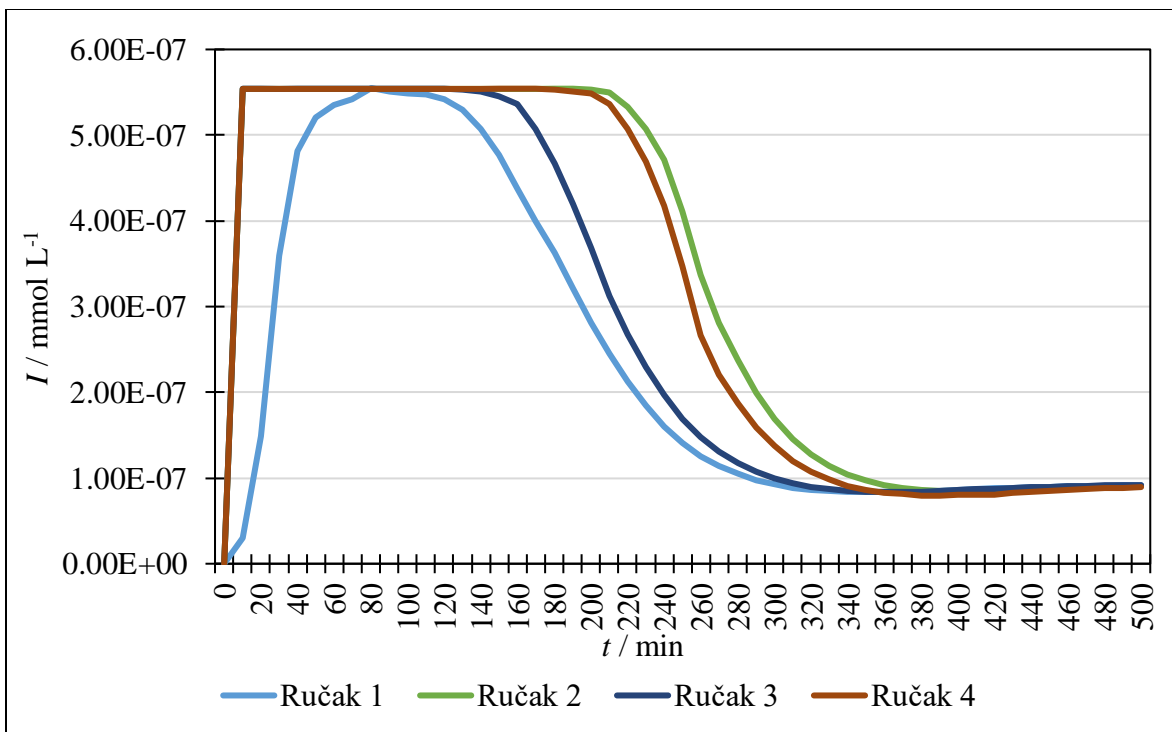
Prema Cruz i sur. (2001) nakon unosa hrane dolazi do porasta glukoze u krvi, s obzirom da se glukoza apsorbira u crijevima, odakle se krvlju širi do drugih perifernih tkiva. Koncentracija glukoze u krvi kod zdravih pojedinaca je između $4,9$ i $6,9 \text{ mmol L}^{-1}$ (Cruz i sur., 2001). Iz slika 11-14 se jasno vidi kako u početku dolazi do porasta glukoze u krvi ovisno o početnoj koncentraciji glukoze u pojedinom obroku. Do stabilizacije koncentracije dolazi oko 240. minute prema čemu se dobiveni rezultati slažu s eksperimentalnim podacima. Na slici 11 primijećeno je kako zajuttrak 2 koji je izrazito bogat ugljikohidratima tj. glukozom (tablica 7) dovodi do naglog porasta glukoze u krvi, a zatim i naglog pada. Isto se može primijetiti na slici 12 kod ručka 2 i ručka 4. S obzirom da su to obroci koji su izrazito bogati ugljikohidratima (prvenstveno glukozom), a mali udio čine masti.

Inzulin je hormon čije je djelovanje pod utjecajem glukoze. Nakon unosa hrane dolazi do lučenja inzulina iz β -stanica gušterače. Uloga inzulina jest raspodjela glukoze iz krvi u periferna tkiva (Campbell i Newgard, 2021). Krivulja izlučivanja inzulina ima karakteristična dva dijela: prvi dio koji je karakteriziran brzim porastom koncentracije inzulina i traje nekoliko minuta i drugi dio koji

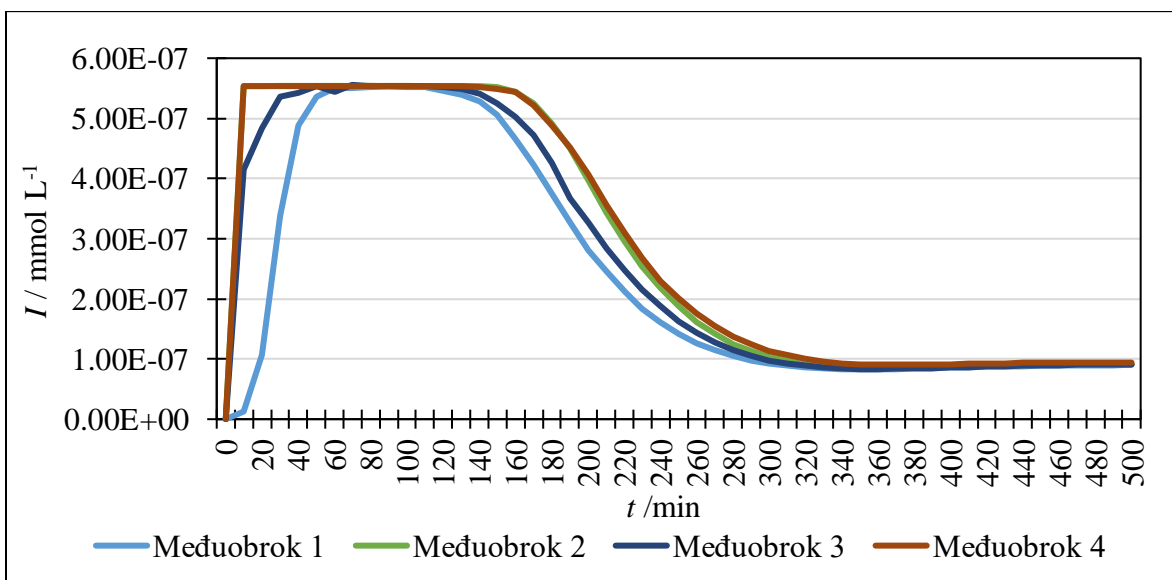
vremenski traje duže i dolazi do stabilizacije i laganog smanjenja koncentracije inzulina (Eliasson i sur., 2008). Takvu prirodu ponašanja inzulina može se primijetiti i na slikama 15-18. Neposredno nakon unosa hrane dolazi do velikog porasta koncentracije inzulina u krvi, zatim stabilizacija koncentracije i na kraju lagano smanjenje koncentracije. Na grafovima se također može primijetiti kako veća koncentracija glukoze u krvi izaziva i duže djelovanje inzulina prije nego što dođe do sniženja i stabilizacije koncentracije. Utjecaj triacilglicerola unesenih prehranom na lučenje inzulina proučavan je u istraživanju Bermudeza i sur. (2014). Prema istraživanju pozitivan utjecaj na inzulinsku osjetljivost imaju jednostruko nezasićene masne kiseline kao što je oleinska, a negativan utjecaj imaju zasićene masne kiseline kao što je palmitinska. Osim koncentracije triacilglicerola u pojedinom obroka važna je i vrsta masnih kiselina od kojih je sam triacilglicerol izgrađen.



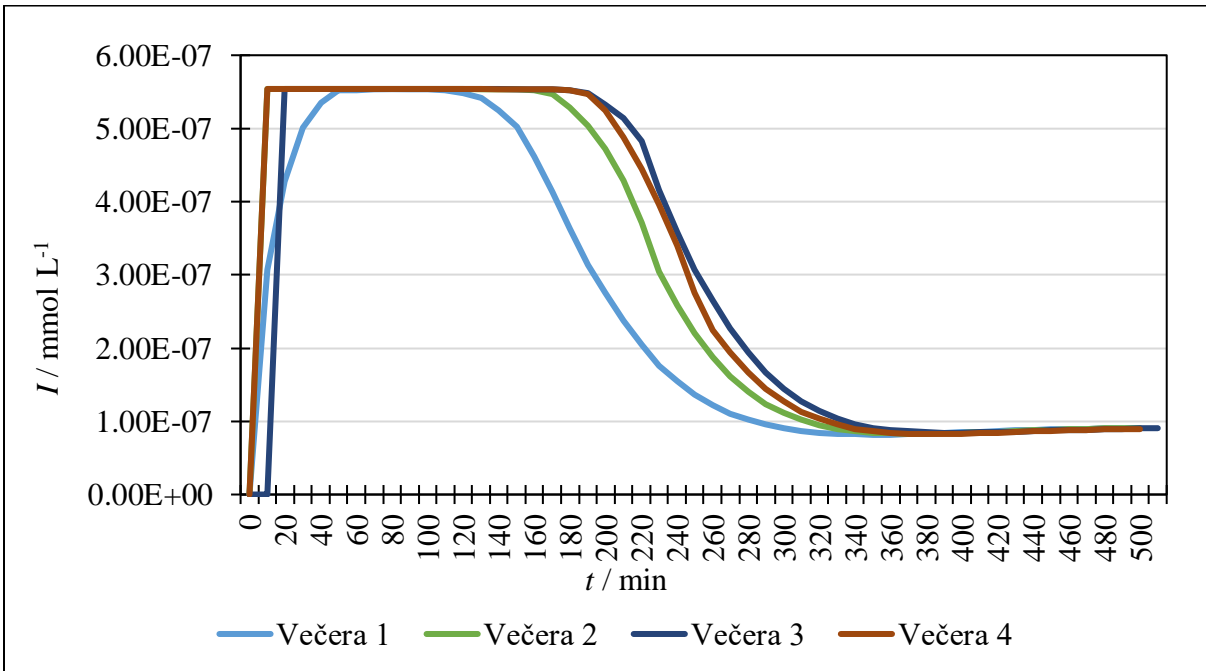
Slika 15. Promjene koncentracije inzulina (I) u krvnoj plazmi za različite sastave zajutraka ($G_{B,1} = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 23 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 44,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 16,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 23,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 4,7 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 16. Promjene koncentracije inzulina (I) u krvnoj plazmi za različite sastave ručaka ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 14,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 43,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 14,5 \text{ mmol L}^{-1}$)

