

Simulacija modela signalnog puta metabolizma inzulina primjenom jelovnika s različitim udjelima ugljikohidrata

Beneti, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:159:175453>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-03**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, ožujak 2024.

Iva Beneti

**SIMULACIJA MODELA
SIGNALNOG PUTA
METABOLIZMA INZULINA
PRIMJENOM JELOVNIKA S
RAZLIČITIM UDJELIMA
UGLJIKOHIDRATA**

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

ZAHVALA

Prije svega želim se zahvaliti mentorici izv.prof. dr.sc Ani Jurinjak Tušek na neizmjernoj podršci, mentorstvu i stručnom vođenju tijekom procesa izrade mog diplomskog rada. Vaša posvećenost i entuzijazam bili su ključni u mom akademskom razvoju te bolju mentoricu nisam mogla ni poželjeti.

Hvala mojim prijateljima i kolegicama koji su uvijek bili spremni pomoći i biti potpora u teškim trenucima, a najveće hvala mojoj obitelji koja je bila uz mene od samog početka te mi ovo sve omogućila.

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

SIMULACIJA MODELA SIGNALNOG PUTA METABOLIZMA INZULINA PRIMJENOM
JELOVNIKA S RAZLIČITIM UDJELIMA UGLJIKOHIDRATA
Iva Beneti, univ. bacc. nutr. 0058213046

Sažetak: Sistemska biologija u nutricionizmu omogućava bolje razumijevanje utjecaja hrane i njezinih komponenti na zdravlje i pojavu bolesti. U ovom radu provedena je simulacija modela signalnog puta metabolizma primjenom jelovnika s različitim udjelom ugljikohidrata (ketogeni, visokouglikohidratni, mediteranski i jelovnik za povremeni post 16:8) u programskom paketu *CellDesigner*. Rezultati pokazuju da je kod mediteranskog jelovnika zastupljenost ugljikohidrata najveća u zajutruku i večeri dok se kod visokouglikohidratnog jelovnika najveće količine ugljikohidrata nalaze u doručku i ručku, a kod povremenog posta u ručku. Nadalje rezultati simulacija pokazuju nagli porast koncentracije inzulina na početku kao odgovor na povišenje glukoze u krvi. Udio GLUT4 translokacija raste tijekom vremena, obrnuto proporcionalno promjeni koncentracije inzulina. Može se zaključiti da što su veće početne koncentracije inzulina, to je potrebno više vremena da se veže na receptore neovisno o vrsti jelovnika.

Ključne riječi: *metabolizam inzulina, signalni put, matematički model, CellDesigner, sistemska biologija u nutricionizmu*

Rad sadrži: 52 stranica, 12 slika, 11 tablica, 82 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

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

Datum obrane: 20. ožujka 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

SIMULATION OF METABOLIC INSULIN SIGNALING PATHWAY MODEL BASED ON MENUS WITH DIFFERENT PROPORTIONS OF CARBOHYDRATES

Iva Beneti, univ. bacc. nutr. 0058213046

Abstract: Systemic biology in nutrition enhances the understanding of food and its components' impact on health and disease occurrence. In this study, a simulation of the metabolic pathway model using dietary plans with different carbohydrate content (ketogenic, high-carbohydrate, Mediterranean, and intermittent fasting 16:8 menu) was performed using the CellDesigner program package. Results indicate that in the Mediterranean menu, carbohydrate prevalence is highest at breakfast and dinner, while in the high-carbohydrate plan, the highest amounts are found at snack and lunch, and in the intermittent fasting plan, at lunch. Simulations showed a rapid insulin concentration increase initially in response to blood glucose elevation. The proportion of GLUT4 translocation increases over time, inversely proportional to changes in insulin concentration. It can be concluded that higher initial insulin concentrations require more time for their binding to receptors, regardless of the type of dietary plan.

Keywords: insulin metabolism, signalling pathway, mathematical model, CellDesigner, systems biology in nutrition

Thesis contains: 52 pages, 12 figures, 11 tables, 82 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Ana Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor

Reviewers:

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

Thesis defended: 20th March, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA.....	2
2.1.1. Primjena sistemske biologije u nutricionizmu	3
2.2. UGLJIKOHIDRATI	4
2.3. INZULIN.....	5
2.4. ULOGA GLUKOZE U SEKRECIJI INZULINA	6
2.5. MEHANIZAM DJELOVANJA INZULINA.....	7
2.6. BOLESTI POVEZANE S POREMEĆAJIMA METABOLIZMA INZULINA	8
2.6.1. Inzulinska rezistencija.....	8
2.6.2. Dijabetes.....	9
2.6.3. Određivanje inzulinske rezistencije	10
2.7. VRSTE I PRIMJENA EGZOGENOG INZULINA	12
2.8. PREHRAMBENE SMJERNICE	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI	16
3.1.1. Programski paket <i>CellDesigner</i> 4.4.2	16
3.1.2. Model metaboličkih signalnih puteva inzulina.....	17
3.2. METODE.....	21
3.2.1. Razvoj jelovnika	21
3.2.2. Simulacije modela metabolizma inzulina u <i>CellDesigner</i> -u	22
4. REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1. JELOVNICI S RAZLIČITIM GLIKEMIJSKIM OPTEREĆENJEM.....	25
4.1.1. Ketogeni jelovnik.....	25
4.1.2. Visokouglikohidratni jelovnik.....	28
4.1.3. Mediteranski jelovnik	30
4.1.4. Jelovnik za povremeni post 16:8	32
4.2. ANALIZA JELOVNIKA	34
4.2.1. Raspodjela vlakana po obrocima	37
4.2.2. Raspodjela magnezija i kalcija po obrocima.....	38
4.3. REZULTATI SIMULACIJE MODELA METABOLIZMA INZULINA.....	42
5. ZAKLJUČCI	46
6. LITERATURA	47

1. UVOD

Poremećaji metabolizma inzulina predstavljaju značajan javnozdravstveni izazov diljem svijeta sa sve većim brojem oboljelih i s povećanim rizikom od ozbiljnih zdravstvenih komplikacija poput metaboličkog sindroma. Otkriće inzulina, zbog svoje ključne uloge u metabolizmu i iskorištavanju glukoze iz krvi, predstavlja veliku prekretnicu u medicini i životima ljudi s dijabetesom. Prije toga, stanje je bilo vrlo teško za pacijente i njihove obitelji, zbog ograničenih mogućnosti liječenja kao što su vrlo restriktivne dijetete ili gladovanje koje bi često završile tragičnim ishodom. Danas, uz pravilno upravljanje inzulinom i drugim terapijama, mnogi ljudi s dijabetesom mogu voditi normalan život bez značajnih ograničenja.

Druga velika prekretnica u znanosti predstavlja razvoj systemske biologije, discipline koja proučava organizam kao složenu cjelinu. Primjenom ove discipline u nutricionizmu omogućeno je bolje razumijevanje utjecaja hrane i njezinih komponenti na zdravlje i pojavu bolesti kod ljudi te razvoju personalizirane prehrane. Do rezultata se dolazi dizajniranjem matematičkih modela koji, iako se temelje na pretpostavkama, značajno olakšavaju analiziranje staničnih procesa kao što je u ovom slučaju mehanizam metaboličke signalizacije inzulina.

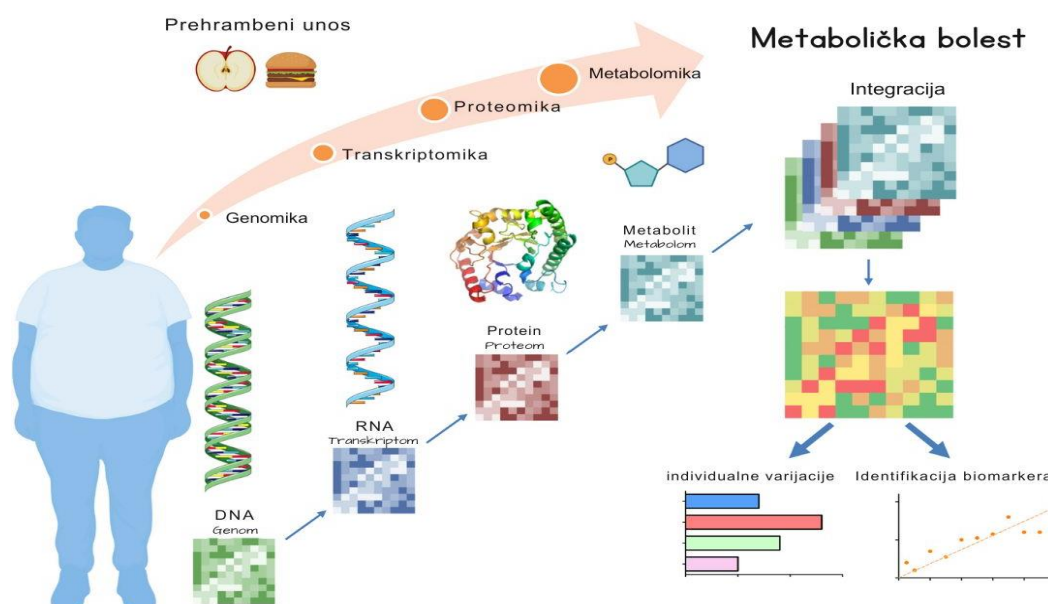
Cilj ovog rada bio je ispitati kako različite količine ugljikohidrata utječu na izlučivanje inzulina te posljedično na translokaciju GLUT4 receptora za čiju je propusnost ključan upravo inzulin.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA

U proteklih trideset godina, došlo je do značajnih promjena u području bioloških istraživanja. Razvojem suvremenih tehnologija i pomakom od proučavanja samo jednog aspekta jedne molekule, nastala je nova znanstvena disciplina - sistemska biologija (Stagljar, 2016). Ova disciplina omogućuje analizu dinamičkih i međusobno povezanih komponenti bioloških sustava (kao što su geni, proteini, metaboliti i stanice) kako bi se razumjelo funkcioniranje organizma na sistemskoj razini (Kesić, 2016; Panagiotou i Nielsen, 2009). Za razliku od molekularne biologije, sistemska biologija ne fokusira se samo na testiranju hipoteza, već koristi kvalitativnu analizu za procjenu istinitosti modela koji opisuje biološki sustav. Međutim, unatoč različitim pristupima, bez temeljnih načela molekularne biologije kao što su karakterizacija biokemijske aktivnosti i strukturnih svojstava proteina, postupka izolacije, sekvencioniranja i manipuliranja gena, sistemska biologija nebi imala temelja za svoj razvoj (Nielsen, 2017; Vidal, 2009).

Sistemska biologija koristi višestruke -omičke tehnologije poput genomike, epigenetike, transkriptomike, proteomike i metabolomike što je prikazano na slici 1 (Mitchelson i sur., 2023). Razvoj omičkih tehnologija započeo je otkrićem tehnologije sekvenciranja DNA-a, što je postavilo temelje za genomiku, a nastavio se visokoučinkovitim analizama RNA-a (transkriptomika), proteina (proteomika), lipida (lipidomika), ugljikohidrata (glikomika) i drugih metabolita (metabolomika) (Stagljar, 2016). Interdisciplinarni pristup omičkih znanosti posebno se ističe u interaktomici, koja povezuje biologiju i bioinformatiku kako bi istražila odnose i međudjelovanja između različitih molekula (Lesk, 2024).



Slika 1. Grafički prikaz principa rada sistemske biologije (prema Mitchelson i sur., 2023)

Način na koji sistemska biologija proučava biološke sustave je njihovim sustavnim „uznemiravanjem“ (biološkim, genetskim ili kemijskim), praćenjem odgovora gena, proteina i informacijskih puteva te integriranjem tih podataka radi formuliranja matematičkih modela koji opisuju strukturu sustava i njegove odgovore na poremećaje (Ideker i sur., 2001).

2.1.1. Primjena sistemske biologije u nutricionizmu

Istraživanja prehrane čovjeka prije primjene holističkog pristupa došla su do brojnih otkrića i sveobuhvatnog razumijevanja načina kojim hranjive tvari iz hrane i bioaktivni spojevi utječu na ljudski metabolizam te mehanizme koji ležu u pozadini tih učinaka. Međutim, nedostajalo je smisleno razumijevanje načina kojim ti sustavi međusobno djeluju i preklapaju se s procesima kao što su starenje i bolest (McAuley, 2020; Fardet i Rock, 2014). Isto tako, unatoč općem priznanju da "zdrava" prehrana može poboljšati zdravlje, nedostaje precizno definiranje optimalnog prehranbenog pristupa za različite skupine pojedinaca i razumijevanje varijabilnosti reakcija na dijetetske intervencije (Mitchelson i sur., 2023).

Posljedično, u sustavnoj biologiji je došlo do razvoja nekoliko '-omičkih' disciplina kao što su nutrigenomika, nutrigenetika, nutritranskriptomika, nutriproteomika, nutrimetabolomika kako bi se omogućilo globalno razumijevanje utjecaja prehrane na zdravlje i bolest (Badimon i sur., 2016).

- Nutrigenomika istražuje kako hranjive tvari utječu na ekspresiju gena te kako različiti genotipovi mogu modulirati metaboličke reakcije na hranu (McAuley, 2020).

- Nutrigenetika se fokusira na to kako genotip utječe na fenotipske reakcije (npr. krvni tlak, kolesterol ili glukoza u plazmi) pojedinaca na različite prehrambene obrasce, funkcionalnu hranu ili dodatke prehrani (Ordovas i sur., 2018; Panagiotou i Nielsen, 2009).
- Nutrimetabolomika se odnosi na proces mjerenja svih metabolita radi dobivanja cjelovitog metaboličkog odgovora organizma na prehrambene podražaje (Panagiotou i Nielsen, 2009).
- Nutritranskriptomika istražuje razine ekspresije mRNA u jednoj stanici ili populaciji bioloških stanica pod različitim uvjetima prehrane (Panagiotou i Nielsen, 2009). Ova disciplina koristeći tehnike poput mikronizova i sekvenciranja RNA, omogućuju dublje razumijevanje genetskih mehanizama koji se aktiviraju tijekom prehrambenih intervencija (McAuley, 2020).
- Nutriproteomika se bavi globalnim profiliranjem i analizom proteina izraženih u stanicama, organima ili tkivima, te proučava njihove interakcije i ulogu u metaboličkim putevima posredovanim hranjivim tvarima (Panagiotou i Nielsen, 2009).

Kombiniranjem ovih disciplina stvaraju se velike baze podataka koje se nakon računalne integracije koriste za izgradnju prediktivnih modela koji omogućuju detaljnu analizu individualnog odgovora na prehrambene intervencije (McAuley, 2020; Badimon i sur., 2016). Kao rezultat, ova znanja mogu biti ključna za oblikovanje optimalne prehrane koja potiče zdravlje i sprječava bolesti kod svakog pojedinca (Kaput, 2008).

2.2. UGLJIKOHIDRATI

Uz proteine i masti, ugljikohidrati predstavljaju jedan od tri osnovna makronutrijenta u prehrani. Također su i najrasprostranjenije makromolekule na Zemlji koje igraju ključnu ulogu u metabolizmu čovjeka (Holesh i sur., 2022; Chandel, 2021). Ugljikohidrati sudjeluju u procesima katabolizma, pružajući energiju u obliku ATP-a, ili se koriste u anaboličkim funkcijama poput sinteze masnih kiselina (Chandel, 2021). Ova grupa makronutrijenata obuhvaća šećere, voće, povrće, vlakna i mahunarke (Holesh i sur., 2022), a prema strukturi se dijele u tri glavne skupine:

- Jednostavni ugljikohidrati (monosaharidi i disaharidi) kao što su glukoza ili saharoza (glukoza i fruktoza).

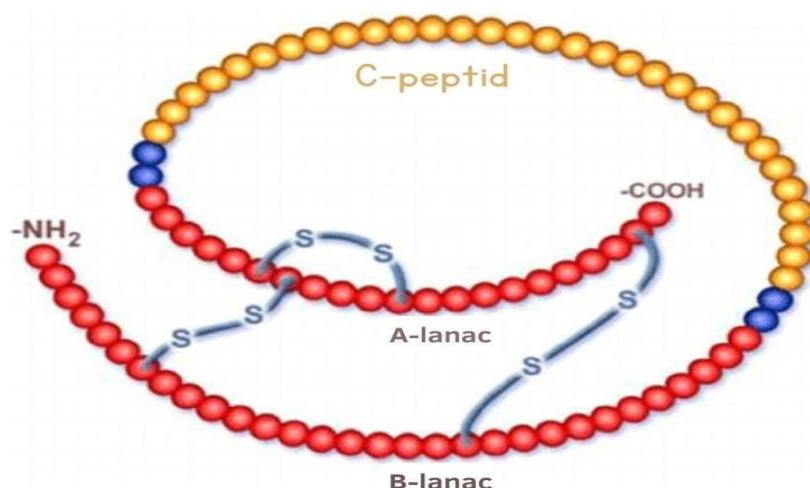
- Složeni ugljikohidrati sastavljeni od 3 ili više šećera (oligosaharidi ili polisaharidi) međusobno povezanih u kompleksniju kemijsku strukturu poput glikogena, škroba i celuloze (Holesh i sur., 2022; Chandel, 2021).
- Glikokonjugati, modificirani oblici glukoze kovalentno vezani na proteine (glikoproteine) ili lipide (glikolipide) koji su sastavni dijelovi staničnih membrana i sudjeluju u važnim funkcijama imunološkog sustava (Chandel, 2021).

Budući da su ugljikohidrati velike molekule, njihova apsorpcija u stanice tankog crijeva zahtijeva razgradnju na osnovne građevne jedinice (monosaharide) u gastrointestinalnom traktu. Proces probave hrane započinje u ustima, gdje se luči enzim α -amilaza (ptijalin) iz sline koji razgrađuje α -1,4 veze u škrobu. Razgradnja se nastavlja u tankom crijevu uz pomoć amilaze iz gušterače i enzima epitelnih stanica crijeva do formiranja jednostavnih šećera (Dashty, 2013).

Probavljivost različitih komponenti ugljikohidrata varira, pri čemu postoje vrste koje su potpuno neprobavljive. Neprobavljivi ugljikohidrati, u svom izvornom obliku, dopijevaju u debelo crijevo gdje služe kao izvor hrane za korisne bakterije (Kiely i Hickey, 2022). To se osobito odnosi na vlakna za koja životinje nemaju odgovarajuće enzime za razgradnju u odnosu na biljke te ih stoga ne mogu iskoristiti kao izvor energije (Holesh i sur., 2022; Kiely i Hickey, 2022). Međutim, vlakna imaju niz zdravstvenih prednosti, uključujući poboljšanje peristaltike crijeva, prebiotička svojstva, osjećaj sitosti te smanjuju rizik za obolijevanje od dijabetesa tip 2 i inzulinske rezistencije (Niero i sur., 2023; Holesh i sur., 2022).

