

Analiza matematičkog modela regulacije metabolizma glukoze

Gošev, Dora

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:793012>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-05**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

Dora Gošev

**ANALIZA MATEMATIČKOG
MODELA REGULACIJE
METABOLIZMA GLUKOZE**

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 njenom znanju koje je nesebično dijelila, pruženoj pomoći te velikoj dozi razumijevanja, zbog čega je izrada ovog diplomskog rada prošla glatko.

Posebno se zahvaljujem mojim roditeljima koji su uvijek bili uz mene kroz sve godine mog školovanja na njihovoj strpljivosti, ogromnoj podršci, ljubavi i svakoj lijepoj riječi.

Također bih se volila zahvaliti svojoj sestri Tiji koja je uvijek bila tu za sva moja pitanja, puna savjeta i što je bila uporna u uvjerenju da referenci nikada dosta te sestri Maši koja je uvijek bila tu da svojom simpatičnosti i jednostavnošću olakša teške dane.

Na kraju, hvala mom Maćiju koji je u svakom trenu bio kraj mene, slavio sa mnom sve uspjehe, tješio me kod poraza, koji je uvijek znao što treba reći te mi pružao sigurnost i vjetar u leđa kroz moje školovanje i život.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

ANALIZA MATEMATIČKOG MODELA REGULACIJE METABOLIZMA GLUKOZE

Dora Gošev, univ. bacc. nutr. 0177050059

Sažetak: U ovom radu provedena je računalna analiza modela metabolizma glukoze primjenom programskog paketa *CellDesigner*. Provedene su simulacije modela s različitim početnim koncentracijama glukoze i inzulina, koje su ovisile o konzumiranom obroku. U tu svrhu osmišljena su 3 jelovnika: jelovnik za dijabetičare, jelovnik s malim udjelom ugljikohidrata i jelovnik za opću populaciju. Rezultati pokazuju najveće skokove, kao i padove, kod obroka koji su bogati glukozom, dok su obroci iz jelovnika za dijabetičare imali postupan pad do bazalne vrijednosti glukoze. Također je provedena analiza lokalne parametarske osjetljivosti kako bi se identificirali najosjetljiviji metaboliti modela. Rezultati ističu važnost inzulina u regulaciji glukoze i održavanju vrijednosti glukoze u krvi unutar referentnih vrijednosti. Korišteni model uspješno simulira metabolizam glukoze za odabrani raspon početnih vrijednosti.

Ključne riječi: *metabolizam glukoze, matematički model, analiza lokalne osjetljivosti, CellDesigner*

Rad sadrži: 52 stranice, 23 slike, 6 tablica, 82 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
2. doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek
3. izv. prof. dr. sc. Maja Benković
4. doc. dr. sc. Ivana Rumora Samarin

Datum obrane: 16. rujna 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Proces Engineering
Laboratory for Measurement, Regulation and Automatisatation

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

ANALYSIS OF A MATHEMATICAL MODEL OF GLUCOSE METABOLISM REGULATION

Dora Gošev, univ. bacc. nutr. 0177050059

Abstract: Computer analysis of the glucose metabolism model was performed using the *CellDesigner* software package. Simulations of the models were conducted, each of them having different glucose and insulin values, depending on a consumed meal. For that purpose, three different menus were made: a menu for diabetics, a menu containing low amounts of carbohydrates and a menu for general population. Results show the biggest jumps, as well as drops, for meals that are high in glucose, while meals made for diabetics show a gradual decline to basal glucose values. Analysis of local parameter sensibility was also conducted to identify the most sensitive metabolite. The results of simulations indicate the importance of hormone insulin in glucose regulation and maintaining blood glucose values in a healthy range. Model that was used successfully simulates glucose metabolism for selected range of initial values.

Keywords: *glucose metabolism, mathematical model, local sensitivity analysis, CellDesigner*

Thesis contains: 52 pages, 23 figures, 6 tables, 82 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: PhD. Ana Jurinjak Tušek, Assistant professor

Reviewers:

1. PhD. Jasenka Gajdoš Kljusurić, Full professor
2. PhD. Ana Jurinjak Tušek, Assistant professor
3. PhD. Maja Benković, Associate professor
4. PhD. Ivana Rumora Samarin, Assistant professor

Thesis defended: September 16th, 2022

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU.....	2
2.1.1. Podjela omics – a.....	2
2.2. PREHRANA I ZDRAVLJE.....	5
2.3. GLUKOZA.....	6
2.3.1. Hiperglikemija.....	7
2.3.2. Hipoglikemija.....	8
2.4. INZULIN.....	9
2.4.1. Otkriće inzulina.....	9
2.4.2. Struktura inzulina.....	9
2.4.3. Sinteza inzulina.....	10
2.4.4. Djelovanje inzulina.....	11
2.5. GLUKAGON.....	12
2.5.1. Struktura glukagona.....	12
2.5.2. Izlučivanje glukagona.....	12
2.5.3. Uloga glukagona.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. MATERIJALI	14
3.1.1. <i>CellDesigner</i>	14
3.1.2. Model metabolizma glukoze	17
3.1.3. Smjernice za planiranje jelovnika.....	18
3.2. METODE	20
3.2.1. Razvoj i simulacija modela metabolizma glukoze	20
3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti	20
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA GLUKOZE IZRAĐEN U PROGRAMSKOM PAKETU <i>CELLDESIGNER</i>	22
4.2. PRIKAZ RAZVIJENIH JELOVNIKA.....	23
4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA GLUKOZE U RAČUNALNOM PROGRAMU <i>CELLDESIGNER</i>	29
4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI	39
5. ZAKLJUČAK	44
6. LITERATURA.....	45

1. UVOD

Hrana koju čovjek unosi može se podijeliti u 3 velike skupine makronutrijenata: ugljikohidrate, proteine i masti. Ugljikohidrati čine veliki dio prehrane te imaju razne uloge u tijelu. Glavna uloga ugljikohidrata je osigurati energiju potrebnu za cijelo tijelo, a ostale su pohrana energije, izgradnja makromolekula poput ATP-a i RNA, očuvanje proteina, jer prilikom dovoljnog unosa ugljikohidrata tijelo ne mora koristiti proteine za energiju te se unosom vlakana, koji su dio ugljikohidrata, održava zdravlje probavnog sustava.

Metabolizam je zajednički naziv za sve biokemijske reakcije u organizmu. Ti procesi održavaju organizam na životu. S obzirom na kompleksnost tih reakcija, matematički modeli sve više pronalaze svoju primjenu u znanosti, uključujući i u nutricionizmu. Putem matematičkih modela moguće je prikazati biokemijske veze i reakcije te pratiti promjene ovisno o određenim uvjetima u zadanom vremenskom periodu. Rezultati dobiveni na ovaj način uspoređuju se s već postojećim eksperimentalnim podacima nakon čega se potvrđuju ili opovrgavaju zadane hipoteze te stvaraju nove koje pomažu u razumijevanju tih složenih procesa.

Glukoza se u tijelu metabolizira, a njen put ovisi o koncentraciji glukoze u krvi. Ukoliko je koncentracija glukoze niska, unešena glukoza koristi se kao izvor energije. U slučaju da je koncentracija glukoze na normalnoj razini, glukoza unešena prehranom pohranjuje se dok ne bude potrebna. Metabolizam glukoze ovisi o dva bitna hormona, inzulinu i glukagonu.

Cilj ovog rada bio je prikazati i analizirati matematički model metabolizma glukoze u programu *CellDesigner* i usporediti kako unos obroka s različitom količinom glukoze utječe na koncentraciju glukoze i inzulina u krvnoj plazmi.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU

Sistemska biologija mlada je znanstvena disciplina koja obuhvaća znanje i tehnike iz mnogobrojnih znanstvenih područja kako bi se dobilo dublje razumijevanje bioloških sustava. Njenu kompleksnost najbolje je opisao znanstveni pisac Cristopher Wanjek svojom izjavom koja glasi: „*Upitajte pet astrofizičara da vam definiraju crnu rupu, i dobit ćete pet različitih odgovora. Upitajte pet sistemskih biologa da definiraju sistemsku biologiju i dobiti ćete deset različitih odgovora*“. Cilj sistemske biologije je ujediniti već postojeće znanje o raznolikim biološkim komponentama na sistemsku razinu koja će moći utvrditi funkciju organizma (Panagiotou i Nelson, 2009). Proteklih nekoliko godina način istraživanja se promijenio i fokusirao na razumijevanje međusobnih interakcija nutrijenata, dok su se prije istraživali individualni nutrijenti u izoliranim uvjetima (Mc Auley, 2020). Takva vrsta istraživanja omogućila je razumijevanje biokemije raznih staničnih i fizioloških sustava koji su vezani uz nutrijente, no nedostajalo je shvaćanje povezanosti tih nutrijenata te njihov utjecaj na procese u tijelu, kao što su starenje i bolesti. Sistemska biologija omogućuje dobivanje šire slike ujedinjujući saznanja iz -omics disciplina koje uključuju genomiku, transkriptomiku, proteomiku, metabolomiku, bioinformatiku i računalno modeliranje.

Razvoj -omics disciplina pruža dobar okvir za sistemski pristup istraživanja personalizirane prehrane. Cilj mnogobrojnih istraživanja provedenih na ovu temu je omogućiti nutricionistima da stvaraju preporuke za personaliziranu prehranu temeljene na molekularnim promjenama koje potiču od nutrijenata i ostalih spojeva iz hrane koji vode do specifičnog fenotipa, čime bi se naknadno spriječio nastanak ili razvoj bolesti (Panagiotou i Nelson, 2009).

2.1.1. Podjela omics – a

Nutritivna genomika

Nutritivna genomika je znanstvena disciplina koja spaja sistemsku biologiju i nutricionizam, a njen razvoj može se pratiti od početka 90-ih godina 20. stoljeća (Bašić i sur., 2011). Ova disciplina proučava interakcije između ljudskog genoma i unešenih nutrijenata te se zbog toga smatra kako bi u budućnosti mogla pomoći u razvoju učinkovitih metoda pravilne

prehrane, uključujući i dijetoterapiju (Lau i sur., 2008) Osim toga, nutritivna genomika proučava kako različite vrste genotipa utječu na metaboličko ponašanje nutrijenata koje unosimo, stoga je njen cilj povezati različite fenotipe s raznolikim staničnim i genetskim odgovorima, uz otkrivanje biomarkera prehranbenog podrijetla i bolesti (Hocquette i sur., 2009). Područje istraživanja nutricionizma koje je imalo najviše koristi od nutritivne genomike su istraživanja o pretilosti (Pena-Romero i sur., 2017), kao i istraživanja koja uključuju kompleksni genetski bazen koji definira ljudski mikrobiom (Wu i sur., 2015). No, činjenica da jednaka vrsta prehrane drugačije utječe na pojedince poznata je još od 1965. godine. Tada su Keys i sur. (1965.) u istraživanju o učincima prehrane na plazmatske koncentracije kolesterola uočili značajnu razliku u odgovoru pojedinaca zbog čega su zaključili da urođene karakteristike pojedinaca, odnosno geni, uzrokuju različite odgovore lipida prilikom iste prehranbene intervencije. Upravo taj zaključak, da svaki pojedinac odgovara različito na isti princip prehrane, bio je ključan u otkrivanju ostalih čimbenika koji utječu na odgovor u određenom organizmu (Pena-Romero i sur., 2017; Lau, i sur., 2008; Hesketh i sur., 2006).

Nutritivna transkriptomika

Transkriptomika je znanost koja se bavi proučavanjem transkriptoma, odnosno ekspresije gena na razini mRNA (Noori-Daloi i Nejatizadeh, 2015). Dvije vodeće tehnike u određivanju primarne strukture molekule RNA su RNA sekvenciranje i ekspresijski nizovi (Mc Auley, 2020). Nutritivna transkriptomika bavi se istraživanjem ekspresije mRNA u stanici ili u populaciji stanica prilikom određenih prehranbenih uvjeta, odnosno prehrane (Panagiotou i Nelson, 2009). Mnogo esencijalnih hranjivih tvari, kao i drugih bioaktivnih sastojaka hrane, mogu poslužiti kao važni regulatori obrazaca ekspresije gena. Makronutrijenti, kao i mikronutrijenti, odnosno vitamini, minerali i razne fitokemikalije, mogu modificirati translaciju i transkripciju gena što direktno utječe na biološke odgovore koji su važni u razvoju bolesti, a to su metabolizam te rast i diferencijacija stanica (Noori-Daloi i Nejatizadeh, 2015).

Nutritivna proteomika

Nutritivna proteomika koristi metodologiju proteomike u istraživanjima vezanim uz prehranu, odnosno interakciju bioaktivnih komponenata hrane s proteinima (Schweigert, 2007). Proteomika obuhvaća profiliranje i analiziranje međudjelovanja između niza proteina koje se odvija u stanici, organu ili tkivu. Tehnika koja se najviše koristi za analizu je masena

spektrometrija, zbog njene osjetljivosti i sposobnosti identifikacije. Ona može identificirati proteine koji su ključni u metabolizmu nutrijenata (Mc Auley, 2020).

Nutritivna metabolomika

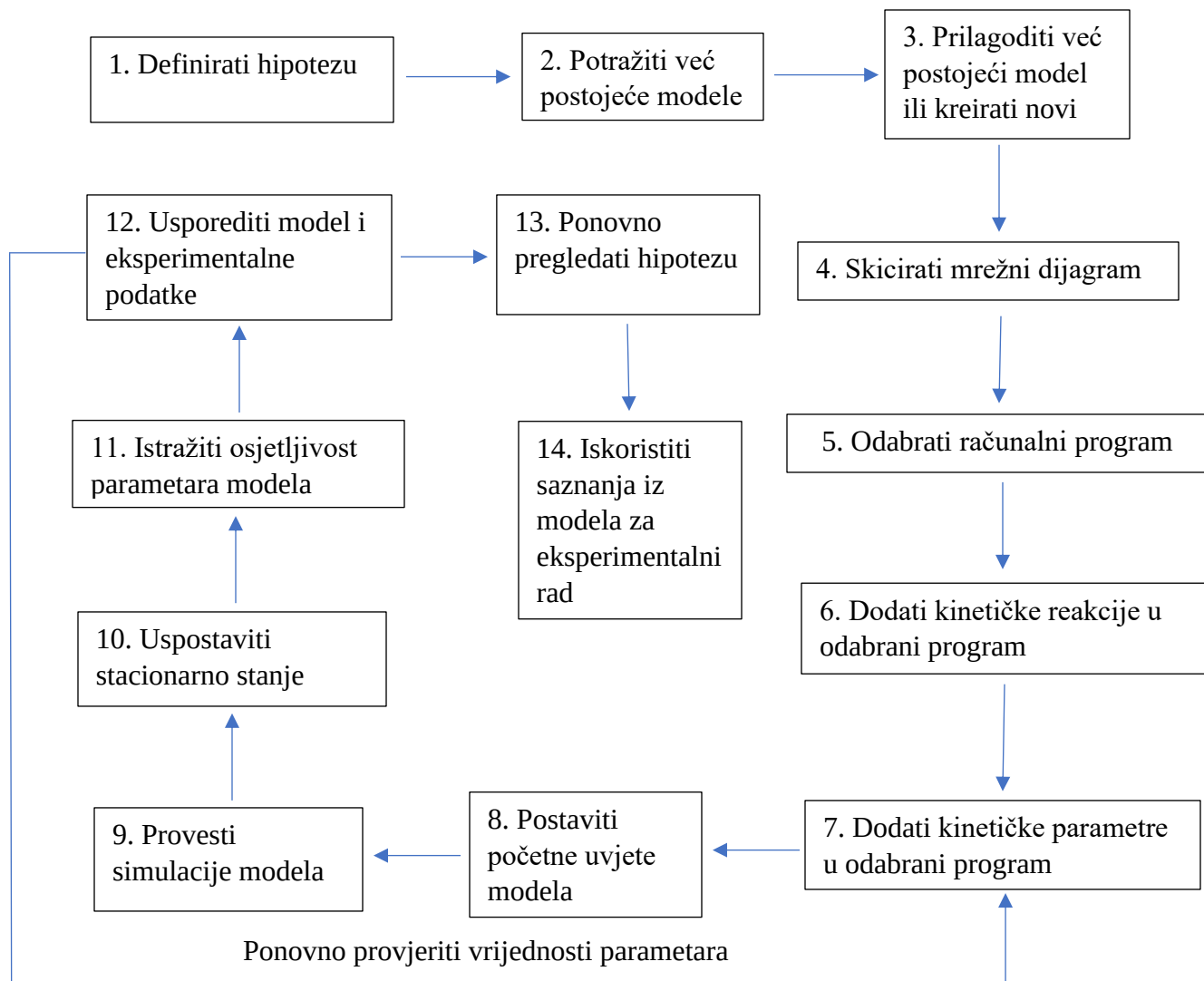
Metabolomika je znanost koja se bavi izoliranjem vrlo malih endogenih metabolita iz stanica, tjelesnih tekućina te tkiva organizma. Cilj nutritivne metabolomike je stvoriti globalni profil metabolizma te saznati potpuni metabolički odgovor organizma na nutritivni poticaj (Panagiotou i Nelson, 2009). Najčešće korištene tehnike su spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije, plinska ili tekuća kromatografija-spektrometrija masa, infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom i kapilarna elektroforeza. Iako se koristi već godinama, istraživanje metabolomike u prehrani je posebno napredovalo u posljednjih 15 godina. Nova saznanja pomažu u shvaćanju utjecaja prehrane na sveukupno metaboličko stanje što će u budućnosti koristiti prilikom razumijevanja bolesti, kao i osmišljavanju personaliziranih tretmana koji mogu poslužiti kao prevencija (Mc Auley, 2020).