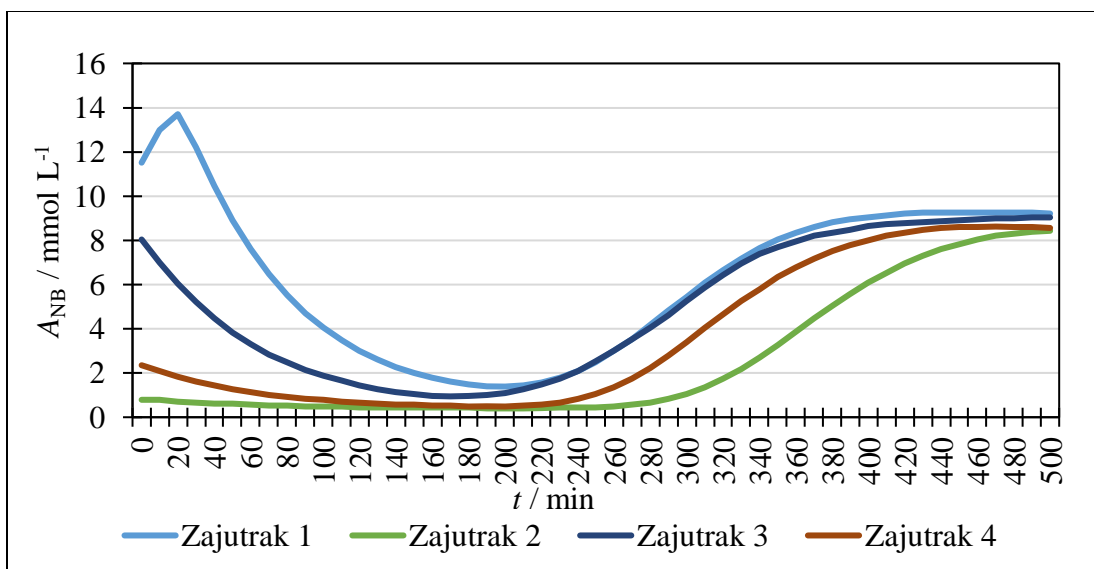


Slika 17. Promjene koncentracije inzulina (I) u krvnoj plazmi za različite sastave međuobroka ($G_{B,1} = 2,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 5,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 16,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 8,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 9,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 13,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$)

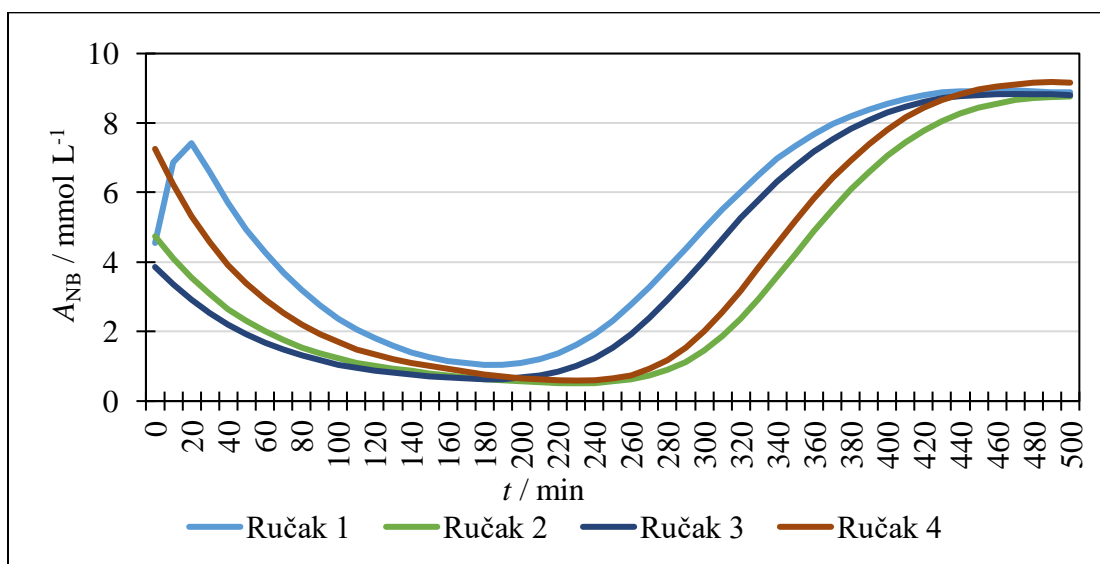


Slika 18. Promjene koncentracije inzulina (I) u krvnoj plazmi za različite sastave večera ($G_{B,1} = 7,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 12,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 21,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 26,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 5,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 30,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 5,8 \text{ mmol L}^{-1}$)

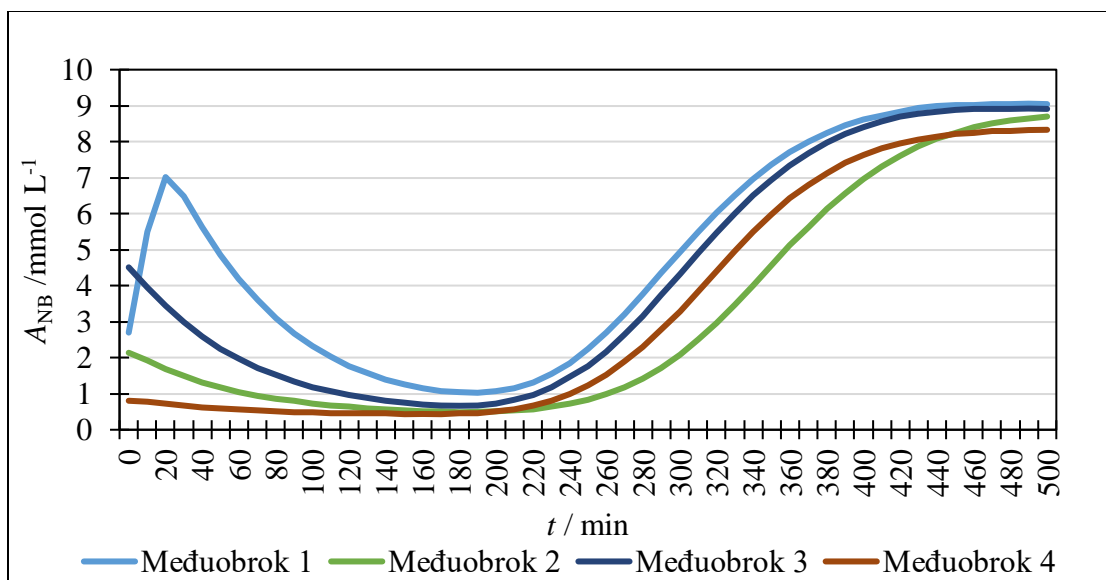
Sukladnost s eksperimentalnim podacima iz istraživanja Cruz i sur. (2001) potvrđena je i na primjeru neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}). U početku kao odgovor na unos hrane i djelovanje inzulina dolazi do smanjenja koncentracije A_{NB} . Inzulin inhibira djelovanje enzima lipaze koji je odgovoran za stvaranje A_{NB} (Iannello i sur., 2006). Na slikama 19-22 jasno se vidi kako nakon unosa hrane dolazi do pada u koncentraciji A_{NB} . Usporedbom slika 15-18 koje prikazuju promjene u koncentraciji inzulina i slika s promjenama koncentracije A_{NB} može se primijetiti navedena ovisnost koncentracije A_{NB} o koncentraciji inzulina. U vremenu gdje dolazi do pada koncentracije inzulina dolazi do ponovnog porasta koncentracije A_{NB} i obratno. Posebno je zanimljivo primijetiti kako na primjeru zajutarka 1, ručka 1 i međuobroka 1 na slikama 19, 20 i 21 vidi ovisnost A_{NB} o inzulinu. U prvih 20 minuta dok inzulin nije dosegao svoje maksimalne koncentracije dolazi do porasta u koncentraciji A_{NB} koja zatim opada, te se ponovno povećava nakon što vrijednosti koncentracije inzulina počnu opadati (slike 15, 16 i 17).



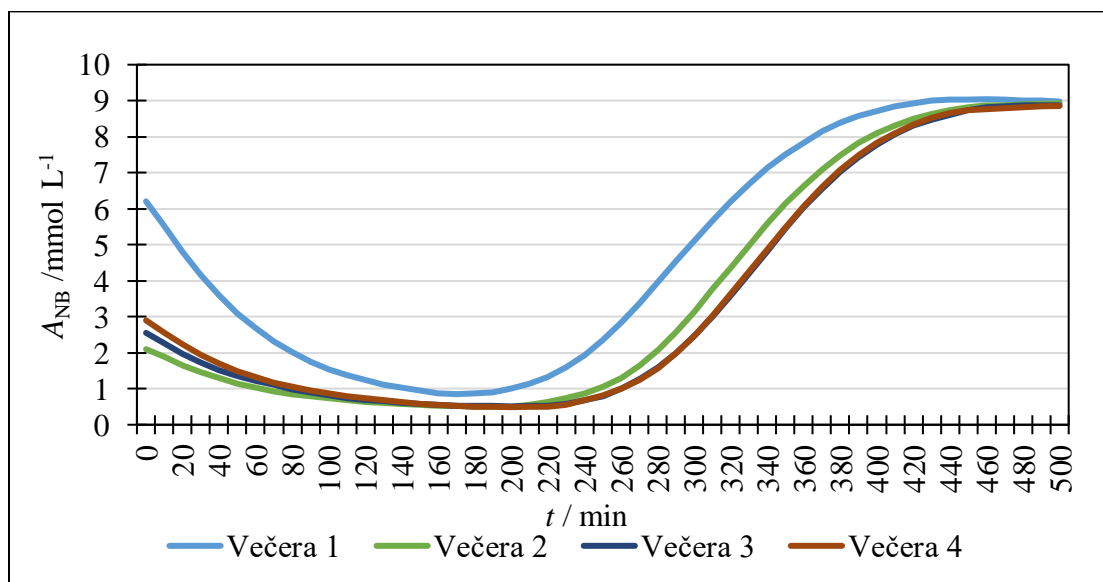
Slika 19. Promjene koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) u krvnoj plazmi za različite sastave zajutrnaka ($G_{B,1} = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 23 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 44,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 16,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 23,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 4,7 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 20. Promjene koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) u krvnoj plazmi za različite sastave ručaka ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 14,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 43,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 14,5 \text{ mmol L}^{-1}$)