2.3. INZULIN

Inzulin je polipeptidni hormon ključan za regulaciju razine glukoze u krvi, a sintetiziraju ga beta stanice smještene u Langerhansovim otočićima gušterače (Rahman i sur., 2021). U beta stanicama, inzulin se prvotno sintetizira kao velika molekula sastavljena od 110 aminokiselina tzv. proinzulin, iz kojeg se enzimskim cijepanjem dobiva aktivna forma tzv. „zreli“ inzulin i C-peptid (Rydosz, 2022). Novonastali zreli inzulin strukturom je dvolančana molekula sastavljena od A-lanca (21 aminokiselina) i B-lanca (30 aminokiselina) povezana disulfidnim mostovima (slika 2). Nakon cijepanja, zreli inzulin se pohranjuje u beta stanicama u obliku heksamera stabiliziranih ionima cinka (skladišni oblik), dok su monomeri aktivni oblik inzulina, a C-peptid se oslobađa i koristi kao mjera endogene sekrecije inzulina (Rahman i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020).



Slika 2. Struktura proinzulina (prema Akinlade i sur., 2014)

Osim inzulina, u Langerhansovim otočićima sintetizira se i hormon glukagon, koji zajedno s inzulinom koordinira regulaciju razine glukoze u krvi. Glukagon djeluje katabolički, dok inzulin djeluje anabolički (Rahman i sur., 2021). Inzulin ima sljedeće učinke na različite stanice (Newsholme i Krause, 2012):

- u jetrenim stanicama potiče sintezu glikogena, masnih kiselina i triglicerida te inhibira proces glukoneogeneze,
- u stanicama masnog tkiva potiče lipogenezu, odnosno sintezu triglicerida,
- u mišićnim stanicama potiče upotrebu glukoze za proizvodnju energije u obliku ATP-a (glikoliza) ili za sintezu glikogena. Također, olakšava unos aminokiselina u mišićne stanice radi sinteze proteina,
- u alfa stanicama gušterače inhibira oslobađanje glukagona, i
- u stanicama mozga sudjeluje u regulaciji apetita (Thota i Akbar, 2023; Rydosz, 2022).

2.4. ULOGA GLUKOZE U SEKRECIJI INZULINA

Prosječna koncentracija glukoze u krvi natašte, odnosno u periodu 3 - 4 sata bez obroka, iznosi između 80 i 90 mg/dl (4,4 i 5 mmol/L). Nakon razgradnje u probavnom sustavu, glukoza se apsorbira u krvotok olakšanom difuzijom s područja manje (citoplazma enterocita) prema području veće koncentracije (krv) i može porasti do 140 mg/dl (7,8 mmol/L). Ova koncentracija glukoze nakon obroka naziva se postprandijalna glukoza i nju tjelesni mehanizmi nastoje sniziti do normalnih raspona unutar 2 sata. U slučaju gladovanja, jetra osigurava glukozu putem glukoneogeneze, procesa sinteze glukoze iz neugljikohidratnih preteća (laktata i aminokiselina)

(Nakrani i sur., 2023).

Izlučivanje inzulina iz beta stanica gušterače regulirano je nizom čimbenika, pri čemu je glukoza ključni stimulans. Iako je za lučenje inzulina potrebna koncentracija glukoze iznad 5 mmol/L, koncentracije već od 2 mmol/L do 4 mmol/L potiču njegovu biosintezu (Rahman i sur., 2021). Nadalje, glukoza potiče izlučivanje inzulina ne samo izravno svojim metabolizmom u beta stanicama, već i moduliranjem drugih efektoru poput slobodnih masnih kiselina, aminokiselina i hormona inkretina (skupina hormona koji se izlučuju kao odgovor na hranjive tvari iz obroka, npr. glukagonu sličan peptid -1 (GLP-1)) (Newsholme i Krause, 2012). Glukoza ulazi u beta-stanice preko GLUT-2 ili GLUT-1 transportera, brzo se fosforilira u glukoza-6-fosfat pomoću glukokinaze i oksidira u mitohondrijima, što dovodi do proizvodnje ATP-a (Park i sur., 2021; Newsholme i Krause, 2012). Ovaj proces rezultira proizvodnjom ATP-a iz glikolitičkih i mitohondrijskih izvora te stvara ključne metaboličke čimbenike za poticanje sekrecije inzulina, poput NADPH, acil-koenzima A (acil-CoA) i određenih aminokiselina (Newsholme i Krause, 2012). Štoviše, povećanje omjera ATP/ADP zatvara kalijeve (K_{ATP}) kanale, uzrokujući depolarizaciju membrane i otvaranje L-tipa kalcijevih kanala. Posljedično dolazi do povećane razine intracelularnog kalcija, potičući egzocitozu sekretornih granula koje sadrže inzulin/proinzulin. Poluživot inzulina se procjenjuje između 5 i 8 minuta, a razgrađuje se aktivnošću inzulinaze u jetri, bubrezima i drugim tkivima (Park i sur., 2021).

Glukozom inducirano izlučivanje inzulina (engl. *Glucose-stimulated insulin secretion*, GSIS) odvija se u dvije faze. Prva faza je brzo stimulirana povećanim citosolnim kalcijem i uglavnom je rezultat otpuštanja većih zaliha inzulina. Druga faza je sporija i aktivira se citosolnom proizvodnjom kalcija, ATP-a i cikličkog adenzin-monofosfata, a karakterizira ju kontinuirano otpuštanje inzulina iz novosintetiziranih granula. GSIS se može modulirati prisustvom aminokiselina, slobodnih masnih kiselina i drugih sekretagoga poput inkretinskih hormona, faktora rasta i neurotransmitera (Park i sur., 2021).

2.5. MEHANIZAM DJELOVANJA INZULINA

Inzulin djeluje putem direktnog vezanja na svoje receptore na staničnim membranama, koji su prisutni na različitim stanicama, osobito na jetrenim stanicama i adipocitima. Inzulinski receptor je heterotetramerni glikoprotein sastavljen od dviju podjedinica, alfa i beta. Alfa podjedinice nalaze se izvan stanice i predstavljaju mjesto vezanja inzulina, dok beta podjedinice prolaze kroz staničnu membranu i karakterizira ih tirozin kinazna aktivnost, ključna za daljnji prijenos signala (Thota i Akbar, 2023).

Vežanjem inzulina na alfa podjedinice aktivira se tirozin kinazna aktivnost, što dovodi do autofosforilacije beta podjedinica i aktivacije katalitičke funkcije receptora (Thota i Akbar, 2023; Sedaghat i sur., 2002). Zatim aktivirani receptor fosforilira unutarstanični supstrat inzulinskog receptora-1 (IRS-1), koji služi kao mjesto povezivanja s SH-domenom p85 regulatorne podjedinice fosfatidilinozitol 3-kinaze (PI3K). Povezivanje fosforiliranog IRS-1 i regulatorne podjedinice p85 rezultira aktivacijom katalitičke podjedinice p110 fosfatidilinozitol 3 kinaze (PI3K). Nakon što ju IRS-1 aktivira, fosfoinozitol 3-kinaza fosforilira fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat (PIP2) da proizvede fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfat (PIP3), koji aktivira protein kinazu-1 ovisnu o 3-fosfoinozitolu (PDK1) (Rahman i sur., 2021). Aktivirana PDK1 zatim fosforilira i aktivira druge nizvodne kinaze, uključujući Akt i protein kinazu C (PKC- ζ), koje posreduju u translokaciji transportera glukoze GLUT4 iz citoplazme na površinu stanice. Ovi transporteri glukoze omogućuju ulazak glukoze iz krvi u stanicu, čime se smanjuje razina glukoze u krvi (Sedaghat i sur., 2002).

U inzulinskoj kaskadi sudjeluju i fosfataze koje djeluju na prekid inzulinske signalizacije, poput protein tirozin fosfataza (PTP) i lipid fosfataza (PTEN i SHIP2). Protein tirozin fosfataze uklanjaju fosforilne skupine s tirozinskih ostataka inzulinskog receptora i IRS-1 proteina, dok lipid fosfataze hidroliziraju PIP3 do PIP2 (Sedaghat i sur., 2002).

2.6. BOLESTI POVEZANE S POREMEĆAJIMA METABOLIZMA INZULINA

2.6.1. Inzulinska rezistencija

Inzulinska rezistencija se definira kao smanjeni biološki odgovor (maksimalni učinak inzulina) ili osjetljivost (koncentracija inzulina potrebna za polu-maksimalni odgovor) ciljnih tkiva na inzulin (Park i sur., 2021). Ovo stanje prvenstveno karakterizira višak tjelesne masti, a rezultira smanjenom sposobnošću stanica da apsorbiraju glukozu (Freeman i sur., 2023) .

U početku, gušterača može kompenzirati inzulinsku rezistenciju proizvodnjom dodatnog inzulina kako bi održala normalnu razinu glukoze u krvi. Međutim, kada stanice postanu previše otporne na inzulin, rastu razine glukoze u krvi (hiperglikemija) i nakon određenog vremena dolazi do razvoja predijabetesa i dijabetesa tipa 2 (Cleveland Clinic, 2024). Pored hiperglikemije, inzulinska rezistencija može rezultirati i drugim komplikacijama poput hipertenzije, dislipidemije, hiperuricemije, upalnih stanja, endotelne disfunkcije te povećanog rizika od kardiovaskularnih bolesti (Freeman i sur., 2023; Park i sur., 2021). Nadalje, progresija inzulinske rezistencije može dovesti do razvoja metaboličkog sindroma, nealkoholne masne bolesti jetre (engl. *Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD*) te dijabetesa tipa 2 (Freeman i sur., 2023).

Ovo stanje najizraženije je u skeletnim mišićima, jetri i masnom tkivu:

- U skeletnim mišićima, glukoza se ne može efikasno skladištiti, već se preusmjerava u jetru gdje se sintetiziraju nove masne kiseline (Freeman i sur., 2023).
- U stanicama jetre se usprkos prisutnom inzulinu odvija glikogenoliza (razgradnja glikogena) i glukoneogeneza čime se povećava razina glukoze u krvi (Lee i sur., 2022). Posljedično, višak glukoze dodatno potiče rezistenciju na inzulin u jetri i sintezu masnih kiselina te povećanje koncentracije triglicerida u krvi što s vremenom dovodi do inzulinske rezistencije u svim tkivima (Freeman i sur., 2023).
- Masno tkivo posebno viscelarno rezistentno na inzulin otpušta slobodne masne kiseline, citokine, faktore rasta i hormone koji dodatno pogoršavaju rezistenciju u jetri i mišićima (Freeman i sur., 2023; Lee i sur., 2022). Ovo stanje također karakterizira upalno stanje s povećanom proizvodnjom pro-upalnih citokina interleukina-6, interleukina-1 i TNF- α u krvi (Lee i sur., 2022).

2.6.2. Dijabetes

Dijabetes se definira kao skupina metaboličkih bolesti karakteriziranih hiperglikemijom koja je posljedica poremećaja u lučenju i/ili neučinkovitog korištenja već sintetiziranog inzulina (inzulinska rezistencija) (WHO, 2024; ADA, 2014). Kronična hiperglikemija dijabetesa povezana je s dugotrajnim oštećenjem, disfunkcijom i zatajenjem različitih organa, osobito očiju, bubrega, živaca, srca i krvnih žila (ADA, 2014).

Prema Američkom dijabetičkom društvu (engl. *American Diabetes Association, ADA*), dijabetes se klasificira u četiri osnovna oblika: dijabetes tip 1, dijabetes tip 2, gestacijski dijabetes koji se razvija u trudnoći i specifični tipovi dijabetesa uzrokovani drugim uzrocima, poput monogenih dijabetesnih sindroma, bolesti egzokrinog pankreasa ili lijekovima induciranog dijabetesa (ADA, 2020a).

Dijabetes tip 1 je autoimuna bolest u kojoj vlastiti imunološki sustav napada i uništava stanice gušterače koje proizvode inzulin, što rezultira potpunim nedostatkom inzulina u organizmu (Cleveland Clinic, 2024). Ovaj tip dijabetesa obično se razvija u djetinjstvu ili adolescenciji i obuhvaća samo 10 % ukupnih slučajeva (HeMED, 2024).

Dijabetes tip 2 je najčešći tip dijabetesa koji se javlja u kasnijoj životnoj dobi, obično nakon 45. godine, a uzrokovan je inzulinskom rezistencijom. Ovaj tip dijabetesa obuhvaća oko 90 % odraslih osoba s dijabetesom (Cleveland Clinic, 2024). Karakterizira ga postprandijalna hiperglikemija, posebno nakon obroka bogatog ugljikohidratima, za koju je potrebno više inzulina da bi se normalizirala razina glukoze (HeMED, 2024). Točan uzrok nije potpuno

poznat, ali poznato je da važnu ulogu imaju genetika, pretilost, metabolički sindrom i neaktivni način života igraju važnu ulogu, što potvrđuje sve češća pojava ovog tipa kod pretile djece i adolescenata (Cleveland Clinic, 2024).

Dijagnostički kriteriji uključuju vrijednosti glikiranog hemoglobina (HbA1c) ili glukoze u krvi natašte, ili glukoze u krvi nakon oralnog testa opterećenja glukozom, koje moraju biti veće od referentnih vrijednosti prikazanih u tablici 1. U kliničkoj praksi, dijabetes se najčešće dijagnosticira na temelju slučajnog mjerenja glukoze u plazmi čija vrijednost mora biti viša od 11,1 mmol/L (HeMED, 2024).

Tablica 1. Dijagnostički kriteriji za dijabetes i poremećenu glukoregulaciju (*prema HeMED, 2024*)

Test	Normalan nalaz	Predijabetes	Šećerna bolest
GUPn (mmol/L)	< 5,6	5,6–6,9	≥ 7,0
OGTT (mmol/L)	< 7,8	7,8–11	≥ 11,1
HbA1c (%)	< 5,7	5,7–6,4	≥ 6,5
GUPn= glukoza u plazmi natašte OGTT = test oralne tolerancije glukoze, 2-h razina glukoze HbA1c = glikirani hemoglobin			

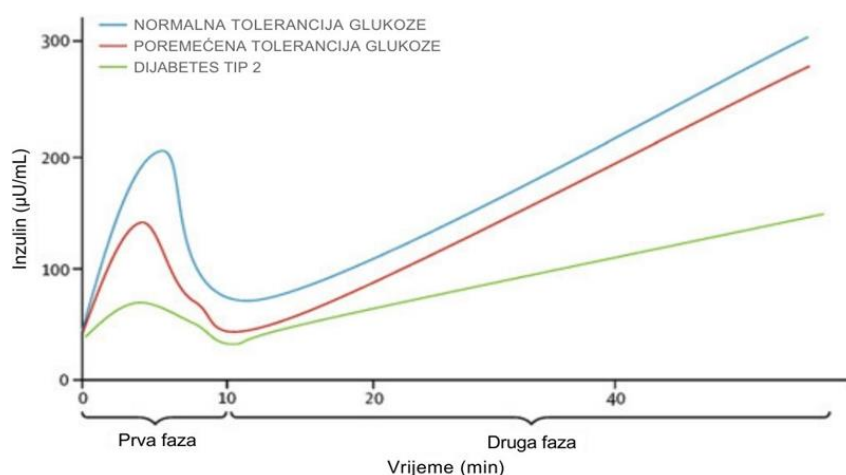
2.6.3. Određivanje inzulinske rezistencije

Procjena funkcije beta stanica gušterače i inzulinske rezistencije ključna je za određivanje tipa dijabetesa, planiranje optimalne strategije liječenja i prevenciju u kliničkoj praksi, kao i za razvoj novih terapija za dijabetes (Park i sur., 2021).

Zlatni standard za mjerenje inzulinske rezistencije je tehnika hiperinzulinemijskog euglikemijskog klampa. Ova tehnika provodi se tako da se pacijentu bez dijabetesa intravenozno daje infuzija visokog protoka inzulina kako bi se suzbila proizvodnja glukoze u jetri. Istovremeno se prati razina glukoze u krvi uz davanje 20 %-tne otopine dekstroze različitih protoka kako bi se održala euglikemija. Potom se određuje količina glukoze potrebna za postizanje ravnotežnog stanja, što omogućuje procjenu egzogenog odlaganja glukoze potrebnog za kompenzaciju hiperinzulinemije. Izračun inzulinske rezistencije temelji se na odlaganju glukoze u cijelom tijelu i veličini tijela (Freeman i sur., 2023).

Osim euglikemijske postoji i hiperglikemijska klamp tehnika koja se bazira na intravenskoj infuziji glukoze kako bi se njena koncentracija povećala za 6,9 mmol/L iznad bazalne razine. Stalnom prilagodbom infuzije održava se bazalna razina, a stimulacijom argininom omogućeno

je mjerenje ukupnog sekretornog kapaciteta inzulina. Dakle, tehnika hiperglikemijskog klampa omogućuje kvantifikaciju osjetljivosti beta stanica na glukozu, a tehnika euglikemijskog klampa omogućuje kvantifikaciju osjetljivosti tkiva na inzulin (Darden i sur., 2020). Prednost ove tehnike je što se prva i druga faza izlučivanja inzulina mogu precizno kvantificirati (Rydosz, 2022).



Slika 3. Faze izlučivanja inzulina primjenom tehnike hiperglikemijskog klampa (prema Rydosz, 2022)

Na priloženom grafu (slika 3) prikazano je izlučivanje inzulina potaknuto glukozom kod osoba s normalnom (plava linija) i poremećenom (crvena linija) tolerancijom na glukozu te kod osoba s dijabetesom tipa 2 (zeleno linija). Otpuštanje inzulina podijeljeno je u dvije faze: brza i prolazna prva faza, te polagano rastuća druga faza. Pretpostavlja se da se u prvoj fazi otpušta većina prethodno pohranjenog inzulina iz sekretornih granula, dok se u drugoj fazi inzulin izlučuje kontinuirano iz Golgijevog aparata i novოსintetiziranih sekretornih granula. U usporedbi s osobama s normalnom tolerancijom na glukozu, osobe s poremećenom tolerancijom na glukozu imaju smanjeno izlučivanje inzulina u prvoj fazi i očuvano izlučivanje inzulina u drugoj fazi, dok s druge strane osobe s dijabetesom tipa 2 imaju poremećeno izlučivanje inzulina i u prvoj i u drugoj fazi (Rydosz, 2022).