Bioinformatika

Bioinformatikom se nazivaju procesi koji koriste računalo kao pomoć pri analizi, interpretaciji i izvještaju eksperimentalnih podataka vezanih uz biološka istraživanja (Mc Auley, 2020). U sistenskoj biologiji, bioinformatika je potrebna za pohranu, manipulaciju, analizu i interpretaciju podataka stečenih -omics znanostima, odnosno genomikom, transkriptomikom, proteomikom i metabolomikom (Mc Auley, 2020). Cilj bioinformatike u sistenskoj biologiji je protumačiti raznolike skupove podataka te pružiti uvid u biološke mehanizme koji podupiru eksperimentalna opažanja (Panagiotou i Nielsen, 2009).

Računalna sistemska biologija je pristup koji koristi računalno modeliranje prilikom opisivanja i dinamičke simulacije kompleksne prirode bioloških sustava. Slika 1 prikazuje korake koji su potrebni prilikom stvaranja računalnog modela. Računalni model je način prikaza kompleksnog biološkog sustava na precizan način koristeći matematiku. S obzirom na jednostavnost računalnih programa, nije potrebno detaljno znanje matematike, no za razumijevanje je potrebno prethodno znanje o biološkom sustavu koji se prikazuje modelom. Osim toga, bitno je da osoba koja modelira detaljno postavi granice modela, kako model ne bi

nepotrebno išao u širinu, već imao samo informacije potrebne za testiranje hipoteze (Mc Auley, 2020).



Slika 1. Koraci uključeni u razvoj računalnog modela (prema Mc Auley, 2020)

2.2. PREHRANA I ZDRAVLJE

Prehrana i zdravlje usko su povezani, a javnozdravstvene preporuke za prehranu temelje se na prosjeku podataka o populaciji (van Ommen i sur., 2017). S obzirom na utjecaj prehrane na

brojna medicinska stanja, postoje prehrambene smjernice za određena stanja (hiperkolesterolemiju, hiperglikemiju, hipertenziju i slično). No, svaki pojedinac, unatoč preporukama, reagira drugačije, specifično za svoje gene te utjecaje okoliša (van Ommen i sur., 2017). Stoga se potiče individualna prehrana planirana za svakoga pojedinačno kako bi se mogao iskoristiti puni potencijal unešenih nutrijenata. No, personalizirana prehrana je složena te zbog toga zaslužuje sustavno rješenje, ne samo zbog održavanja homeostaze već i zbog odgovora na okolišne utjecaje. S obzirom na to da je odnos prehrane i zdravlja interakcija koja se neprestano mijenja zbog utjecaja okoliša i fiziologije, bitno je razumjeti kako biološki sustavi funkcioniraju kako bi održali homeostazu (van Ommen i sur., 2017). U procesu održavanja homeostaze, najbitnija je sposobnost fiziološkog sustava da se kontinuirano prilagođava na raznolikost i količinu konzumirane hrane, kao i na vrijeme konzumacije.

Kako bi se mogla razviti optimalna prehrana, koja odgovara svakoj osobi, potrebno je razumijeti osnovne nutrijente na njihovoj staničnoj razini. Sljedeće poglavlje će dati pregled uloge glukoze te važnost u njenoj regulaciji.

2.3. GLUKOZA

Prehranom unešeni ugljikohidrati, proteini i masti razgrađuju se do glukoze te je ona glavni izvor energije za ljude (Nakrani i sur., 2021). Ugljikohidrati čine većinski dio prehrane čovjeka te su uz masti najvažni energetske izvor. Glukoza unešena prehranom može se skladištiti ili iskoristiti za energiju. Promjene prilikom metabolizma glukoze ili inzulina mogu dovesti do razvoja raznih bolesti, od kojih je dijabetes na prvom mjestu. Vjeruje se kako je trenutni broj ljudi koji boluje od nekog oblika dijabetesa čak 422 milijuna, a ta brojka svakodnevno raste (World Health Organization, WHO).

Glukoza ima ulogu prekursora za sintezu različitih ugljikohidrata kao što su riboza, deoksiriboza, galaktoza, glikogen i glikolipidi (Nakrani i sur., 2021). Homeostaza glukoze u krvi održava se regulatornim učincima hormona inzulina i glukagona (Kang i sur., 2012). Inzulin izlučuju β , a glukagon α stanice Langerhansovih otočića koji se nalaze u gušterači. Ova dva hormona imaju suprotne učinke. Naime, inzulin potiče apsorpciju glukoze u jetri, mišićima i adipoznom tkivu te inhibira endogenu proizvodnju glukoze, dok ju glukagon potiče. Mehanizmom

povratne sprege ova dva hormona održavaju koncentraciju šećera u krvi unutar referentnih vrijednosti (Vahidi i sur., 2016).

Kada koncentracija glukoze u krvi poraste, gušterača luči više inzulina koji zatim inhibira izlučivanje glukagona. Smanjena koncentracija glukagona i povećana koncentracija inzulina uzrokuju veću apsorpciju glukoze u periferna tkiva, a smanjuju endogenu proizvodnju glukoze što sveukupno smanjuje razinu koncentracije glukoze u krvi. S druge strane, kada je koncentracija glukoze u krvi niska, gušterača luči više glukagona, a manje inzulina, što rezultira povećanom endogenom proizvodnjom glukoze te smanjenom apsorpcijom, što dovodi do povećanja koncentracije glukoze u krvi (Costanzo, 2002).

Prihvatljiva koncentracija glukoze u krvi natašte proteže se od 3,9 mmol/L do 5,6 mmol/L. U slučaju da su vrijednosti u intervalu od 5,6 do 6,9 mmol/L, preporučaju se promjene životnih navika i praćenje glikemije. Ako osoba prilikom dva različita testiranja postiže vrijednost od 7 mmol/L, dijagnosticira se dijabetes. U slučaju da vrijednost padne ispod 3,9 mmol/L dolazi do hipoglikemije (World Health Organization, WHO).

2.3.1. Hiperglikemija

Hiperglikemija označava stanje u kojem je vrijednost glukoze u krvi natašte veća od 6,9 mmol/L. Smatra se da osoba ima poremećenu toleranciju glukoze, ili preddijabetes, ukoliko vrijednosti glukoze u krvi natašte iznose između 5,6 i 6,9 mmol/L. Dijabetes se dijagnosticira pri vrijednostima iznad 7 mmol/L (Hammer i sur., 2019; Villegas – Valverde i sur., 2018).

Hiperglikemija je ozbiljno stanje te ukoliko ostane neliječena može uzrokovati mnoge komplikacije. Mouri i Badireddy (2022) navode oštećenje vida, bubrega, srca, živaca ili perifernog živčanog sustava kao potencijalne posljedice hiperglikemije. Hiperglikemija je prisutna kod dijabetičara, a njeni uzroci razlikuju se ovisno o vrsti dijabetesa te uključuju smanjeno lučenje inzulina, smanjenu iskoristivost glukoze ili povećanu produkciju glukoze.

Kod dijabetesa tipa 1, pojava hiperglikemije je rezultat genetičkih, imunoloških i okolišnih faktora koji dovode do uništavanja β stanica gušterače i deficijencije inzulina (Mouri i Badireddy, 2022). U slučaju dijabetesa tipa 2, do hiperglikemije dolazi zbog inzulinske rezistencije kao i abnormalnog izlučivanja inzulina (Mouri i Badireddy, 2022). Simptomi uključuju učestalo mokrenje, žeđ, poremećaje s vidom, umor i učestale infekcije (Davies i sur., 2018). Prilikom

liječenja, cilj je ukloniti simptome i spriječiti buduće komplikacije. Kod dijabetesa tipa 1, terapija uključuje inzulin u kombinaciji s pravilnom prehranom, dok pacijenti s dijabetesom tipa 2 hiperglikemiju održavaju pod kontrolom pravilnom prehranom, promjenom načina života, kao i oralnim hipoglikemicima (Mouri i Badireddy, 2022).

2.3.2. Hipoglikemija

Hipoglikemija označava stanje prilikom kojeg je vrijednost glukoze u krvi natašte ispod 3,9 mmol/L (Mathew i Thoppil, 2022), iako postoje slučajevi u kojima do pojave simptoma dolazi tek kada ta vrijednost padne ispod 3 mmol/L (Mathew i Thoppil, 2022). Hipoglikemija se često javlja kod dijabetičara koji primaju terapiju inzulinom, dok kod zdravih pojedinaca nije česta. Kao podskupine koje spadaju u rizičnu skupinu mogu se izdvojiti osobe koje boluju od dijabetesa te imaju problema s bubrežnom funkcijom i osobe starije dobi koje boluju od dijabetesa (Morales i Schneider, 2014).

S obzirom na to da je koncentracija glukoze u krvi kod koje dolazi do hipoglikemije, kao i simptomi, nespecifična te ovisi o pojedincu, za dijagnozu hipoglikemije koristi se Whippleova trijada. Trijada se, kao što samo ime govori, sastoji od tri elementa za dijagnozu, a to su: simptomi i znakovi hipoglikemije, mala koncentracija glukoze u krvi te nestanak simptoma i znakova nakon što se vrijednosti glukoze izreguliraju (Ng, 2010). Ukoliko se sva tri elementa ispostave pozitivna, može se dijagnosticirati hipoglikemija.

Simptomi hipoglikemije mogu se podijeliti u dvije grupe: autonomni, koji nastaju kao stresni odgovor organizma na hipoglikemiju te neuroglikopenični, koji nastaju zbog utjecaja hipoglikemije na mozak (Morales i Schneider, 2014). Autonomni simptomi uključuju palpitacije, anksioznost, tahikardiju, tremor, osjećaj gladi, znojenje, glavobolju, vrtoglavicu i mučninu (Morales i Schneider, 2014; Henderson i sur., 2003), dok u skupinu neuroglikopeničnih spadaju simptomi zbunjenosti, usporenosti, promjena ponašanja i grčeviti napadaji, a ako se stanje oduži može doći i do kome (Precali, 2021; Morales i Schneider, 2014). Simptomi se razlikuju kod svakog pojedinca što može otežati dijagnostiku.

Što se tiče liječenja, Američko društvo za dijabetes objavilo je smjernice koje sadrže pravilo “15 – 15”. Smjernice nalažu kako prilikom dijagnostike hipoglikemije odmah treba uzeti 15 grama ugljikohidrata te pričekati 15 minuta, a zatim provjeriti vrijednost glukoze u krvi.

Ukoliko su vrijednosti i dalje $<3,9$ mmol/L, savjetuje se konzumacija još 15 grama ugljikohidrata. Ovi koraci se ponavljaju dok vrijednost glukoze u krvi ne naraste do minimalno 3,9 mmol/L, a zatim se preporuča pojesti obrok kako ne bi ponovno došlo do pada vrijednosti (American Diabetes Association, ADA). Kao 15 grama ugljikohidrata može se konzumirati 1 žlica konzumnog šećera, meda ili kukuruznog sirupa, glukozni gel, pola čaše soka ili bomboni, odnosno slatkiši (provjeriti vrijednosti na pakiranju) (American Diabetes Association, ADA).

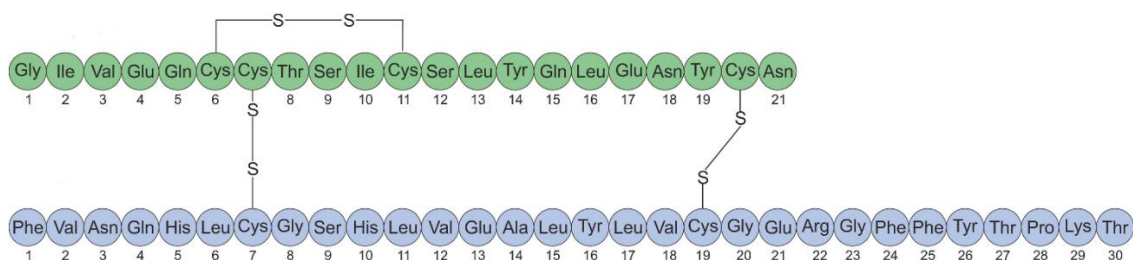
2.4. INZULIN

2.4.1. Otkriće inzulina

Godine 1889., njemački znanstvenici Minkowski i von Mering su prilikom eksperimentalnog rada sa životinjama primjetili da životinje kojima je uklonjena gušterača razvijaju dijabetes (Bliss, 1993). Postavili su hipotezu da je supstanca koju izlučuje gušterača odgovorna za metaboličku kontrolu. Wilcox (2005) napominje kako su kasnije drugi znanstvenici izmijenili tu hipotezu te tvrdili da je dijabetes povezan s uništenjem Langerhansovih otočića. Dok su već spomenuti njemački znanstvenici pokušavali izolirati tvar koja nedostaje, belgijski istraživač Meyer je 1909. godine predložio ime “inzulin”, kao i Britanac Schaefer 1916. godine. 1921. godine je inzulin konačno izoliran, pročišćen te je bio dostupan u obliku sposobnom za administraciju u terapijske svrhe (Wilcox, 2005).

2.4.2. Struktura inzulina

Inzulin je mali peptidni hormon koji izlučuju β stanice Langerhansovih otočića gušterače. On je ustvari dipeptid koji se sastoji od lanaca A i B povezanih disulfidnim mostovima. Lanac A sastoji se od 21 aminokiseline, dok ih lanac B sadrži 30 (Wilcox, 2005), što prikazuje slika 2. Kada se ta dva lanca razdvoje, gubi se funkcionalna aktivnost molekule inzulina. Molekularna masa ljudskog inzulina iznosi 5808 Da.



Slika 2. Struktura inzulina (*prema* Mikiewicz i sur., 2017)

2.4.3. Sinteza inzulina

Inzulin se sintetizira u β stanicama Langerhansovih otočića gušterače. Proces započinje transkripcijom inzulina (INS) gena koji kodira za preproinzulin, neaktivan preprohormon molekularne težine oko 11,5 kDa. Zatim dolazi do cijepanja u endoplazmatskom retikulumu kako bi se formirao proinzulin čija molekularna težina iznosi 9 kDa koji je također neaktivan. Većina proinzulina se dalje cijepa u Golgijevom aparatu kako bi nastali inzulin i peptidni fragmenti. Inzulin se zatim pakira u sekretorne vezikule i spreman je da se nakon odgovarajućeg podražaja beta stanica izluči u krvotok (Guyton i Hall, 2006).

Konzumacija glukoze stimulira izlučivanje inzulina što rezultira hiperinzulinemijom koja inicira niz bioloških odgovora, koji kod zdravih pojedinaca kroz dva sata vrata koncentraciju glukoze u plazmi na bazalnu (Ferrannini i DeFronzo, 2015). Porast inzulina u plazmi, zajedno s porastom koncentracije glukoze u plazmi, rezultira inhibicijom izlučivanja glukagona (Cherrington, 1997). Kod zdravih individualaca, endogeno izlučivanje inzulina odvija se u dvije faze:

- 1) brzi porast u serumskom inzulinu koji dosegne vrhunac nakon 30 do 45 minuta nakon obroka (bolusno ili prandialno) te se vraća na bazalnu razinu nakon 1 do 3 sata i
- 2) konstantno “pravocрно” lučenje inzulina sporijom brzinom, također poznato pod nazivom bazalno lučenje inzulina.

Bazalna komponenta lučenja inzulina u kombinaciji s glukagonom održava hepatičku produkciju glukoze urednom, dok istovremeno modulira periferno iskorištenje glukoze (Niswender, 2011).

Niswender (2011) spominje kako se bazalni inzulin kontinuirano otpušta u malim količinama (koncentracije od 5-15 $\mu\text{U/mL}$) kao odgovor na otpuštanje glukoze iz jetre čime kod zdravih osoba održava normalne vrijednosti koncentracije glukoze u plazmi koje iznose između 80 i 90 mg/dL, odnosno 4-5 mmol/L. No, postprandijalno, koncentracija glukoze u plazmi može porasti do 135 mg/dL, odnosno 7,5 mmol/L (Thompson i sur., 2006). U tom slučaju izlučuje se bolusni ili prandijalni inzulin kao odgovor na obrok koji vraća koncentraciju glukoze na bazalnu vrijednost. Ovakav mehanizam regulacije održava vrijednosti glukoze u krvi između 3,5 i 7,5 mmol/L.

2.4.4. Djelovanje inzulina

Inzulin omogućuje unos glukoze, slobodnih masnih kiselina i aminokiselina u jetru, mišiće i adipozno tkivo gdje se asimiliraju i pohranjuju (Lomberk i Urrutia, 2009). Inzulin dopijeva u jetru putem portalne cirkulacije. Stanice u jetri mogu pohranjivati ili proizvoditi glukozu, ovisno o uvjetima o kojima se radi (konzumacija hrane ili post). Nakon konzumacije hrane, kada su koncentracije glukoze u krvi visoke, inzulin inhibira postprandijalnu hepatičku proizvodnju glukoze čime sprječava moguću hiperglikemiju (Klover i Mooney, 2004). U vremenu posta odvijaju se prvo glikogenoliza, a zatim i glukoneogeneza što dovodi do otpuštanja glukoze u trenucima kada osoba ne unese dovoljno glukoze hranom (Klover i Mooney, 2004).

Što se tiče njegove uloge u mišićima, inzulin potiče skladištenje glikogena, kao i unos glukoze i aminokiselina u skeletne mišiće. Mišići koriste glukozu za njihovu kontrakciju (Richter, Hargreaves, 2013), a ostatak skladište, no nemaju sposobnost proizvodnje (Niswender, 2011).

U adipoznom tkivu inzulin ima nekoliko uloga: stimulira unos glukoze i sintezu triglicerida te inhibira lipolizu na način da inhibira hormonski osjetljivu lipazu (Saponaro i sur., 2015; Boden, 2008). Inzulin također inhibira otpuštanje slobodnih masnih kiselina i glicerola u krvotok (Saponaro i sur., 2015; Boden 2008) što je važno iz razloga što otpuštanje slobodnih masnih kiselina iz adipoznog tkiva može promijeniti mišićnu i jetrenu osjetljivost na inzulin.

2.5. GLUKAGON

2.5.1. Struktura glukagona

Glukagon je peptidni hormon koji se sastoji od 29 aminokiselina, a luče ga α stanice Langerhansovih otočića gušterače. Njegov prekursor je proglukagon koji dolazi do izričaja u raznim tkivima, npr. mozgu, gušterači i crijevima te se može proteolitički preraditi u mnoge peptidne hormone specifične određenim tkivima (Jiang i Zhang, 2003).