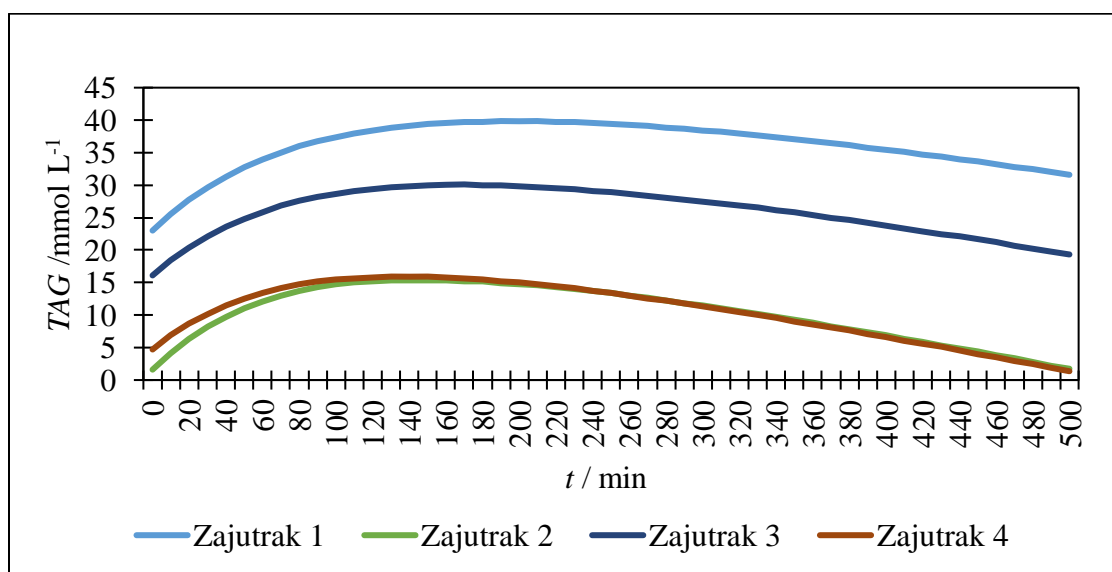


Slika 21. Promjene koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) u krvnoj plazmi za različite sastave međuobroka ($G_{B,1} = 2,3 \text{ L}^{-1}$, $TAG_1 = 5,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 16,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 8,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 9,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 13,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$)

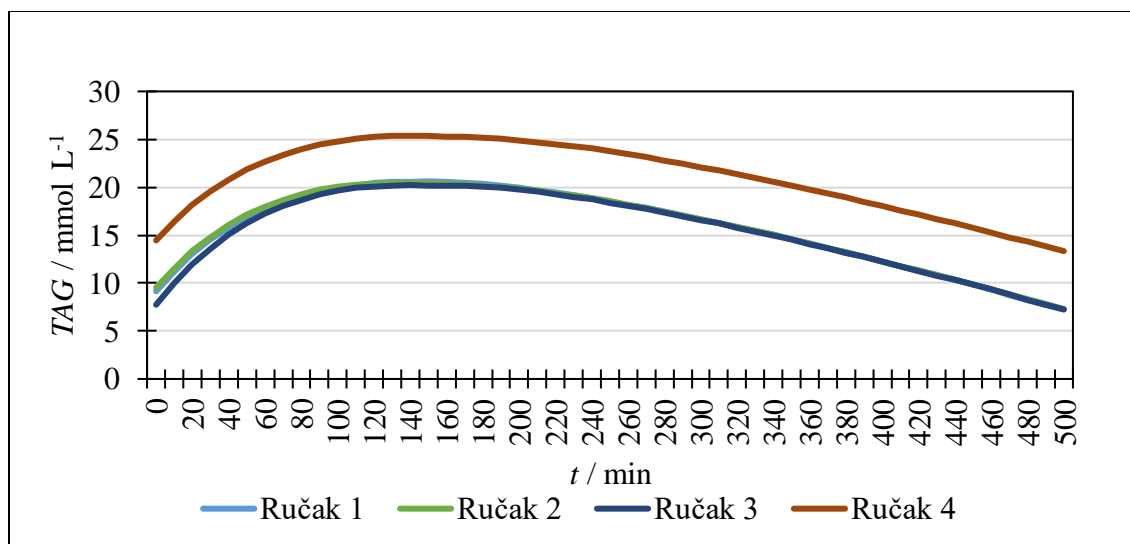


Slika 22. Promjene koncentracije neesterificiranih masnih kiselina (A_{NB}) u krvnoj plazmi za različite sastave večera ($G_{B,1} = 7,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 12,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 21,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 26,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 5,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 30,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 5,8 \text{ mmol L}^{-1}$)

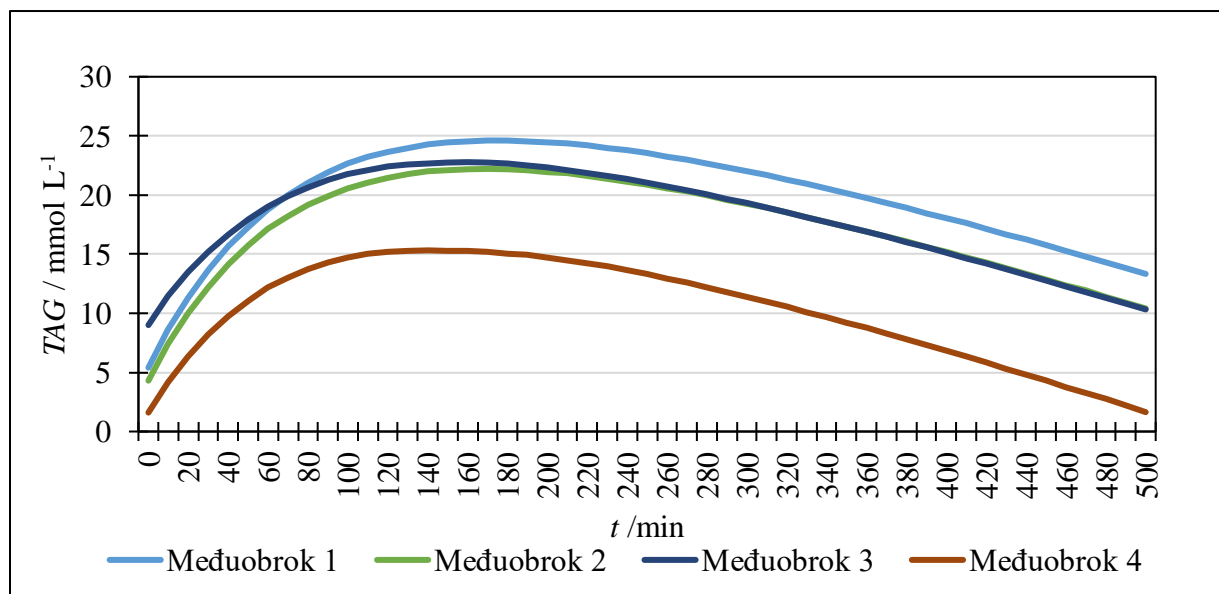
Najveći udio masti koji unosimo hranom odnosi se na triacilglicerole (*TAG*). Triacilgliceroli se moraju razgraditi do masnih kiselina kako bi postali dostupni za apsorpciju u crijevnom epitelu. Nakon toga dolazi do ponovne resinteze triacilglicerola u crijevnom epitelu koji se zatim ugrađuju u lipoproteinske čestice zvane hilomikroni. Zatim se hilomikroni otpuštaju u limfu pa u krv te prenose triacilglicerole do perifernih tkiva (Berg i sur., 2007). Na slikama 23-26 prikazano je ponašanje triacilglicerola u krvi tijekom 500 minuta nakon obroka. Ponašanje je u skladu s navedenim teorijskim činjenicama, prvo dolazi do blagog povećanja koncentracije triacilglicerola koja nakon nekog vremena počinje opadati i vraćati se na početnu vrijednost. Koncentracija triacilglicerola nakon obroka izravno je ovisna o količini unesenih masti (Sun i sur., 2016) što je vidljivo iz krivulja na slikama 23-26. Najveći skok u koncentraciji triacilglicerola izazivaju obroci s najvećim udjelom *TAG*. Što je veći udio triacilglicerola u obroku potrebno je duže vremena da se koncentracija vrati na početnu vrijednost.



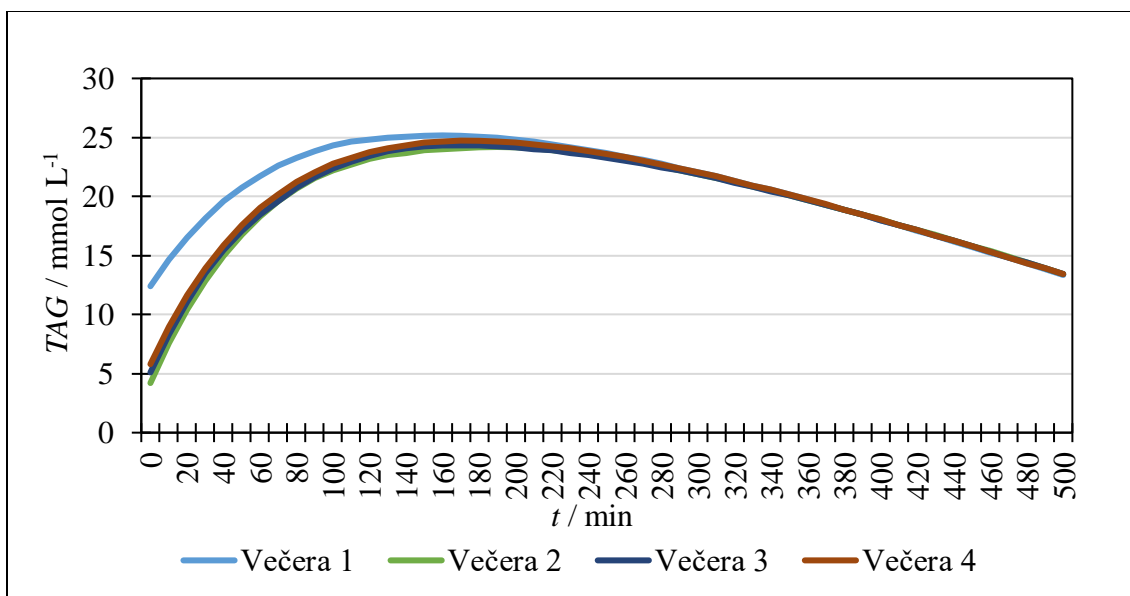
Slika 23. Promjene koncentracije triacilglicerola (*TAG*) u krvnoj plazmi za različite sastave zajutraka ($G_{B,1} = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 23 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 44,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 16,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 23,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 4,7 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 24. Promjene koncentracije triacilglicerola (TAG) u krvnoj plazmi za različite sastave ručaka ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 14,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 7,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 43,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 14,5 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 25. Promjene koncentracije triacilglicerola (TAG) u krvnoj plazmi za različite sastave međuobroka ($G_{B,1} = 2,3 \text{ L}^{-1}$, $TAG_1 = 5,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 16,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 8,3 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 9,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 13,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 1,6 \text{ mmol L}^{-1}$)