Međutim, zbog ograničene kliničke primjenjivosti, u praksi se najčešće koristi oralni test opterećenja glukozom (OGTT). Ovaj test se provodi nakon noćnog gladovanja, uzimajući uzorke krvi za određivanje koncentracije glukoze i inzulina 0, 30, 60, 90 i 120 minuta nakon oralnog unosa 75 g glukoze. Iako je OGTT jednostavan za izvođenje, nedostatak mu je što ne može precizno prikazati i razlikovati prvu i drugu fazu lučenja inzulina zbog varijabilnosti u koncentraciji glukoze (Park i sur., 2021).

Osim toga, postoje i brojne druge metode mjerenja inzulinske rezistencije, kao što su homeostatski model za inzulinsku rezistenciju (engl. *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, HOMA-IR*), kvantitativni indeks osjetljivosti na inzulin (engl. *Quantitative insulin sensitivity check index, QUICKI*), određivanje triglicerida u serumu te omjer triglicerida i lipoproteina visoke gustoće (engl. *High Density Lipoprotein, HDL*) (Freeman i sur., 2023).

Iako mjere inzulinske rezistencije nisu uključene u sve kliničke smjernice, procjena inzulinske rezistencije često se temelji na kliničkoj slici, pri čemu su glavni pokazatelji metabolički sindrom i sindrom inzulinske rezistencije (Freeman i sur., 2023). Metabolički sindrom dijagnosticira se ako su prisutna tri ili više dijagnostičkih parametara, kao što su opseg struka (≥ 102 cm za muškarce, ≥ 88 cm za žene), razina glukoze natašte ($> 5,6$ mmol/L), krvni tlak ($\geq 130/85$ mmHg), trigliceridi ($\geq 1,7$ mmol/L) i HDL-kolesterol ($\leq 1,0$ mmol/L za muškarce, $\leq 1,3$ mmol/L za žene) (Govers i sur., 2015). Za procjenu rizika od sindroma inzulinske rezistencije koriste se i abnormalnosti kao što su poremećena tolerancija glukoze, abnormalni metabolizam mokraćne kiseline, dislipidemija, hemodinamske promjene, protrombotski čimbenici, markeri upale te drugi čimbenici rizika poput indeksa tjelesne mase, dijagnoze određenih bolesti ili obiteljske povijesti (Freeman i sur., 2023).

2.7. VRSTE I PRIMJENA EGZOGENOG INZULINA

Primjena egzogenog inzulina, zbog nemogućnosti sinteze istog, neophodna je kod osoba oboljelih od dijabetesa tipa 1, dok se osobe sa dijabetesom tipa 2 uglavnom liječe oralnim antidijabeticima (Pavić i sur., 2023). Prve komercijalne formulacije inzulina bile su životinjskog porijekla, uglavnom goveđi i svinjski inzulin. Međutim, zbog čestih pojava antiinzulinskih protutijela i rastuće potražnje, pojavila se potreba za novim izvorom inzulina. Otkriće gena za inzulin i tehnologije rekombinantne DNA omogućili su razvoj i komercijanu proizvodnju biosintetskog humanog inzulina. Prvi biosintetski humani inzulin, odobren i stavljen na tržište pod nazivom Humulin® R 1982. godine označio je početak ere biosintetskog inzulina (Hirsch i sur., 2020).

Trenutno dostupni oblici inzulina uključuju mješavine inzulina, koncentrirane inzuline i inzuline s alternativnim načinima davanja. Oni se razlikuju po brzini djelovanja, vremenu do maksimalnog učinka i trajanju djelovanja nakon primjene (Hirsch i sur., 2020). Vrste inzulina prema ovim karakteristikama i njihov način primjene navedeni su u tablici 2 (CDC, 2022).

Tablica 2. Vrste i djelovanje inzulina te njihova primjena (prema CDC, 2022)

Vrsta inzulina	Početak	Vrhunac	Trajanje	Metoda
Brzodjelujući	15 min	1 h	2 - 4 h	Primjena neposredno prije obroka Često u kombinaciji s dugodjelujućim inzulinom
Brzodjelujući, udahnut	10 - 15 min	30 min	3 h	Primjena neposredno prije obroka Često u kombinaciji s injekcijskim dugodjelujućim inzulinom.
Regularni/ kratkodjelujući	30 min	2 – 3 h	3 - 6 h	30 do 60 minuta prije obroka
Srednjedjelujući	2 - 4 h	4 – 12 h	12 - 18 h	Pokriva potrebe za inzulinom za pola dana ili tijekom noći Često se koristi s inzulinom brzog ili kratkog djelovanja.
Dugodjelujući	2 h	Ne doseže vrhunac	≤ 24 h	Zadovoljava potrebe za inzulinom za otprilike cijeli dan. Kada je potrebno, koristi se s brzo ili kratkodjelujućim inzulinom
Ultradugodjelujući	6 h	Ne doseže vrhunac	≥ 36 h	Omogućuje stabilnu razinu inzulina tijekom duljih perioda
Predmiješani	5 - 60 min	Vrhovi variraju	10 – 16 h	Sastoji se od inzulina srednjeg i kratkog djelovanja Primjena 10 do 30 minuta prije doručka i večere

Primjena inzulina može se ostvariti na tri načina: supkutano, intravenski i intramuskularno, a odabir metode primjene obično se prilagođava stanju pacijenta i okolnostima. Najčešći način primjene je supkutani put, koji se preferira zbog svoje jednostavnosti i praktičnosti. Pacijenti mogu koristiti inzulinske šprice, penove ili pumpe kako bi sami primijenili lijek. Intravenski inzulin koristi se u bolničkim uvjetima, posebno kada je potrebno brzo i pažljivo praćenje razine glukoze u krvi, npr. kod dijabetičke ketoacidoze, hiperosmolarnog hiperglikemijskog stanja i teških poremećaja elektrolita. Intramuskularna primjena inzulina rijetka je i obično se koristi koncentrirani obični inzulin. Godine 2014. odobrena je formulacija inzulina za inhaliranje od strane FDA-e (engl. *Food and Drug Administration*, FDA). Ova vrsta primjene omogućuje brzi početak djelovanja i može se koristiti prije obroka kod oboljelih od dijabetesa tipa 1 i tipa 2. Inzulinska pumpa je uređaj koji

simulira prirodnu funkciju gušterače, isporučujući kontinuirane male doze kratkodjelujućeg inzulina tijekom dana (Thota i Akbar, 2023).

Važno je napomenuti da kod primjene egzogenog inzulina ne postoji mehanizam povratne sprege koji regulira sekreciju inzulina na temelju promjena koncentracije glukoze u krvi. Stoga je potrebno redovito mjeriti glukozu u krvi i pratiti unos ugljikohidrata kako bi se odredila adekvatna doza inzulina (Hirsch i sur., 2020).

2.8. PREHRAMBENE SMJERNICE

S obzirom na visoki postotak pretilosti ili prekomjerne tjelesne mase među osobama s dijabetesom tipa 2 (80-90 %), regulacija tjelesne mase i kalorijska restrikcija ključni su elementi u poboljšanju inzulinske rezistencije (Pavić i sur., 2023; Muscogiuri i sur., 2021).

Primarna strategija je smanjenje unosa kalorija kako bi se postigao gubitak na tjelesnoj masi. Umjereni gubitak tjelesne mase od 5 do 15 % pokazao je značajne koristi u poboljšanju inzulinske osjetljivosti, glikemijske kontrole te smanjenju rizika od hipertenzije i dislipidemije (Pavić i sur., 2023; Muscogiuri i sur., 2021). Preporučeni pristup uključuje smanjenje dnevnog energetskog unosa za 500-750 kcal, s preporučenim dnevnim unosom od 1200-1500 kcal za žene i 1500-1800 kcal za muškarce, prilagođenim početnoj tjelesnoj masi pojedinca (Pavić i sur., 2023). Gubitak tjelesne mase, osim što ima pozitivan utjecaj na inzulinsku osjetljivost, poboljšava sve aspekte povezane s pretilošću i sindromom policističnih jajnika (PCOS), uključujući hipertenziju, dislipidemiju i dijabetes tipa 2 (Muscogiuri i sur., 2021).

Nadalje, važno je pratiti unos ugljikohidrata i razmotriti kako tijelo reagira na njih kako bi se postigla bolja kontrola glukoze nakon obroka (ADA, 2019). Objavljene smjernice naglašavaju važnost unosa složenih ugljikohidrata poput cjelovitih žitarica (40 - 45 %) i vlakana te preporučuju da se unos vlakana održava na razini koja se preporučuje općoj populaciji odnosno 25 g/dan za žene i 38 g/dan za muškarce (Muscogiuri i sur., 2021; Weickert i Pfeiffer 2018). Preporučuje se izbjegavanje proizvoda s visokim glikemijskim indeksom odnosno rafiniranih ugljikohidrata i dodanih šećera, a fokusiranje na ugljikohidrate iz povrća, mahunarki, voća, mliječnih proizvoda (poput mlijeka i jogurta) i cjelovitih žitarica čiji je glikemijski indeks manji od 10 (Muscogiuri i sur., 2021; Govers i sur., 2015). Složeni ugljikohidrati, poput onih u cjelovitim žitaricama, sporije podižu razinu glukoze u krvi u usporedbi s jednostavnim ugljikohidratima (Holesh i sur., 2022). Visok unos vlakana, posebno topivih vlakana (10-20 g/dan), povoljno djeluje na postprandijalnu koncentraciju glukoze i lipida u krvi, uključujući značajno smanjenje razine lipoproteina niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein, LDL*) (Niero i sur., 2023). U preporukama se također navodi dodatan oprez

kod unosa fruktoze. Fruktoza je monosaharid koji se metabolizira neovisno o inzulinu pa ne uzrokuje nagli porast glukoze u krvi, no s druge strane dolazi do rasta koncentracije triglicerida u krvi (Softic i sur., 2020). Povišeni trigliceridi mogu dovesti do ozbiljnih zdravstvenih posljedica kao što je nealkoholna masna bolest jetre pa se ne preporučuje uporaba dodane fruktoze kao zaslađivača u dijabetičkoj prehrani (Pavić i sur., 2023; ADA, 2019). Međutim, ovo ne uključuje i izbjegavanje prirodno prisutne „slobodne“ fruktoze iz voća, povrća i druge hrane (ADA, 2019) jer ona, nasuprot ovom, može rezultirati boljom kontrolom glikemije u usporedbi s izokalorijskim unosom sahara ili škroba te neće imati štetne učinke sve dok unos nije pretjeran (12 % energije) (Gray i Threlkeld, 2019). Nadalje, dozvoljena je upotreba svih zaslađivača sa smanjenom kalorijskom vrijednošću odnosno šećernih alkohola (ksilitol, maltitol, eritritol, laktitol itd.) i odobrenih umjetnih zaslađivača (kalijev acesulfam, aspartam, neotam, saharin i sukraloza) (ADA, 2019).

Ne postoje dokazi da bi u osoba sa šećernom bolešću uobičajeni unos proteina od 1 - 1,5 g/kg tjelesne mase (15 – 20 % kcal/dan) trebalo prilagoditi, osim u slučaju dijabetičke bubrežne bolesti kada su preporuke za unos proteina smanjene na 0,8 g/kg tjelesne mase na dan (ADA, 2019). Nadalje, unos proteina može poboljšati ili povećati sekreciju inzulina na unesene ugljikohidrate, stoga treba izbjegavati korištenje izvora ugljikohidrata s visokim udjelom proteina (mlijeko i orašasti plodovi) za liječenje ili prevenciju hipoglikemije zbog mogućeg istodobnog porasta endogenog inzulina (ADA, 2019).

Prihvatljiv raspon unosa masti za opću populaciju je 20 - 35 % kcal/dan, dok za dijabetičare postoje samo ograničena istraživanja (Gray i sur., 2019). Veća važnost pridaje se vrsti masti od ukupne količine, stoga treba ograničiti unos zasićenih masti, a transmasne kiseline valja potpuno izbjegavati (Govers i sur., 2015). Smatra se da mediteranski obrazac prehrane bogat mononezasićenim mastima koje su zastupljene u maslinovom ulju te polinezasićenim mastima iz plave ribe i orašastih plodova može poboljšati metabolizam glukoze i smanjiti rizik od kardiovaskularnih bolesti (Gray i Threlkeld, 2019).

Uz mediteranski prehrambeni obrazac, preporučuje se usvajanje i/ili Prehrambenih pristupa za zaustavljanje hipertenzije (eng. *Dietary Approaches to Stop Hypertension, DASH*), s obzirom na izražen pozitivan utjecaj na razinu glukoze i lipida u krvi (Pavić i sur., 2023), a Američko dijabetičko društvo (ADA) navodi i vegetarijanska prehrana kao prikladnu opciju za dijabetičare (ADA, 2020b). Prehrana s niskim udjelom ugljikohidrata i niskim glikemijskim indeksom (GI), kao i visokoproteinska mogu poboljšati regulaciju glukoze, no mediteranska prehrana ima najznačajniji utjecaj (Pavić i sur., 2023; Benson i Heyes, 2020).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za provedbu eksperimentalnog dijela diplomskog rada korišteni su računalni programi *CellDesigner* verzija 4.4.2 (The Systems Biology Institute, Tokyo, Japan) i *Microsoft Office Excel* iz programskog paketa *Microsoft 365* (Microsoft Corporation, Washington, Sjedinjene Američke Države). *CellDesigner* korišten je za simuliranje metaboličkih signalnih puteva inzulina, dok je *Excel* upotrijebljen za izradu jelovnika i prikaz rezultata.

3.1.1. Programski paket *CellDesigner* 4.4.2

CellDesigner je softver kreiran kako bi se olakšalo razumijevanje logike i dinamike genetsko - regulatornih i biokemijskih mreža koje su općenito veliki izazov u području systemske biologije. Ovaj alat omogućuje modeliranje navedenih mreža pomoću čvrsto definiranog i sveobuhvatnog grafičkog prikaza (eng. *Systems Biology Graphical Notation, SBGN*). Glavne značajke ovog programa uključuju prikaz biokemijske semantike, detaljan opis prijelaznih stanja proteina, povezanost s bazom podataka te prenosivost kao Java aplikacija (Funahashi i sur., 2003). Nadalje, *CellDesigner* je usklađen sa SBML-om (eng. *System Biology Markup Language*), standardnim računalnim formatom, koji se koristi za opisivanje i omogućavanje simulacije modela pomoću integrirane izvorne zbirke simulacija – *SBML ODE Solver* (Funahashi i sur., 2006).

Izrada modela započinje odabirom nove datoteke u izborniku s mogućnošću podešavanja visine i širine okvira te naziva datoteke. Zatim se na alatnoj traci odaberu simboli koji predstavljaju određene stanične strukture kao što su npr. simboli za protein, gen, RNA, ion, jednostavnu molekulu i tako dalje. Prilikom dodavanja metabolita potrebno ih je imenovati i odrediti veličinu te odrediti položaj u stanici (Funahashi i sur., 2003). Po potrebi određene se strukture one mogu modificirati tako da se dodaju oznake koje predstavljaju npr. fosfat ili vezno mjesto (Matsuoka i sur., 2014).

Na alatnoj traci, osim simbola za metabolite, nalaze se i simboli za reakcije koje predstavljaju prijelaz stanja povezanih metabolita kao što su biokemijske reakcije, interakcije između proteina i regulatorni odnos između gena. Biokemijska i genetička značenja vrsta i reakcija razlikuju se po svojim simbolima pa su tako neke od ponuđenih vrsta reakcija kataliza, aktivacija i inhibicija itd. (Matsuoka i sur., 2014). Nakon odabira vrste reakcije povezuju se reaktanti s produktima (Funahashi i sur., 2003). Svakoj definiranoj reakciji potrebno je upisati odgovarajući kinetički izraz tj. jednadžbu brzine reakcije odabirom opcije „*Edit kinetic law*“.

Nadalje, uz jednadžbu potrebno je unijeti i vrijednosti kinetičkih parametara odabrane reakcije te početne vrijednosti varijabli modela (Matsuoka i sur., 2014).

Kada je model dizajniran i kada su unesene sve potrebne jednadžbe i vrijednosti, pokreće se simulacija odabirom odgovarajuće opcije na alatnoj traci, a rezultati dobiveni iz simulacije prikazuju se u obliku tablica ili grafički. Simulacija se može spremati kao standardizirani SBML dokument koji sadrži sve bitne informacije o vrstama molekula, reakcijama, modifikatorima, geometriji, promjenama u stanju proteina, modifikacijama ostataka itd. (Matsuoka i sur., 2014, Funahashi i sur., 2003).

3.1.2. Model metaboličkih signalnih puteva inzulina

Ovaj rad temelji se na kreiranom matematičkom modelu metaboličkih signalnih puteva inzulina koji obuhvaća skup već poznatih komponenti koje posreduju translokaciji transportera glukoze (GLUT4) i reagiraju na inzulin. Sedaghat i sur. (2002) su za razvoj ovog modela koristili 3 već validirana modela (model za vezanje inzulina na receptor, model za recikliranje receptora i model za translokaciju GLUT4 receptora) s dodatkom novog mehaničkog prikaza postreceptorskih signalnih puteva kako bi se obuhvatila složenost ovih signalnih puteva.

Kompletni model se sastoji od 4 navedena modela odnosno podsustava i 22 varijable stanja te je proširen s putevima povratnih reakcija što ujedno omogućava istraživanje posljedica tih reakcija. Prvi podsustav, model kinetike vezanja inzulina na receptor proširen je reakcijama autofosforilacije i defosforilacije receptora, dok je drugi podsustav koji uključuje recikliranje inzulinskog receptora proširen primjenom ligand-inducirane endocitoze samo na fosforilirane stanične površinske receptore. Novi mehanički oblik trećeg podsustava (postreceptorsko signaliziranje) uključuje fosforilaciju inzulinskog receptorskog supstrata-1 (IRS-1), aktivaciju fosfatidilinozitol 3 kinaze i naknadnu aktivaciju nizvodnih kinaza Akt i protein kinaze C, dok kod četvrtog podsustava nema promjena.