2.5.2. Izlučivanje glukagona

Glukagon se izlučuje kao odgovor na hipoglikemiju, produženo gladovanje, vježbanje, stres ili nakon obroka bogatih proteinom (De Meyts i Lefèbvre, 2020). S obzirom na to da se otpušta u krvotok prilikom niskih koncentracija glukoze, njegova primarna uloga je simulacija hepatičke proizvodnje glukoze što rezultira povećanjem glikemije. Na taj način djeluje kao mehanizam povratne sprege u kombinaciji s inzulinom te ta dva hormona zajedno održavaju homeostazu glukoze u krvi (Jiang i Zhang, 2003). Hipoglikemija simulira izlučivanje glukagona, dok ga hiperglikemija inhibira. Stimulativnim djelovanjem na β stanice gušterače kojime potiče izlučivanje inzulina, glukagon može samostalno regulirati svoju sekreciju indirektnim putem (Müller i sur., 2017; Wewer i sur., 2016).

2.5.3. Uloga glukagona

Kao što je već navedeno, glavna uloga glukagona je regulacija glikemije koja se može odvijati na više načina: glikogenolizom, odnosno konverzijom glikogena u glukozu, glukoneogenezom, odnosno sintezom glukoze, inhibicijom glikolize i formacijom glikogena (Hædersdal i sur., 2018). Osim toga, glukagon ima još nekoliko uloga u organizmu.

Glukagon pridonosi stabilnoj energetske homeostazi na način da potiče stvaranje lipida i ketonskih tijela koji mogu služiti kao neugljikohidratni izvori energije (Müller i sur., 2017). To znači da u trenucima kada tijelo ima potrebu za energijom (tijekom vježbe ili izlaganja hladnoći gdje su potrebe za energijom povećane ili za vrijeme posta kada je opskrba energijom ograničena), glukagon potiče razgradnju masnih kiselina do molekula acetil - koenzima A u jetri. Molekule acetil - koenzim A se zatim mogu reducirati kako bi proizvele ATP ili se pretvoriti u ketonska tijela (Galsgaard i sur., 2019).

Osim toga, povećanim reguliranjem uključenih enzima, glukagon stimulira formaciju glukoze iz aminokiselina prilikom produženog gladovanja. No, brzina ovog procesa ne ovisi o glukagonu već o zalihama glukoneogenih aminokiselina iz mišića ili iz unešene hrane (Holst i sur., 2017).

Važno je objasniti ulogu glukagona kako bi se spoznala njegova važnost i uloga u cjelokupnom metabolizmu glukoze, no prateći smjernice autora De Gaetano i Arino (2000) od kojih je ovaj model preuzet, njegovo djelovanje nije uključeno u modelu prikazanom u ovom radu.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

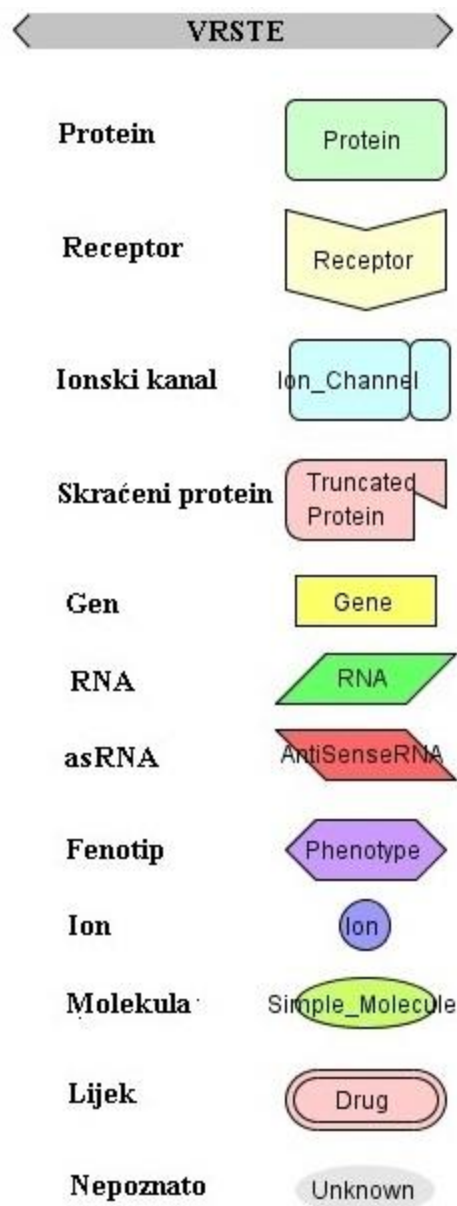
3.1. MATERIJALI

3.1.1. *CellDesigner*

Za izradu modela korišten je program *CellDesigner* 4.4.2 (Systems Biology Institute, Tokyo, Japan). Autori programa opisuju ga kao “uređivač strukturnih dijagrama koji se koristi za prikaz gensko – regulatornih i biokemijskih mreža”.

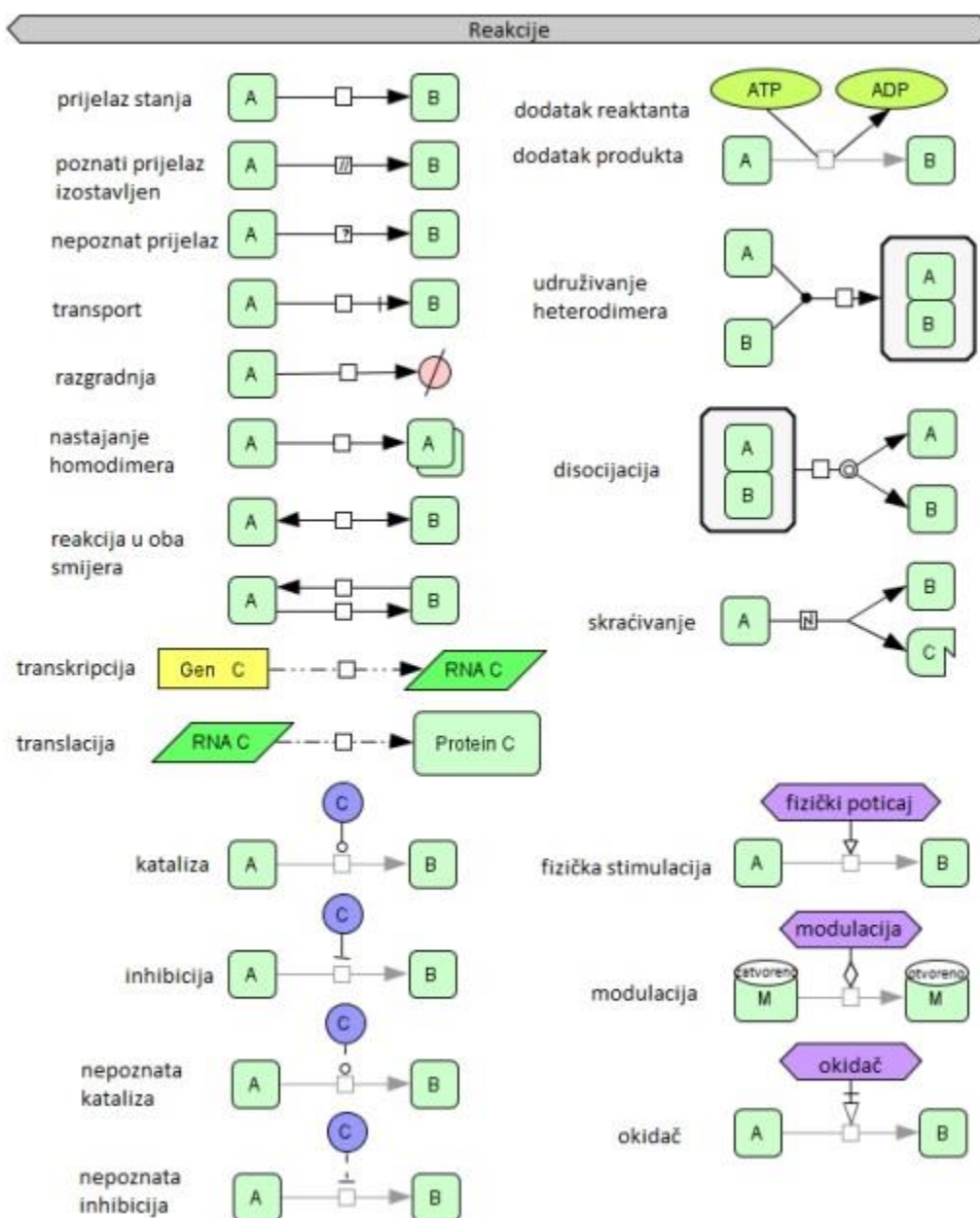
Način rada programa:

Rad unutar programa *CellDesigner* započinje odabirom nove datoteke iz izbornika. Zatim je potrebno odrediti veličinu radnog prostora i naziv dokumenta. Nakon toga na ekranu se prikazuje bijeli radni prostor koji će se koristiti za prikaz modela. U taj radni prostor unose se vrste koje se biraju na alatnoj traci, a prikazane su na slici 3. Prilikom odabira vrste, dodjeljuje joj se ime te ju je nakon toga moguće pozicionirati u radni prostor po želji.



Slika 3. Vrste simbola u *CellDesigneru* (prema Systems Biology Institute, 2010)

Kada se unesu sve vrste, potrebno ih je spojiti odgovarajućim strelicama koje predstavljaju željenu reakciju. Slika 4 prikazuje strelice koje postoje te reakcije koje označavaju.



Slika 4. Simboli za različite vrste reakcija u programu *CellDesigneru* (prema Funahashi i sur., 2008)

3.1.2. Model metabolizma glukoze

U ovom radu provedena je analiza matematičkog modela metabolizma glukoze. Na temelju tri diferencijalne jednačbe, model opisuje metabolički odgovor organizma na obroke s različitim koncentracijama glukoze (De Gaetano i Arino, 2000).

Model se sastoji od tri biokemijske reakcije prikazane u tablici 1 zajedno s kinetičkim izrazima, a sastoji se od 2 odjeljka, glukoznog i inzulinskog. U tablici 2 prikazane su vrijednosti korištenih parametara modela.

Kang i sur. (2012) spominju kako je, za razliku od modela iz prošlosti, u ovom modelu prvi put predstavljen parametar sposobnosti unosa glukoze koji funkcionira zbog radnji koje se odvijaju u odvojenom odjeljku inzulina koje su pojačane zbog dotoka inzulina iz plazme (I_p). U prikazanom modelu, inzulin iz zasebnog odjeljka inhibira produkciju glukoze u jetri i aktivira inzulin – ovisan ulazak glukoze u periferna tkiva. No, mana ovog modela je što nije uključeno djelovanje glukagona na produkciju glukoze u jetri. Također, pretpostavljeno je da su utjecaji glukoze i inzulina na organe linearni, što bi moglo dovesti do komplikacija prilikom očitavanja rezultata (Kang i sur., 2012).

Tablica 1. Biokemijske reakcije i pripadajući kinetički izrazi (prema De Gaetano i Arino, 2000)

REAKCIJA	KINETIČKI IZRAZ
Promjena koncentracije glukoze u plazmi	$\frac{dG_p}{dt} = -[p_1 + X]G_p + p_1G_b$
Promjena koncentracije glukoze koja ulazi u stanice	$\frac{dX}{dt} = -p_2X + p_3 [I_p - I_b]$
Promjena koncentracije inzulina u plazmi	$\frac{dI_p}{dt} = p_4[G_p - G_0]^+ t - p_5[I_p - I_b]$

Tablica 2. Vrijednosti parametara modela (*prema* Pacini i Bergman, 1986)

Varijabla	Oznaka	Vrijednost
konstanta brzine ulaska glukoze u tkivo	p_1	$3,082 \cdot 10^{-2}$
konstanta brzine smanjenja sposobnosti unosa inzulina	p_2	$2,093 \cdot 10^{-2}$
konstanta brzine porasta sposobnosti unosa plazmenog inzulina	p_3	$1,062 \cdot 10^{-5}$
konstanta brzine otpuštanja inzulina iz gušterače	p_4	$0,3349 \cdot 10^{-2}$
konstanta brzine degradacije inzulina u plazmi	p_5	0,3
prag vrijednosti glukoze	G_0	$8,95 \cdot 10^{-3}$
koncentracija bazalne glukoze	G_b	90,1
koncentracija bazalnog inzulina	I_b	5

3.1.3. Smjernice za planiranje jelovnika

Za dnevni unos glukoze napravljena su 3 različita jelovnika: jelovnik za osobe oboljele od dijabetesa, jelovnik s malim postotkom ugljikohidrata te jelovnik po smjernicama za opću populaciju. Dnevni energetski unos svih jelovnika je 2,500 kcal (± 100 kcal). Uz svaki obrok napisana je količina makronutrijenata: ugljikohidrata, proteina i masti. Količina glukoze koja ulazi u krv prilikom obroka jednaka je količini ugljikohidrata umanjenoj za količinu vlakana, stoga je i to naznačeno u tablicama.

3.1.3.1. Dijabetički jelovnik

Broj obroka kod dijabetičara ovisi o terapiji koju primaju. Ukoliko se radi o pacijentu koji je na terapiji oralnim hipoglikemicima, preporuča se 5-6 obroka, dok je preporuka za pacijente koji su na bazal – bolusnoj inzulinskoj terapiji 3 obroka dnevno + noćni obrok (KBC Zagreb, 2017). Za potrebe ovog rada, pretpostavka je da osoba ima 6 obroka dnevno.

Dijabetička prehrana osmišljena se po skupinama. Postoji 6 skupina, a to su: (1) kruh i zamjene, (2) meso i zamjene, (3) voće, (4) povrće, (5) mlijeko i zamjene te (6) masti i zamjene. Svaka zamjena za pojedinu namirnicu ima istu količinu ugljikohidrata, masti, proteina i kalorija stoga se namirnice iz iste skupine mogu zamijeniti u obroku. Kako bi se ujednačio ugljikohidratni

sastav, škrobno povrće poput krumpira, graška i graha umjesto u povrće pripada u skupinu kruha i zamjena, dok je sir umjesto u skupini mlijeka, svrstan u skupinu mesa i zamjena. Ovisno o količini dnevnog kalorijskog unosa, za svaki obrok je zadana količina i vrsta skupina koje treba uklopiti u dnevni unos (Prašek i Jakir, 2009).

3.1.3.2. Jelovnik s malim postotkom ugljikohidrata

Drugi jelovnik predstavljen u ovom radu djelomično je osmišljen prema smjernicama za ketogenu dijetu (Masood i sur., 2021). Prilikom slaganja ovog jelovnika, cilj je bio složiti obroke sa malom količinom ugljikohidrata kako bi ukupan dnevni unos bio manji od 10%. S obzirom na sve popularniju ketogenu dijetu, ovim obrocima pratit će se promjena koncentracije glukoze u krvi nakon unosa minimalne količine ugljikohidrata. Makronutrijenti u ketogenoj dijeti su podijeljeni na slijedeći način: 55-60 % masti, 30-35 % proteina i 5-10 % ugljikohidrata.

Izlučivanje inzulina se prilikom niskog unosa ugljikohidrata (manje od 50 grama) značajno smanjuje te tijelo ulazi u kataboličko stanje. Zbog smanjenja zaliha glikogena, tijelo je primorano provesti određene metaboličke promjene. Glukoneogeneza i ketogeneza stupaju na snagu kada je dostupnost ugljikohidrata u tijelu niska (Ma i Suzuki, 2019; Mohorko i Černelič-Bizjak, 2019). Glukoneogeneza je metabolički put kojim se sintetizira glukoza iz neugljikohidratnih preteča, kao što su piruvat, laktat, aminokiseline (alanin i glutamin) i glicerol. Kada se dostupnost glukoze dodatno smanji, endogena proizvodnja glukoze, odnosno glukoneogeneza, ne može zadovoljiti potrebe tijela te kreće ketogeneza koja tijelu može podariti novi izvor energije u obliku ketonskih tijela. U tom trenu ketonska tijela zamjenjuju glukozu kao glavni izvor energije (Masood i sur., 2021). U tom slučaju, s obzirom na nisku koncentraciju glukoze, smanjuje se i stimulus za sekreciju inzulina, što također smanjuje stimulus za pohranjivanje glukoze i masti. Dok je tijelo lišeno ugljikohidrata, ketoni ostaju primaran izvor energije (Masood i sur., 2021). Kratkoročno djelovanje (do dvije godine) ketogene dijetе na zdravlje poznato je i istraženo, no dugoročno je još uvijek nepoznato s obzirom na limitiranu količinu podataka (Oh i sur., 2021; Broom i Shaw, 2019).

3.1.3.3. Regularan jelovnik

Kao treći jelovnik čije su vrijednosti korištene eksperimentalno osmišljen je jelovnik po smjernicama makronutrijenata za opću populaciju. Preporuke dnevnog unosa za zdrave osobe je 45-60 % ugljikohidrata (EFSA, 2010b), 10-35 % proteina i 20-35 % masti (EFSA, 2010).

3.2. METODE

3.2.1. Razvoj i simulacija modela metabolizma glukoze

U računalnom program *CellDesigner* provedena je simulacija metabolizma glukoze prema modelu koji je prikazan u radu Kang i sur. (2012). Analizirane su vrijednosti koncentracija glukoze (G_p) i inzulina (I_p) u krvnoj plazmi nakon obroka. Promatrano je vrijeme koje je potrebno da se glukoza i inzulin ustabile na njihovu bazalnu vrijednost nakon obroka koji su sadržavali različitu početnu koncentraciju glukoze.