Slika 26. Promjene koncentracije triacilglicerola (TAG) u krvnoj plazmi za različite sastave večera ($G_{B,1} = 7,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_1 = 12,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,2} = 21,7 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_2 = 4,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,3} = 26,6 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_3 = 5,1 \text{ mmol L}^{-1}$, $G_{B,4} = 30,8 \text{ mmol L}^{-1}$, $TAG_4 = 5,8 \text{ mmol L}^{-1}$)

4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKJE OSJETLJIVOSTI

Matematički modeli omogućavaju integriranje informacija prikupljenih iz različitih izvora primjenom uobičajenih matematičkih metoda. Povećanjem dostupnosti broja informacija o metaboličkoj aktivnosti organizma primjenom naprednih molekularnih tehnika, povećava se i složenost predloženih matematičkih modela (Quang i sur., 2019). Matematički modeli bioloških sustava najčešće se izvode u obliku diferencijalnih jednadžbi koje opisuju promjene pojedine varijable tijekom vremena (Kent i sur., 2013). Kod razvoja modela bioloških sustava najveći izazov predstavlja izbor, odnosno procjena vrijednosti parametara modela (maksimalne brzine reakcija, konstante zasićenja i slično). Zbog još uvijek postojećih eksperimentalnih ograničenja, koji puta je nemoguće procijeniti stvarnu vrijednost pojedinog parametra modela, pa je točnost odabrane vrijednosti parametra modela često upitna. Taj problem se posebno odnosi na parametre koji opisuju kinetičke izraze enzimski kataliziranih reakcija. Naime procjena vrijednosti parametra kinetičkih modela enzimski kataliziranih reakcija obično se provodi na temelju podataka prikupljenih u pokusima *in vitro*, a često je u uvjetima *in vitro* nemoguće simulirati uvjete koji su *in vivo* (Wang i sur., 2018). Kako bi se ispitaio utjecaj promjene vrijednosti parametra modela na

izabrane izlazne varijable, primjenjuju se tehnike analize parametarske osjetljivosti. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti bazira se na malim promjenama vrijednosti pojedinog parametra dok su vrijednosti ostalih parametra konstante (Jurina i sur., 2015). S druge pak strane, analiza globalne parametarske osjetljivosti uključuje analizu utjecaja promjena vrijednosti svih parametra modela simultano (Jurinjak Tušek i sur., 2016).

U ovom radu provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti svih parametra modela na sve izlazne varijable modela za dvije početne koncentracije glukoze ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$ i $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$) i triacilglicerola ($TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$ i $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$). Kao početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola korištene su vrijednosti dobivene na temelju predloženog jelovnika za ručak i to za ručak prema smjernicama ketogene dijeta (tablica 6) i za ručak prema smjernicama za opću populaciju (tablica 7). Ispitivan je utjecaj povećanja i smanjenja vrijednosti pojedinog parametra za 3 % na izlazne vrijednosti varijabli modela. Rezultati su prikazani na slikama 27-30. Koeficijenti lokalne parametarske osjetljivosti su označeni bojama, pri čemu zelena boja označava pozitivan utjecaj promjene vrijednosti parametra na izlaznu varijablu, a crvena negativan utjecaj. Na temelju prikazanih rezultata može se uočiti da za obje početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola najveću osjetljivost na promjene vrijednosti parametara modela pokazuje koncentracija egzogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi (T_{CB}). Egzogeni triacilgliceroli se u krvnu plazmu unose putem prehrane. Uneseni triacilgliceroli iz crijevima se putem hilomikrona prenose u masno tkivo. Unos triacilglicerola u masno tkivo je moguće samo uz prethodnu hidrolizu pomoću enzima lipaze. Enzim lipaza aktivira lučenje inzulina koje se događa unosom hrane u organizam (Berg i sur., 2007). Za slučaj jelovnika po principima ketogene dijeta povećanje vrijednosti parametra modela za 3 % (slika 27) rezultira koeficijentima lokalne parametarske za T_{CB} u rasponu od $-3,80 \cdot 10^6 \%$ do $1,48 \cdot 10^7 \%$, dok smanjenje vrijednosti parametra modela za 3 % (slika 28) rezultira koeficijentima lokalne parametarske za T_{CB} u rasponu od $-7,50 \cdot 10^6 \%$ do $4,35 \cdot 10^7 \%$. Po apsolutnoj vrijednosti koncentracija egzogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi konzumacijom ručka po principu ketogene dijeta najosjetljivija je na povećanjem vrijednosti k_{10} te na smanjenje vrijednosti α_G . Konstanta k_{10} je konstanta zasićenja pri pretvorbi triacilglicerola u slobodne masne kiseline koja se odvija u jetri. α_G je parametar vezan uz brzinu ulaska glukoze u jetru. Nadalje može se uočiti da kod početnih vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola na temelju ručak prema

smjernicama ketogene dijete smanjenje vrijednosti svih parametra modela za 3 % ima negativan utjecaj na koncentraciju inzulina (I), glukoze u jetri (G_L), glukoze u mišićnom tkivu (G_M), triacilglicerola u mišićnom tkivu (T_M) i glukoze u krvnoj plazmi (G_B). S druge pak strane, zanimljivo je da pri istim početnim uvjetima smanjenje vrijednosti svih parametra modela za 3 % ima pozitivan utjecaj na koncentraciju inzulina, slobodnih masnih kiselina u jetri (A_L), glukoze-6-fosfata u mišićnom tkivu (P_M), piruvata u mišićnom tkivu (R_M), triacilglicerola u masnom tkivu (T_A), glukoze u masnom tkivu (G_A) i neesterificiranih masnih kiselina u krvnoj plazmi (A_{NB}).

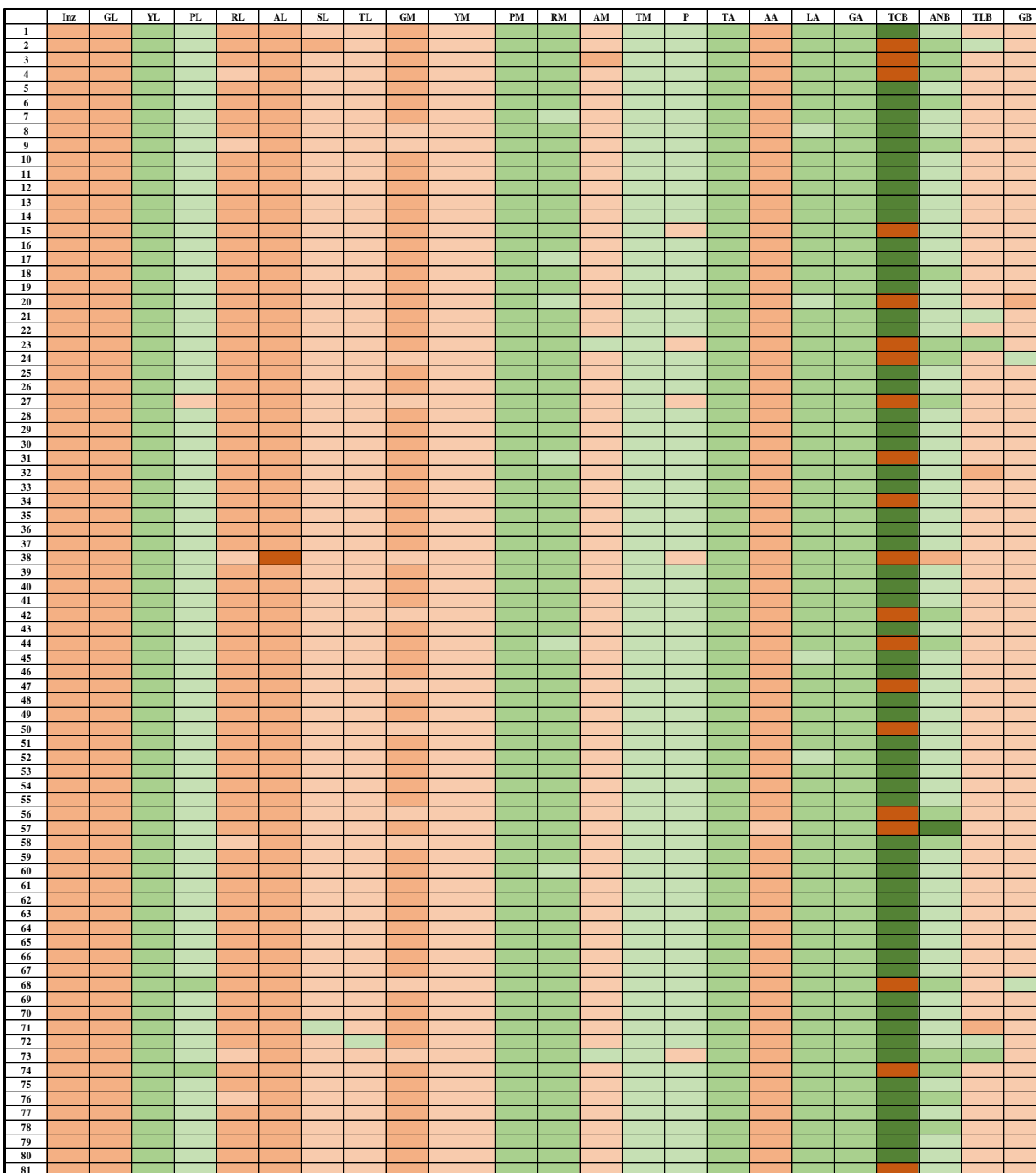
U uvjetima početnih koncentracije glukoze i triacilglicerola izračunatih na temelju jelovnika razvijenog za opću populaciju povećanje vrijednosti parametra modela za 3 % (slika 29) rezultira koeficijentima lokalne parametarske za T_{CB} u rasponu od $-7,87 \cdot 10^4$ % do $7,28 \cdot 10^4$ %, dok smanjenje vrijednosti parametra modela za 3 % (slika 30) rezultira koeficijentima lokalne parametarske za T_{CB} u rasponu od $-1,18 \cdot 10^5$ % do $4,35 \cdot 10^4$ %. Dobiveni rezultati pokazuju da su izlazne varijable modela osjetljivije na promjene vrijednosti parametra modela u slučaju početnih uvjeta dobivenih po principu ketogene dijete. Po apsolutnoj vrijednosti koncentracija egzogenih triacilglicerola u krvnoj plazmi konzumacijom ručka za opću populaciju najosjetljivija je na povećanje vrijednosti parametra k_{14} te na smanjenje vrijednosti parametra k_{ba} . Parametar k_{14} predstavlja bazalno lučenje *VLDL1* i ima utjecaj na otpuštanje triacilglicerola iz jetre, dok parametar k_{ba} predstavlja udio endogenih triacilglicerola koji odlazi iz krvne plazme u masno tkivo. Simulacije modela primjenom početnih vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola na temelju ručaka prema smjernicama za opću populaciju uočeno je da povećanje i smanjenje vrijednosti svih parametra modela za 3 % ima negativan utjecaj na koncentracije inzulina (I), glukoze u jetri (G_L), piruvata u jetri (R_L), slobodnih masnih kiselina u jetri (A_L), glukoze u mišićnom tkivu (G_M), glikogena u mišićnom tkivu (Y_M) i slobodnih masnih kiselina u masnom tkivu (A_A). Nadalje, pri istim početnim uvjetima povećanje i smanjenje vrijednosti svih parametra modela za 3 % ima pozitivan utjecaj na koncentracije glikogena u jetri (Y_L), glukoze-6-fosfata u mišićnom tkivu (P_M), piruvata u mišićnom tkivu (R_M), glicerola u masnom tkivu (L_A) i glukoze u masnom tkivu (G_A). Dobiveni rezultati upućuju na važnost izabranih vrijednosti kinetičkih parametra te potrebu za detaljnom analizom njihovog utjecaja na izlazne varijable modela pri različitim početnim uvjetima.