Autori modela navode da je korišten dovoljno mali interval (0,001 min) kako bi se osigurale točne numeričke integracije svih varijabli stanja te je pretpostavljena kinetika prvog reda, osim ako nije navedeno drugačije. Skup bilanci modela prikazan je u tablici 3, a parametri modela i konstante brzine prikazane su u tablicama 4 i 5. U ovom radu, opisani model se koristio za određivanje utjecaja izlučenog inzulina nakon unosa različitih količina ugljikohidrata (ne uključujući vlakna) iz 3 različita obrasca prehrane na translokaciju transportera glukoze (GLUT4) odnosno inzulinsku osjetljivost.

Tablica 3. Popis bilanci modela (*prema* Sedaghat i sur., 2002)

Podsustav	Bilance modela	Br.jed.
1. podsustav: Vežanje inzulina na receptor	$x_1 = \text{unos inzulina}$	[1]
	$dx_2/dt = k_{-1}x_3 + k_{-3}[\text{PTP}] x_5 - k_1x_1x_2 + k_{-4} x_6 - k_4 x_2$	[2]
	$dx_3/dt = k_1x_1x_2 - k_{-1}x_3 - k_3 x_3$	[3]
	$dx_4/dt = k_2 x_1x_5 - k_{-2} x_4 + k_{-4} x_7 - k_4 x_4$	[4]
	$dx_5/dt = k_3 x_3 + k_{-2} x_4 - k_2 x_1x_5 - k_{-3}[\text{PTP}] x_5 + k_{-4}x_8 - k_4x_5$	[5]
2. podsustav: Recikliranje inzulinskog receptora	$dx_6/dt = k_5 - k_{-5} x_6 + k_6[\text{PTP}] (x_7 + x_8) + k_4 x_2 - k_{-4} x_6$	[6]
	$dx_7/dt = k_4x_4 - k_{-4}x_7 - k_6[\text{PTP}]x_7$	[7]
	$dx_8/dt = k_4x_5 - k_{-4}x_8 - k_6[\text{PTP}]x_8$	[8]
3. podsustav: Postreceptorska signalizacija	$dx_9/dt = k_{-7}[\text{PTP}]x_{10} - k_7x_9(x_4 + x_5)/(\text{IR}_p) + k_{-7}x_{10a} - k_7[\text{PKC}] x_9$	[9]
	$dx_{10}/dt = k_7x_9(x_4 + x_5)/(\text{IR}_p) + k_{-8} x_{12} - (k_{-7} [\text{PTP}] + k_8x_{11}) x_{10}$	[10]
	$dx_{10a}/dt = k_7[\text{PKC}] x_9 - k_{-7}x_{10a}$	[11]
	$dx_{11}/dt = k_{-8} x_{12} - k_8 x_{10}x_{11}$	[12]
	$dx_{12}/dt = k_8 x_{10} x_{11} - k_{-8} x_{12}$	[13]
	$dx_{13}/dt = k_9 x_{14} + k_{10} x_{15} - (k_{-9}[\text{PTEN}] + k_{-10}[\text{SHIP}]) x_{13}$	[14]
	$dx_{14}/dt = k_{-9}[\text{PTEN}]x_{13} - k_9 x_{14}$	[15]
	$dx_{15}/dt = k_{-10}[\text{SHIP}]x_{13} - k_{10} x_{15}$	[16]
	$dx_{16}/dt = k_{-11} x_{17} - k_{11} x_{16}$	[17]
	$dx_{17}/dt = k_{11} x_{16} - k_{-11} x_{17}$	[18]
	$dx_{18}/dt = k_{-12} x_{19} - k_{12} x_{18}$	[19]
	$dx_{19}/dt = k_{12} x_{18} - k_{-12} x_{19}$	[20]
4. podsustav: Translokacija GLUT4	$dx_{20}/dt = k_{-13} x_{21} - (k_{13} + k_{13}') x_{20} + k_{14} - k_{-14} x_{20}$	[21]
	$dx_{21}/dt = (k_{13} + k_{13}') x_{20} - k_{-13} x_{21}$	[22]

Tablica 4. Popis početnih vrijednosti parametara modela (*prema Sedaghat i sur., 2002*)

Varijabla	Značenje	Vrijednost
x_1	Unos inzulina	0
x_2	Koncentracija slobodnih površinskih inzulinskih receptora	$9 \cdot 10^{-13}$ M
x_3	Koncentracija nefosforiliranih jednostruko vezanih površinskih receptora	0
x_4	Koncentracija fosforiliranih površinskih receptora s dvije vezane molekule inzulina	0
x_5	Koncentracija fosforiliranih površinskih receptora s jednom vezanom molekulom inzulina	0
x_6	Koncentracija slobodnih nefosforiliranih unutarstaničnih receptora	$1 \cdot 10^{-13}$ M
x_7	Koncentracija fosforiliranih dvostruko vezanih unutarstaničnih receptora	0
x_8	Koncentracija fosforiliranih jednostruko vezanih unutarstaničnih receptora	0
x_9	Koncentracija nefosforiliranog IRS-1	$1 \cdot 10^{-12}$ M
x_{10}	Koncentracija tirozin-fosforiliranog IRS-1	0
x_{10a}	Koncentracija serin fosforiliranog IRS-1	0
x_{11}	Koncentracija neaktivirane PI-3 kinaze	$1 \cdot 10^{-13}$ M
x_{12}	Koncentracija tirozin-fosforiliranog IRS-1/ aktiviranog kompleksa PI3-kinaze	0
x_{13}	Postotak PI(3,4,5)P3 od ukupne količine lipida	0,31 %
x_{14}	Postotak PI(4,5)P2 od ukupne količine lipida	99,4 %
x_{15}	Postotak PI(3,4)P2 od ukupne količine lipida	0,29 %
x_{16}	Postotak neaktiviranih Akt	100 %
x_{17}	Postotak aktiviranih Akt	0
x_{18}	Postotak neaktiviranih PKC- ζ	100 %
x_{19}	Postotak aktiviranih PKC- ζ	0
x_{20}	Postotak unutarstaničnih GLUT4	96 %
x_{21}	Postotak GLUT4 na površini stanice	4 %

Tablica 5. Popis vrijednosti parametara matematičkog modela metaboličkih signalnih puteva inzulina (prema Sedaghat i sur., 2002)

Parametar	Vrijednost
k_1	$6 \cdot 10^7$ 1/M·min
k_{-1}	$0,20 \text{ min}^{-1}$
k_2	k_1
k_{-2}	$100 k_{-1}$
k_3	$2,500$ 1/min
k_{-3}	k_{-1}
k_4	$k_{-4}/9$
k_{-4}	$0,003$ 1/min
$k_{4'}$	$2,1 \cdot 10^{-3}$ 1/min
$k_{-4'}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$ 1/min
k_5	$10k_{-5}$ M/min if $(x_6 + x_7 + x_8) > 1 \cdot 10^{-13}$ $60k_{-5}$ M/min if $(x_6 + x_7 + x_8) \leq 1 \cdot 10^{-13}$
k_{-5}	$1,67 \cdot 10^{-18}$ 1/min
k_6	$0,461$ 1/min
k_7	$4,16$ 1/min
k_{-7}	$(2,5/7,45) k_7$
$k_{7'}$	$\ln(2)/2$ 1/min
$k_{-7'}$	$k_{7'} [(2,5/7,45)(3,70 \cdot 10^{-13})] [(6,27 \cdot 10^{-13}) - (2,5/7,45)(3,70 \cdot 10^{-13})]$
k_8	$k_{-8} (5/70,775) \cdot 10^{12}$
k_{-8}	10 1/min
k_9	$(k_9(\text{stimulirani}) - k_9(\text{bazalni}))(x_{12}/\text{PI3K}) + k_9(\text{bazalni})$
$k_9(\text{stimulirani})$	$1,39 \text{ min}^{-1}$
k_{-9}	$(94/3,1) k_9(\text{stimulirani})$
$k_9(\text{bazalni})$	$(0,31/99,4) k_{-9}$
k_{10}	$(3,1/2,9) k_{-10}$
k_{-10}	$2,77$ 1/min
k_{11}	$(0,1k_{-11})(x_{13} - 0,31)/(3,10 - 0,31)$
k_{-11}	$10 \ln(2)$ 1/min
k_{12}	$(0,1k_{-12})(x_{13} - 0,31)/(3,10 - 31)$
k_{-12}	$10 \ln(2)$ 1/min
k_{-13}	$0,167$ 1/min
k_{13}	$(4/96)k_{-13}$
$k_{13'}$	$[(40/60) - (4/96)] k_{-13} \cdot (\text{Efekt})$
k_{14}	$96k_{-14}$

Tablica 5. Popis vrijednosti parametara matematičkog modela metaboličkih signalnih puteva inzulina (*prema Sedaghat i sur., 2002*)-*nastavak*

Parametar	Vrijednost
k_{-14}	0,001155 1/min
Efekt	$(0,2x_{17} + 0,8x_{19}) / (AP_{\text{equil}})$
IR_p	$8,97 \cdot 10^{-13}$ M
[SHIP]	1,00
[PTEN]	1,00
[PTP]	1,00
AP_{equil}	100/11
PI3K	$5 \cdot 10^{-15}$ M

3.2. METODE

3.2.1. Razvoj jelovnika

Ključni makronutrijenti za konstruiranje jelovnika bili su ugljikohidrati zbog njihovih gradivnih jedinica – glukoze, koja je u izravnoj ovisnosti s inzulinom kao ulaznom varijablom. Kako bi utjecaj ugljikohidrata na izlučivanje inzulina bio što jasniji dizajnirana su 4 jelovnika s različitim razinama ugljikohidrata odnosno niskougljikohidratni i visokougljikohidratni jelovnik te dva jelovnika sa srednjom razinom ugljikohidrata. Niskougljikohidratni jelovnik je konstruiran prema ketogenom obrascu prehrane, visokougljikohidratni prema zapadnjačkom, a jelovnici sa srednjom razinom ugljikohidrata prema mediteranskom obrascu prehrane te obrascu za povremeni post 16:8.

Ketogeni obrazac prehrane karakterizira vrlo nizak unos ugljikohidrata, a visok unos proteina i masti pa nam je ovaj obrazac poslužio za konstruiranje jelovnika nakon čije konzumacije očekujemo nisku razinu izlučenog inzulina. Jelovnik je složen prema udjelima makronutrijenata za ovaj obrazac, a to su: 5-10 % ugljikohidrata, 55-60 % masti i 30-35 % proteina (Masood i sur., 2022).

Nadalje, za dobivanje drugog ekstrema, odnosno gdje očekujemo najviše količine izlučenog inzulina, konstruiran je visokougljikohidratni jelovnik. Ovaj način prehrane karakterizira zapadnjačka „nezdrava“ prehrana pa je jelovnik složen tako da obroci sadrže što više prerađene hrane i rafiniranog šećera i da je omjer ugljikohidrata oko 60 %.

Za dobivanje srednje vrijednost izlučenog inzulina napravljen je jelovnik s umjerenom količinom ugljikohidrata prema mediteranskom obrascu prehrane gdje se nastojalo postići da udjeli makronutrijenata budu: 35-40 % ugljikohidrati, 35-45 % masti i 15-20 % proteini (Hoffman, 2023). Za sva 3 jelovnika je uzeta prosječna energetska vrijednost od 2000 kcal te su podijeljeni na 5 obroka.

Uz navedene, zbog znanstvenih radova koji ukazuju na pozitivan utjecaj na osjetljivost na inzulin, napravljen je jelovnik za povremeni post 16:8 (Paoli i sur., 2023). Glavno obilježje ovog obrasca je vrijeme konzumacije koje je ograničeno na odabranih 8 sati u danu, a ostalih 16 sati se posti odnosno ne konzumira hrana (Mayo Clinic, 2022a). Prilikom slaganja jelovnika uzeta je energetska vrijednost od 2000 kcal kao i za ostale jelovnike. S obzirom da nema definiranih omjera makronutrijenata već se samo navodi da to bude uravnotežena i raznovrsna prehrana, jelovnik je napravljen prema preporukama za mediteransku prehranu jer se ona smatra zlatnim standardom, a zbog ograničenog vremena za konzumaciju hrane napravljena su 3 obroka. Svi jelovnici su kreirani za opću populaciju (bez poremećaja u metabolizmu inzulina) pomoću USDA (engl. *U.S. Department of Agriculture*) tablične baze podataka za kemijski sastav namirnica zbog svog opsežnog i raznolikog sadržaja. Nakon izrade jelovnika izdvojeni su glavni podaci za daljnju obradu (energija, ugljikohidrati, proteini, masti, vlakna,) te su kreirane tablice.

3.2.2. Simulacije modela metabolizma inzulina u *CellDesigner*-u

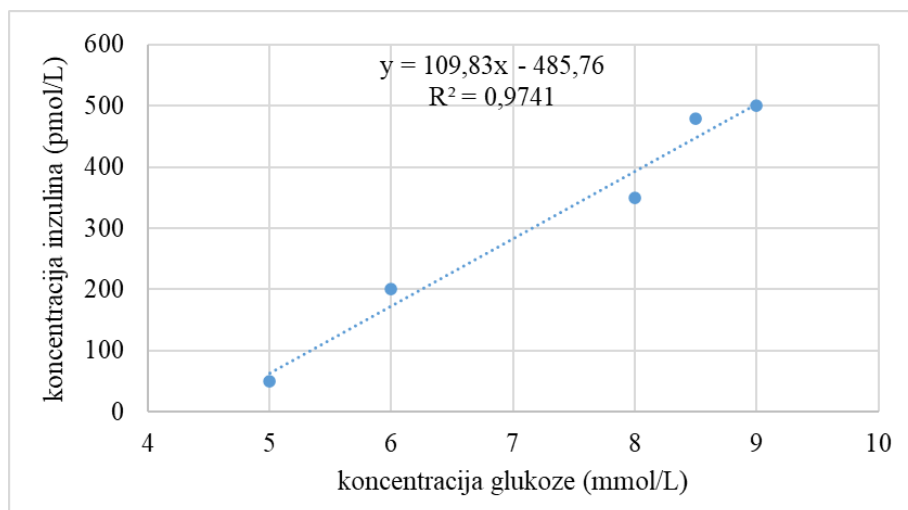
Model metabolizma inzulina konstruiran je u računalnom programu *CellDesigner* prema modelu Sedaghat i sur. (2002), a zatim su provedene simulacije. Valjanost modela provjerena je unosom početnih vrijednosti parametara navedenih u tablici 4, a za praćenje promjene koncentracije inzulina tijekom vremena (200 min) koristile su se izračunate vrijednosti inzulina poslije svakog obroka (ukupno 18 obroka iz 4 jelovnika). Za svaki obrok izračunata je koncentracija izlučenog inzulina na sljedeći način:

- i. Od ukupne mase ugljikohidrata oduzeta je masa vlakana kako bismo dobili masu probavljivih ugljikohidrata.
- ii. Na temelju mase probavljivih ugljikohidrata ($m_{UGH, probavljivi}$) izračunate su koncentracije glukoze ($c_{glukoza}$) dobivene njihovom razgradnjom koristeći jednadžbu 28:

$$c_{glukoza} = \frac{m_{UGH, probavljivi}}{M_{glukoza}} \cdot V_{krv} \quad [23]$$

gdje $M_{glukoza}$ označava molarnu masu glukoze koja iznosi 180 g/mol, a V_{krv} označava prosječni volumen krvi u organizmu i iznosi 5 L.

Prema podacima Butlera i Rizza (1991) konstruiran je linearni model ovisnosti koncentracije glukoze i izlučenog inzulina (slika 4) uz pomoć kojeg su iz dobivenih vrijednosti glukoze određene koncentracije izlučenog inzulina nakon svakog obroka. Vrijednosti koncentracije glukoze u krvi i posljedično izlučenog inzulina prikazane su u tablici 6.



Slika 4. Ovisnosti koncentracije izlučenog inzulina o koncentraciji glukoze u krvi prema podacima u radu Butler i Rizza (1991)

Tablica 6. Početne koncentracije inzulina za simulaciju modela na temelju razvijenih jelovnika

Jelovnik	Glukoza (mmol/L)	Inzulin (pmol/L)
MEDITERANSKI		
Zajutrak	59	5994,21
Doručak	27	2479,65
Ručak	24	2150,16
Užina	17	1381,35
Večera	64	6543,36
KETOGENI		
Zajutrak	7	283,05
Doručak	13	942,03
Ručak	5	63,39
Užina	15	1161,69
Večera	2	25,36

Tablica 6. Početne koncentracije za simulaciju modela na temelju razvijenih jelovnika - nastavak

Jelovnik	Glukoza (mmol/L)	Inzulin (pmol/L)
VISOKOUGLJIKOHIDRATNI		
Zajutrak	47	4676,25
Doručak	91	9508,77
Ručak	84	8739,96
Užina	49	4895,91
Večera	40	3907,44
POVREMENI POST 16:8		
Ručak	68	6982,68
Užina	53	5335,23
Večera	60	6104,04

4. REZULTATI I RASPRAVA

Simulacijom modela signalnog puta metabolizma inzulina u programu *CellDesigner* promatrana je promjena koncentracije inzulina (x_1) i GLUT4 receptora (x_{21}) u vremenskom razdoblju od 200 minuta. Koncentracije navedenih metabolita promatrane su nakon svakog obroka u 4 osmišljena jelovnika koja se razlikuju po udjelu ugljikohidrata odnosno glukoze. S naglaskom na to da se kao ulazna varijabla koristio izlučeni inzulin nakon svakog obroka dobiven na način opisan u poglavlju 3.2.2. Kako bi promjene u koncentracijama izlučenog inzulina bile što jasnije, napravljeni su jelovnici s niskim, visokim i srednjim udjelom ugljikohidrata prikazani u poglavlju 3.2.1. Uz navedene jelovnike dodan je još i jelovnik za povremeni post 16:8 kako bi se utvrdilo ima li i ovaj obrazac prehrane pozitivan utjecaj na inzulinsku osjetljivost.