3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti

Matematički modeli omogućavaju bolje razumijevanje bioloških sustava i reakcija koje se odvijaju u organizmu (Inoue, 2019). Modeli u biološkim sustavima imaju veliki broj parametara, a svaki od njih ima utjecaj na krajnji ishod modela te na svojstva stvarnog sustava, kao i na sam rezultat modeliranja (Qian i Madhi, 2020). No, s obzirom na to da je vrijednost većine parametara teško točno procijeniti, često se javljaju pitanja koliko je model ustvari pouzdan (Kent i sur., 2013). Zbog toga je potrebno napraviti analizu modela kako bi se moglo zaključiti koliko vrijednosti parametara uistinu utječu na rezultat modeliranja. Analiza osjetljivosti najčešće se koristi kod procjene utjecaja pojedinog ulaznog parametra na izlazni rezultat (Kent i sur., 2013).

Analiza lokalne osjetljivosti jedna je od jednostavnijih načina provjere parametarske osjetljivosti, a odvija se na način da se vrijednost pojedinog parametra mijenja jedan po jedan parametar, dok vrijednosti ostalih parametara ostaju konstantne. Ovakav pristup koristi se ukoliko je interakcija između ulaznih parametara mala ili ako postoje male nesigurnosti u ulaznim parametrima (Link i sur., 2018). U ovom radu metoda analize lokalne parametarske osjetljivosti provedena je na način da se promatrala osjetljivost koncentracija glukoze i inzulina u plazmi te sposobnosti unosa glukoze na promjene vrijednosti kinetičkih parametara. Slika 5 prikazuje utjecaj parametara ovog modela na izlazne varijable modela.



Slika 5. Utjecaj parametara modela na izlazne varijable modela

Prema jednadžbama 1 i 2 računa se relativna osjetljivost izlaznih varijabli, gdje $S_{X/i}$ predstavlja koeficijent osjetljivosti, k_i vektor koncentracija, c_x vektor parametara sustava, a izraz $\partial c_x / \partial k_i$ je koeficijent lokalne osjetljivosti prvoga reda, $a = 0,01; 0,03; 0,05; 0,07$ ili $0,1$. U ovom radu napravljena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti za 8 kinetičkih parametara modela, a dobiveni rezultati obrađeni su u *MS Excel 365* (Microsoft, Redmond, Washington, SAD).

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

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

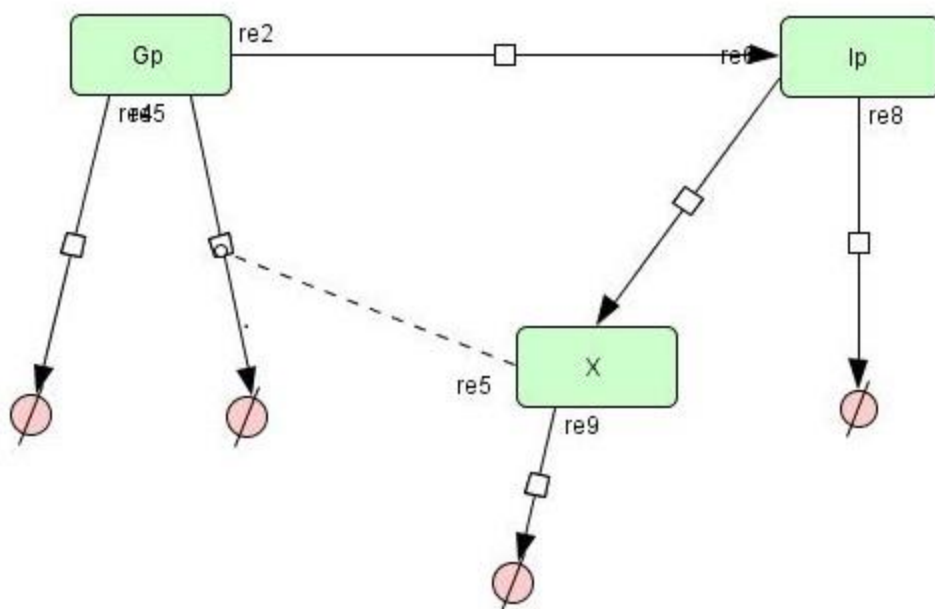
4. REZULTATI I RASPRAVA

Simulacijom modela metabolizma ugljikohidrata u programu *CellDesigner* promatrana je promjena u koncentraciji metabolita, glukoze (G_p) i inzulina (I_p), u krvnoj plazmi u vremenskom razdoblju od 240 minuta (četiri sata). Koncentracije navedenih metabolita promatrane su nakon svakog obroka u tri osmišljena jelovnika koja se razlikuju po udjelu glukoze. U programu *CellDesigner* provedene su simulacije obroka koje su se razlikovale u početnim koncentracijama glukoze i inzulina. Rezultati dobiveni simulacijom u *CellDesigneru* prikazani su grafički na slikama 5-18.

Osim simulacije, provedena je i analiza lokalne parametarske osjetljivosti kojom se određuju ključni kinetički parametri u modelu. Prilikom analize, ispitivan je utjecaj promjene vrijednosti pojedinog parametra (povećanja i smanjenja) za 1, 3, 5, 7 i 10 % na izlazne vrijednosti varijabli modela. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 21-23.

4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA GLUKOZE IZRAĐEN U PROGRAMSKOM PAKETU *CELLDESIGNER*

Za konstrukciju modela metabolizma ugljikohidrata korišten je računalni program *CellDesigner* 4.4.2. Model se sastoji od 3 biokemijske reakcije prikazanih u tablici 1 i 8 kinetičkih parametara prikazanih u tablici 2. Izgled modela prikazanog u programu *CellDesigner* može se vidjeti na slici 4. *CellDesigner* programski je paket koji ima primjenu u modeliranju biokemijskih procesa zbog svoje jednostavne vizualizacije i prikaza dinamike kompliciranih procesa svojstvenih većini metaboličkih putova (Funahashi i sur., 2003). Kao što su opisali Funahashi i sur. (2008), *CellDesigner* je alat za modeliranje gensko-regulacijskih i metaboličkih mreža koji korisnicima omogućuje brzo dizajniranje takvih mreža korištenjem dobro definiranih i detaljnih grafičkih prikaza.



Slika 6. Matematički model metabolizma ugljikohidrata u programu *CellDesigner*

4.2. PRIKAZ RAZVIJENIH JELOVNIKA

U ovom radu prikazana su tri osmišljena jelovnika koji se razlikuju prema udjelu ugljikohidrata. Energetska vrijednost svakog jelovnika je 2500 kcal (± 100 kcal).

Jelovnik 1 prikazan u tablici 4 prati smjernice za prehranu dijabetičara. Osobama oboljelim od šećerne bolesti preporuča se konzumiranje hrane u obliku više manjih obroka raspoređenih po danu (Prašek i Jakir, 2009). Osmišljeno je 6 obroka koji su preporuka kod osoba čija se terapija bazira na oralnim hipoglikemicima. Tri veća obroka su zajuttrak, ručak i večera te svaki od njih mora sadržavati sve makronutrijente: ugljikohidrate, proteine i masti. Doručak, užina i noćni obrok smatraju se manjim obrocima koji sprječavaju glad, a ne opterećuju gušteraču s lučenjem inzulina (Prašek i Jakir, 2009).

Prilikom izbora izvora ugljikohidrata u prehrani, prvi izbor trebale bi biti cjelovite žitarice, mahunarke, voće, povrće i mliječni proizvodi, s naglaskom na namirnice koje imaju viši udio vlakana. Što se tiče neugljikohidratnih izvora hrane, prednost imaju riba i nemasno meso te kvalitetne masnoće poput orašastih plodova i maslinovog ulja (KBC Zagreb, 2019). Jedna od

glavnih preporuka za oboljele od šećerne bolesti je pridržavati se dijabetičke prehrane uzimajući u obzir raspored jedinica i količine hrane, a obroke bazirati na mediteranskom tipu prehrane koja podrazumijeva žitarice, povrće, voće, ribu, maslinovo ulje i mediteranske začine.

Smjernice KBC -a Zagreb (2017) ističu kako su ciljevi liječenja šećerne bolesti dijetoterapijom postići:

- 1) odgovarajuću razinu glukoze u krvi
- 2) uredan krvni tlak
- 3) profil lipida i lipoproteina koji smanjuju rizik od kardiovaskularnih bolesti
- 4) dolazak do i održavanje ciljane tjelesne mase
- 5) unos nutrijenata potrebnih kako bi se primijenili zdravi obrasci pravilne prehrane, uzimajući u obzir osobne i kulturološke osobine te sposobnosti mijenjanja navika pojedinca
- 6) zadržati užitak u konzumiranju hrane uz naglasak na raznovrsnu prehranu.

Jelovnik u radu rađen je prema smjernicama Kliničke bolnice Dubrava, a planiran je prema 6 već navedenih skupina. Zbog jednostavnijeg razumijevanja i sastavljanja jelovnika, hrana je posložena u jedinice iste energetske vrijednosti, no različite količine i težine. Za svaki obrok, ovisno o dnevnom kalorijskom unosu, potrebno je uzeti određenu količinu namirnice (Prašek i Jakir, 2009). Postotak makronutrijenata u navedenom dijabetičkom jelovniku je: 60 % ugljikohidrata (314 g), 24 % proteina (123 g) i 16 % masti (84,8 g).

Tablica 4. Jelovnik 1 prema smjernicama dijabetičke dijeta s unosom ugljikohidrata, vlakana, proteina i masti

DIJABETIČKI JELOVNIK		
ZAJUTRAK	2 šnite graham kruha (70g) 50 g pureće šunke 30 g polutvrdog sira 5 g maslaca 1 šalica jogurt light (240 mL) 190 g jagoda	57 g ugljikohidrata – 5,9 g vlakana = 51,1 g 28 g proteina 17,4 g masti
DORUČAK	1 dijabetičko pecivo (70 g) 60 g posnog sira 7 badema 1 manja banana (140 g)	60 g ugljikohidrata – 6,5 g vlakana = 53,5 g 13 g proteina 10 g masti
RUČAK	60 g pilećih prsa rizi-bizi (30 g riže, 45 g graška) 200 g kupus salate 2 čajne žličice maslinovog ulja	55 g ugljikohidrata – 7,3 g vlakana = 46,7 g 27 g proteina 20 g masti
UŽINA	1 šnita graham kruha 50 g pureće šunke 30 g avokada 240 mL soka od naranče	45 g ugljikohidrata – 3,6 g vlakana = 41,4 g 10 g proteina 10 g masti
VEČERA	60 g pastreve 200 g mahuna 300 g krumpira 2 čajne žličice maslinovog ulja 90 g grožđa	70 g ugljikohidrata – 33,8 g vlakana = 36,2 g 27 g proteina 20 g masti
KASNI OBROK	30 g integralnog dvopeka 30 g sirnog namaza light 240 mL kefira	27 g ugljikohidrata – 2 g vlakana = 25 g 18 g proteina 7,4 g masti

Sljedeći jelovnik, prikazan u tablici 5, osmišljen je vodeći se smjernicama za ketogenu dijetu, no s dozom umjerenosti. Ketogena dijeta je dijeta s velikim postotkom masti, a malim postotkom ugljikohidrata koja učinkom gladovanja dovodi tijelo u ketozu. Rusek i sur. (2019) navode kako ketonska tijela imaju neuroprotektivni utjecaj na starenje moždanih stanica te mogu poboljšati funkciju mitohondrija i smanjiti ekspresiju upalnih medijatora. Uzimajući u obzir djelovanje ketonskih tijela, proučavaju se kao potencijalna terapija za neurodegenerativne bolesti poput Alzheimerova.

Ketogena dijeta već je 1920 – ih godina korištena u cilju terapije refraktorne epilepsije (Pinto i sur., 2018). Do danas, postoje zapisi o ketogenoj dijeti kao potencijalnoj terapiji za neurodegenerativne bolesti kao što su Alzheimerova bolest, Parkinsonova bolest te bolesti poput inzulinske rezistencije u dijabetesu tipa 2 i amiotrofične lateralne skleroze. Zbog promijenjenog metabolizma glukoze, ketogena dijeta također može imati anti tumorski efekt te pozitivan utjecaj na glaukom (Zarnowski i sur., 2012) ili rak želuca (Otto i sur., 2008).

Ułamek-Kozioł i sur. (2019) u preglednom su radu naveli nekoliko randomiziranih kliničkih istraživanja koja pokazuju obećavajuće rezultate u provođenju ketogene dijetе kod epilepsije koja je otporna na lijekove. Naime, trenutne opcije liječenja za epilepsiju su limitirane, a uključuju antikonvulzive ili operaciju, nakon koje i dalje ostaje određen postotak ljudi sa napadajima. U tom slučaju preporuča se pristup liječenja putem ketogene dijetе. Vjeruje se kako moždano tkivo pod utjecajem ketonskih tijela postaje otpornije na metabolički stres što povećava prag za napadaje (Ułamek-Kozioł i sur., 2019). Rezultati kliničkih ispitivanja potvrđuju kako je strogo pridržavanje niskog unosa ugljikohidrata te povećanog unosa masti ključ uspjeha prilikom terapije epilepsije ketogenom dijetom.

Unatoč dugom prakticiranju, istraživanja na ovu temu ima malo te uglavnom s malim brojem pacijenata stoga su dodatna istraživanja potrebna. Potrebno je potvrditi utjecaj ketogene dijetе na različite vrste epilepsije te razriješiti neke od nedoumica, kao što je vremensko trajanje konzumacije ketonske dijetе. Kao i kod svake prehrane, izbor namirnica mora biti personaliziran, ovisno o dobi pacijenta, načinu života te vrsti epilepsije.

Što se tiče Alzheimerove bolesti, klinička istraživanja pokazala su povezanost između visoko glikemijske dijetе i povećanja taloženja cerebralnog amiloida (proteina koji se veže uz Alzheimerovu bolest) u miševima i ljudima (Taylor i sur., 2017), predlažući da bi inzulinska

rezistencija moždanog tkiva mogla utjecati na njen razvoj (de la Monte, 2017). S obzirom da trenutno nema uspješnog načina sprječavanja razvoja rizika od Alzheimerove bolesti ili usporavanja njegova procesa, uzimaju se u obzir i na promatranje i rezultati kliničkih istraživanja koji proučavaju promjene u životnom stilu i prehrani (Barnard, 2014). Ketogena dijeta, kalorijska restrikcija, mediteranska dijeta, DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) dijeta i mediteranska DASH dijeta neke su od prehrambenih obrazaca koje se preporučuju prilikom pokušaja smanjenja neuropatoloških obilježja ove bolesti (Omar, 2019).

Pozitivan utjecaj ketonskih tijela na organizam uključuje poboljšanje funkcije mitohondrija te staničnog metabolizma, što se povezuje s napretkom u kognitivnim funkcijama starijih osoba koje boluju od Alzheimerove bolesti. Najbolji rezultati ipak se očekuju tijekom rane, presimptomatske faze bolesti (Rusek i sur., 2019).

Prilikom osmišljavanja jelovnika prikazanog u tablici 5, ciljalo se na unos ugljikohidrata manji od 10 %, dok je ostatak dnevnog kalorijskog unosa raspoređen između proteina i masti. To znači da je postotak makronutrijenata u navedenom jelovniku: 7 % ugljikohidrata (29,6 g), 46 % proteina (183,5 g) i 46 % masti (184,3 g).

Tablica 5. Jelovnik 2 (vođen keto smjernicama) s unosom ugljikohidrata, vlakana, proteina i masti

JELOVNIK S MALIM POSTOTKOM UGLJIKOHIDRATA		
DORUČAK	200 g jaja 70 g slanine 70 g cheddar sira 80 g šampinjona 15 g maslinovog ulja	5,8 g ugljikohidrata – 1 g vlakana = 4,8 g 49,8 g proteina 87,1 g masti
RUČAK	Salata od piletine 200 g piletine 140 g salate kristal 100 g mozzarella sira 50 g zelenih maslina 60 g avokada 15 g maslinovog ulja	14,7 g ugljikohidrata – 7,4 g vlakana = 7,3 g 78,1 g proteina 58,6 g masti
VEČERA	250 g lososa 150 g šparoga 15 g maslaca 150 g salate od krastavaca 15 g maslinovog ulja 5 g octa	9,1 g ugljikohidrata – 4,2 g vlakana = 4,9 g 55,6 g proteina 38,6 g masti

Posljednji jelovnik, prikazan u tablici 6, osmišljen je prema prehranbenim smjernicama za opću populaciju s obzirom na udjel makronutrijenata. Osim makronutrijenata, vitamina i minerala, hrana sadržava i veliki broj prirodnih tvari poput karotenoida, izoflavona, flavonoida i inhibitora proteaza koji mogu pomoći u prevenciji kroničnih bolesti (Alebić, 2008). Pravilna prehrana neophodna je za pravilan rast, razvoj i obranu od bolesti, a pravilno izbalansiranu prehranu karakteriziraju kontroliran energetske unos, adekvatnost (podmirivanje potreba organizma za nutrijentima i energijom), uravnoteženost, nutritivna gustoća, raznolikost i umjerenost (Alebić, 2008). Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) preporučuje dnevni unos od 45-60 % ugljikohidrata, 10-35 % proteina i 20-35 % masti kod zdravih pojedinaca. Jelovnik priložen u radu sastoji se od 59 % ugljikohidrata (302,9 g), 20 % proteina (183,6 g) i 21 % masti (107,5 g).