	Inz	GL	YL	PL	RL	AL	SL	TL	GM	YM	PM	RM	AM	TM	P	TA	AA	LA	GA	TCB	ANB	TLB	GB	
1																								
2																								
3																								
4																								
5																								
6																								
7																								
8																								
9																								
10																								
11																								
12																								
13																								
14																								
15																								
16																								
17																								
18																								
19																								
20																								
21																								
22																								
23																								
24																								
25																								
26																								
27																								
28																								
29																								
30																								
31																								
32																								
33																								
34																								
35																								
36																								
37																								
38																								
39																								
40																								
41																								
42																								
43																								
44																								
45																								
46																								
47																								
48																								
49																								
50																								
51																								
52																								
53																								
54																								
55																								
56																								
57																								
58																								
59																								
60																								
61																								
62																								
63																								
64																								
65																								
66																								
67																								
68																								
69																								
70																								
71																								
72																								
73																								
74																								
75																								
76																								
77																								
78																								
79																								
80																								
81																								

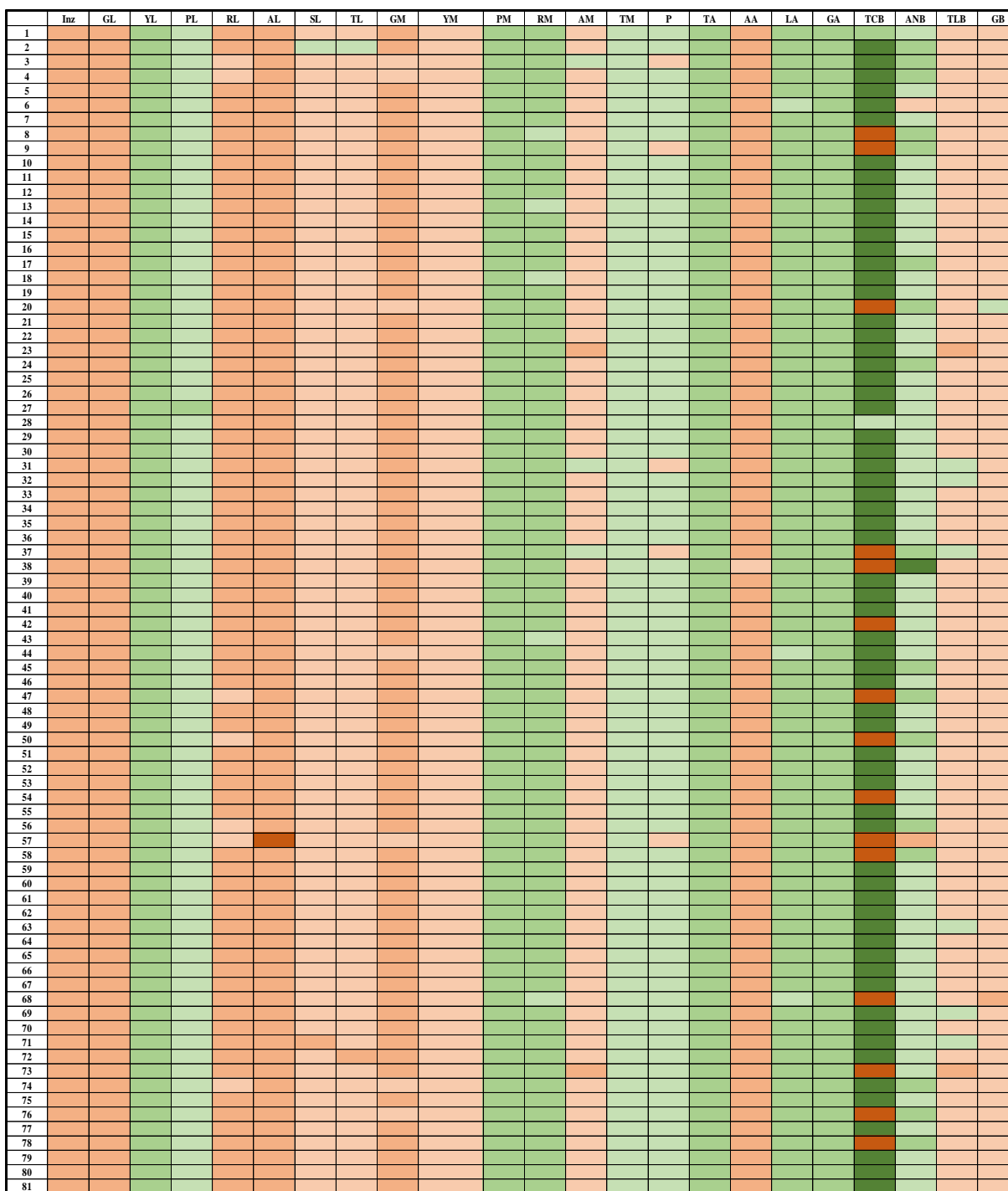
Slika 27. Koeficijenti lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma masti na povećanje vrijednosti parametra za 3 %. Početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola dobivene na temelju jelovnika prema smjernicama ketogene dijete za ručak (u redovima su prikazani kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama, a u stupcima varijable modela prema oznakama u tablici 5 u materijalima i metodama)

	Inz	GL	YL	PL	RL	AL	SL	TL	GM	YM	PM	RM	AM	TM	P	TA	AA	LA	GA	TCB	ANB	TLB
1																						
2																						
3																						
4																						
5																						
6																						
7																						
8																						
9																						
10																						
11																						
12																						
13																						
14																						
15																						
16																						
17																						
18																						
19																						
20																						
21																						
22																						
23																						
24																						
25																						
26																						
27																						
28																						
29																						
30																						
31																						
32																						
33																						
34																						
35																						
36																						
37																						
38																						
39																						
40																						
41																						
42																						
43																						
44																						
45																						
46																						
47																						
48																						
49																						
50																						
51																						
52																						
53																						
54																						
55																						
56																						
57																						
58																						
59																						
60																						
61																						
62																						
63																						
64																						
65																						
66																						
67																						
68																						
69																						
70																						
71																						
72																						
73																						
74																						
75																						
76																						
77																						
78																						
79																						
80																						
81																						

Slika 28. Koeficijenti lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma masti na smanjenja vrijednosti parametra za 3 %. Početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola dobivene na temelju jelovnika prema smjernicama ketogene dijeta za ručak (u redovima su prikazani kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama, a u stupcima varijable modela prema oznakama u tablici 5 u materijalima i metodama)



Slika 29. Koeficijenti lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma masti na povećanje vrijednosti parametra za 3 %. Početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola dobivene na temelju jelovnika prema smjernicama za opću populaciju za ručak (u redovima su prikazani kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama, a u stupcima varijable modela prema oznakama u tablici 5 u materijalima i metodama)



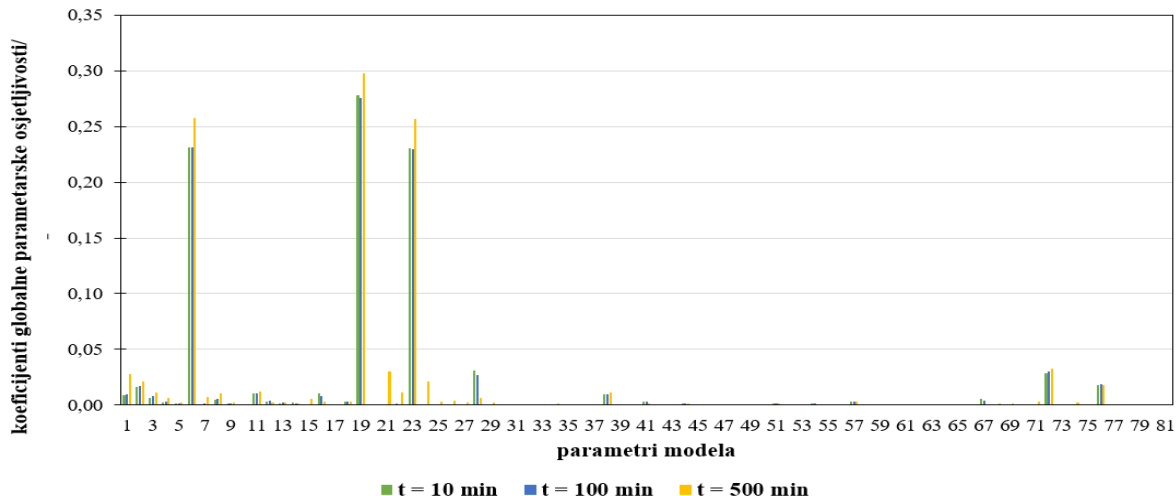
Slika 30. Koeficijenti lokalne parametarske osjetljivosti varijabli modela metabolizma masti na smanjenje vrijednosti parametra za 3 %. Početne vrijednosti koncentracije glukoze i triglicerida dobivene na temelju jelovnika prema smjernicama za opću populaciju za ručak (u redovima su prikazani kinetički parametri prema redosljedju danom u tablici 4 u materijalima i metodama, a u stupcima varijable modela prema oznakama u tablici 5 u materijalima i metodama)

4.5. ANALIZA GLOBALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI

Analiza globalne parametarske osjetljivosti provedena je Fourierovom analizom (Fourier Amplitude Sensitivity Test, FAST). FAST metoda pretpostavlja kako je svaki parametar u sklopu matematičkog modela statistički neovisan o drugim parametrima. Svaki parametar se varira pri različitim frekvencijama te se mjere izlazne amplitude (Xu i Gertner, 2011).

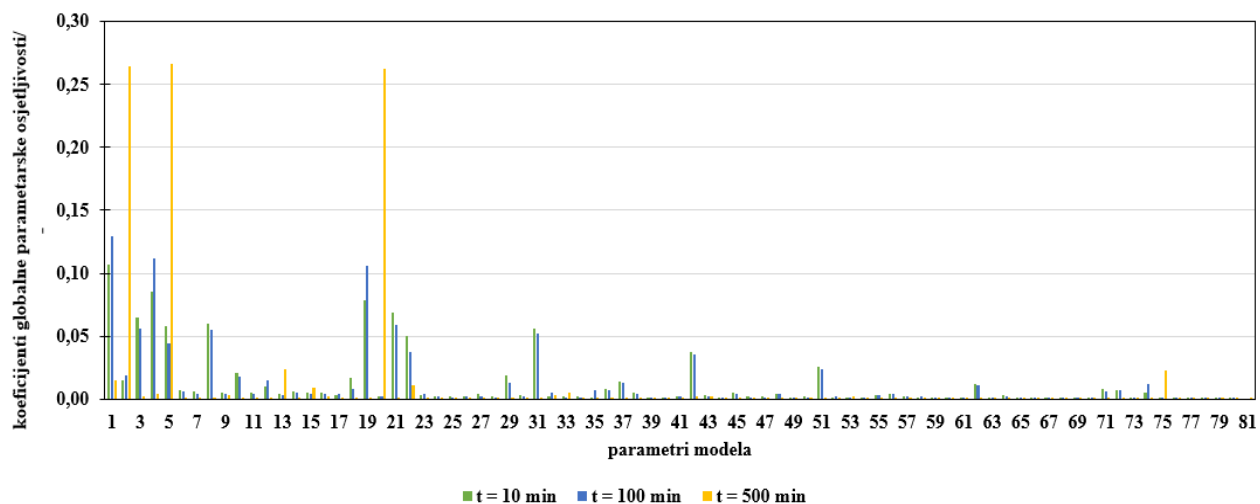
U ovom radu provedena je analiza globalne parametarske osjetljivosti modela za dvije početne koncentracije glukoze ($G_{B,1} = 3,2 \text{ mmol L}^{-1}$ i $G_{B,2} = 49,8 \text{ mmol L}^{-1}$ i triacilglicerola ($TAG_1 = 9,1 \text{ mmol L}^{-1}$ i $TAG_2 = 9,5 \text{ mmol L}^{-1}$). Kao početne vrijednosti koncentracije glukoze i triacilglicerola korištene su vrijednosti dobivene na temelju predloženog jelovnika za ručak i to za ručak prema smjernicama ketogene dijetae (tablica 6) i za ručak prema smjernicama za opću populaciju (tablica 7). Ova metoda omogućuje određivanje osjetljivosti na istovremene promjene parametara. Analiza globalne osjetljivosti napravljena je za koncentraciju inzulina, neesterificiranih masnih kiselina, triacilglicerola i glukoze u krvnoj plazmi tijekom vremena od 10, 100 i 500 minuta. Rezultati su prikazani na slikama 31-38.

Na slici 31 je prikazana je globalna osjetljivost inzulina prema jelovniku za ketogenu dijetu pri vremenu od 10, 100 i 500 minuta. Na slici se vidi kako kod inzulina pri vremenu od 10, 100 i 500 minuta su isti kinetički parametri najznačajniji, a to su β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre) i k_{14} (bazalno lučenje *VLDL*). Prilikom povećanja koncentracije inzulina u krvi dolazi do smanjenja lučenja neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva, smanjenja hidrolize triacilglicerola u jetri što posljedično ima učinak i na smanjenje lučenja *VLDL* čestica iz jetre (Tricò i sur., 2018).



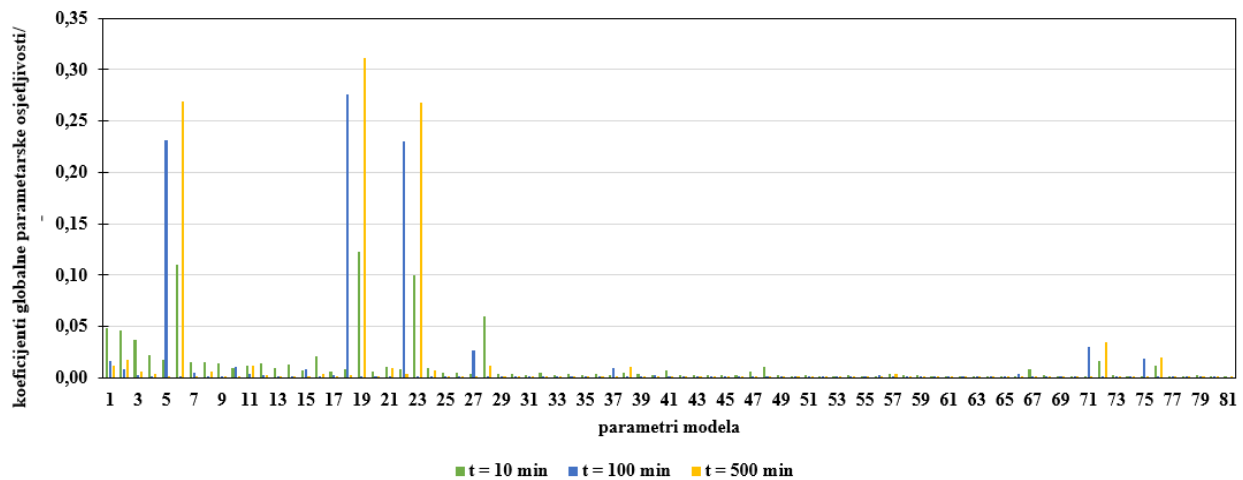
Slika 31. Globalna osjetljivost inzulina pri različitim vremenima (ketogene dijeta, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redosljedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Za neesterificirane masne kiseline prema jelovniku za ketogenu dijetu globalna osjetljivost je prikazana na slici 32. Pri vremenu od 10 i 100 minuta najznačajniji kinetički parametri su α_A (volumen masnog tkiva), β_G (brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru) i k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre). Za vrijeme od 500 minuta najznačajniji kinetički parametri su α_L (volumen krvi), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri) i k_{11} (bazalno lučenje inzulina).



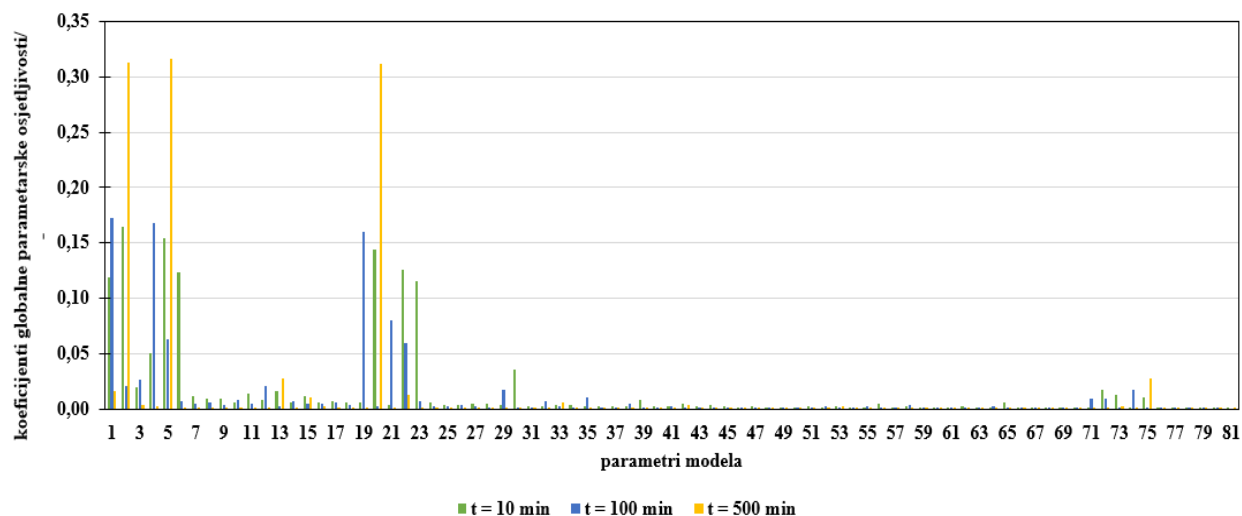
Slika 32. Globalna osjetljivost neesterficiranih masnih kiselina pri različitim vremenima (ketogena dijeta, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redosljedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Za glukozu u krvnoj plazmi prema jelovniku za ketogenu vrijedi slika 33. Kako se može primijetiti najznačajniji kinetički parametri pri 10 i 500 minuta su isti, dok se oni pri 100 minuta razlikuju. Za 10 i 500 minuta su: β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre) i k_{14} (bazalno lučenje *VLDL1*). Pri vremenu od 100 minuta najznačajniji su: d_{ba} (potrošnja glukoze u masnom tkivu), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri) i k_{13} (brzina pri kojoj inzulin stimulira udio sekrecije *VLDL1/VLDL2*).



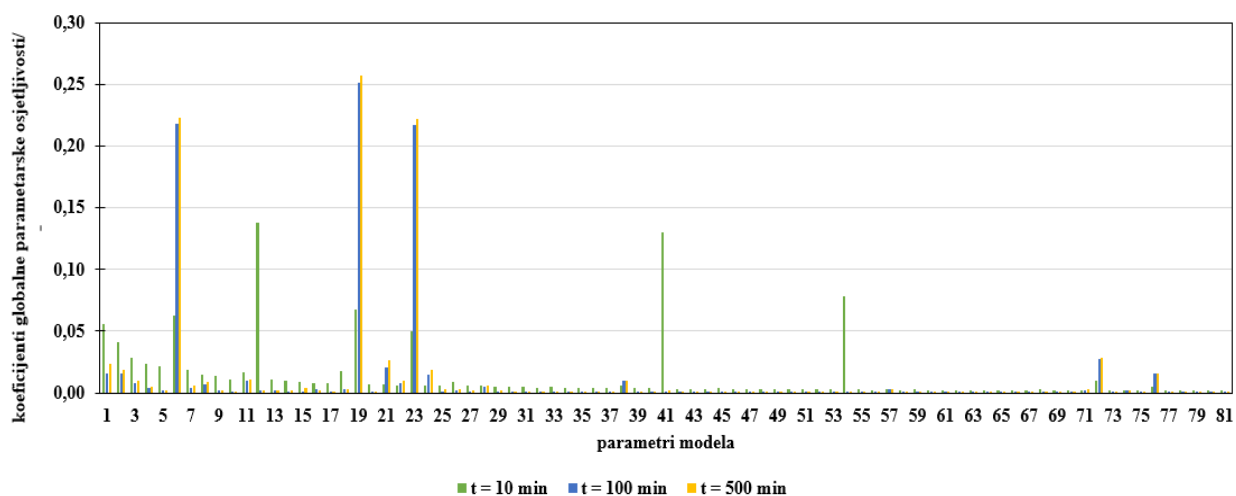
Slika 33. Globalna osjetljivost glukoze pri različitim vremenima (ketogena dijeta, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Na slici 34 prikazana je globalna osjetljivost triacilglicerola u krvi. Pri vremenu od 10 minuta najznačajniji kinetički parametri su α_A (volumen masnog tkiva), α_L (volumen jetre), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri), β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva), k_{11} (bazalno lučenje inzulina), k_{13} (brzina pri kojom inzulin stimulira udio sekrecije *VLDL1/VLDL2*) i k_{14} (bazalno lučenje *VLDL1*). Pri 100 minuta najznačajniji su: α_A (volumen masnog tkiva), β_G (brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre), k_{12} (povećano lučenje *VLDL1* djelovanjem inzulina) i k_{13} (brzina pri kojom inzulin stimulira udio sekrecije *VLDL1/VLDL2*). Najznačajniji kinetički parametri pri 500 minuta su α_L (volumen jetre), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri) i k_{11} (bazalno lučenje inzulina).



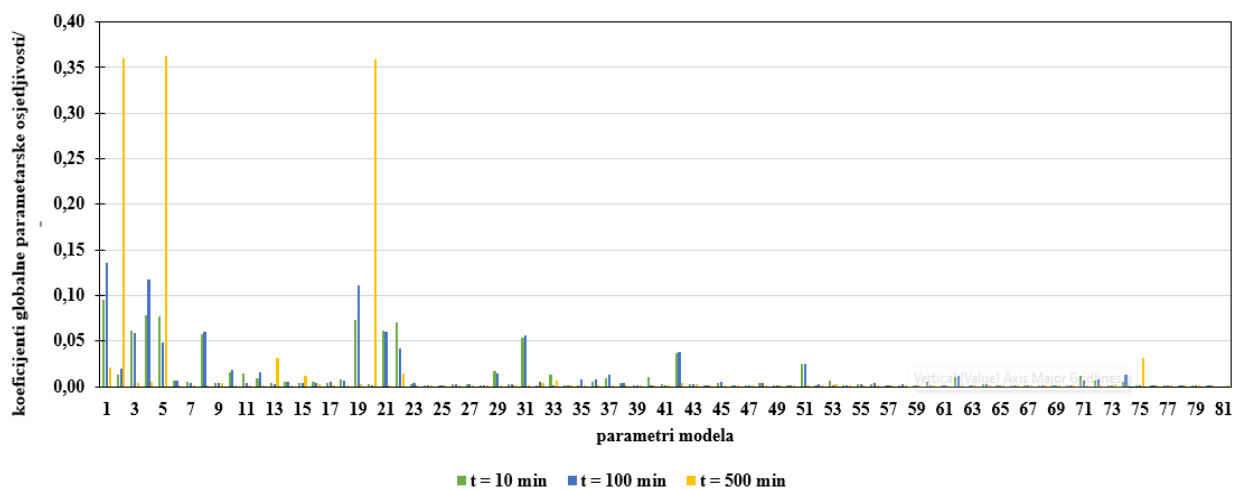
Slika 34. Globalna osjetljivost triacilglicerola pri različitim vremenima (ketogena dijeta, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redosljedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Globalna osjetljivost za koncentracije inzulina, neesterificiranih masnih kiselina, triacilglicerola i glukoze u krvnoj plazmi prema jelovniku za opću populaciju tijekom vremena od 10, 100 i 500 minuta prikazane su na slikama 35-38.



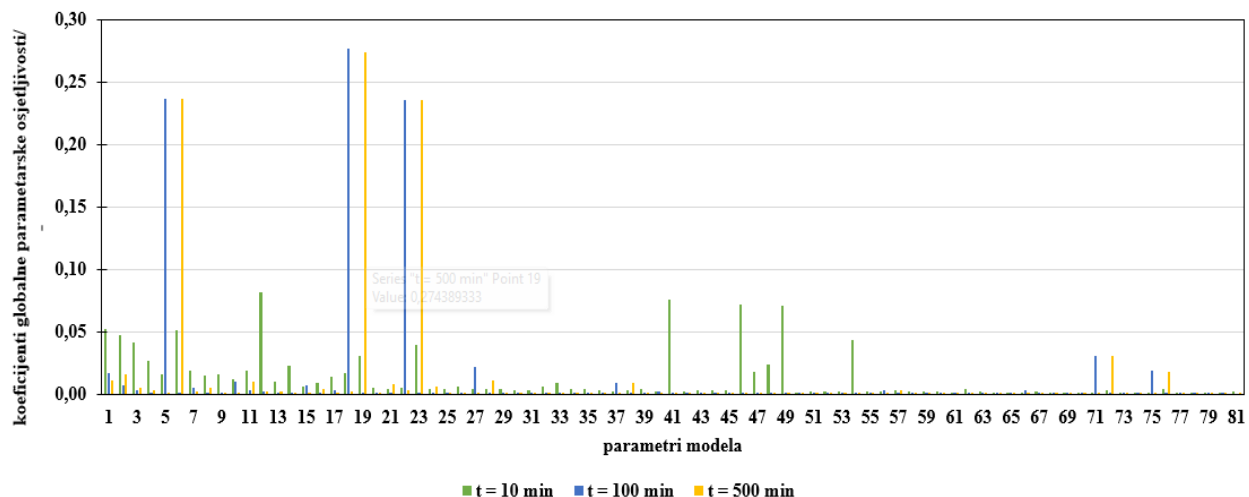
Slika 35. Globalna osjetljivost inzulina pri različitim vremenima (jelovnik za opću populaciju, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redosljedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Najznačajniji kinetički parametri za inzulin pri vremenu od 10 minuta su μ_s (esterifikacija masnih kiselina u mišićnom tkivu), k_{cm} (potrošnja egzogenih triacilglicerola u mišićnom tkivu) i k_{gp} (potrošnja glicerola iz masnog tkiva za stvaranje glukoza-6-fosfata u jetri). Za vrijeme od 100 i 500 minuta najznačajniji su: β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre) i k_{14} (bazalno lučenje *VLDLI*).



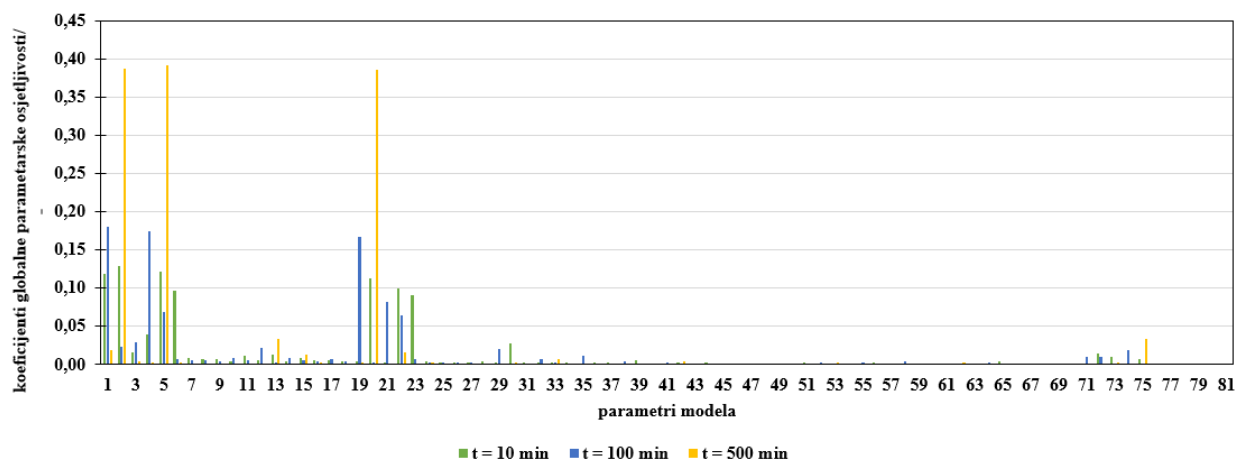
Slika 36. Globalna osjetljivost neesterificiranih masnih kiselina pri različitim vremenima (jelovnik za opću populaciju, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Na slici 36 prikazana je globalna osjetljivost za neesterificirane masne kiseline. Pri vremenu od 10 minuta najznačajniji kinetički parametri su: α_A (volumen masnog tkiva), β_G (brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre) i k_{13} (brzina pri kojoj inzulin stimulira udio sekrecije *VLDLI/VLDL2*). Za vrijeme od 100 minuta su: α_A (volumen masnog tkiva), β_G (brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru) i k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre), te vrijeme od 500 minuta su: k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri) i k_{11} (bazalno lučenje inzulina).



Slika 37. Globalna osjetljivost glukoze pri različitim vremenima (jelojnik za opću populaciju, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redosljedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Za globalnu osjetljivost koncentracije glukoze (slika 37) pri vremenu od 10 minuta najznačajniji kinetički parametri su: μ_s (esterifikacija masnih kiselina u mišićnom tkivu), k_{cm} (potrošnja egzogenih triacilglicerola u mišićnom tkivu), k_{ga} (GLUT4 prijenosnici) i k_{gl2} (prijenos glukoze iz krvne plazme u jetru). Za vrijeme od 100 minuta su: β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri), d_{ba} (Potrošnja glukoze u masnom tkivu) i k_{13} (brzina pri kojem inzulin stimulira udio sekrecije *VLDL1/VLDL2*), a za vrijeme od 500 minuta: β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva), k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre), k_{14} (bazalno lučenje *VLDL1*).



Slika 38. Globalna osjetljivost triacilglicerola pri različitim vremenima (jelovnik za opću populaciju, ručak) (na x osi se nalaze kinetički parametri prema redoslijedu danom u tablici 4 u materijalima i metodama)

Na slici 38 prikazana je globalna osjetljivost za triacilglicerole. Za vrijeme od 10 minuta najznačajniji kinetički parametri su: α_A (volumen masnog tkiva), α_L (volumen jetre), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri), β_f (otpuštanje neesterificiranih masnih kiselina iz masnog tkiva) i k_{11} (bazalno lučenje inzulina). Pri 100 minuta kao najznačajniji parametri javljaju se: α_A (volumen masnog tkiva), β_G (brzina transporta glukoze unesene hranom u jetru) i k_{10} (afinitet hidrolize triacilglicerola za sekreciju iz jetre), dok pri 500 minuta su: α_L (volumen jetre), β_6 (stvaranje masnih kiselina iz ugljikohidrata u jetri) i k_{11} (bazalno lučenje inzulina).

5. ZAKLJUČCI

Nakon provedene simulacije metabolizma masti i analize dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- 1) Simulacija metabolizma masti u računalnom programu *CellDesigner* je uspješna, dobiveno ponašanje ispitivanih metabolita u krvnoj plazmi (inzulina, glukoze, neesterificiranih masnih kiselina i triacilglicerola) je u skladu s dosadašnjim eksperimentalnim podacima.
- 2) U modelu, radi što većeg pojednostavljenja, isključena je uloga drugih nutrijenata poput proteina koja nije zanemariva pa se to može smatrati jednim od nedostatak modela.
- 3) Uočena je vrlo važna uloga hormona inzulin, ne samo za metabolizam i dostupnost ugljikohidrata u organizmu, nego i za sam metabolizam masti koji se najbolje primjećuje na primjeru neesterificiranih masnih kiselina.
- 4) Lokalnom analizom osjetljivosti utvrđeno je da značajnu ulogu u metabolizmu masti imaju egzogeni triacilgliceroli koji su pokazali najveću osjetljivost na promjenu parametara modela neovisno o sastavu obroka tj. vrsti jelovnika (ketogena dijeta ili jelovnik prema smjernica za opću populaciju).
- 5) Veći udio ugljikohidrata u obroku utječe na smanjenje lokalne osjetljivost egzogenih triacilglicerola na promjene kinetičkih parametara modela, dakle za metabolizam masti važnu ulogu imaju i ugljikohidrati.
- 6) Provedbom analize globalne osjetljivosti također je ustanovljen utjecaj ugljikohidrata na metabolizam masti gdje se javljaju različite varijacije u broju i vrsti parametara modela sa značajnom vrijednošću globalne osjetljivosti ovisno o vrsti jelovnika. Primjeri su triacilglicerola gdje značajno veći broj parametara modela pokazuje velike vrijednosti globalne osjetljivosti kod ketogene dijete, nego kod jelovnik prema smjernicama za opću populaciju.

6. LITERATURA

- Bender D (2014) Introduction to Nutrition and Metabolism, 5.izd., CRC Press, Boca Raton.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2007) Biochemistry, 6. izd., W. H. Freeman, New York, str. 617-632.
- Bermudez B, Ortega-Gomez A, Varela LM, Villar J, Abia R, Muriana FJG, Lopez S (2014) Clustering effects on postprandial insulin secretion and sensitivity in response to meals with different fatty acid compositions. *Food Funct* **5**, 1374-1380. <https://doi.org/10.1039/c4fo00067f>.
- Burn J, Watson M (2016) The human variome project. *Hum Mutat* **37**, 505-507. <https://doi.org/10.1002/humu.22986>.
- Campbell JE, Newgard CB (2021) Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion. *Nat Rev Mol Cell Biol* **22**, 142–158. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00317-7>.
- Crosetto M, Tarantola S, Saltelli A (2000) Sensitivity and Uncertainty Analysis in Spatial Modelling Based on GIS. *Agric Ecosyst Environ* **81**, 71-79. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(00\)00169-9](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(00)00169-9).
- Cruz ML, Evans K, Frayn KN (2001) Postprandial lipid metabolism and insulin sensitivity in young Northern Europeans, South Asians and Latin Americans in the UK. *Atherosclerosis* **159**, 441–449. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(01\)00523-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00523-8).
- Ederer M, Gilles ED (2007) Thermodynamically Feasible Kinetic Models of Reaction Networks. *Biophys J* **92**, 1846–1857. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.094094>.
- EFSA (2010a) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. EFSA – European Food Safety Authority, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2010.1461>. Pristupljeno 20. veljače 2022.
- EFSA (2010b) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. EFSA – European Food Safety Authority, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2010.1462>. Pristupljeno 20. veljače 2022.

- Eliasson L, Abdulkader F, Braun M, Galvanovskis J, Hoppa MB, Rorsman P (2008) Novel aspects of the molecular mechanisms controlling insulin secretion. *J Physiol* **586**, 3313-3324. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155317>.
- 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, Morohashi M, Kitano H, Tanimura N (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).
- Heer M, Egert S (2015) Nutrients other than carbohydrates: their effects on glucose homeostasis in humans. *Diabetes Metab Res Rev* **31**, 13-35. <https://doi.org/10.1002/dmrr.253>.
- Hood L, Heath JR, Phelps ME, Lin B (2004) Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine. *Science* **306**, 640–643. <https://doi.org/10.1126/science.1104635>.
- Iannello S, Milazzo P, Belfiore F (2006) Animal and human tissue Na,K-ATPase in normal and insulin-resistant states: regulation, behaviour and interpretative hypothesis on NEFA effects. *Obes Rev* **8**, 231–251. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2006.00276.x>.
- Jolicoeur M (2014) Modeling cell behavior: Moving beyond intuition. *AIMS Bioeng* **1**, 1–12. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2014.1.1>.
- Jurina T, Jurinjak Tušek A, Čurlin M (2015) Local sensitivity analysis and metabolic control analysis of the biological part of the BTEX bioremediation model. *Biotechnol Bioproc Eng* **20**, 1071-1087. <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0049-5>.
- Jurinjak Tušek A, Jurina T, Čurlin M (2016) Global sensitivity analysis of the biological part of the integrated BTEX bioremediation model. *Environ Eng Sci* **33**, 404-422. <https://doi.org/10.1089/ees.2015.0325>
- Kent E, Neumann S, Kummer U, Mendes P (2013) What can we learn from global sensitivity analysis of biochemical systems? *Plos One* **8**, 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079244>.

- Kitano H (2002) System biology: a brief overview. *Science* **295**, 1662-1664. <https://doi.org/10.1126/science.1069492>
- Large V, Peroni O, Letexier D, Ray H, Beylot M (2004) Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes Metab* **30**, 294–309. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(07\)70121-0](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(07)70121-0).
- Lowe R, Shirley N, Bleackley M, Dolan S, Shafee T (2017) Transcriptomics technologies. *PLoS Comput Biol* **13**, e1005457. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457>.
- Manzoni C, Kia DA, Vandrovцова J (2018) Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences. *Briefings Bioinf* **19**, 286-302. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw114>.
- 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>.
- Matsuoka Y, Funahashi A, Ghosh S, Kitano H (2014) Modeling and Simulation Using CellDesigner. *Method Mol Cell Biol* **1164**, 45-121. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9_11.
- Mc Auloy MT (2020) System biology and nutrition. U: Marriott B, Birt D, Stalling V, Yates A (ured.) Present Knowledge in Nutrition, 11. izd., Academic Press, Cambridge, str. 593-604.
- Moore JB, Weeks ME (2011) Proteomics and systems biology: current and future applications in the nutritional sciences. *Adv Nutr* **2**, 355–364. <https://doi.org/10.3945/an.111.000554>.
- Morgan A, Mooney K, Mc Auley M (2016) Obesity and the dysregulation of fatty acid metabolism: implications for healthy aging. *Expert Rev Endocrinol Metab* **11**, 501-510. <https://doi.org/10.1080/17446651.2016.1245141>.
- Nelson DL, Cox MM (2004a) Principles of Biochemistry, 4. izd., W. H. Freeman, New York, str. 631-656.
- Nelson DL, Cox MM (2004b) Principles of Biochemistry, 4. izd., W. H. Freeman, New York, str. 788-800.
- Nijhout HF, Best JA, Reed MC (2015) Using mathematical models to understand metabolism, genes, and disease. *BMC Biol* **13**. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0189-2>.

- 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>.
- Phinney SD (2004) Ketogenic diets and physical performance. *Nutr Metab* **1**. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-1-2>.
- Pratt AC, Wattis JA, Salter AM (2015) Mathematical modelling of hepatic lipid metabolism. *Math Biosci* **262**, 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2014.12.012>.
- 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>.
- Quang MN, Rogers T, Hofman J, Lanham AB (2019) Global sensitivity analysis of metabolic models for phosphorus accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal. *Front Bioeng Biotechnol* **7**, 234. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00234>.
- Schauer M, Heinrich R (1983) Quasi-steady-state approximation in the mathematical modeling of biochemical reaction networks. *Math Biosci* **65**, 155–170. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(83\)90058-5](https://doi.org/10.1016/0025-5564(83)90058-5).
- Smallbone K, Simeonidis E, Broomhead DS, Kell DB (2007) Something from nothing: Bridging the gap between constraint-based and kinetic modelling. *FEBS J* **274**, 5576–5585. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06076.x>.
- Strutz J, Martin J, Greene J, Broadbelt L, Tyo K (2019) Metabolic kinetic modeling provides insight into complex biological questions, but hurdles remain. *Curr Opin Biotechnol* **59**, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.005>.
- Sun L, Tan KWJ, Lim JZ, Magkos F, Henry CJ (2016) Dietary fat and carbohydrate quality have independent effects on postprandial glucose and lipid responses. *Eur J Nutr* **57**, 243-250. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1313-y>.
- 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>.

- Tricò D, Natali A, Mari A, Ferrannini E, Santoro N, Caprio S (2018) Triglyceride-rich very low-density lipoproteins (VLDL) are independently associated with insulin secretion in a multiethnic cohort of adolescents. *Diabetes Obes Metab* **20**, 2905-2910. <https://doi.org/10.1111/dom.13467>.
- 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 Z, Sheikh H, Lee K, Georgakis C (2018) Sequential parameter estimation for mammalian cell model based on *in silico* design of experiments. *Processes* **6**, 100. <https://doi.org/10.3390/pr6080100>.
- Wolfram S (2003) The Mathematica Book, 5. izd., Wolfram Media, Champaign.
- Xu C, Gertner G (2011) Understanding and comparisons of different sampling approaches for the Fourier Amplitudes Sensitivity Test (FAST). *Comput Stat Data Anal* **55**, 184-198. <https://doi.org/10.1016/j.csda.2010.06.028>
- Yasemi M, Jolicoeur M (2021) Modelling cell metabolism: A review on constraint-based steady-state and kinetic approaches. *Processes* **9**, 2-38. <https://doi.org/10.3390/pr9020322>.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Martina Kosić 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