4.1. JELOVNICI S RAZLIČITIM GLIKEMIJSKIM OPTEREĆENJEM

4.1.1. Ketogeni jelovnik

Za kreiranje jelovnika s niskim udjelom ugljikohidrata korišten je ketogeni obrazac prehrane (tablica 7). Jelovnik je složen prema glavnim karakteristikama ketogene dijeta spomenute u poglavlju 3.2.1. te one u ovom slučaju iznose: ugljikohidrati 10,2 %, proteini 34,2 % i masti 55,7 %. Općenito, da bi se zadovoljili ovi kriteriji koristile su se namirnice bogate mastima i namirnice sa srednjom količinom proteina, dok su se izbjegavale namirnice bogate ugljikohidratima (uglavnom voće, žitarice i proizvodi od žitarica). Većinu ugljikohidrata čini povrće, malo voća i orašastog voća pa ovaj jelovnik posljedično sadrži samo 13,5 g vlakana što je dvostruko manje od donje granice preporučenih vrijednosti koja iznosi 25 g (USDA, 2020).

U literaturi se navodi da ograničenje ugljikohidrata u ketogenoj prehrani smanjuje intestinalnu apsorpciju monosaharida i time dolazi do smanjene postprandijalne glikemije, smanjene potrebe za inzulinom iz gušterače, nižih koncentracija inzulina i omjera inzulina i glukagona. Gubitak tjelesne mase je također jedna od prednosti ove vrste prehrane, posebice jer je većina oboljelih s dijabetesom tip 2 ujedno i pretila (Paoli i sur., 2023).

Učinkovitost ketogene prehrane u snižavanju glukoze u krvi natašte prikazana je u meta-analizi usmjerenoj na pacijente s dijabetesom tip 2 kojom je utvrđeno smanjenje od oko 1,29 mmol/L glukoze u krvi natašte i 1,07 mmol/L glikiranog hemoglobina (HbA1c). Štoviše, ovaj način prehrane je poboljšao metabolizam lipida, sa značajnim smanjenjem triglicerida i ukupnog kolesterola te povećanjem lipoproteina visoke gustoće (engl. *High Density*

Lipoprotein, HDL) (Yuan i sur., 2020).

Međutim, stručnjaci naglašavaju da dijabetičari koji su koriste inzulin ili oralne hipoglikemijske lijekove mogu doživjeti ozbiljnu hipoglikemiju ukoliko režim uzimanja lijekova nije prilagođen načinu prehrane. Nadalje, uobičajena kratkotrajna nuspojava ovog režima prehrane je keto gripa (umor, glavobolja, vrtoglavica, mučnina, povraćanje, zatvor i niska tolerancija na tjelovježbu), dok se kao dugotrajne nuspojave navode steatoza jetre, bubrežni kamenci, hipoproteinemija te nedostatak vitamina (tiamin, folat, vitamin A, vitamin E, vitamin B6) i minerala (kalcij, magnezij, željezo i kalij) (Crosby i sur., 2021, Batch i sur., 2020).

Tablica 7. Ketogeni jelovnik

Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Proteini (g)	Masti (g)	Ugljikohidrati (g)	Vlakna (g)
Zajutrak						
jaja, kajgana	160	238,4	16,0	17,6	2,6	0,0
sir, mozzarella	65	195,0	14,4	14,5	1,4	0,0
pureća šunka	80	99,2	15,7	3,0	2,3	0,0
Σ	/	532,6	46,1	35,1	6,3	0,0
Doručak						
borovnice	60	34,2	0,4	0,2	8,7	1,4
sir, svježi, niskomasni	120	86,4	14,9	1,2	3,3	0,0
chia sjemenke	2	9,7	0,3	0,6	0,8	0,7
lješnjaci	15	94,2	2,2	9,1	2,5	1,5
Σ	/	224,5	17,8	11,1	15,3	3,6
Ručak						
svinjska pisanica, pržena	185	272,0	48,2	7,3	0,0	0,0
avokado	60	96,0	1,2	8,8	5,1	4,0
rajčica	60	10,8	0,5	0,1	2,3	0,7
ulje, maslinovo	20	176,8	0,0	20,0	0,0	0,0
salata, iceberg	90	12,6	0,8	0,1	2,7	1,1
lanene sjemenke	2	10,7	0,4	0,8	0,6	0,5
ocat, jabučni	13	2,7	0,0	0,0	0,1	0,0
Σ	/	581,6	51,1	37,1	10,8	6,3
Užina						
jogurt, niskomasni	140	78,4	8,0	0,3	10,8	0,00
pistacija	13	73,7	2,7	5,8	3,8	1,3
Σ	/	152,1	10,7	6,1	14,6	1,3
Večera						
losos, pečeni	170	309,4	43,2	13,8	0,0	0,0
cvjetača, kuhana	100	23,0	1,8	0,5	4,1	2,3
ulje, maslinovo	20	176,8	0,0	20,0	0,0	0,0
Σ	/	509,2	45,0	34,3	4,1	2,3
Σ	/	2000,0	170,7	123,7	51,2	13,5

4.1.2. Visokouglikohidratni jelovnik

Ovaj jelovnik složen je prema principima zapadnjačke prehrane (tablica 8) koju karakterizira visok udio zasićenih masti, šećera, fruktoznog sirupa dobivenog iz kukuruza, rafiniranih žitarica, niskog udjela vlakana, soli i smanjene konzumacije voća i povrća (Janssen, 2023). S obzirom da je glavna karakteristika ove prehrane visok unos ugljikohidrata koji se kreće od 200 do 300 g, jelovnik je napravljen prema tom uvjetu i ukupno sadrži 299,6 g ugljikohidrata (21,3 g vlakana) (Alpers, 2003). Nadalje, zbog nedovoljnog unosa voća i povrća, javljaju se nedostaci vitamina i minerala što posljedično negativno utječe na imunološki sustav. Napier i sur. (2019) utvrdili su da miševi hranjeni visokouglikohidratnom prehranom imaju višu razinu upale i sepse s posljedičnim lošijim ishodima u odnosu na miševe hranjene standardnom prehranom bogatom vlaknima. Uz to, ova prehrana se povezuje i s povećanjem rizika za obolijevanje od kroničnih bolesti kao što je metabolički sindrom koji obuhvaća dijabetes tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti (Janssen, 2023).

Tablica 8. Visokouglikohidratni jelovnik

Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Proteini (g)	Masti (g)	Ugljikohidrati (g)	Vlakna (g)
Zajutrak						
kroasan, maslac	50	203,0	4,1	10,5	22,9	1,3
sok od naranče	200	90,0	1,4	0,4	20,8	0,4
Σ	/	293,0	5,5	10,9	43,7	1,7
Doručak						
kruh, bijeli	90	243,0	9,3	3,1	44,5	3,8
maslac	15	107,6	0,1	12,2	0,0	0,0
pekmez, marelica	30	72,6	0,2	0,1	19,3	0,1
mlijeko, punomasno	200	122,0	6,3	6,5	9,6	0,0
kakao	15	59,7	1,0	0,6	12,6	0,6
Σ	/	604,9	16,9	22,5	86,0	4,5
Ručak						
riža, bijela, kuhana	60	78,0	1,4	0,1	17,2	0,0
grašak, kuhani	80	67,2	4,3	0,2	12,5	4,4
mrkva, kuhana	70	24,5	0,5	0,1	5,8	2,1
pileća prsa, pečena	110	322,3	17,4	19,5	18,7	1,4
pire krumpir	60	67,8	1,2	2,5	10,2	0,9
sok od jabuke	180	82,8	0,2	0,2	20,3	0,4
Σ	/	642,6	25,0	22,6	84,7	9,2
Užina						
banana	130	115,7	1,4	0,4	29,7	3,4
keksi s komadićima čokolade	25	113,3	1,5	3,9	18,3	0,9
Σ	/	229,0	2,9	4,3	48,0	4,3
Večera						
griz	40	144,0	5,1	0,4	29,1	1,6
mlijeko, punomasno	130	79,3	4,1	4,2	6,2	0,0
čokoladni preljev	15	13,5	0,5	0,4	1,9	0,0
Σ	/	236,8	9,7	5,0	37,2	1,6
Σ	/	2006,3	60,0	65,3	299,6	21,3

4.1.3. Mediteranski jelovnik

Glavne karakteristike ovog obrasca su svakodnevni unos voća (2-3 porcije), povrća (≥ 4 porcija), cjelovitih žitarica i biljnih masti (osobito maslinovog ulja) te umjerene količine mliječnih proizvoda (sir i jogurt). Na tjednoj razini preporuča se konzumacija ribe (posebno plave), peradi, orašastih plodova, mahunarki i jaja, a ograničava se unos crvenog mesa i zaslađenih jela. Preporuča se korištenje biljnih začina umjesto soli te je dopuštena umjerena konzumacija vina uz obroke (Mayo Clinic, 2023; Cleveland Clinic, 2022). Jelovnik napravljen prema navedenim smjernicama prikazan je u tablici 9. Nadalje, prilikom slaganja jelovnika se uz omjere makronutrijenata pazilo da se zadovolje dnevne potrebe kalcija i magnezija zbog njihovog utjecaja na inzulinsku osjetljivost.

Ovaj obrazac sadrži umjerene količine ugljikohidrata i koristi se kao standard u preporukama za dijabetičare, pretili i opću populaciju (Pavić i sur., 2023). Utvrđeno je da ovaj tip prehrane ima brojne pozitivne učinke za zdravlje čovjeka. Prema rezultatima dugoročnih opservacijskih studija i randomiziranih ispitivanja čimbenika kardiovaskularnog rizika i ishoda bolesti, mediteranski obrazac prehrane smanjuje incidenciju i smrtnost od kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2 i metaboličkog sindroma, učestalost nekih vrsta raka i kognitivnu funkciju (Dominguez i sur., 2023; Guasch-Ferré i Willett, 2021), a kao potencijalne mehanizme navode:

- poboljšanje inzulinske rezistencije,
- gubitak tjelesne mase,
- poboljšanje profila lipida,
- smanjenje endotelne disfunkcije,
- smanjenje oksidativnog stresa,
- smanjenje kronične upale niskog stupnja,
- poboljšanje sastava mikrobiote,
- poboljšanje imunoloških odgovora i
- smanjenje protrombotičkih mehanizama (Dominguez i sur., 2023)

Tablica 9. Mediteranski jelovnik

Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Proteini (g)	Masti (g)	Ugljikohidrati (g)	Vlakna (g)
Zajutrak						
jaje, poširano	100	143,0	12,5	9,5	0,7	0,0
rajčica	70	12,6	0,6	0,1	2,7	0,8
sir, gouda	20	71,2	5,0	5,5	0,4	0,0
kruh, raženi	95	245,1	8,1	3,1	45,9	5,5
mlijeko, 1% m.m.	200	84,0	6,7	1,9	10,0	0,0
Σ	/	555,9	32,9	20,1	59,7	6,3
Doručak						
jogurt, punomasni	200	122,0	6,9	6,5	9,3	0,0
borovnice	120	68,4	0,9	0,4	17,4	2,9
chia sjemenke	2	9,7	0,3	0,6	0,8	0,7
Σ	/	200,1	8,1	7,5	27,5	3,6
Ručak						
Orada, pečena	90	111,6	21,3	2,3	0,0	0,0
blitva, kuhana	75	15,0	1,4	0,1	3,1	1,6
ulje, maslinovo	20	176,8	0,0	20,0	0,0	0,0
krumpir, kuhani	100	87,0	1,9	0,1	20,1	1,8
salata, iceberg	100	14,0	0,9	0,1	3,0	1,2
Ocat, jabučni	5	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Σ	/	405,5	25,5	22,5	26,2	4,6
Užina						
badem	17	97,8	3,6	8,4	3,7	2,1
jabuka	120	62,4	0,3	0,2	16,6	2,9
Σ	/	160,2	3,9	8,6	20,3	5,0
Večera						
piletina, pečena	115	337,0	18,1	20,3	19,6	1,5
kupus, zeleni	100	25,0	1,3	0,1	5,8	2,5
ocat	5	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0
ulje, maslinovo	13	114,9	0,0	13,0	0,0	0,0
tjestenina	90	117,0	4,8	1,6	21,2	0,0
umak od rajčice	100	38,0	1,7	0,2	9,0	1,9
bosiljak, sušeni	1	2,3	0,2	0,0	0,5	0,4
mandarina	70	37,1	0,6	0,2	9,3	1,3
Σ	/	672,4	26,7	35,4	65,4	7,5
Σ	/	2032,1	97,1	94,1	199,2	27,0

4.1.4. Jelovnik za povremeni post 16:8

Povremeni post (engl. *intermittent fasting, IF*) se odnosi na redovita razdoblja bez ili s vrlo ograničenim unosom kalorija (Welton i sur., 2020). Postoje brojne vrste posta kao što su alternativni dan posta (jedan dan normalna konzumacija hrane, a sljedeći dan post ili mali obrok do 500 kcal) i post 5:2 (2 dana post, 5 dana normalna konzumacija hrane), a za ovaj rad odabran je povremeni post 16:8. Ovaj oblik posta karakterizira normalna konzumacija hrane 8 sati u danu i 16 sati bez hrane (Mayo Clinic, 2022a). Jelovnik se za razliku od ostalih sastoji od 3 obroka (ručak, užina, večera) zbog navedenog kraćeg vremena za konzumaciju hrane (u ovom slučaju od 12:00h do 20:00h), a obroci su slagani prema principima mediteranske prehrane (tablica 10). Kod ovog se jelovnika također uzelo u obzir da kalcij i magnezij zadovoljavaju dnevne potrebe.

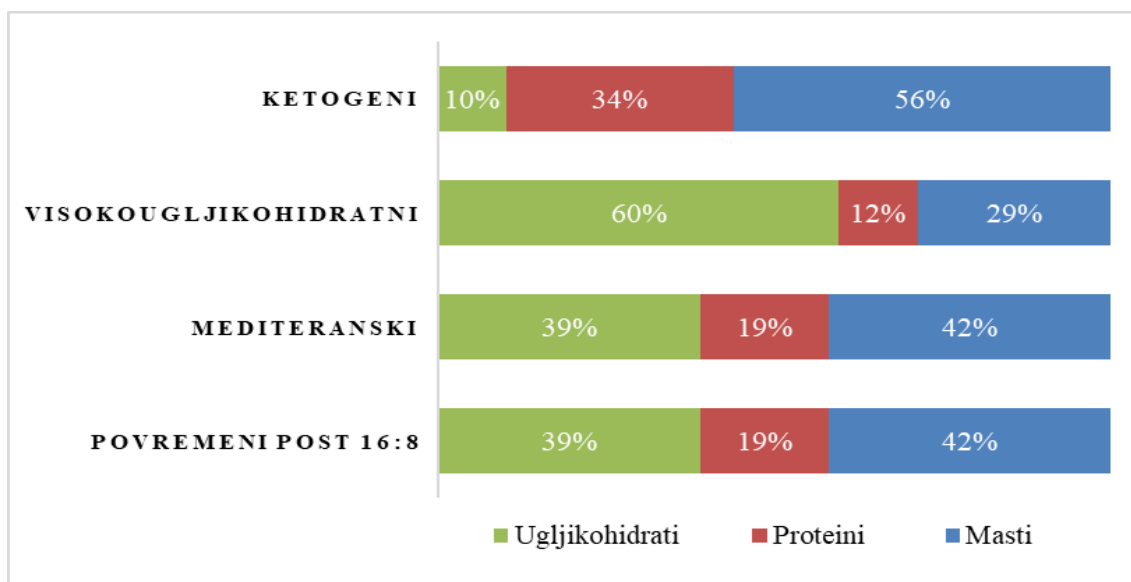
Dosadašnja istraživanja na ljudima sugeriraju da ovaj obrazac prehrane može smanjiti rizik od kardiovaskularnih bolesti dok poboljšava kontrolu tjelesne mase, hipertenzije, dislipidemije i dijabetesa. Smatra se da povremeni post ostvaruje svoje učinke kroz više puteva uključujući smanjenje oksidativnog stresa, optimiranje cirkadijalnog ritma i ketogenezu (Dong i sur., 2020; Welton i sur., 2020). Yuan i sur. (2022) su usporedbom kliničkih istraživanja provedenih u posljednjih 8 godina proučavali odnos između povremenog posta i poremećenog metabolizma glukoze i lipida kod osoba s metaboličkim sindromom. Utvrđeno je da je povremeni post učinkovita terapijska opcija za pacijente s metaboličkim sindromom te da pridonosi gubitku tjelesne mase i može značajno poboljšati inzulinsku rezistenciju (Yuan i sur., 2022). Međutim, bitno je naglasiti da se dijabetičari prije početka primjene ovog načina prehrane moraju konzultirati s liječnikom zbog povećanog rizika od hipoglikemije (Mayo Clinic, 2022a; Welton i sur., 2020).