Tablica 6. Jelovnik 3 za opću populaciju s unosom ugljikohidrata, vlakana, proteina i masti

SVAKODNEVAN JELOVNIK ZA ZDRAVE OSOBE		
DORUČAK	Zobena kaša 80 g zobenih pahuljica 200 mL mlijeka 25 g maslaca od kikirikija 120 g banana	94,9 g ugljikohidrata – 13,1 g vlakana = 81,8 g 27,7 g proteina 22,5 g masti
UŽINA	130 g jabuke 25 g badema	23,4 g ugljikohidrata – 6,2 g vlakana = 17,2 g 5,6 g proteina 12,6 g masti
RUČAK	Tortilje s piletinom 2 tortilje 130 g pileline 70 g kukuruza 160 g umaka od rajčice 15 g lanenih sjemenki 10 g maslinovog ulja	81,1 g ugljikohidrata – 7,6 g vlakana = 73,5 g 45,4 g proteina 28,6 g masti
MEĐUOBROK	60 g mrkve 30 g tvrdog sira	5,7 g ugljikohidrata – 1,7 g vlakana = 4 g 7,8 g proteina 10,3 g masti
VEČERA	Njoki s tikvicama i sirom 250 g njoka 140 g tikvice 100 g vrhnja za kuhanje 8 g parmezana 10 g maslinovog ulja	97,1 g ugljikohidrata – 1,5 g vlakana = 95,6 g 15,3 g proteina 33,5 g masti

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

U sklopu ovog rada provedene su simulacije s različitim početnim koncentracijama glukoze. Za izračun unosa glukoze korištene su količine ugljikohidrata iz jelovnika prikazanih u tablicama 4-6, umanjene za količinu vlakana. Izračun je rađen pojedinačno za svaki obrok. Osim

promjena u koncentraciji glukoze (G_p) u krvnoj plazmi, praćena je i promjena u koncentraciji inzulina (I_p) tijekom vremena od 240 minuta. Na slikama 7-20 prikazane su promjene u koncentraciji glukoze i inzulina u krvnoj plazmi.

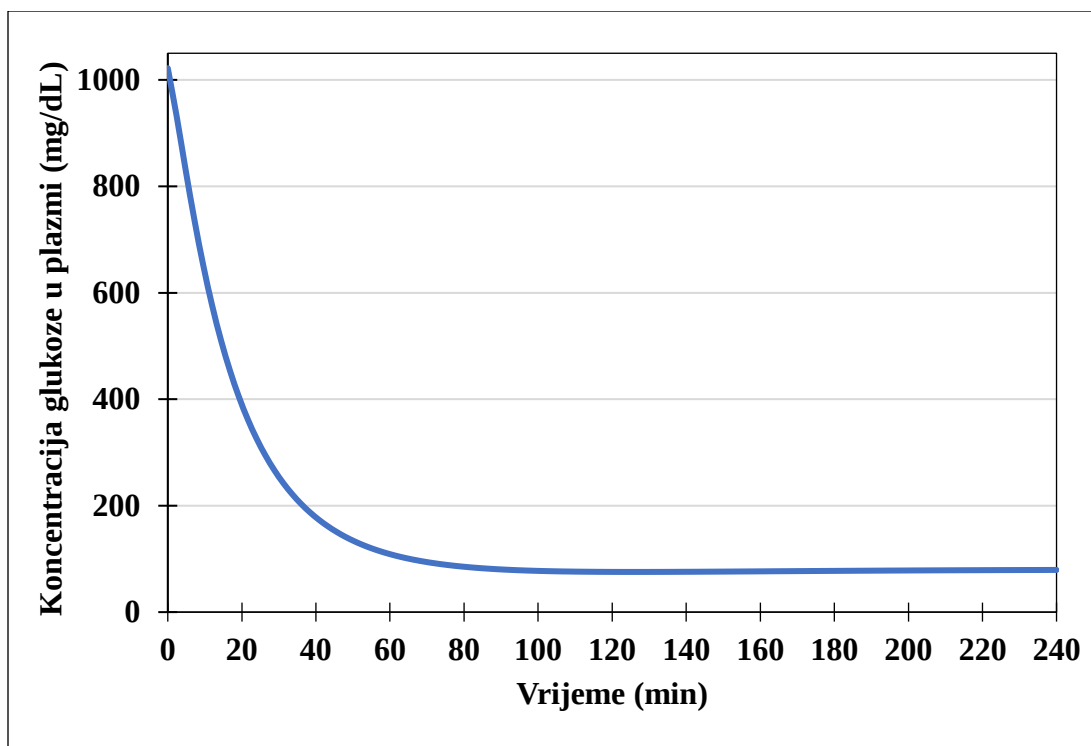
Rezultati tri modela prikazana u radu Kang i sur. (2012) demonstrirala su postepeno smanjivanje koncentracije glukoze u plazmi od hiperglikemije do referentnih razina glukoze unutar 120 minuta od obroka. Na slikama 7, 9, 11, 13, 15, 17 i 19 vidi se kako u početku, ovisno o početnoj koncentraciji glukoze u pojedinom obroku, dolazi do porasta glukoze. Do stabilizacije koncentracije dolazi unutar 120 minuta, čak i ranije, po čemu se dobiveni rezultati slažu s eksperimentalnim podacima. Na navedenim slikama možemo pratiti različitu brzinu porasta glukoze ovisno o kojem se jelovniku radi. Kod dijabetičkog jelovnika, u kojem je važna regulacija glukoze, obroci u prvom dijelu dana su bogati ugljikohidratima, odnosno glukozom, a zatim se količina smanjuje kroz dan. Pad koncentracije glukoze nakon obroka nije nagao i uglavnom se stabilizira unutar 90 minuta.

Kod jelovnika s malim udjelom ugljikohidrata, porast koncentracije skoro niti ne postoji ili je minimalan, što je u skladu s osmišljenim jelovnikom gdje se obroci sastoje od svega par grama glukoze. Sukladno tome, na slikama 10, 14 i 18 vidljivo je kako je i porast inzulina minimalan, što je logično s obzirom na to da se inzulin izlučuje prilikom visoke koncentracije glukoze u krvi što kod ovih obroka nije slučaj.

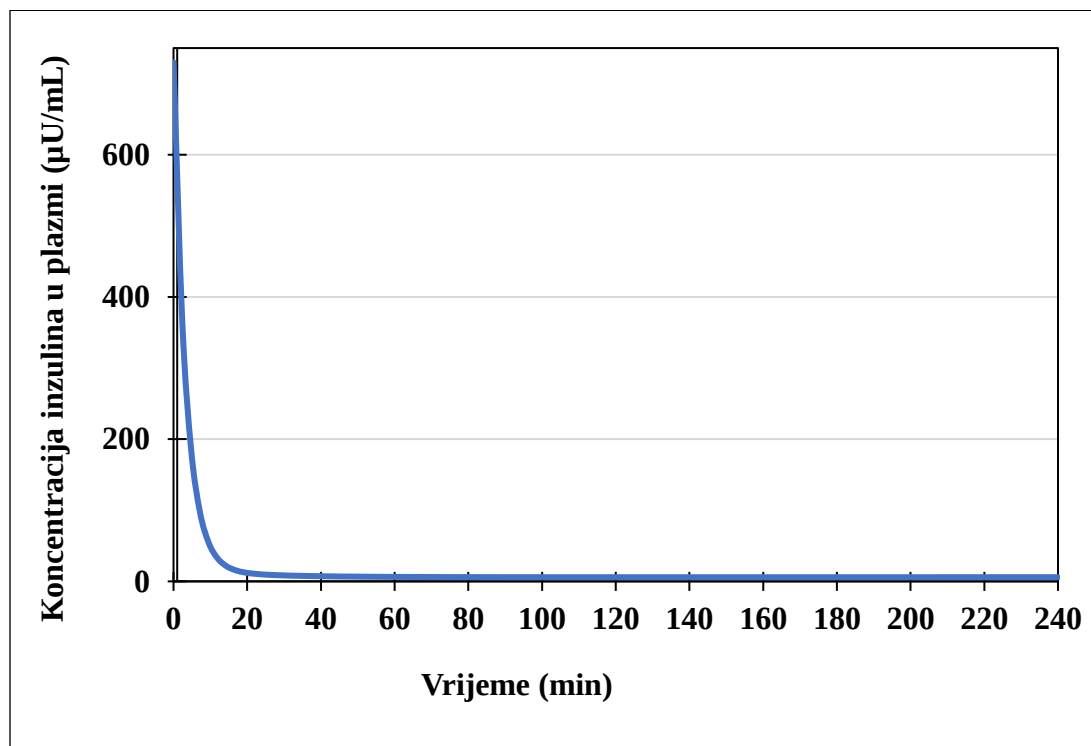
S druge strane, kod jelovnika osmišljenog za zdravu populaciju, vidljivi su veći skokovi, stoga i nagliji padovi razine glukoze u krvnoj plazmi. Međutim, ovakvi rezultati su u skladu s jelovnikom s obzirom na to da je u tim obrocima koncentracija glukoze najveća.

Djelovanje inzulina ovisi o glukozu. Postprandijalni porast u koncentraciji glukoze aktivira izlučivanje inzulina (Campbell i Newgard, 2021). To znači da u zdravih pojedinaca, porast koncentracije glukoze uzrokuje porast koncentracije inzulina. Dobiveni rezultati poklapaju se dosadašnjim eksperimentalnim podacima što prikazuju slike 8, 10, 12, 14, 16, 18 i 20. Djelovanje inzulina može se podijeliti na dva dijela: prvi dio koji traje svega nekoliko minuta, a karakteriziran je brzim porastom koncentracije inzulina i drugi koji traje duže, a karakterizira ga stabilizacija i lagano smanjenje koncentracije inzulina (Eliasson i sur., 2008). Nakon obroka, koncentracija inzulina u plazmi je visoka, no smanjenje koncentracije, odnosno stabilizacija, je vrlo brza i uglavnom se dogodi u prvih 20 minuta. Nakon toga, koncentracija je stabilna i kroz vrijeme se

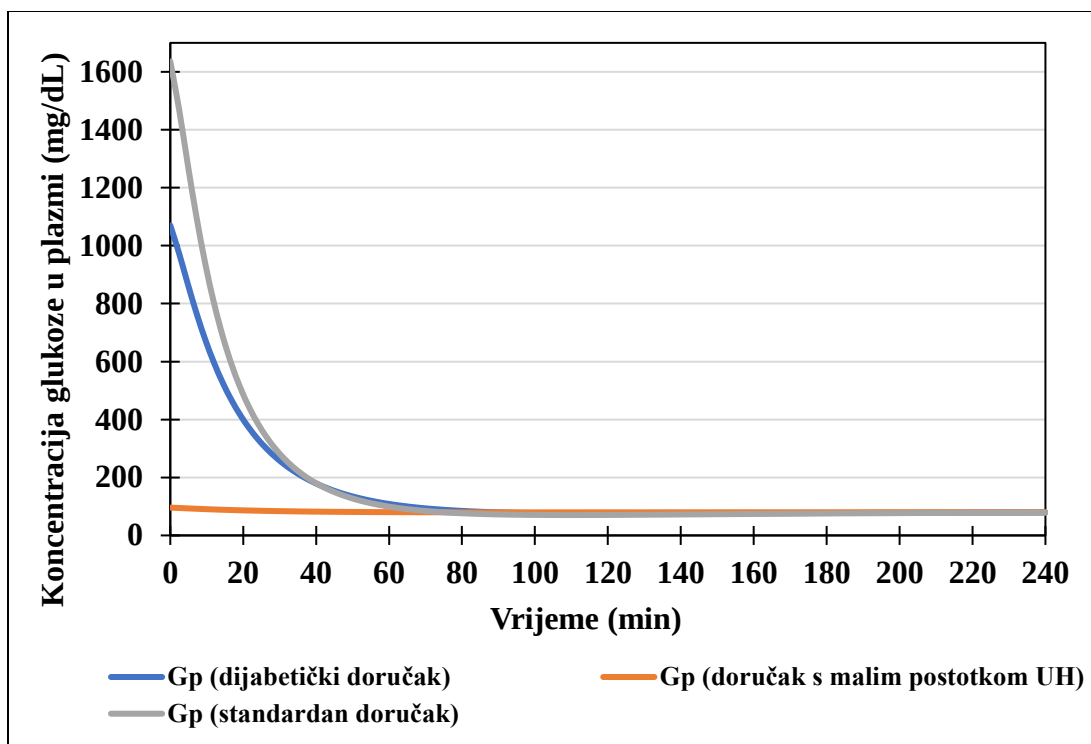
dodatno smanji. Najveći skokovi očekivani su kod obroka sa najvećom količinom glukoze što se može vidjeti kod linija koje predstavljaju regularan jelovnik. Kod jelovnika s malom količinom ugljikohidrata porast inzulina je minimalan, sukladno maloj količini glukoze u obrocima. Reakcija kod obroka za dijabetičare je također očekivana; inzulin raste u skladu s količinom glukoze.



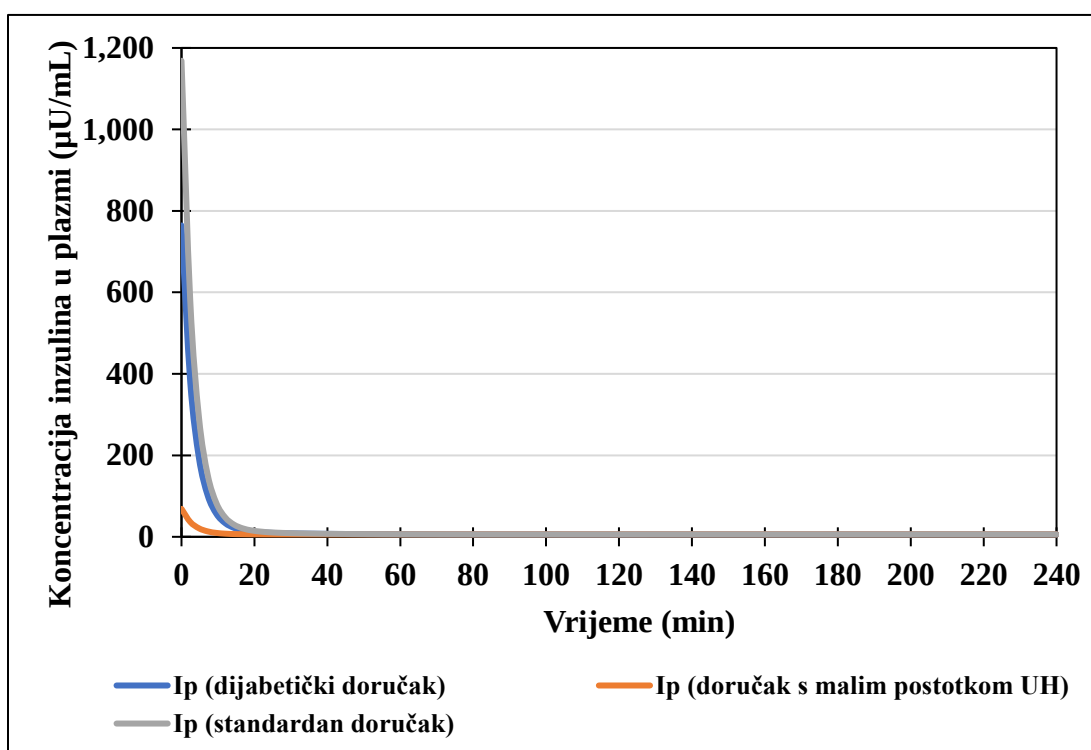
Slika 7. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon zajutrka



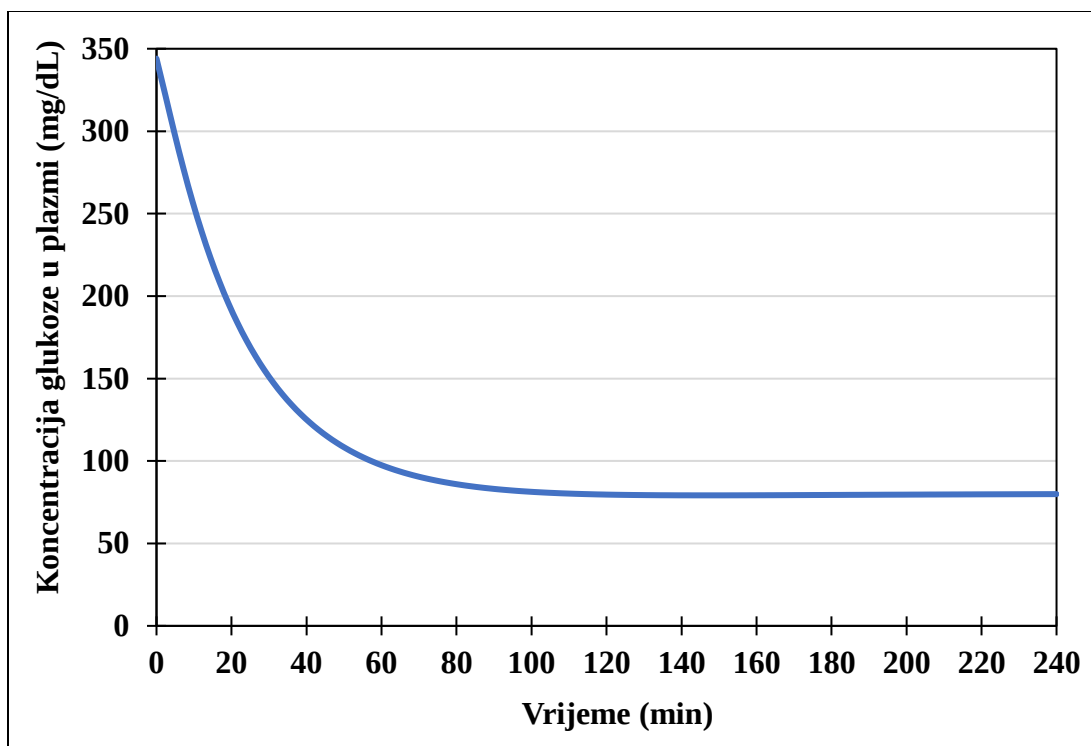
Slika 8. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon zajutrka



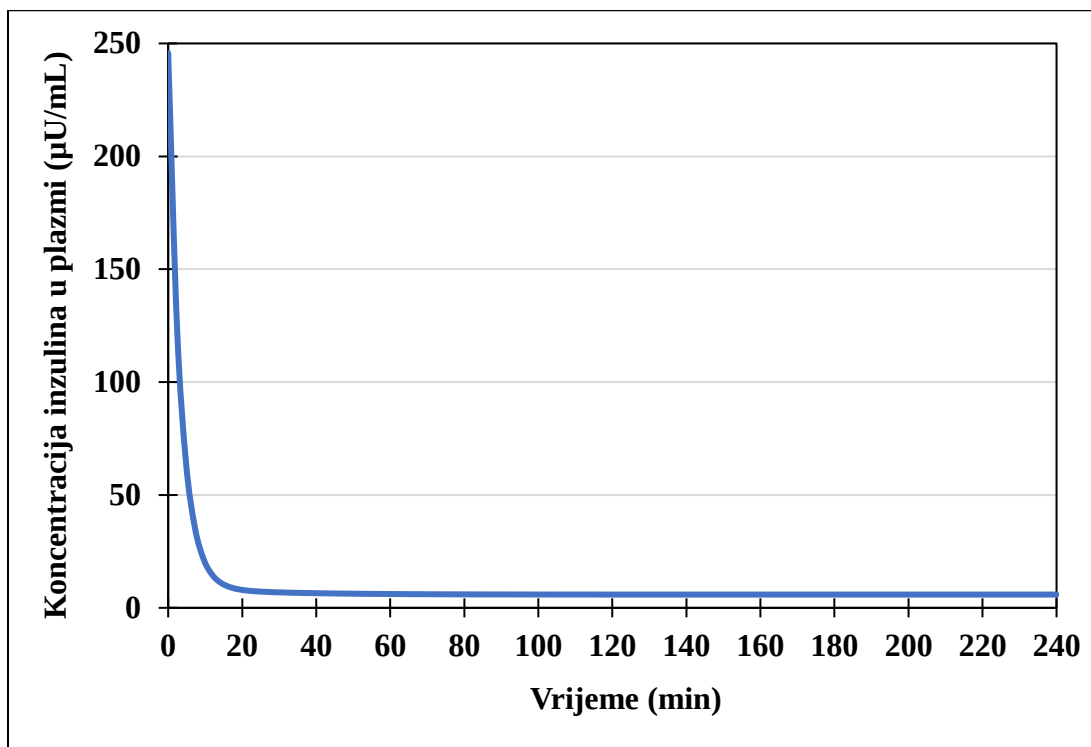
Slika 9. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon doručka



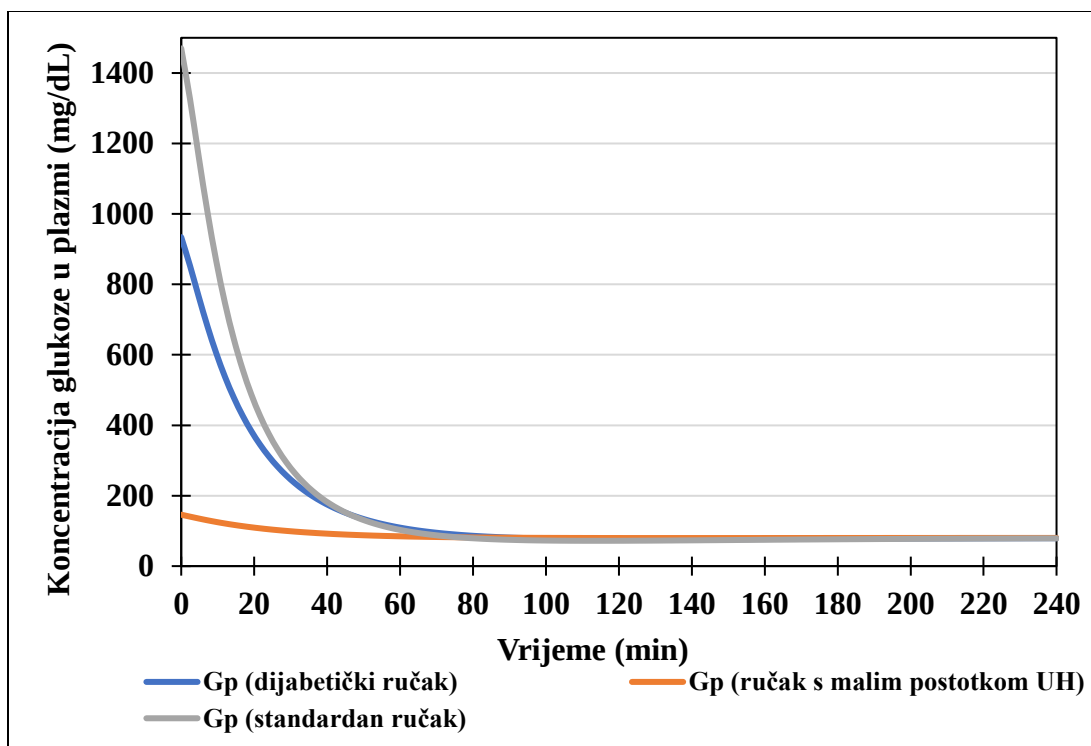
Slika 10. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon doručka



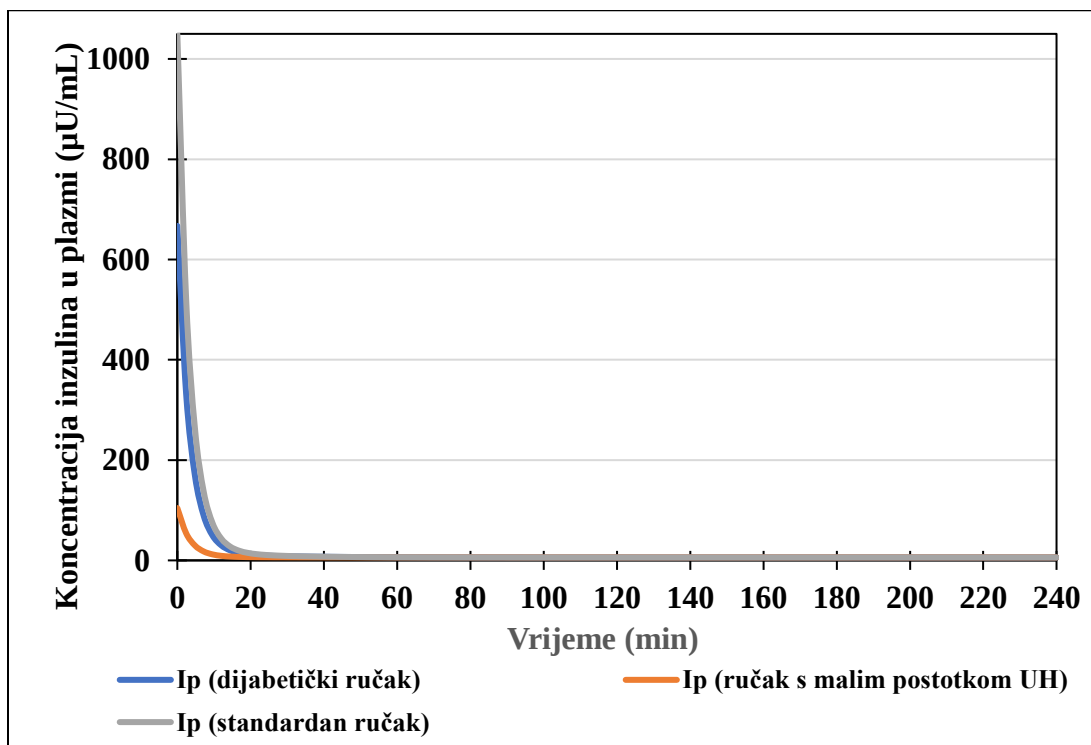
Slika 11. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon 1. užine standardnog jelovnika



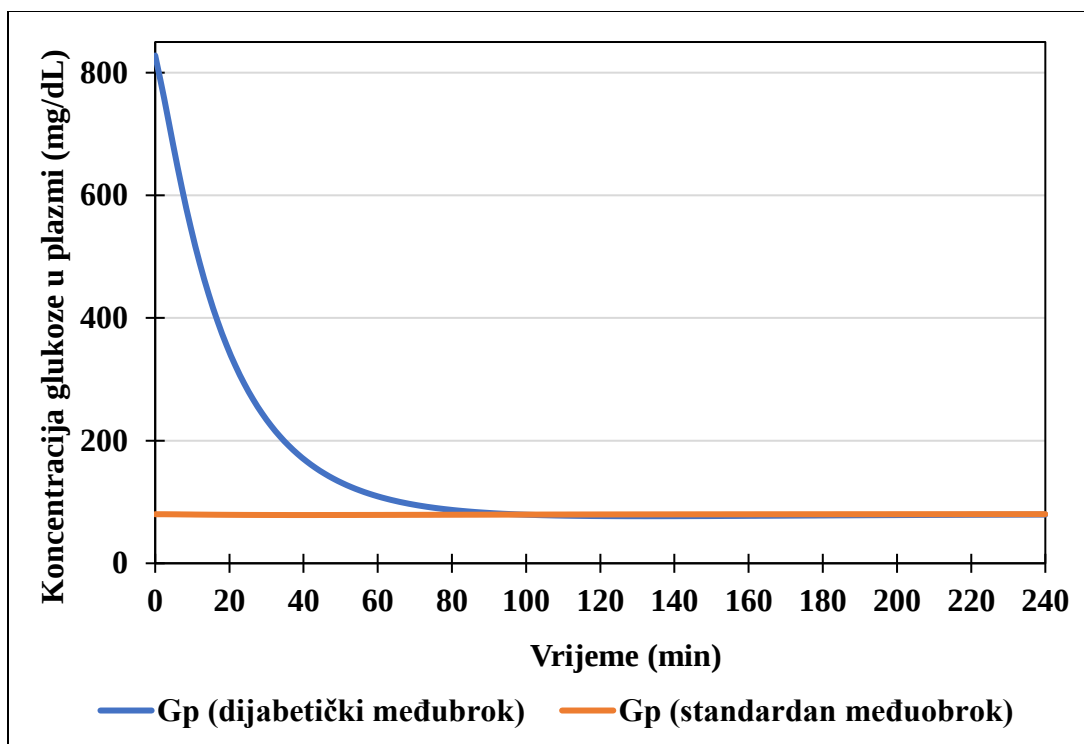
Slika 12. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon 1. užine standardnog jelovnika



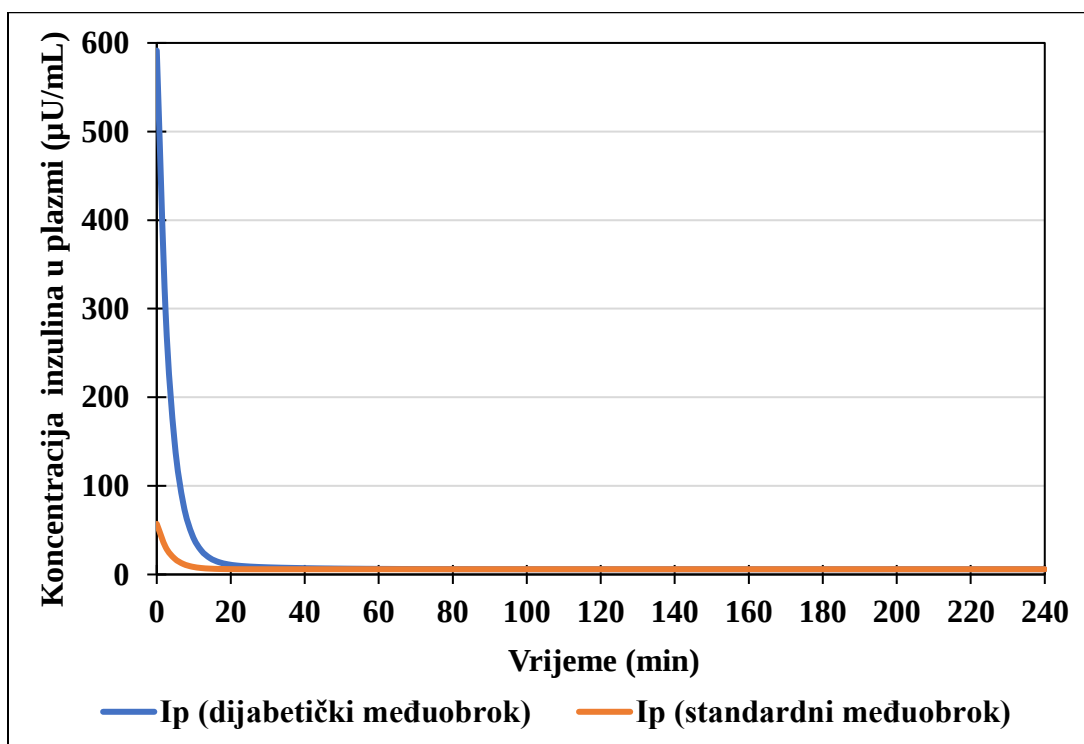
Slika 13. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon ručka



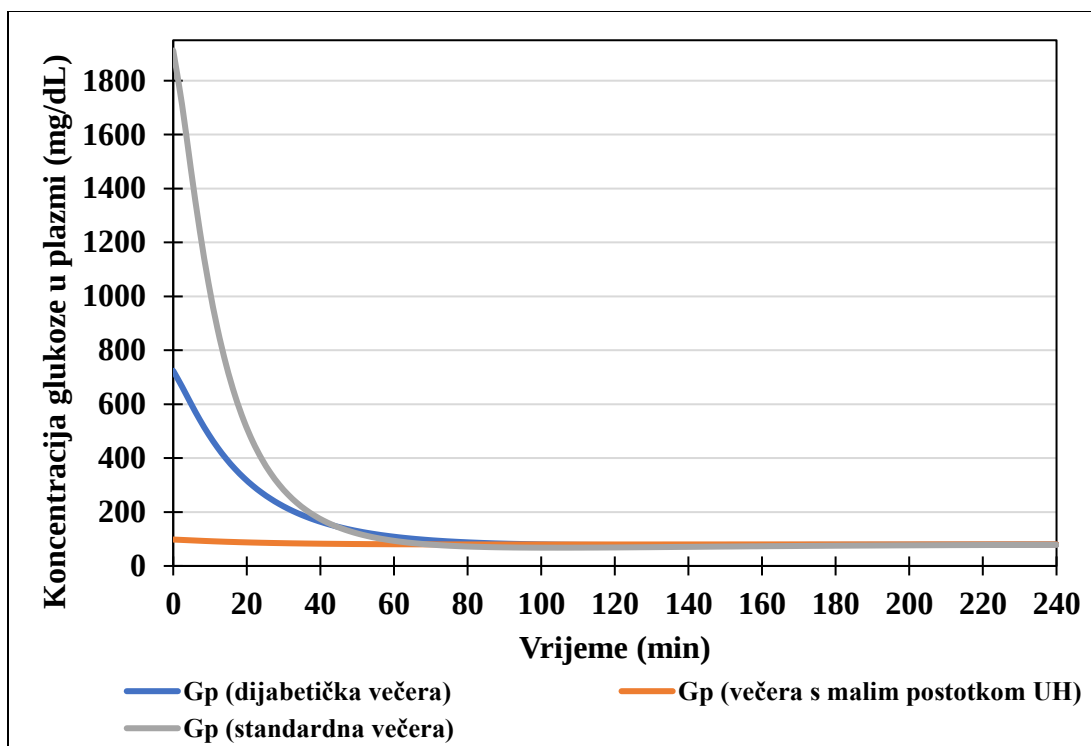
Slika 14. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon ručka



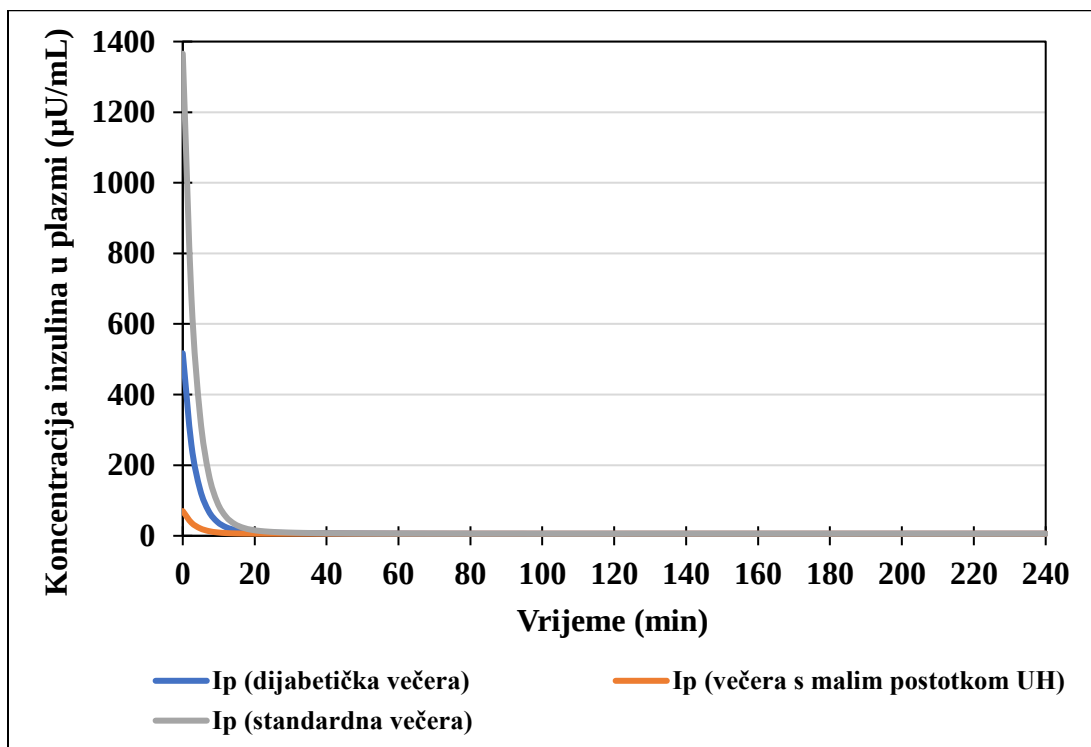
Slika 15. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon međuobroka