Tablica 10. Jelovnik za povremeni post 16:8

Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Proteini (g)	Masti (g)	Ugljikohidrati (g)	Vlakna (g)
Ručak						
Sardine, konzerva, cijedena	100	208,0	24,6	11,5	0,0	0,0
kupus, zeleni	160	40,0	2,0	0,2	9,3	4,0
luk, žuti	110	44,0	1,2	0,1	10,3	1,9
šećer, smeđi	3	11,4	0,0	0,0	2,9	0,0
ulje, maslinovo	25	221,0	0,0	25,0	0,0	0,0
tjestenina, domaća	125	162,5	6,6	2,2	29,4	0,0
naranča	160	75,2	1,5	0,2	18,8	3,8
Σ		762,1	35,9	39,2	70,7	9,7
Užina						
jogurt, punomasni	170	103,7	5,9	5,5	7,9	0,0
zobene pahuljice, kuhane	90	63,9	2,3	1,4	10,8	1,5
maline	150	78,0	1,8	1,0	17,9	9,8
chia sjemenke	2	9,7	0,3	0,6	0,8	0,7
med	25	76,0	0,1	0,0	20,6	0,1
badem	20	115,0	4,2	9,9	4,3	2,4
Σ		446,3	14,6	18,4	62,3	14,5
Večera						
tuna, pržena	120	220,8	35,9	7,5	0,0	0,0
kelj, kuhan	100	28,0	1,9	0,4	5,6	2,0
kruh, raženi	70	180,6	6,0	2,3	33,8	4,1
ulje, maslinovo	27	238,7	0,0	27,0	0,0	0,0
salata, iceberg	150	21,0	1,4	0,2	4,5	1,8
rajčica	150	27,0	1,3	0,3	5,8	1,8
ocat, jabučni	5	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0
jabuka	120	62,4	0,3	0,2	16,6	2,9
Σ		779,6	46,8	37,9	66,3	12,6
Σ		2045,9	97,3	95,5	199,3	36,8

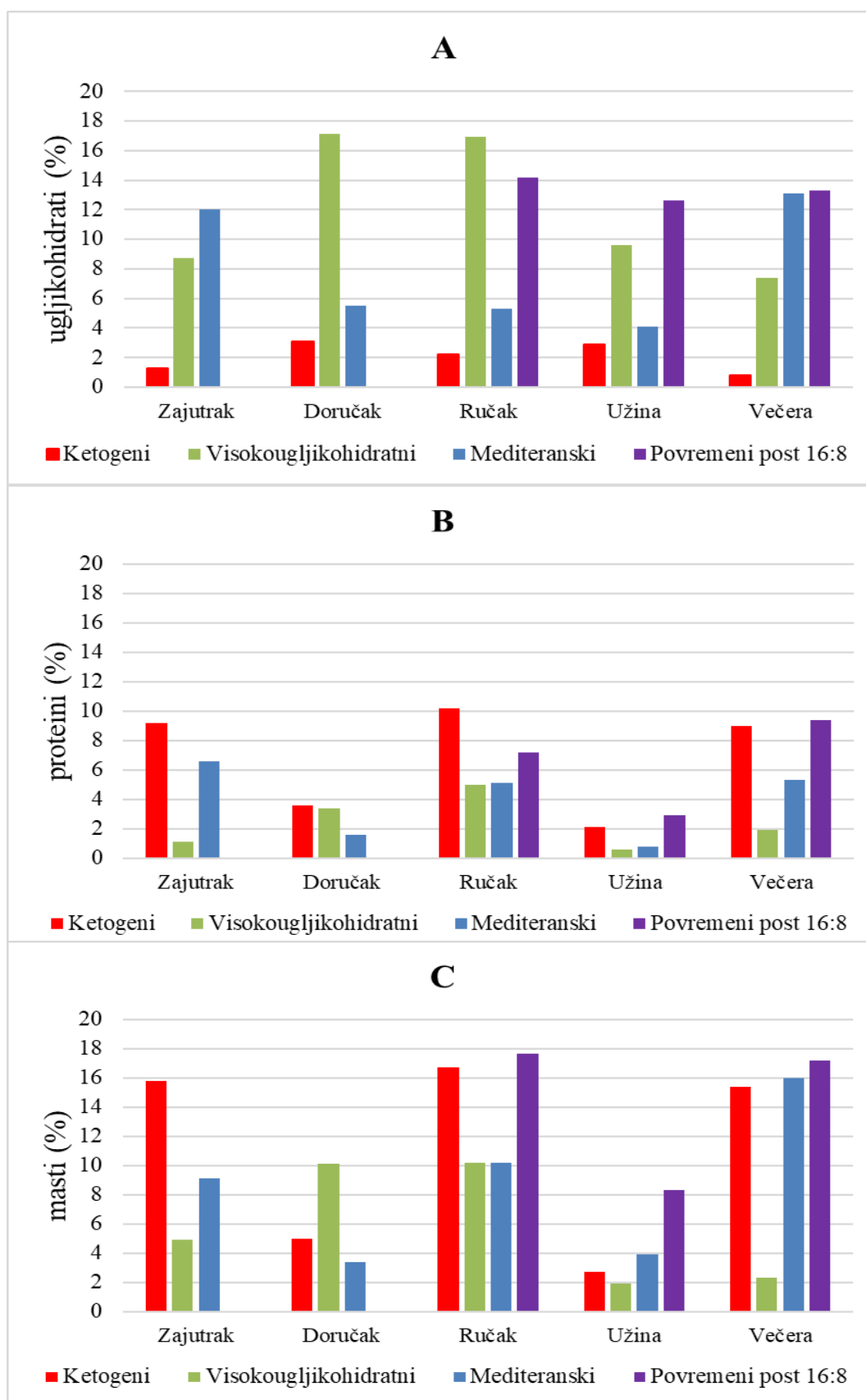
4.2. ANALIZA JELOVNIKA

S obzirom da se ovaj rad temelji na imitiranju biokemijskih procesa u stanici pomoću matematičkog modela nije bio moguć individualni pristup kod prilagodbe energetskeg unosa i za sva 4 jelovnika uzeta je prosječna vrijednost od 2000 kcal.



Slika 5. Raspodjela makronutrijenata u jelovnicima

Omjeri makronutrijenata pojedinih jelovnika prikazani su na slici 5. Vrijednosti su prilagođene smjernicama za pojedine prehrambene obrasce pa tako u ketogenom jelovniku dominiraju masti koje čine 56 % (preporuka 55-60 %) i proteini koji čine 34 % (preporuka 30-35 %) od ukupnog energetskeg unosa, dok je udio ugljikohidrata najniži i iznosi 10 % (preporuka 5-10 %). Nasuprot ketogenom, visokouglikohidratni jelovnik, kao što mu i samo ime govori, sastoji se pretežno od ugljikohidrata koji čine 60 % ukupne energetske vrijednosti. Mediteranski jelovnik čini 39 % ugljikohidrata (preporuka 35 – 40 %), 19 % proteina (preporuka 15 – 20 %) i 42 % masti (preporuka 35 - 45 %), a s obzirom da je jelovnik za povremeni post 16:8 također kreiran po preporukama za mediteransku prehranu raspodjela makronutrijenata je jednaka kao i u mediteranskom jelovniku.



Slika 6. Udio makronutrijenata u obrocima (%): A) količina ugljikohidrata u obrocima;
B) količina proteina u obrocima; C) količina masti u obrocima

Prema prikupljenim podacima o količini makronutrijenta po obrocima svakog jelovnika izračunat je njihov udio od ukupnog energetskeg unosa te su napravljena 3 grafikona prikazana na slici 6. Na slici 6A, u raspodjeli ugljikohidrata prisutne su značajne varijacije. Kod mediteranskog jelovnika je zastupljenost ugljikohidrata najveća u prvom i zadnjem obroku, a u ostalim obrocima je puno manja, ali ujednačena. S druge strane, kod visokouglikohidratnog jelovnika najveće količine ugljikohidrata nalaze se u doručku i ručku. U ostalim obrocima ovog jelovnika količine su ujednačene i niže. Dimova i sur. (2023) su proučavanjem varijabilnosti glikemije i prehranbenog obrasca kod ispitanika s poremećenom i kod onih s normalnom tolerancijom glukoze utvrdili da količina ugljikohidrata najviše varira kod visokouglikohidratnog jelovnika. Međutim, Walsh i sur. (2017) su usporedbom „zapadnjačke“ prehrane i njoj oprečne tzv. „prudent“ prehrane (voće, povrće, nemasno meso, riba i neprerađene žitarice) utvrdili da oba načina prehrane nisu značajno povezani s glukozom u krvi.

Kod ketogenog jelovnika ugljikohidrati su očekivano u svim obrocima najniži, što je u skladu s rezultatima istraživanja Battezzati i sur. (2023) provedenog na zdravoj populaciji gdje su ispitanici konzumirali miješane standardizirane obroke mediteranske i ketogene prehrane u dva različita dana s razmakom od 7 dana. Iako istraživanje nije otkrilo razlike u prosječnoj koncentraciji glukoze, u usporedbi s mediteranskim obrokom, koncentracije glukoze nakon ketogenog obroka bile su značajno niže između 10 i 30 minuta. Međutim, bitno je napomenuti da sastav ketogenog obroka u spomenutoj studiji (masti : ugljikohidrati = 4:1) približno odgovara samo ručku iz jelovnika razvijenog u ovom radu, dok u ostalim obrocima udio masti je puno veći ili manji od navedenog omjera (Battezzati i sur., 2023).

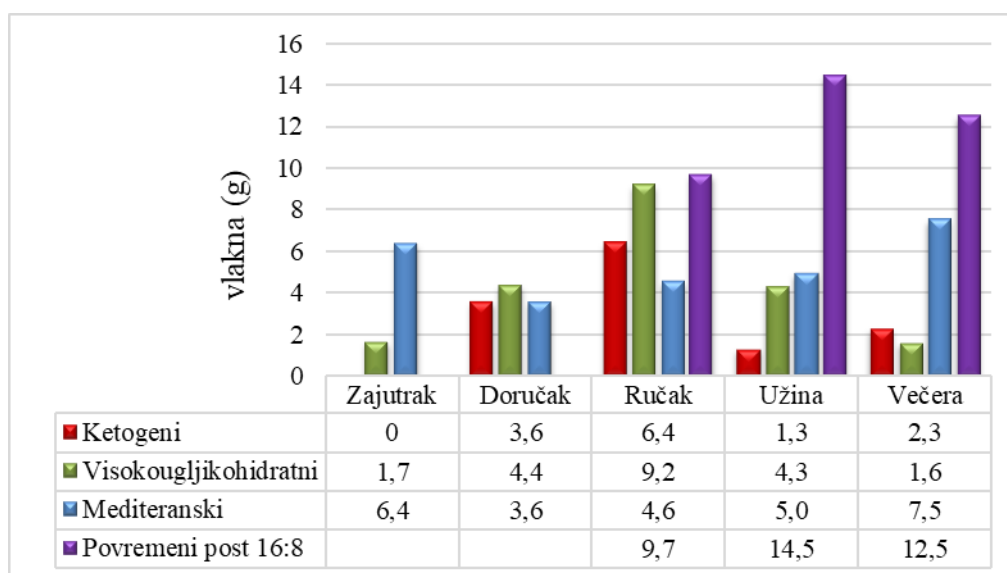
Povremeni post sastoji se od samo 3 obroka (ručak, užina i večera) pa su makronutrijenti u ta 3 obroka najviše ili jednako zastupljeni upravo kod ove vrste jelovnika (slika 6). To je posebno vidljivo kod užine koja kod posta sadrži skoro 3 puta više masti od ketogenog jelovnika kojem je to primarni makronutrijent. Količina ugljikohidrata je najviša u ručku, dok je u užini i večeri neznatno niža, stoga slično rezultatima prethodnih studija, povremeni post kod zdrave populacije nije doveo do značajne promjene u razini glukoze u krvi (Cheung i sur., 2024). Isto tako, kod povremenog posta 16:8 se uočava ravnomjerna raspodjela ugljikohidrata, izostanak rafiniranih žitarica i dovoljno velike količine proteina što podupire rezultate rada (Dimova i sur., 2023).

Na slici C) vidljivo je da su masti najviše zastupljene u glavnim obrocima sastavljenih jelovnika osim kod visokouglikohidratnog gdje su one najviše zastupljene u doručku i ručku. Nadalje, kod visokouglikohidratnog jelovnika su masti kod svih obroka (osim u ručku) zastupljene u manjim količinama u odnosu na obroke ostalih jelovnika. Objašnjenje leži u

činjenici da su odabrani jednostavni ugljikohidrati prilikom slaganja jelovnika, a namirnice i jela bogata mastima nisu bila predmet ovog istraživanja. Proteini (slika 6B) su manje zastupljeni od masti, međutim raspodjela po obrocima je vrlo slična s iznimkom doručka ugljikohidratnog jelovnika kod kojeg su više zastupljene masti te užine gdje se post ističe s puno većom razinom masti od ostalih jelovnika. Uočava se puno manja količina proteina kod visokouglikohidratnog jelovnika u odnosu na količinu ugljikohidrata te njenom usporedbom sa količinama proteina ostalih jelovnika također su vidljive niže količine što je u skladu s rezultatima istraživanja Dimove i sur. (2023).

4.2.1. Raspodjela vlakana po obrocima

Vlakna imaju važnu ulogu u regulaciji glukoze. Naime, vlakna se dijele na topiva i ne topiva pri čemu se topiva vlakna otapaju u želudcu i stvaraju tvar sličnu gelu, a netopiva nepromijenjena prolaze kroz probavni sustav. Topiva vlakna na ovaj način usporavaju probavu i time pomažu u kontroli šećera i kolesterola u krvi, što može pomoći u sprječavanju ili upravljanju komplikacijama dijabetesa, a netopiva vlakna pozitivno utječu na inzulinsku osjetljivost i poboljšavaju peristaltiku crijeva (Mayo Clinic 2022b; CDC, 2022). Međutim, ona nemaju energetske vrijednosti (Prosky, 2000) stoga su se prilikom određivanja razine glukoze iz jelovnika ona oduzimala.



Slika 7. Raspodjela količine vlakana po obrocima

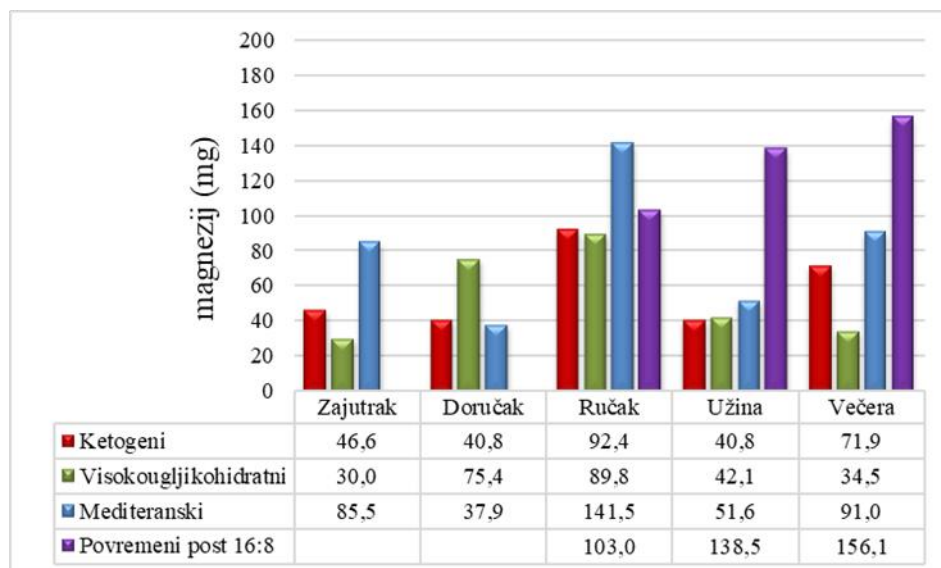
Količine vlakana po obrocima iz sva 4 jelovnika prikazana su na slici 7. Kod jelovnika za povremeni post masa vlakana je najveća u užini, malo niža u ručku i večeri, a namirnice koje najviše pridonose količini vlakana su maline, raženi kruh, naranča i kupus. Kod mediteranskog

jelovnika vlakna su najviše zastupljena tijekom zajutarka i večere, a nešto manje tijekom preostala 3 obroka. Namirnice koje su najviše pridonijele ukupnoj količini vlakana su bademi, jabuka i borovnice te isto kao kod povremenog posta, kupus i raženi kruh. U ketogenom jelovniku vlakna su više zastupljena u ručku od mediteranskog jelovnika te u večeri od visokouglikohidratnog jelovnika, no u svim ostalim obrocima masa vlakana je niža, a u zajutarku čak potpuno izostaje.

Rezultati velikih prospektivnih kohortnih studija su pokazala da visok unos netopivih vlakana žitarica (u većini studija > 30 g/dan) ili proizvoda od cjelovitih žitarica ($> 30 - 40$ g/dan) može smanjiti inzulinsku rezistenciju i rizik od razvoja dijabetesa tipa 2 za 20-30 % (Weickert i Pfeiffer, 2018). Wei i sur. (2018) dokazali su smanjenje vjerojatnosti obolijevanja od metaboličkog sindroma za 11 % s povećanjem ukupnog unosa vlakana za 10 g/dan. Isto istraživanje potvrdilo je da vlakna iz žitarica i voća mogu smanjiti rizik od metaboličkog sindroma (Wei i sur., 2018).

4.2.2. Raspodjela magnezija i kalcija po obrocima

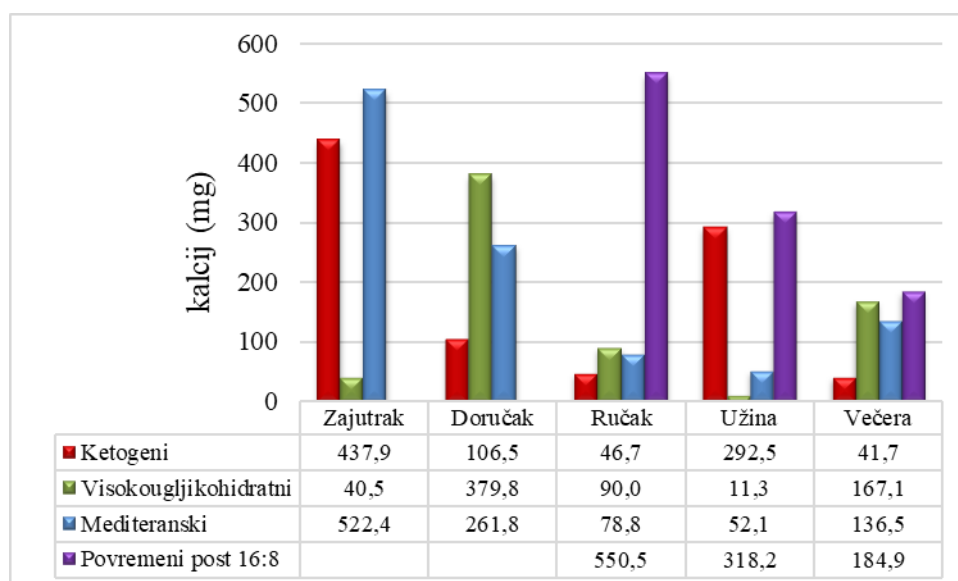
Uz makronutrijente i vlakna u radu se također promatrao i utjecaj unosa mikronutrijenata, magnezija i kalcija. Magnezij ima ključnu ulogu kao kofaktor tirozin kinaze koja sudjeluje u fosforilaciji inzulinskog receptora pa njegov manjak dovodi do oštećenja postreceptorskog djelovanja inzulina te se mijenja stanični transport i iskorištavanje glukoze u stanici (Kostov, 2019). Sve navedeno pogoršava inzulinsku rezistenciju kod dijabetesa tipa 2 (Kostov, 2019), a pacijenti s nedostatkom magnezija često se suočavaju i s komplikacijama poput ishemijske srčane bolesti, vaskularnih problema kod dijabetesa te hormonskih, neuroloških, gastrointestinalnih, bubrežnih i mišićnih disfunkcija (Ekpenyong, 2018).



Slika 8. Raspodjela magnezija po obrocima

Razine magnezija po obrocima konstruiranih jelovnika prikazane su na slici 8. U mediteranskom i ketogenom jelovniku najviše magnezija sadržavaju glavni obroci (zajutrak, ručak, večera), a u međuobrocima su niske s tim da mediteranski jelovnik zadovoljava dnevne potrebe za ovim mikronutrijentom, a ketogeni ne zadovoljava. Kod visokouglikohidratnog jelovnika se uočavaju niže ili približno jednake razine magnezija u svim obrocima od preostala 3 jelovnika s iznimkom u doručku što se i očekivalo s obzirom na prethodno opisane karakteristike ovog obrasca. Kod povremenog posta 16:8 su razine magnezija visoke u svim obrocima.

Kalcij, kao najzastupljeniji mineral u tijelu, regulira kanale potrebne za oslobađanje inzulina u stanicama gušterače te se u brojnim istraživanjima povezuje adekvatan unos kalcija sa smanjenim rizikom za obolijevanje od dijabetesa tipa 2 (Yücel i Gürbüz, 2023).



Slika 9. Raspodjela kalcija po obrocima

Na grafu raspodjele kalcija po obrocima različitih jelovnika ne uočavaju se pravilnosti po kojoj bi se moglo uspoređivati. Ističe se skoro 5 puta veća količina kalcija u ručku povremenog posta koja je prisutna zbog izbora sardine s kostima. Usporedbom magnezija i kalcija, vidljivo je da su oba prisutna u svim obrocima uz iznimku izostanka kalcija u užini visokouglikohidratnog jelovnika. U presječnoj studiji unos kalcija hranom od 812 mg/dan (Q3) bio je povezan s povećanim rizikom od razvoja dijabetesa tip 2 u općoj populaciji i kod žena što bi u ovom slučaju značilo da visokouglikohidratna prehrana povećava navedeni rizik (Shah i sur., 2021).

Istraživanja su pokazala da i visok unos kalcija može imati negativne utjecaje za obolijevanje. Višak intracelularnog kalcija povezan je s nedostatkom magnezija što dovodi do dodatne aktivacije protein kinaze C (PKC) koja katalizira reakciju fosforilacije receptora i uzrokuje promjenu konformacije koja može rezultirati inzulinskom rezistencijom (Ekpenyong, 2018). S obzirom na to saznanje prilikom slaganja mediteranskog jelovnika i jelovnika za povremeni post u obzir su uzete preporuke za magnezij i kalcij. Preporuke nisu uzete u obzir kod ketogenog i visokouglikohidratnog jelovnika jer se radi o ekstremnim prehranbenim obrascima gdje se očekuje deficit određenih mikronutrijenata pa tako i kalcija i magnezija. Preporuke za ove mikronutrijente se razlikuju uglavnom prema dobi i/ili spolu pa je za magnezij uzeta vrijednost 400 mg (muškarci, 19 - 30 godina), a za kalcij 1000 mg (muškarci i žene, 19 – 50 godina) (NIH, 2024; NIH 2022). Dakle, mediteranski jelovnik i jelovnik za povremeni post sadrže magnezij prema preporukama koji iznosi 407 odnosno 398 mg, dok je kalcij u blagom suvišku i iznosi 1051 mg odnosno 1054 mg. S druge strane, u ketogenom sadržaj kalcij iznosi

925 mg, a u visokouglikohidratnom 688,6 mg, a magnezij 293 mg odnosno 272 mg (tablica 11).

Osim viška i manjka kalcija Shah i sur. (2021) ukazuju i na važnost omjera ovih dvaju mikronutrijenata. Rezultati njihove studije ukazuju na povezanost između većeg omjera kalcija i magnezija s povećanim rizikom od dijabetesa tip 2 u cijeloj populaciji. S obzirom da visok omjer kalcija i magnezija u prehrani ($>2,60$) nepovoljno utječe na razinu magnezija u organizmu, a visoki unos magnezija može nepovoljno utjecati na osobe s izrazito niskim omjerom Ca/Mg u prehrani ($<1,70$) predložen je raspon omjera Ca/Mg od 1,70–2,60 (Costello i sur., 2021). Huang i sur. (2014) također naglašavaju važnost omjera kalcija i magnezija te u svom radu navode da su omjer Ca/Mg između 2,0 i 2,5 i adekvatan unos Mg kod starijih bolesnika s dijabetesom važni za smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti. Količine magnezija, kalcija i njihov omjer prikazan je u tablici 11.

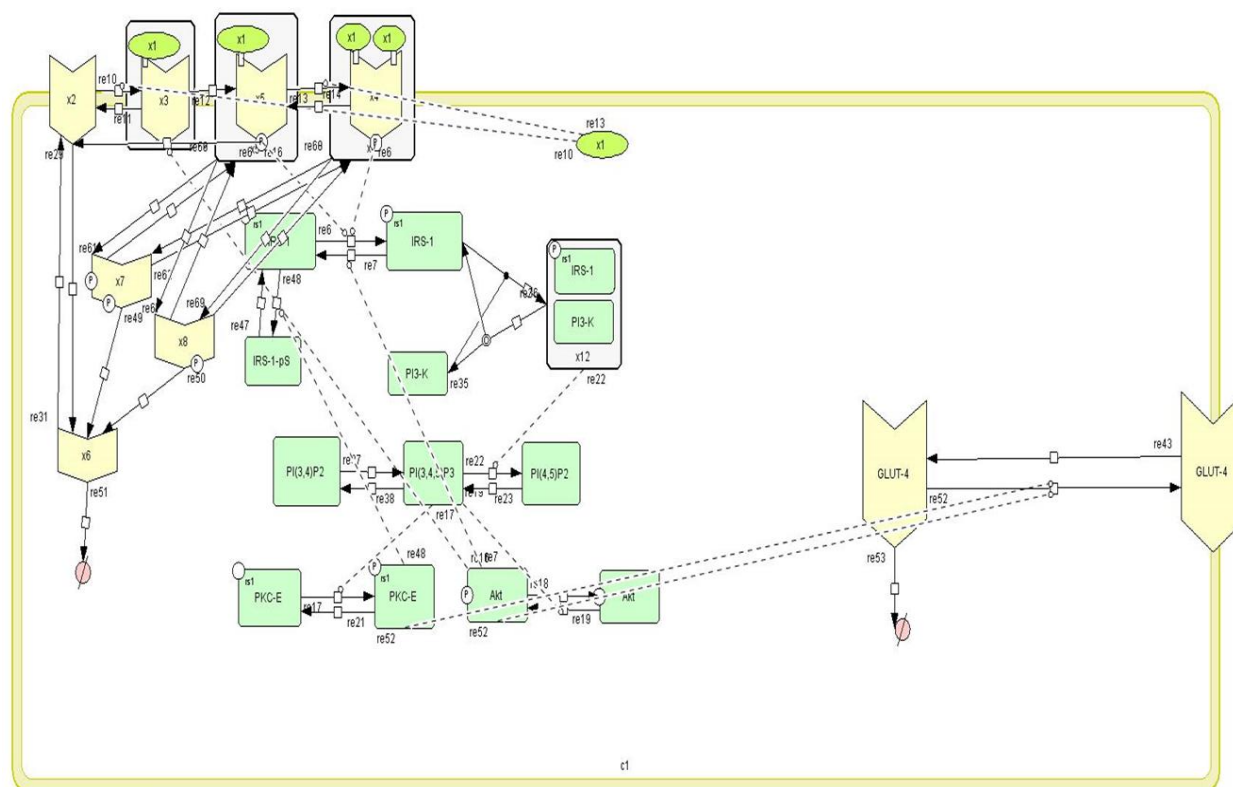
Tablica 11. Ukupna količina magnezija i kalcija po jelovnicima te njihov omjer i preporuke za preporučeni dnevni unos

Jelovnici	Magnezij (mg/dan)	Kalcij (mg/dan)	Omjer Ca/Mg
Ketogeni	293	925	3,2
Visokouglikohidratni	272	689	2,5
Mediterranski	407	1052	2,6
Povremeni post 16:8	398	1054	2,7
PREPORUKE	400	1000	1,7-2,5

Uspoređujući mediteranski jelovnik i jelovnik za povremeni post sastavljen prema principu mediteranske prehrane vidljivo je da već kod blagog prekoračenja kalcija od oko 50 mg omjer nije u odgovarajućem rasponu. Također, može se zaključiti da ovaj omjer nije dobar pokazatelj kod jelovnika u kojima preporuke nisu zadovoljene kao što je u ovom slučaju visokouglikohidratni jelovnik koji je uz to jedini s omjerom unutar preporučenih raspona. U istraživanju Yücel i Gürbüz (2023) omjer Ca/Mg se uz razine magnezija pokazao kao važan parametar za pacijente s dijabetesom tipa 2, no potrebne su opsežnije studije prije primjene za praćenje kontrole glikemije u praksi.

4.3. REZULTATI SIMULACIJE MODELA METABOLIZMA INZULINA

Na temelju podataka o koncentraciji glukoze u krvi nakon konzumacije pojedinog obroka i proporcionalne koncentracije inzulina u krvi provedena je simulacija modela metabolizma inzulina u programskom paketu *CellDesigner*. Prikaz modela konstruiranom primjenom programskog paketa *CellDesigner* dan je na slici 10.



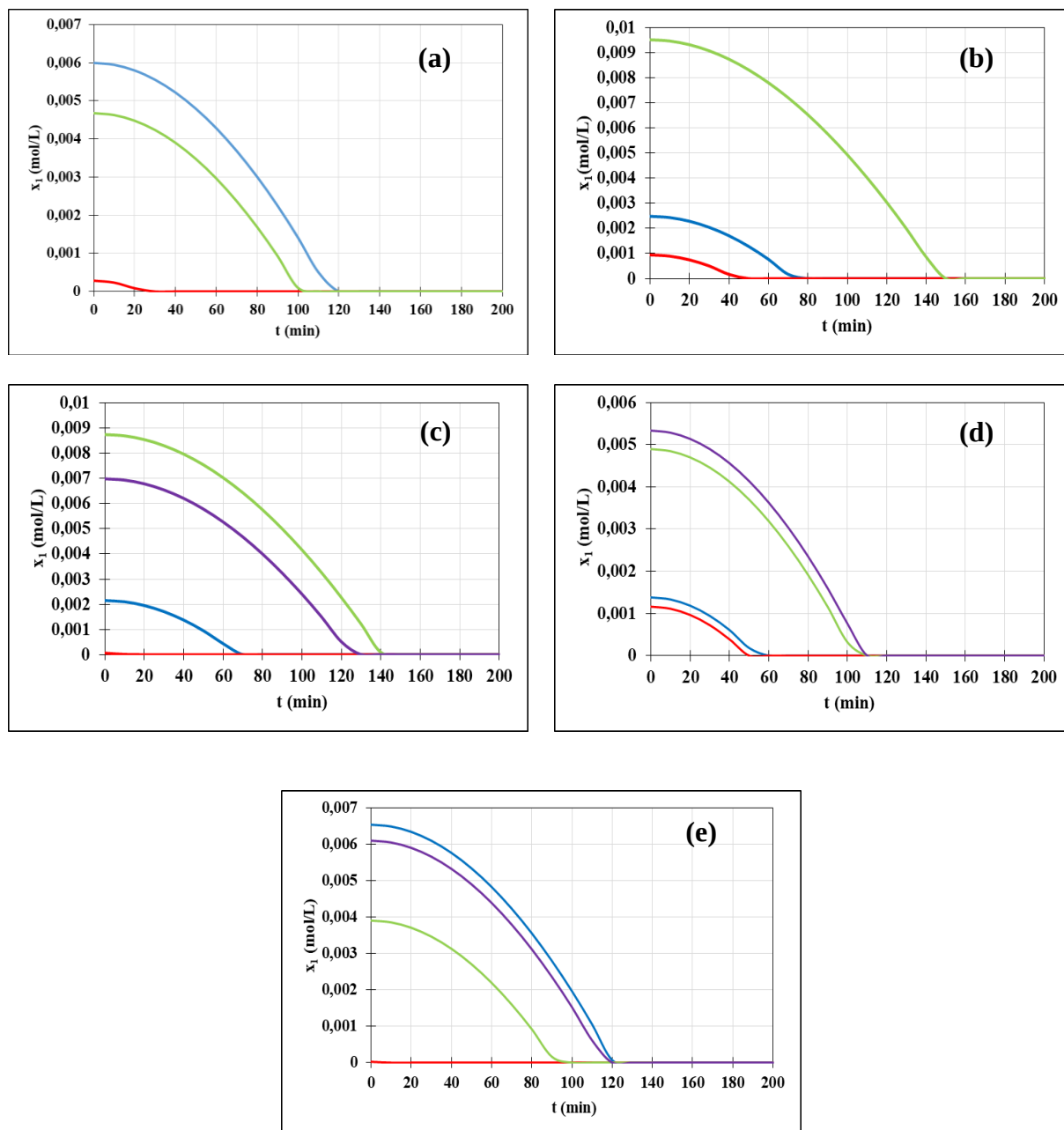
Slika 10. Prikaz modela metabolizma inzulina konstruiranog u programu *CellDesigner*

Kao što je prethodno spomenuto razvijena su 4 jelovnika od kojih se 3 (visokouglikohidratni, mediteranski, ketogeni) sastoje od 5 obroka, a samo jedan (povremeni post 16:8) od 3 obroka. Iz svih obroka izračunata je količina glukoze preko koje je određena početna koncentracija inzulina. Dobiveno je ukupno 18 koncentracija inzulina koje su korištene za provedbu simulacija (tablica 6). Međutim, uz inzulin (x_1) promatrala se i promjena udjela glukoza transportera GLUT4 (x_{21}) koji reagira na koncentraciju inzulina na površini stanice nakon različitih obroka (x_{21}). Rezultati su prikazani na slikama 11 i 12.

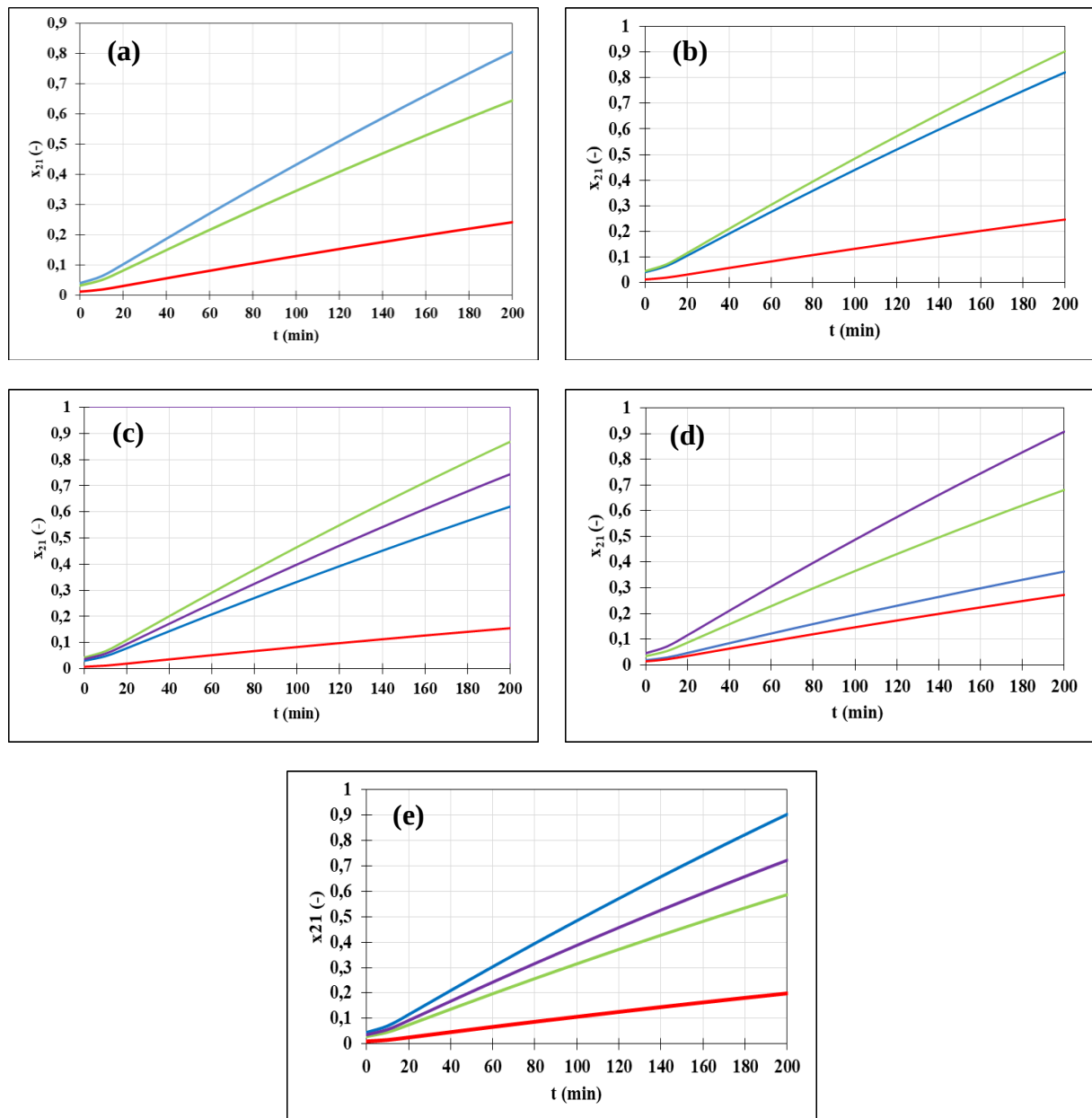
Kod grafova ovisnosti promjene koncentracije inzulina o vremenu (slika 11) vidi se nagli porast koncentracije inzulina na početku kao odgovor na povišenje glukoze u krvi koja nakon vezanja na receptore naglo pada. Međutim, što je veća koncentracija glukoze potrebno je više vremena da se postigne isti efekt. Dakle, najveće koncentracije po obrocima su:

- (i) zajutak: mediteranska > visokouglikohidratna > ketogena;
- (ii) doručak: visokouglikohidratna > mediteranska > ketogena;
- (iii) ručak: visokouglikohidratna > povremeni post 16:8 > mediteranska > ketogena
- (iv) užina: povremeni post 16:8 > visokouglikohidratna > mediteranska > ketogena
- (v) večera: mediteranska > povremeni post 16:8 > visokouglikohidratna > ketogena.

Grafovi promjene udjela glukoza transportera GLUT4 koji reagira na koncentraciju inzulina na površini stanice nakon različitih obroka (x_{21}) prate trend grafova promjene koncentracije inzulina (slika 12). Može se uočiti da za sve provedene simulacije udio GLUT4 transporata raste tijekom vremena, obrnuto proporcionalno promjeni koncentracije inzulina. Na temelju dobivenih rezultata, može se zaključiti da što su veće početne koncentracije inzulina, to je potrebno više vremena da se on veže na receptore neovisno o vrsti jelovnika. Najbolji primjer toga su grafovi za doručak mediteranskog jelovnika koji ima puno nutritivnije namirnice nego visokouglikohidratni jelovnik. Međutim ukupna količina ugljikohidrata je veća pa je i koncentracija izlučenog inzulina veća. Nadalje, ovaj model ne uzima u obzir vlakna koja bi vjerojatno pridonijela tome da kod mediteranskog jelovnika i posta koncentracije glukoze i posljedično inzulina budu niže.



Slika 11. Rezultati simulacije promjena koncentracije inzulina (x_I) kod različitih obroka (a) zajutak, (b) doručak, (c) ručak, (d) užina, (e) večera. (●) ketogeni jelovnik, (●) visokouglikohidratni jelovnik, (●) mediteranski jelovnik, (●) povremeni post 16:8.



Slika 12. Rezultati simulacije promjena udjela glukoza transportera GLUT4 (x_{21}) koji reagira na koncentraciju inzulina na površini stanice nakon različitih obroka (a) zajutak, (b) doručak, (c) ručak, (d) užina, (e) večera. (●) ketogeni, (●) visokouglikohidratni jelovnik, jelovnik, (●) mediteranski jelovnik, (●) post.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata mogu se postaviti sljedeći zaključci:

1. Dizajnirani model ne uzima u obzir kvalitetu već samo kvantitetu ugljikohidrata.
2. Potrebna je nadogradnja modela s uključenim utjecajem vlakana na izlučivanje inzulina.
3. Iz priloženih rezultata nije vidljiv mogući pozitivni utjecaj posta na inzulinsku osjetljivost.
4. Omjer Ca/Mg nije dobar pokazatelj kod jelovnika u kojima preporuke nisu zadovoljene.
5. Rezultati simulacije modela metabolizma inzulina u skladu su s dostupnim literaturnim podacima.
6. Simulacija modela metabolizma inzulina omogućava dobivanje detaljnog uvida u metaboličku mrežu razgradnje inzulina te olakšava razvoj personalizirane prehrane.

6. LITERATURA

ADA (2014) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. ADA - American Diabetes Association. *Diabetes care* **37** (Supplement_1), S81–S90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>

ADA (2019) 5. Lifestyle Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. ADA - American Diabetes Association. *Diabetes care* **42** (Supplement_1), S46–S60. <https://doi.org/10.2337/dc19-S005>

ADA (2020a) 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. ADA - American Diabetes Association. *Diabetes Care* **43** (Supplement_1), S14–S31. <https://doi.org/10.2337/dc20-S002>

ADA (2020b) 5. Facilitating Behavior Change and Well-being to Improve Health Outcomes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. ADA- American Diabetes Association. *Diabetes Care* **43** (Supplement_1): S48-S65. <https://doi.org/10.2337/dc20-S005>

Akinlade AT, Ogbera AO, Fasanmade OA, Olamoyegun MA (2014) Serum C-peptide assay of patients with hyperglycemic emergencies at the Lagos State University Teaching Hospital (LASUTH), Ikeja. *Int Arch Med* **7**, 50. <http://doi.org/10.1186/1755-7682-7-50>

Alpers DH (2003) CARBOHYDRATES: Digestion, Absorption, and Metabolism. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2 izd., Academic Press, str. 881-887.

Badimon L, Vilahur G, Padro T (2016) Systems biology approaches to understand the effects of nutrition and promote health. *Br J Clin Pharmacol* **83**, 38-45. <http://doi.org/10.1111/bcp.12965>

Batch JT, Lamsal SP, Adkins M, Sultan S, Ramirez MN (2020) Advantages and disadvantages of the ketogenic diet: A review article. *Cureus* **12**, e9639. <https://doi.org/10.7759/cureus.9639>

Battezzati A, Foppiani A, Leone A, De Amicis R, Spadafranca A, Mari A i sur. (2023) Acute insulin secretory effects of a classic ketogenic meal in healthy subjects: a randomized cross-over study. *Nutrients* **15**, 1119. <http://doi.org/10.3390/nu15051119>.

Benson G, Hayes J (2020) An update on the mediterranean, vegetarian, and DASH eating patterns in people with type 2 diabetes. *Diabetes Spectr* **33**, 125-132.

Butler PC, Rizza RA (1991) Contribution to postprandial hyperglycemia and effect on initial splanchnic glucose clearance of hepatic glucose cycling in glucose-intolerant or NIDDM patients. *Diabetes* **40**, 73-81.

CDC (2022) Types of insulin. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/type-1-types-of-insulin.html> Pristupljeno 17. veljače 2024.

Chandel NS (2021) Carbohydrate metabolism. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **13**, a040568. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040568>

Cheung K, Chan V, Chan S, Wong MMH, Chung GK, Cheng WY i sur. (2024) Effect of intermittent fasting on cardiometabolic health in the chinese population: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* **16**, 357. <http://doi.org/10.3390/nu16030357>

Cleveland Clinic (2022) Mediterranean diet. <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/16037-mediterranean-diet> Pristupljeno 10. veljače 2024.

Cleveland Clinic (2024) Insulin. <https://my.clevelandclinic.org/health/body/22601-insulin> Pristupljeno 10. veljače 2024.

Costello RB, Rosanoff A, Dai Q, Saldanha LG, Potischman NA (2021) Perspective: characterization of dietary supplements containing calcium and magnesium and their respective ratio-is a rising ratio a cause for concern? *Adv Nutr* **12**, 291-297. <http://doi.org/10.1093/advances/nmaa160>

Crosby L, Davis B, Joshi S, Jardine M, Paul J, Neola M i sur. (2021) Ketogenic diets and chronic disease: weighing the benefits against the risks. *Front Nutr* **8**, 702802. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.702802>

Darden CM, Farrow AE, Rajan SK, Lakhani M, Lawrence MC, Naziruddin B (2020) Predicting the function of islets after transplantation. Transplantation, bioengineering, and regeneration of the Endocrine Pancreas: 1, Academic Press, San Diego, str. 547-561.

Dashty M (2013) A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. *Clin Biochem* **46**(15), 1339–1352. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>

Dimova R, Chakarova N, Del Prato S, Tankova T (2023) The relationship between dietary patterns and glycemic variability in people with impaired glucose tolerance. *J Nutr* **153**, 1427-1438. <http://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.03.007>

Dominguez LJ, Veronese N, Di Bella G, Cusumano C, Parisi A, Tagliaferri F i sur. (2023) Mediterranean diet in the management and prevention of obesity. *Exp Gerontol* **174**, 112121. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2023.112121>

Dong TA, Sandesara PB, Dhindsa DS, Mehta A, Arneson LC, Dollar AL i sur. (2020) Intermittent fasting: A heart healthy dietary pattern? *Am J Med* **133**, 901-907. <http://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.03.030>

Ekpenyong C (2018) Micronutrient deficiency, a novel nutritional risk factor for insulin resistance and syndrom X. *Food Sci Nutr* **2**, 16-30. <http://doi.org/10.29328/journal.afns.1001013>

Fardet A, Rock E (2014) Toward a new philosophy of preventive nutrition: from a reductionist to a holistic paradigm to improve nutritional recommendations. *Adv Nutr* **5**, 430-446. <http://doi.org/10.3945/an.114.006122>

Freeman AM, Acevedo LA, Pennings N (2023) Insulin Resistance. StatPearls, Publishing LLC, Treasure Island.

Funahashi A, Matsuoka Y, Jouraku A, Kitano H, Kikuchi N (2006) CellDesigner: A modeling tool for biochemical networks. *Proceedings - Winter Simulation Conference*. 1707–1712. <https://doi.org/10.1109/WSC.2006.322946>

- 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)
- Govers E, Slof E, Verkoelen H, Ten Hoor-Aukema NM, KDOO (2015) Guideline for the management of insulin resistance. *Int J Endocrinol Metab Disord* **1**, 1-10. <http://dx.doi.org/10.16966/2380-548X.115>
- Gray A, Threlkeld RJ (2019) Nutritional Recommendations for Individuals with Diabetes. Endotext. Preuzeto sa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279012/>
- Guasch-Ferré M, Willett WC (2021) The Mediterranean diet and health: a comprehensive overview. *J Intern Med* **290**, 549-566. <https://doi.org/10.1111/joim.13333>
- HeMED (2024) Šećerna bolest. HeMED - Hrvatska elektronička medicinska edukacija. <https://hemed.hr/Default.aspx?sid=15034> Pristupljeno 17. veljače 2024.
- Hirsch IB, Juneja R, Beals JM, Antalis CJ, Wright EE (2020) The evolution of insulin and how it informs therapy and treatment choices. *Endocr Rev* **41**, 733–755. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa015>
- Hoffman R (2023) Implementing the Mediterranean Diet: Nutrition in Practice and Public Health. Wiley Blackwell, Hoboken, str. 11-14.
- Hollesh JE, Aslam S, Martin A (2022) Physiology, Carbohydrates. StatPearls, Publishing LLC, Treasure Island.
- Huang JH, Tsai LC, Chang YC, Cheng FC (2014) High or low calcium intake increases cardiovascular disease risks in older patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* **13**, 120. <https://doi.org/10.1186/s12933-014-0120-0>
- Ideker T, Galitski T, Hood L (2001) A new approach to decoding life: systems biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet* **2**, 343-372. <http://doi.org/10.1146/annurev.genom.2.1.343>
- Janssen JAMJL (2023) The Impact of Westernization on the Insulin/IGF-I Signaling Pathway and the Metabolic Syndrome: It Is Time for Change. *Int J Mol Sci* **24**, 4551. <https://doi.org/10.3390/ijms24054551>
- Kaput J (2008) Nutrigenomics research for personalized nutrition and medicine. *Curr Opin Biotechnol* **19**, 110-120. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.005>
- Kesić S (2016) Systems biology, emergence and antireductionism. *Saudi J Biol Sci* **23**, 584-591. <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.015>
- Kiely LJ, Hickey RM (2022) Characterization and analysis of food-sourced carbohydrates. *Methods Mol Biol* **2370**, 67–95. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1685-7_4
- Kostov K (2019) Effects of magnesium deficiency on mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes: focusing on the processes of insulin secretion and signaling. *Int J Mol Sci* **20**, 1351. <https://doi.org/10.3390/ijms20061351>

Lee SH, Park SY, Choi CS (2022) Insulin resistance: From mechanisms to therapeutic strategies. *Diabetes Metab J* **46**, 15-37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>

Lesk AM (2024) Bioinformatics. <https://www.britannica.com/science/bioinformatics>
Pristupljeno: 20 veljače 2024.

Masood W, Annamaraju P, Uppaluri KR (2022) Ketogenic Diet – NIH-National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499830/> . Pristupljeno 3. travnja 2023.

Matsuoka Y, Funahashi A, Ghosh S, Kitano H (2014) Modeling and simulation using CellDesigner. *Methods Mol Biol* **1164**, 121–145. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9_11

Mayo Clinic (2022a) What is intermittent fasting? Does it have health benefits? <https://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/expert-answers/intermittent-fasting/faq-20441303#:~:text=Intermittent%20fasting%20means%20that%20you,5%3A2%20fasting.>
Pristupljeno 10. veljače 2024.

Mayo Clinic (2022b) Dietary fiber: Essential for a healthy diet. <https://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/fiber/art-20043983#:~:text=Soluble%20fiber%20is%20found%20in,with%20constipation%20or%20irregular%20stools.> Pristupljeno 10. veljače 2024.

Mayo Clinic (2023) Mediterranean diet for heart health. <https://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/mediterranean-diet/art-20047801> Pristupljeno 10. veljače 2024.

McAuley MT (2020) Systems biology and nutrition. Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism, 11. izd., Academic Press, London, str. 593-604.

Mitchelson KAJ, Ní Chathail MB, Roche HM (2023) Systems biology approaches to inform precision nutrition. *Proc Nutr Soc* **82**, 208-218. <http://doi.org/10.1017/S0029665123002732>

Muscogiuri G, Barrea L, Caprio M, Ceriani F, Chavez AO, El Ghoch M i sur. (2022) Nutritional guidelines for the management of insulin resistance. *Crit Rev Food Sci Nutr* **62**, 6947–6960. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1908223>

Nakrani MN, Wineland RH, Anjum F (2023) Physiology, Glucose Metabolism. StatPearls, Publishing LLC, Treasure Island.

Napier BA, Andres-Terre M, Massis LM, Hryckowian AJ, Higginbottom SK, Cumnock K i sur. (2019) Western diet regulates immune status and the response to LPS-driven sepsis independent of diet-associated microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA* **116**, 3688-3694. <http://doi.org/10.1073/pnas.1814273116>

Newsholme P, Krause M (2012) Nutritional regulation of insulin secretion: implications for diabetes. *Clin Biochem Rev* **33**, 35–47.

Nielsen J (2017) System biology of metabolism. *Annu Rev Biochem* **86**, 245-275. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044757>

Niero M, Bartoli G, De Colle P, Scarcella M, Zanetti M (2023) Impact of dietary fiber on inflammation and insulin resistance in older patients: A narrative review. *Nutrients* **15**, 2365. <https://doi.org/10.3390/nu15102365>

NIH (2022) Magnesium. NIH- National Institutes of Health <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Magnesium-HealthProfessional/> Pristupljeno 15. veljače 2024.

NIH (2024) Calcium. NIH- National Institutes of Health <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Calcium-HealthProfessional/> Pristupljeno 15 veljače 2024

Ordovas JM, Ferguson LR, Tai ES, Mathers JC (2018) Personalised nutrition and health. *BMJ* **361**, bmj.k2173. <http://doi.org/10.1136/bmj.k2173>

Panagiotou G, Nielsen J (2009) Nutritional systems biology: definitions and approaches. *Annu Rev Nutr* **29**, 329–339. <http://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141138>

Paoli A, Bianco A, Moro T, Mota JF, Coelho-Ravagnani CF (2023) The effects of ketogenic diet on insulin sensitivity and weight loss, which came first: The chicken or the egg? *Nutrients* **15**, 3120. <https://doi.org/10.3390/nu15143120>

Park SY, Gautier JF, Chon S (2021) Assessment of insulin secretion and insulin resistance in human. *Diabetes Metab J* **45**, 641–654. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220>

Pavić E, Rahelić V, Reiner Ž, Vranešić Bender D, Vrdoljak I, Martinis I i sur. (2023) Smjernice za prehranu kod šećerne bolesti u odrasloj dobi. *Liječnički vjesnik* **145**, 67-97. <https://doi.org/10.26800/LV-145-3-4-1>

Prosky L (2000) What is dietary fiber? *J AOAC Int* **83**, 985-987. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jaoac/83.4.985>

Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA i sur. (2021) Role of insulin in health and disease: An update. *Int J Mol Sci* **22**, 6403. <https://doi.org/10.3390/ijms22126403>

Rydosz A (2022) The basics of noninvasive methods. *Diabetes Without Needles: Non-invasive Diagnostics and Health Management*, Academic Press, London, str. 93-156.

Sedaghat AR, Sherman A, Quon MJ (2002) A mathematical model of metabolic insulin signaling pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **283**, E1084–E1101. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00571.2001>

Shah IU, Sameen A, Manzoor MF, Ahmed Z, Gao J, Farooq U i sur. (2021) Association of dietary calcium, magnesium, and vitamin D with type 2 diabetes among US adults: National health and nutrition examination survey 2007-2014-A cross-sectional study. *Food Sci Nutr* **9**, 1480-1490. <http://doi.org/10.1002/fsn3.2118>

Softic S, Stanhope KL, Boucher J, Divanovic S, Lanaspá MA, Johnson RJ i sur. (2020) Fructose and hepatic insulin resistance. *Crit Rev Clin Lab Sci* **57**, 308–322. <https://doi.org/10.1080/10408363.2019.1711360>

Stagljar I (2016) The power of OMICs. *Biochem Biophys Res Commun* **479**, 607-609. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.095>

Thota S, Akbar A (2023) Insulin. StatPearls, Publishing LLC, Treasure Island.

USDA (2020) Dietary Guidelines for Americans (2020 – 2025). USDA – U.S. Department of Agriculture. [Dietary_Guidelines_for_Americans_2020-2025.pdf](#) Pristupljeno 12. veljače 2023.

Vidal M (2009) A unifying view of 21st century systems biology. *FEBS Lett* **583**, 3891-3894. <http://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.11.024>

Walsh EI, Jacka FN, Butterworth P, Anstey KJ, Cherbuin N (2017) The association between Western and Prudent dietary patterns and fasting blood glucose levels in type 2 diabetes and normal glucose metabolism in older Australian adults. *Heliyon* **3**, e00315. <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.e00315>.

Wei B, Liu Y, Lin X, Fang Y, Cui J, Wan J (2018) Dietary fiber intake and risk of metabolic syndrome: A meta-analysis of observational studies. *Clin Nutr* **37**, 1935–1942. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.10.019>

Weickert MO, Pfeiffer AFH (2018) Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. *J Nutr* **148**, 7–12. <https://doi.org/10.1093/jn/nxx008>

Welton S, Minty R, O'Driscoll T, Willms H, Poirier D, Madden S i sur. (2020) Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. *Can Fam Physician* **66**, 117-125.

WHO (2024) Diabetes. WHO – World Health Organization. https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1 Pristupljeno 16. veljače 2024.

Yuan X, Wang J, Yang S, Gao M, Cao L, Li X i sur. (2022) Effect of intermittent fasting diet on glucose and lipid metabolism and insulin resistance in patients with impaired glucose and lipid metabolism: A systematic review and meta-analysis. *Int J Endocrinol* **2022**, 6999907. <http://doi.org/10.1155/2022/6999907>

Yuan X, Wang J, Yang S, Gao M, Cao L, Li X i sur. (2020) Effect of the ketogenic diet on glycemic control, insulin resistance, and lipid metabolism in patients with T2DM: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Diabetes* **10**, 38. <http://doi.org/10.1038/s41387-020-00142-z>

Yücel K, Gürbüz AF (2023) Evaluation of calcium/magnesium ratio in patients with type 2 diabetes mellitus. *Turk J Biochem* **48**, 327-334. <https://doi.org/10.1515/tjb-2023-0022>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Iva Beneti 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