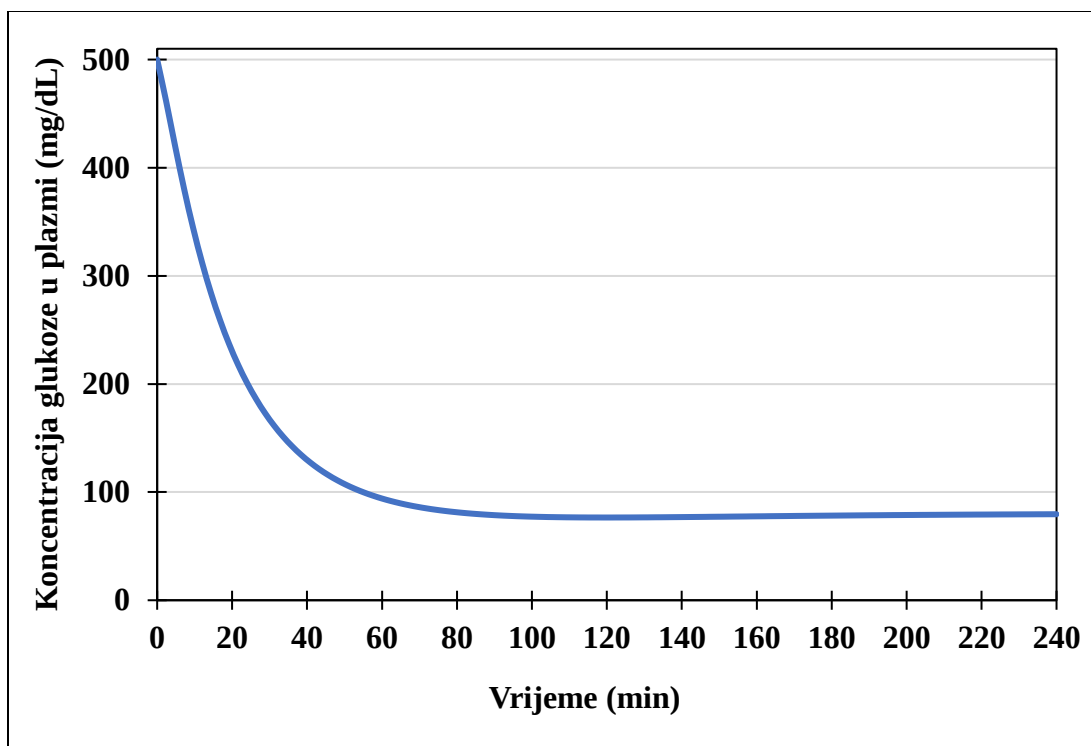
Slika 16. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon međuobroka



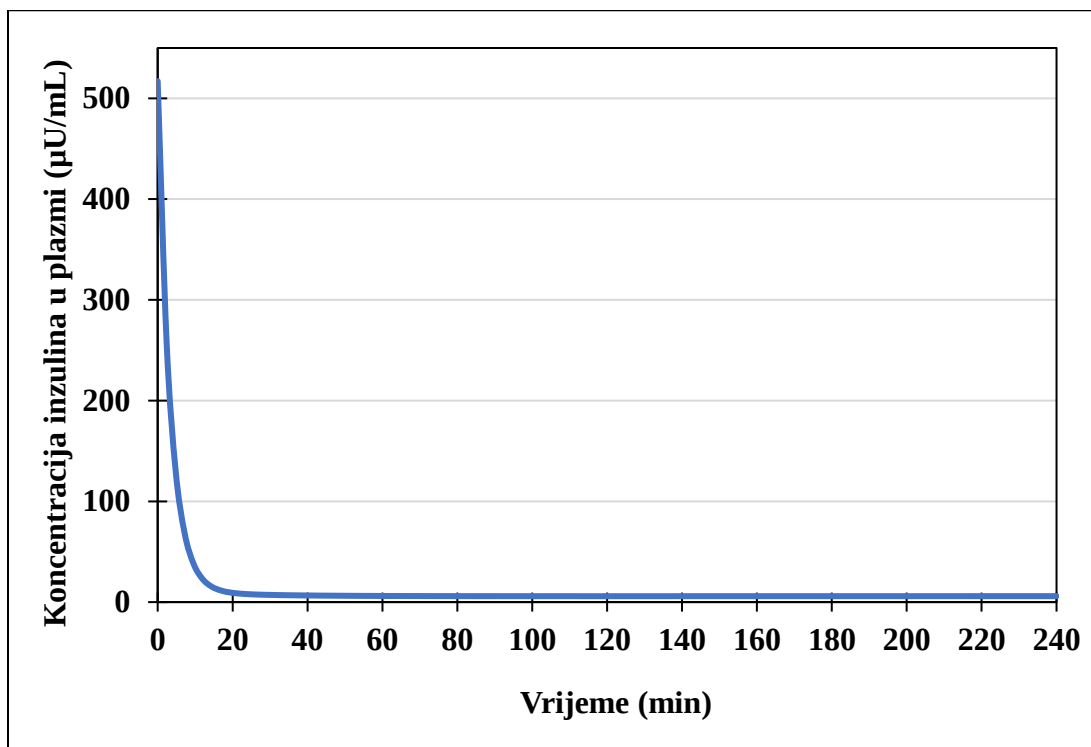
Slika 17. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon večere



Slika 18. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon večere



Slika 19. Grafički prikaz koncentracije glukoze u plazmi nakon noćnog obroka



Slika 20. Grafički prikaz koncentracije inzulina u plazmi nakon noćnog obroka

4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI

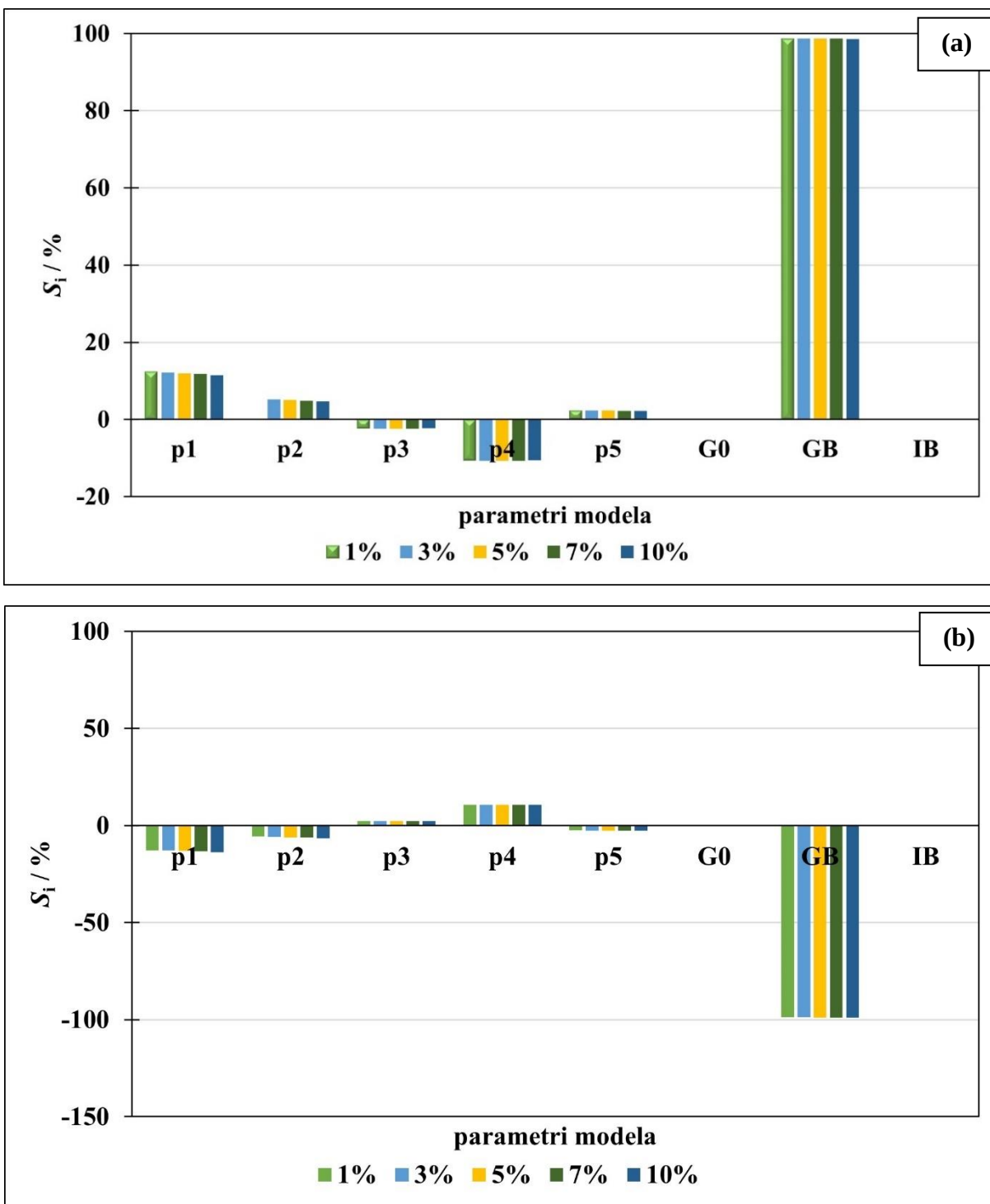
Sistemska biologija proučava interakcije između komponenata biološkog sustava, a često uključuje izradu matematičkog modela (Marino i sur., 2008) kojim se pokušavaju prikazati biotehnološki procesi na jednostavniji način na temelju informacija prikupljenih iz raznolikih izvora. S obzirom na sve veću količinu dostupnih informacija, dolazi do povećanja složenosti modela (Quang i sur., 2019). No, eksperimentalni podaci koji se koriste trebali bi služiti kao vodilja prilikom stvaranja modela te pomoći pri njegovom oblikovanju (Marino i sur., 2008). Prilikom ovog procesa može doći do komplikacija, posebice kada se radi o kompleksnom i zapetljanom procesu.

Većina matematičkih modela koji prikazuju biološki sustav provode se u obliku diferencijalnih jednadžbi koje prate promjene pojedine varijable tijekom određenog vremena (Kent i sur., 2013). Jedan od najvećih izazova predstavlja odabir vrijednosti parametara, iz razloga što je nekada jednostavno nemoguće procijeniti stvarnu vrijednost parametra. U tom slučaju, model može postati nepouzdan, stoga je važno provesti analize kojima procijenjujemo učinak promjene vrijednosti ulaznih parametara na izlazne varijable modela, a to je moguće analizom lokalne parametarske osjetljivosti.

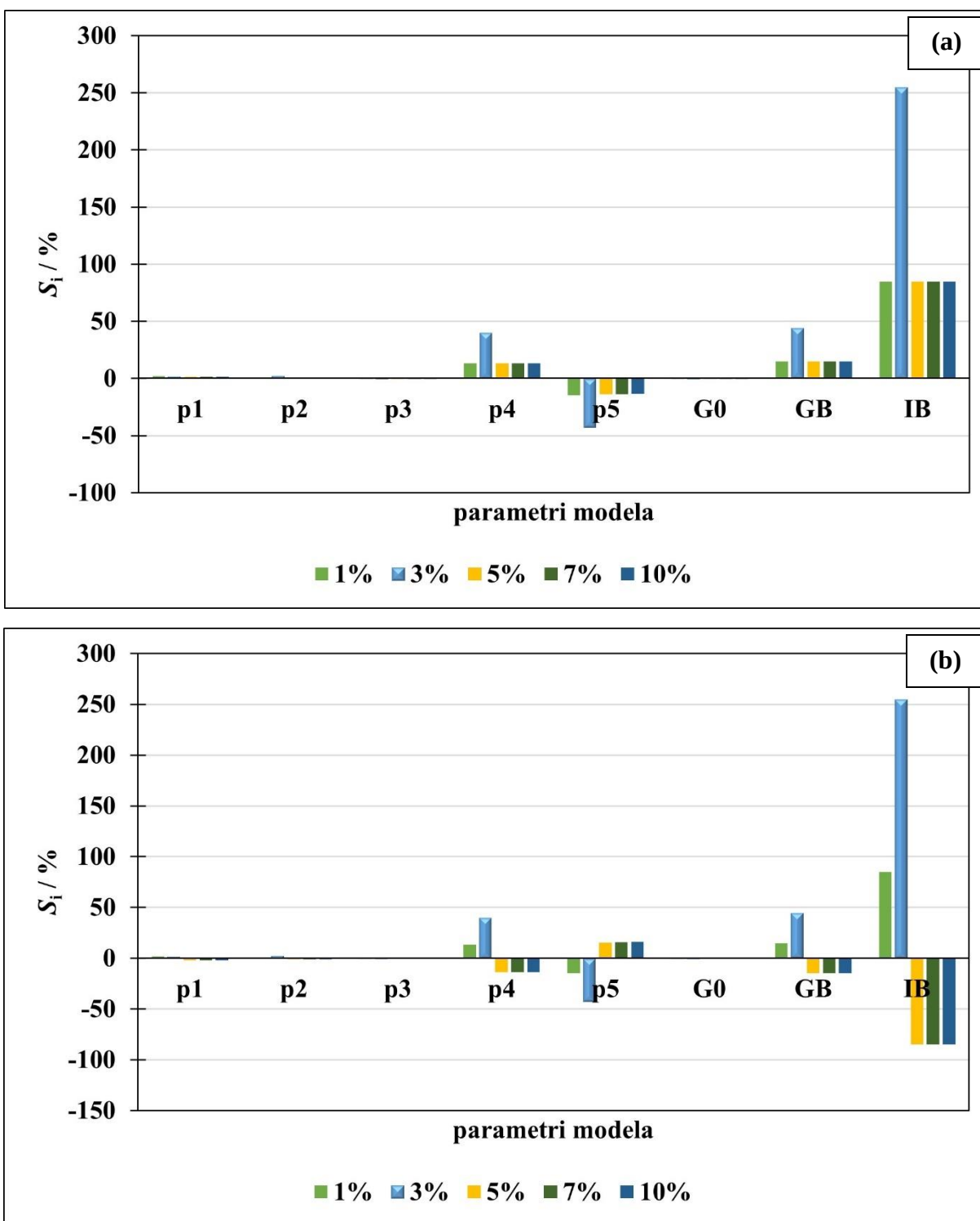
U ovom radu provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti svih parametara modela na izlazne varijable modela koje su uključivale koncentraciju glukoze i inzulina u plazmi te sposobnost unosa glukoze. Kao početne vrijednosti glukoze i inzulina korištene su vrijednosti dobivene prilikom izrade jelovnika za dijabetičare te se radi o obroku ručka koji je prikazan u tablici 4. Ispitivan je utjecaj povećanja i smanjenja vrijednosti pojedinog parametra za 1, 3, 5, 7 i 10 % na izlazne vrijednosti varijabli modela, a rezultati su prikazani na slikama 21-23. Rezultati su prikazani pomoću *MS Excel 365*.

Na temelju prikazanih rezultata (slika 21 a i b) može se primjetiti kako izlazne vrijednosti koncentracije glukoze u plazmi pokazuju najveću osjetljivost na promjene vrijednosti parametra koji označava koncentraciju bazalne glukoze. Povećanje vrijednosti bazalne koncentracije glukoze, ima pozitivan utjecaj na koncentraciju glukoze u plazmi, dok smanjenje bazalne koncentracije glukoze za svih 5 analiziranih postotaka ima negativan utjecaj na koncentraciju glukoze u plazmi. Nadalje, može se uočiti da i ostali parametri pokazuju obrnute utjecaje ovisno o

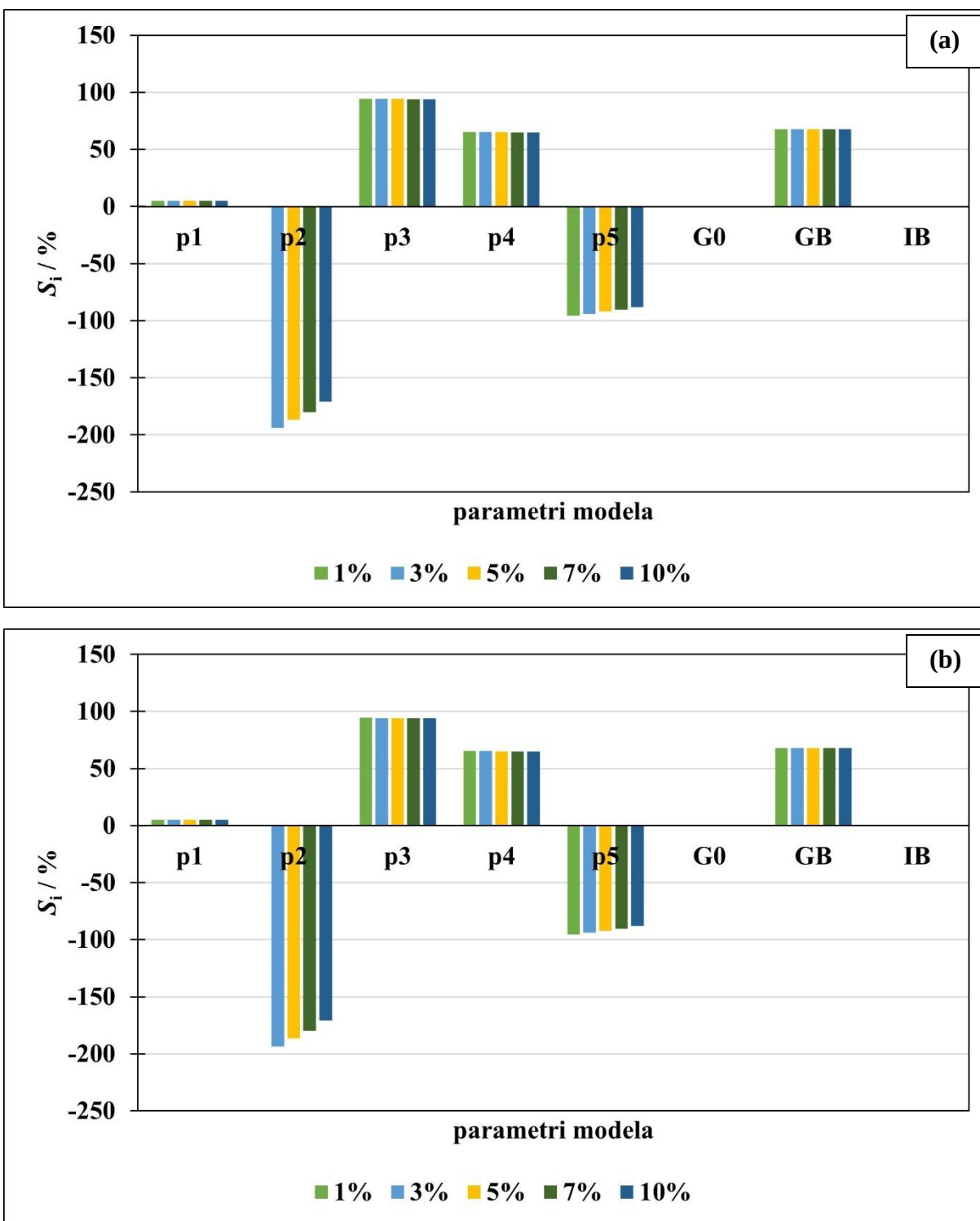
smanjenju ili povećanju njihove početne vrijednosti. U slučaju koncentracije inzulina (slika 22 a i b), rezultati pokazuju najveću osjetljivost na promjenu bazalne koncentracije inzulina. Zanimljivo je za napomenuti da je najveća vrijednost koeficijenta osjetljivosti izračunata za 3% povećanje vrijednosti bazalne koncentracije inzulina. Uočeno je također da povećanje vrijednosti parametra I_B ima pozitivan utjecaj na koncentraciju inzulina u plazmi. U slučaju smanjenja vrijednosti parametra I_B uočeno je da smanjenje vrijednosti za 1 % i 3 % pozitivno utječe na koncentracije inzulina u plazmi dok smanjenje vrijednosti parametra za ostale analizirane postotke ima negativan utjecaj. Ispitan je i utjecaj parametara modela na sposobnosti unosa glukoze (slika 23 a i b) te je uočeno da na promjenu vrijednosti koncentracije u stacionarnom stanju najviše utječe promjena vrijednosti parametra p_2 tj. konstanta brzine smanjenja sposobnosti unosa inzulina. Promjena vrijednosti navedenog parametra negativno utječe na sposobnost unosa glukoze.



Slika 21. Grafički prikaz lokalne osjetljivosti koncentracije glukoze u plazmi (G_p) na (a) povećanje i (b) smanjenje vrijednosti kinetičkih parametara za 1, 3, 5, 7 i 10 %



Slika 22. Grafički prikaz lokalne osjetljivosti koncentracije inzulina u plazmi (G_p) na (a) povećanje i (b) smanjenje vrijednosti kinetičkih parametara za 1, 3, 5, 7 i 10 %



Slika 23. Grafički prikaz lokalne osjetljivosti sposobnosti unosa glukoze (X) na (a) povećanje i (b) smanjenje vrijednosti kinetičkih parametara za 1, 3, 5, 7 i 10 %

5. ZAKLJUČAK

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

- 1) Simulacija metabolizma glukoze u računalnom programu *CellDesigner* je uspješna, dobivena promjena koncentracije glukoze i inzulina u krvnoj plazmi u skladu je s dosadašnjim eksperimentalnim podacima.
- 2) U modelu je, zbog veće jednostavnosti, isključena uloga glukagona koja kod regulacije glukoze nije zanemariva. S obzirom na njegovu važnost, to se može smatrati jednim od nedostataka modela.
- 3) Uočeno je da je uloga inzulina u regulaciji glukoze vrlo važna, a povišena koncentracija glukoze stimulira izlučivanje inzulina.
- 4) Analiza lokalne parametarske osjetljivosti omogućava detektiranje ključnih parametara modela.
- 5) Multidiscipliniranost ima veliku ulogu u nutricionizmu te uz pomoć računalnih alata nudi individualizirani pristup koji je ključ uspješne dijetoterapije.

6. LITERATURA

ADA (2022) Hypoglycemia (Low Blood Glucose). ADA – American Diabetes Association, <https://diabetes.org/healthy-living/medication-treatments/blood-glucose-testing-and-control/hypoglycemia>. Pristupljeno 20. kolovoza 2022.

Alamri BN, Shin K, Chappe V, Anini Y (2016) The role of ghrelin in the regulation of glucose homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Invest* **26**, 3-11. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0018>

Alebić IJ (2008) Prehrambene smjernice i osobitosti osnovnih skupina namirnica. *Medicus* **17**, 37-46.

Barnard ND, Bush AI, Ceccarelli A, Cooper J, de Jager CA, Erickson KI i sur. (2014) Dietary and lifestyle guidelines for the prevention of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **35**, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.033>

Bašić M, Zrnec D, Butorac A, Landeka Jurčević I, Đikić D, Bačun – Družina V (2011) Što je nutrigenomika? *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **6**, 37-44.

Bliss M. (1993) The history of insulin. *Diabetes Care* **16**, 4-7.

Boden G (2008) Obesity and free fatty acids. *Endocrin Metab Clin* **37**, 635–646. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2008.06.007>

Broom GM, Shaw IC, Rucklidge JJ (2019) The ketogenic diet as a potential treatment and prevention strategy for Alzheimer's disease. *Nutrition* **60**, 118-121. <https://doi.org/10.1016/10.1016/j.nut.2018.10.003>

Campbell JE., Newgard CB (2021) Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion. *Nat Rev Mol Cell Bio* **22**, 142-158. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00317-7>

Cherrington AD (1999) Banting Lecture 1997. Control of glucose uptake and release by the liver in vivo. *Diabetes* **48**, 1198–214.

Costanzo LS (2002) Physiology, 2. izd., W.B. Saunders, Philadelphia.

- Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G i sur. (2018) Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* **41**, 2669-2701. <https://doi.org/10.2337/dci18-0033>
- De Gaetano A, Arino O (2000) Mathematical modelling of the intravenous glucose tolerance test. *J Math Biol* **40**, 136-168. <https://doi.org/10.1007/s002850050007>
- De Meyts P, Lefèbvre P.J. (2020) Pancreatic Hormones. U: Litwack (ured.) Hormonal Signaling in Biology and Medicine, Academic Press, str. 383-423. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813814-4.00017-1>
- De la Monte S.M. (2017) Insulin resistance and neurodegeneration: Progress towards the development of new therapeutics for Alzheimer's disease. *Drugs* **77**, 47–65. <https://doi.org/10.1007/s40265-016-0674-0>
- 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://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461>. Pristupljeno 20. lipnja 2022.
- EFSA (2010b) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. EFSA – European Food Safety Authority, <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1462>. Pristupljeno 20. lipnja 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>.
- Ferrannini E, DeFronzo RA (2015) Insulin actions in vivo: glucose metabolism. International textbook of diabetes mellitus, 4. izd., John Wiley & Sons, Chichester, str. 211–233.
- 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 (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)

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR (2010) Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol* **316**, 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.018>

Galsgaard KD, Pedersen J, Knop FK, Holst JJ, Wewer Albrechtsen NJ (2019) Glucagon Receptor Signaling and Lipid Metabolism. *Front Physiol* **10**, 413. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00413>

Guyton AC., Hall JE (2006). Textbook of Medical Physiology, 11. izd., Elsevier Saunders, Philadelphia, str. 961-977.

Hædersdal S, Lund A, Knop F.K., Vilsbøll T (2018) The Role of Glucagon in the Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes. *Mayo Clin Proc* **93**, 217-239. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.12.003>

Hammer M, Storey S, Hershey DS, Brady VJ, Davis E, Mandolfo N i sur. (2019) Hyperglycemia and Cancer: A State-of-the-Science Review. *Oncol Nurs Forum* **46**, 459-472. <https://doi.org/10.1188/19.ONF.459-472>

Henderson JN, Allen KV, Deary IJ, Frier BM (2003) Hypoglycaemia in insulin-treated Type 2 diabetes: frequency, symptoms and impaired awareness. *Diabetic Med* **20**, 1016-1021. <https://doi.org/10.1046/j.1464-5491.2003.01072.x>

Hesketh J, Wybranska I, Dommels Y, King M, Elliott R, Pico C i sur. (2006) Nutrient–gene interactions in benefit–risk analysis, *Brit J Nutr* **95**, 1232-1236. <https://doi.org/10.1079/bjn20061749>

Hocquette JF, Cassar-Malek I, Scalbert A, Guillou F (2009) Contribution of genomics to the understanding of physiological functions. *J Physiol Pharmacol* **60**, 5-16.

Holst JJ, Albrechtsen NJW, Pedersen J, Knop FK (2017) Glucagon and Amino Acids Are Linked in a Mutual Feedback Cycle: The Liver– α -Cell Axis. *Diabetes* **66**, 235–240. <https://doi.org/10.2337/db16-0994>

- Inoue K (2019) Sensitivity analysis for reproducible candidate values of model parameters in signaling hub model. *Plos One* **14**, 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211654>
- Jiang G, Zhang BB (2003) Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol -Endoc M* **284**, 671-678. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00492.2002>
- Kang H, Han K, Choi M (2012) Mathematical model for glucose regulation in the whole-body system. *Islets* **4**, 84-93. <https://doi.org/10.416/isl.19505>
- KBC Zagreb (2017). Osnovne smjernice u liječenju šećerne bolesti. <https://www.kbc-zagreb.hr/EasyEdit/UserFiles/dijetetika/osnovne-smjernice-u-lijecenju-secerne-bolestikbc-zagrebeva-pavic.pdf>. Pristupljeno 31. kolovoza 2022.
- KBC Zagreb (2019). Pravilna prehrana i praktični savjeti kod šećerne bolesti. <https://www.kbc-zagreb.hr/EasyEdit/UserFiles/dijetetika/pravilna-prehrana-i-prakticni-savjeti-kod-secerne-boleseti-1.pdf>. Pristupljeno 31. kolovoza 2022.
- 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>
- Keys A. (1965) Effects of different dietary fats on plasmalipid levels. *Lancet* **1**, 318-319. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(65\)91053-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(65)91053-6)
- Klover PJ, Mooney RA (2004) Hepatocytes: critical for glucose homeostasis. *Int J Biochem Cell B* **36**, 753–758. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.10.002>
- Lam CKL, Chari M, Lam TKT (2009) CNS Regulation of Glucose Homeostasis. *Physiology* **24**, 159-170. <https://doi.org/10.1152/physiol.00003.2009>
- Lau FC, Bagchi M, Sen C, Roy S, Bagchi D (2008) Nutrigenomic analysis of diet-gene interactions on functional supplements for weight management. *Curr Genomics* **9**, 239-251. <https://doi.org/10.2174/138920208784533638>
- Link KG, Stobb MT, Di Paola J, Neeves KB, Fogelson AL, Sindi SS i sur. (2018) A local and global sensitivity analysis of a mathematical model of coagulation and platelet deposition under flow. *Plos One* **13**, 1-38. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200917>

- Lomberk G, Urrutia R (2009) Primers on molecular pathways—the insulin pathway. *Pancreatology* **9**, 203–205. <https://doi.org/10.1159/000200021>
- Ma S, Suzuki K (2019) Keto-Adaptation and Endurance Exercise Capacity, Fatigue Recovery, and Exercise-Induced Muscle and Organ Damage Prevention: A Narrative Review. *Sports* **7**, 40. <https://doi.org/10.3390/sports7020040>
- 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>
- Masood W, Annamaraju P, Uppaluri KR (2021) Ketogenic Diet. U: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499830/>
- Mc Auley MT (2020) Systems biology and nutrition. U: Marriott BP, Birt DF, Stalling VA, Yates AA (ured.) Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism, 11. izd., Elsevier, str. 593-604.
- Mikiewicz D, Bierczyńska-Krzysik A, Sobolewska A, Stadnik D, Bogiel M, Pawłowska M i sur. (2017) Soluble insulin analogs combining rapid- and long-acting hypoglycemic properties – From an efficient *E. coli* expression system to a pharmaceutical formulation. *Plos One* **12**, 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172600>
- Mohorko N, Černelič-Bizjak M, Poklar-Vatovec T, Grom G, Kenig S, Petelin A i sur. (2019). Weight loss, improved physical performance, cognitive function, eating behavior, and metabolic profile in a 12-week ketogenic diet in obese adults. *Nutr Res* **62**, 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.11.007>
- Morales J, Schenider D (2014) Hypoglycemia. *Am J Med* **127**, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.07.004>
- Mouri MI, Badireddy M (2022) Hyperglycemia. U: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430900/>
- Müller TD, Finan B, Clemmensen C, DiMarchi RD, Tschöp MH (2017) The New Biology and Pharmacology of Glucagon. *Physiol Rev* **97**, 721–766. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2016>.

Nakrani MN, Wineland RH, Anjum F. Physiology (2021) Glucose Metabolism. U: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560599/>

Ng CL (2010) Hypoglycaemia in nondiabetic patients - evidence. *Aust Fam Physician* **39**, 399-404.

Niswender KD (2011) Basal Insulin: Physiology, Pharmacology, and Clinical Implications. *Postgrad Med* **123**, 7-26. <https://doi.org/10.3810/pgm.2011.07.2300>

Noori-Dalooi MR, Nejatizadeh A (2015). Nutritional Transcriptomics. U: Bagchi D, Swaroop A, Bagchi M (ured.) Genomics, Proteomics and Metabolomics in Nutraceuticals and Functional Foods, 2. izd., John Wiley & Sons, Chichester, str. 545–556. <https://doi.org/10.1002/9781118930458.ch43>

Oh R, Gilani B, Uppaluri KR (2021) Low Carbohydrate Diet. U: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)

Omar SH (2019) Mediterranean and MIND diets containing olive biophenols reduces the prevalence of Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci* **20**, 2797. <https://doi.org/10.3390/ijms20112797>

Otto C, Kaemmerer U, Illert B, Muehling B, Pfetzer N, Wittig R (2008) Growth of human gastric cancer cells in nude mice is delayed by a ketogenic diet supplemented with omega-3 fatty acids and medium-chain triglycerides. *Bmc Cancer* **8**, 122. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-122>.

Pacini G, Bergman RN (1986) MINIMOD: a computer program to calculate insulin sensitivity and pancreatic responsivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *Comput Met Prog Bio* **23**, 113-122. [https://doi.org/10.1016/0169-2607\(86\)90106-9](https://doi.org/10.1016/0169-2607(86)90106-9)

Panagiotou G, Nielsen J (2009) Nutritional Systems Biology: Definitions and Approaches. *Annu Rev Nutr* **29**, 329-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141138>

Pena-Romero AC, Navas-Carrillo D, Marin F, Orenes-Pinero E (2018) The future of nutrition: nutrigenomics and nutrigenetics in obesity and cardiovascular diseases. *Crit Rev Food Sci* **58**, 3030-3041. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1349731>

Pinto A., Bonucci A., Maggi E., Corsi M., Businaro R. (2018) Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of ketogenic diet: New perspectives for neuroprotection in Alzheimer's disease. *Antioxidants* **7**, 63. <https://doi.org/10.3390/antiox7050063>

Prašek M, Janjek A (2009) Izračun prehrane u terapiji šećerne bolesti. *Medix* **80/81**:177-184.

Precali A (2021) Hipoglikemija – što znači i kako liječiti? - Zagrebačko dijabetičko društvo. <https://www.zadi.hr/clanci/novosti/hipoglikemija-sto-znaci-i-kako-lijeciti/> Pristupljeno 20. kolovoza 2022.

Richter EA, Hargreaves M (2013) Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev* **93**, 993-1017. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2012>

Rusek M, Pluta R, Ułamek-Kozioł M, Czuczwar SJ (2019) Ketogenic Diet in Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* **20**, 3892. <https://doi.org/10.3390/ijms20163892>.

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>

Saponaro C, Gaggini M, Carli F, Gastaldelli A (2015) The subtle balance between lipolysis and lipogenesis: a critical point in metabolic homeostasis. *Nutrients* **7**, 9453–9474. <https://doi.org/10.3390/nu7115475>

Schweigert FJ (2007) Nutritional proteomics: methods and concepts for research in nutritional science. *Ann Nutr Metab* **51**, 99-107. <https://doi.org/10.1159/000102101>

Taylor MK, Sullivan DK, Swerdlow RH, Vidoni ED, Morris JK, Mahnken JD i sur. (2017) A high-glycemic diet is associated with cerebral amyloid burden in cognitively normal older adults. *Am J Clin Nutr* **106**, 1463–1470. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.162263>

Thompson R, Christie D, Hindmarsh PC (2006) The role for insulin analogues in diabetes care. *Paediatr Child Health* **16**, 117–122. <https://doi.org/10.1016/J.CUPE.2005.12.011>

- Ułamek-Kozioł M, Czuczwar SJ, Januszewski S, Pluta R (2019) Ketogenic Diet and Epilepsy. *Nutrients* **11**, 2510. <https://doi.org/10.3390/nu11102510>.
- Vahidi O, Kwok KE, Gopaluni RB, Knop FK (2016) A comprehensive compartmental model of blood glucose regulation for healthy and type 2 diabetic subjects. *Med Biol Eng Comput* **54**, 1383-1398. <https://doi.org/10.1007/s11517-015-1406-4>
- 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>
- Villegas-Valverde CC, Kokuina E, Breff-Fonseca MC (2018) Strengthening National Health Priorities for Diabetes Prevention and Management. *MEDICC Rev* **20**, 5.
- Wewer Albrechtsen NJ, Kuhre RE, Pedersen J, Knop FK, Holst JJ (2016) The biology of glucagon and the consequences of hyperglucagonemia. *Biomark Med* **10**, 1141–1151. <https://doi.org/10.2217/bmm-2016-0090>
- WHO (2021) Diabetes. WHO-World Health Organization, https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1. Pristupljeno 18. srpnja 2022.
- WHO (2022) Mean fasting blood glucose. WHO-World Health Organization, <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/2380>. Pristupljeno 20. srpnja 2022.
- Wilcox G (2005) Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev* **26**, 19-39.
- Wu H, Tremaroli V, Backhed F (2015) Linking microbiota to human diseases: a systems biology perspective. *Trends Endocrin Met* **26**, 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.09.011>
- Zarnowski T., Tulidowicz-Bielak M., Kosior-Jarecka E., Zarnowska I.A., Turski W., Gasior M. (2012) A ketogenic diet may offer neuroprotection in glaucoma and mitochondrial diseases of the optic nerve. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol J* **1**, 45–49.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Dora Gošev izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis