

# Analiza modela metabolizma ugljikohidrata

---

**Matos, Antonija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:407598>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-24**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, lipanj 2023.

Antonija Matos

ANALIZA MODELA  
METABOLIZMA  
UGLJIKOHIDRATA

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

## **ZAHVALA**

*Od srca zahvaljujem dragoj izv. prof. dr. sc. Ani Jurinjak Tušek na strpljenju, velikodušnosti i pomoći pri izradi ovoga rada.*

*Mojoj voljenoj obitelji - Bogu hvala što vas imam. Ljubav koju ste mi pružili, posebno tijekom studiranja, dala mi je snagu da uspješno završim ovo životno poglavlje.*

*Hvala i mojim dragim prijateljicama. Uljepšale ste mi studiranje svojim svakodnevnim osmjesima i nesebičnom pomoći.*

*Najveće hvala Majčici, blaženoj Djevici Mariji i Gospodinu na uslišanim molitvama.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

## ANALIZA MODELA METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA

*Antonija Matos, univ. bacc. nutr. 0058212897*

**Sažetak:** Posljednje desetljeće obilježeno je znatnim napretkom u znanosti i tehnologiji. Sistemska biologija i „omike“ (engl. omics) suvremene su tehnologije koje su omogućile holistički pristup istraživanju brojnih znanstvenih područja, pa tako i područja interakcije čovjeka i hrane. Korištenjem ovih alata mogu se vrlo precizno prikazati razni sintetski biološki sustavi koji se koriste kao zamjena istraživanjima na živućim stanicama. U ovom radu istraživanje je bilo usmjereno na metabolizam ugljikohidrata u hepatocitima. Za dizajniranje modela metabolizma i su programi CellDesigner verzija 4.4.2 i WR Mathematica 10.0. Rezultati su pokazali veliku učinkovitost računalne simulacije za analizu metabolizma glukoze. Matematički model ne samo da daje uvid u ponašanje metabolita pod različitim uvjetima, već omogućava razvijanje personalizirane prehrane za prevenciju i remisiju dijabetesa tipa 2, te razvijanje lijekova s ciljanim djelovanjem. Upravo su mediteranska i ketogena dijeta obrasci prehrane koji predstavljaju dobre podloge za optimiranje prehrane u svrhu regulacije glikemije. Nadalje, analiza globalne parametarske osjetljivosti omogućava detekciju i analizu ključnih točaka modela.

**Ključne riječi:** *sistemska biologija, CellDesigner, glukoza, dijabetes, analiza globalne parametarske osjetljivosti*

**Rad sadrži:** 57 stranica, 13 slika, 5 tablica, 91 literaturnih navoda, 2 priloga

**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 Samarina (zamjenski član)

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### ANALYSIS OF THE MODEL OF CARBOHYDRATE METABOLISM

*Antonija Matos, univ. bacc. nutr. 0058212897*

#### **Abstract:**

The last decade has been marked by significant progress in science and technology. Systems biology and "omics" are modern technologies that have enabled a holistic approach to research in numerous scientific fields, including the field of human-food interaction. By using these tools, various synthetic biological systems can be displayed very precisely, which are used as a substitute for research on living cells. In this thesis, the research was focused on carbohydrate metabolism in hepatocytes. CellDesigner version 4.4.2 and WR Mathematica 10.0 were used to design the metabolism model. The results showed the high efficiency of the computer simulation for the analysis of glucose metabolism. The mathematical model not only provides insight into the behavior of metabolites under different conditions, but also enables the development of personalized nutrition for the prevention and remission of type 2 diabetes, as well as the development of drugs with targeted action. It is precisely the Mediterranean and ketogenic diets that represent good bases for optimizing nutrition for the purpose of glycemic regulation. Furthermore, the analysis of global parametric sensitivity enables the detection and analysis of the key points of the model.

**Keywords:** *systems biology, CellDesigner, glucose, diabetes, global parametric sensitivity analysis*

**Thesis contains:** 57 pages, 13 figures, 5 tables, 91 references, 2 supplements

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Ana Jurinjak Tušek, 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:** 7<sup>th</sup> July, 2023

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU</b> .....	2
2.1.1. Personalizacija prehrane .....	3
2.1.2. Sinergija “omics” tehnologija .....	4
<b>2.2. METABOLIZAM UGLJIKOHIDRATA</b> .....	6
2.2.1. Glukoza.....	6
2.2.2. Dijabetes .....	7
2.2.3. Novi aspekti liječenja dijabetesa.....	8
<b>2.3. ELEMENT PREHRANE U METABOLIZMU UGLJIKOHIDRATA</b> .....	10
2.3.1. Mediteranska prehrana .....	11
2.3.2. Ketogena prehrana .....	13
2.3.3. Zajedničke osobine mediteranske i ketogene prehrane.....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	16
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	16
3.1.1. Programski paket CellDesigner 4.4.2 .....	16
3.1.2. Programski paket WR Mathematica 10.0 .....	18
3.1.3. Model metabolizma ugljikohidrata jetrene stanice.....	18
3.1.4. Jelovnici .....	27
<b>3.2. METODE</b> .....	27
3.2.1. Simulacije modela metabolizma ugljikohidrata u CellDesigner-u .....	27
3.2.2. Analiza globalne parametarske osjetljivosti.....	28
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	30
<b>4.2. MODEL METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA U PROGRAMSKOM PAKETU CELLDIGNER</b> .....	30
<b>4.3. KETOGENI, MEDITERANSKI I VISOKO UGLJIKOHIDRATNI JELOVNIK</b> .....	32
<b>4.4. GRAFIČKI PRIKAZI REZULTATA PROVEDENIH SIMULACIJA U PROGRAMSKOM PAKETU CELLDIGNER</b> .....	37
<b>4.5. ANALIZA GLOBALNE PARAMETRSKE OSJETLJIVOSTI</b> .....	44
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	48
<b>6. LITERATURA</b> .....	49
<b>7. PRILOG</b>	



# 1. UVOD

Poznavanje metabolizma ugljikohidrata neophodno je za upravljanje ravnotežom energije u metabolizmu čovjeka. Kontrola unosa ugljikohidrata ne samo da donosi pozitivan učinak zdravim pojedincima, već može uvelike olakšati život oboljelima od dijabetesa, ali i smanjiti simptome i probleme nastale kod drugih metaboličkih poremećaja.

Budući da je stanje organizma i metabolizma stanica specifično kod svake osobe, individualni pristup prevenciji i liječenju patoloških stanja nužno je za postizanje uspješnih rezultata. Tu nastupa personalizirana prehrana, oblik prehrambenih smjernica usmjerenih na pojedinca i njegove individualne prehrambene potrebe. U razvoju takvih personaliziranih prehrambenih smjernica veliku ulogu igra systemska biologija, područje znanosti koje se bavi temeljitom analizom kompletne metaboličke mreže u stanici čovjeka, te proučavanjem kakav je odnos između genetske pozadine, naslijeđene epigenetike, iskorištavanja hranjivih tvari, metabolita mikrobioma čovjeka i njegovih životnih navika (Kurata, 2021). Primjena systemske biologije u nutricionizmu pokazala se, dakle, vrlo korisnom. U ovome radu поближе je opisana njezina rastuća uloga u području planiranja i optimiranja prehrane.

Cilj ovoga usporednog rada bio je izraditi model metabolizma ugljikohidrata stanice jetre u programskom paketu CellDesigner te na temelju njega provesti simulacije i analizirati razlike u koncentracijama glukoze i njezinih metabolita u plazmi i hepatocitima ovisno o primijenjenoj količini ugljikohidrata dobivenoj iz tri različita prehrambena obrasca.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA U NUTRICIONIZMU

Biologija je područje znanosti koje za cilj ima opisati i objasniti svaki detalj i načelo bioloških sustava, od jednostavnog oblika života na razini stanice do kompleksnijih oblika živih bića (Kitano, 2000). Razvojem suvremenih tehnologija omogućen je holistički pristup proučavanja, tj. analiziranje svih metabolita i njihovih međusobnih interakcija te se, shodno tome, razvija sistemska biologija i "omike" (engl. *omics*), tehnologije za sveobuhvatnu analizu ovog znanstvenog područja (Veenstra, 2021). Prema definiciji Instituta za sistemsku biologiju, sistemska biologija „holistički je pristup dešifriranju složenosti bioloških sustava koji polazi od razumijevanja da su mreže koje tvore cjelinu živih organizama više od zbroja njihovih dijelova. Sistemska biologija, integrira mnoge znanstvene discipline - biologiju, računalne znanosti, inženjerstvo, bioinformatiku, fiziku i druge - kako bi se predvidjelo kako se ti sustavi mijenjaju tijekom vremena i pod različitim uvjetima te kako bi se razvila rješenja za najhitnija svjetska zdravstvena i ekološka pitanja“ (IBS, 2023).

Kroz posljednje desetljeće postignut je značajan napredak u znanosti i tehnologiji zbog čega sistemska biologija svoju primjenu pronalazi i u znanosti o prehrani, odnosno nutricionizmu (Badimon i sur., 2017). Dok su redukcionistički nastrojena istraživanja dala uvid u razumijevanje djelovanja pojedinačnih hranjivih tvari na ljudski organizam, sistemska biologija omogućuje holistički pristup istraživanju i shvaćanju međudjelovanja hranjivih tvari i njihovog sinergističkog učinka na organizam (Mc Auley, 2020). Tehnologije nazvane "omike" koje se koriste u ovom području znanosti uključuju genomiku, epigenomiku, metagenomiku, transkriptomiku, proteomiku i metabolomiku (Ramos-Lopez i sur., 2022). Kombiniranjem ovih disciplina u nekom biološkom sustavu omogućeno je stvaranje velike količine podataka koji u konačnici računalnim modeliranjem daju pregled metaboličke mreže biokemijskih reakcija, a pomoću koje je olakšana analiza pozitivnih i negativnih utjecaja komponenti hrane na zdravlje (Badimon i sur., 2017).

Dakle, na ovaj način pomoću računalnog modela može se precizno prikazati neki kompleksni biološki sustav (Mc Auley, 2020). Općenito, takozvana revolucija omika (eng. *omics revolution*) pruža solidan okvir za sustavan pristup personaliziranom istraživanju prehrane (van Ommen i sur., 2017).

### 2.1.1. Personalizacija prehrane

Tijekom razvoja systemske biologije, komponenta prehrane brzo je prepoznata kao bitan egzogeni čimbenik koji interferira s genetikom i metabolizmom, te skupa s njima određuje zdravstveno stanje osobe (Moore, 2020). Zahvaljujući tome, istraživanja su usmjerena na optimiranje prehrambenih preporuka za hranjive i nehranjive tvari na individualnoj razini ovisno o biološkim značajkama pojedinca i koji ciljevi se žele postići (van Ommen i sur., 2017). Ordovas i suradnici (2018) navode da je, tradicionalno gledano, fokus personalizirane prehrane namijenjene pojedincu usmjeren na istraživanje načina kako povećati dobrobit prehrane i smanjiti rizik od štetnih učinaka iste. No, primjena personalizacije je danas mnogo šira i može se podijeliti na dva područja:

- 1) primjena u modeliranju prehrane ljudi koji zbog određenog životnog perioda imaju povećane nutritivne potrebe (primjerice trudnoća) i
- 2) primjena u razvoju poboljšanja prehrambenih intervencija namijenjenih javnom zdravlju (Ordovas i sur., 2018).

Problem trenutnih prehrambenih preporuka je taj što su preporuke najčešće općenite, odnosno usmjerene su na širu populaciju zbog čega mogu biti kontraproduktivne za pojedinca (van Ommen i sur., 2017).

Budući da u ovom području istraživanja prehrane nema rigoroznih definicija, postoji nekolicina pojmova koji ulaze pod pojam personalizirane prehrane:

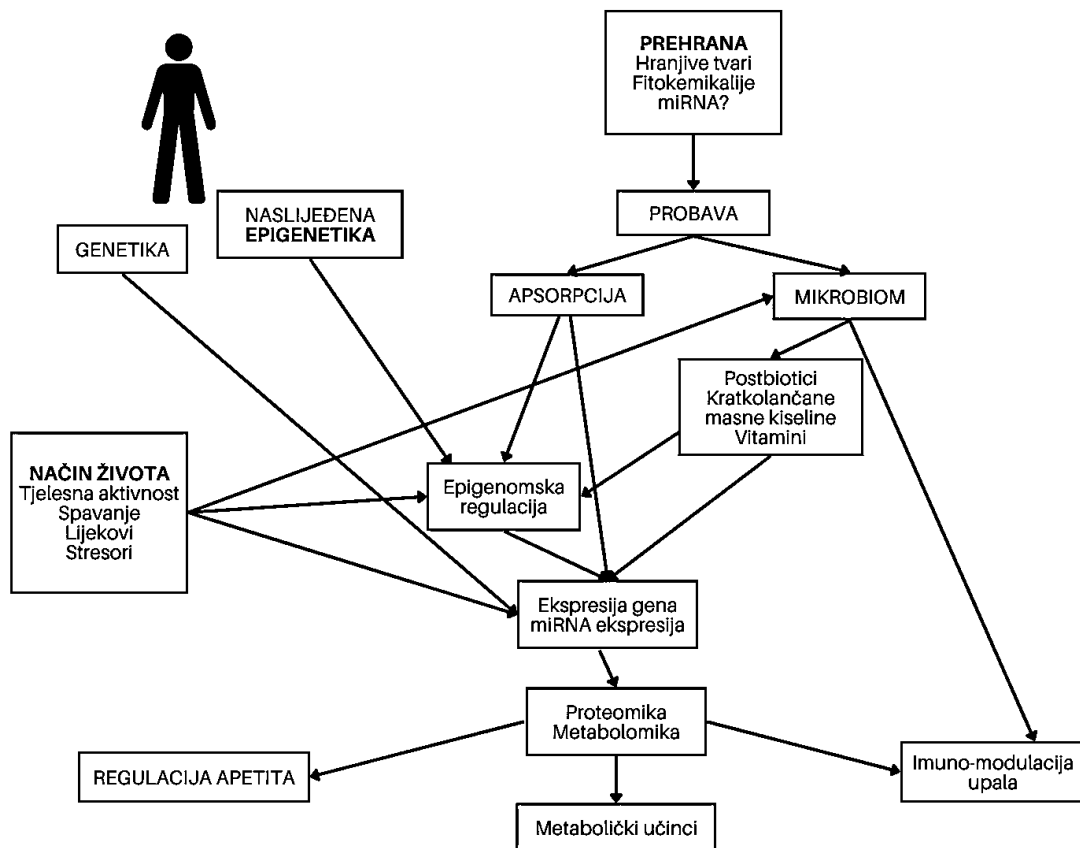
- personalizirana prehrana podrazumijeva prilagođavanje prehrambenih smjernica individualno uzimajući u obzir prehrambene, fenotipske i genotipske informacije u svrhu poboljšanja zdravlja (Gibney, 2020),
- stratificirana prehrana i prilagođena prehrana slični su pristupi koji nastoje rasporediti pojedince u grupe na temelju zajedničkih karakteristika i dati im odgovarajuće prehrambene smjernice (Moore, 2020),
- precizna prehrana je pojam koji se koristi simultano s pojmom personalizirane prehrane, a odnosi se na dubinsko kvantitativno razumijevanje odnosa prehrane i fenotipa pojedinca (Ordovas i sur., 2018).

Kreiranje prehrane za pojedinca ili skupinu pojedinaca može biti složen i zahtjevan zadatak jer rezultati provedenih studija često pokazuju kontradiktornosti; neke studije ne pokazuju učinkovitost personaliziranih smjernica dok druge pokazuju veliki utjecaj (Gibney, 2020). No

bez obzira na tu problematiku, Badimon i suradnici (2017) navode da bez sumnje, integracija profila ekspresije gena i proteina s metaboličkim otiscima prstiju u prehrabene sustave omogućuje opsežniju analizu individualnog odgovora na prehrabenu intervenciju i pruža globalnije sveobuhvatno razumijevanje načina na koji sastojci hrane utječu na zdravstveni status (Badimon i sur., 2017).

### 2.1.2. Sinergija “omics” tehnologija

Integracija genetskih, metagenomskih, metabolomičkih, fiziopatoloških, bihevioralnih i sociokulturnih značajki olakšala je razumijevanje metabolizma i izvođenje zdravstvenih intervencija u svrhu ostvarivanja dobrobiti za ljude (Livingstone i sur., 2022). Na metabolizam i fiziološke funkcije svakog pojedinca specifično utječu različiti čimbenici što je pregledno prikazano na slici 1. Ovom pojednostavljenom shemom prezentirano je kako se korištenjem omičkih alata može proučavati ekspresija gena i proteina čija je modulacija određena kompleksnim međuodnosima između genetske pozadine, naslijeđene epigenetike, iskorištavanja hranjivih tvari, metabolita mikrobioma čovjeka i njegovih životnih navika (Ramos-Lopez i sur., 2022).



**Slika 1.** Prikaz omičkih tehnologija i čimbenika koji utječu na metabolizam i fiziološke funkcije čovjeka (prema Ramos-Lopez i sur., 2022)

Proučavanje primjene i samo kreiranje personalizirane prehrane još uvijek je u začetku (Merino, 2022). Istraživanja po pitanju prehrane usmjerena su na otkrivanje načina kako procijeniti individualni odgovor pojedinca na hranu (nutrigenetika) te kako ta hrana utječe na gene i budući odgovor organizma (epigenetika i nutrigenomika) (Ortea, 2022). Ordovas i suradnici (2018) te Ramos-Lopez sa suradnicima (2022) sažeto definiraju omičke discipline koje se koriste u istraživanju i proučavanju personalizirane prehrane:

- nutrigenetika proučava fenotipske reakcije na određenu dijetu ovisno o genotipu osobe (na primjer promjene u razini glukoze u krvi kod primjene mediteranske dijete),
- nutrigenomika se bavi karakterizacijom produkata gena koji su pod utjecajem unesenih hranjivih tvari, te proučavanjem njihovih metaboličkih posljedica,
- epigenomika istražuje epigenetske promjene (poput metilacije i modifikacije histona) koje utječu na genetski materijal mijenjajući njegovu ekspresiju i funkciju,
- metabolomika se bavi analitikom metabolita proizvedenih od strane stanice, tkiva ili organizma,
- mikrobiomika proučava mikrobiom u određenom staništu (primjerice u debelom crijevu čovjeka) (Ordovas i sur., 2018),
- proteomika obuhvaća analizu profila ekspresije proteina odnosno proteomski profil,
- i transkriptomika, kao posljednja, istražuje obrasce ekspresije RNA (Ramos-Lopez i sur., 2022).

Evidentno je dakle, da je ova era omika donijela duboko preoblikovanje cijelog područja znanosti o prehrani koristeći novo razvijene strategije za pristup složenoj prirodi prehrane (Tebani i Bekri, 2019). Takve personalizirane tehnologije, zbog svoje dostupnosti, daju nutricionistima i dijetetičarima mogućnost razrade novih rješenja i modela za pružanje zdravstvene skrbi (Abrahams i Matusheski, 2020). Budući da je nutricionistička znanost multidisciplinarna, suradnja među znanstvenicima iz područja znanosti koja se prožimaju s nutricionizmom nužna je za precizno kreiranje prehrane koja je znanstveno utemeljena, a to su: nutricionisti, statističari, bioinformatičari, analitičari, kemičari, kliničari, medicinske sestre i mnogi drugi (Tebani i Bekri, 2019).

## 2.2. METABOLIZAM UGLJIKOHIDRATA

Metabolički procesi kroz koje prolaze ugljikohidrati u našem tijelu uključuju anaboličke i kataboličke biokemijske reakcije. Katabolizam, ili drugim riječima razgradnja, odnosi se na postupak dobivanja energije iz makronutrijenata, dok anabolizam podrazumijeva sintezu, odnosno proizvodnju molekula potrebnih za metaboličke procese u organizmu. Glikoliza, ciklus limunske kiseline (ili Krebsov ciklus) te oksidativna fosforilacija glavni su biokemijski katabolički putevi proizvodnje energije (adenozin trifosfata, ATP) iz ugljikohidrata, to jest glukoze. S druge strane, glukoneogeneza (sinteza glukoze iz neugljikohidratnih prekursora) i pentoza fosfatni put glavni su anabolički putevi za proizvodnju novih molekula ugljikohidrata. Pohrana novosintetiziranih molekula glukoze, odvija se u jetri u obliku glikogena koji ima svoje posebne biokemijske puteve sinteze (glikogeneza) i degradacije (glikogenoliza) (Janson i Tischler, 2018). Kontinuirani protok glukoze nužan je jer o njemu ovise energetske potrebe stanica (a samim time i cijelog organizma), te ovisno o potrebi, glukoza može poslužiti i za sintezu drugih monosaharida, masnih kiselina i pojedinih aminokiselina (McKee i McKee, 2020). Svi ovi metabolički procesi strogo su i precizno regulirani kako bi iskorištavanje unesenih ugljikohidrata bilo što efikasnije (Janson i Tischler, 2018).

Općenito gledajući, najvažniji ugljikohidrati koji se unose ingestijom uključuju heksoze saharozu, laktozu, galaktozu i maltozu (koja nastaje razgradnjom škroba), te pentoze ksilozu i arabinozu (Dashty, 2013). Modifikacijom ugljikohidrata dobivaju se različite signalne molekule koje imaju kontrolnu ulogu u samom metabolizmu ugljikohidrata što se ispostavilo kao pogodan "teren" za istraživanje i modificiranje tih reakcija u svrhu unaprjeđenja zdravlja i liječenja (Janson i Tischler, 2018).

### 2.2.1. Glukoza

Nakon obroka, kod zdravih pojedinaca, glukoza će se većinom metabolizirati u jetri. Uloga jetre je da tu glukozu učini raspoloživom za druge organe poput mozga i mišića. Najprije glukoza ulazi u hepatocite odnosno jetrene stanice. Ondje se fosforilira u glukozu-6-fosfat koja dalje ulazi u metabolički put glikolize ili se koristi u drugim metaboličkim putevima poput proizvodnje UDP-glukoze te fruktoze-6-fosfata ili riboze-5-fosfata kroz niz reakcija oksidacije u pentoza fosfatnom putu. Većina će se glukoze pohraniti u glikogen radi osiguravanja zalihe ugljikohidrata, a glikolitički put nastavlja se od glukoze-6-fosfata do piruvata. Suvišak unesene

glukoze pretvara se u masne kiseline koje u konačnici završavaju u masnom tkivu (Adeva-Andany i sur., 2016).

Koncentracija glukoze u krvi uvijek mora biti stabilna i održavana u određenom rasponu: 1) natašte između 70 i 80 mg/dL te 2) postprandijalno između 140 i 160 mg/dL (Dimitriadis i sur., 2021). Prema Centru za kontrolu i prevenciju bolesti normalna razina glukoze podrazumijeva 99 mg/dL ili niže natašte i 140 mg/dL postprandijalno (CDC, 2023). Stabilna razina glukoze u plazmi zdravih osoba rezultat je ravnoteže između proizvodnje i iskorištavanja glukoze te stroge regulacije tih procesa (Cherrington, 1999). Metabolički procesi regulacije glikemije pod hormonalnim su utjecajem antagonističkih hormona inzulina i glukagona, te u manjoj mjeri pod utjecajem glukokortikoidnih hormona kore nadbubrežne žlijezde (kortizol) (Gropper i sur., 2021). Opskrba tkiva potrebnom energijom, ovisno o njihovim metaboličkim potrebama i okolnostima, precizno je podešena zahvaljujući međudjelovanju svih biokemijskih procesa i mehanizama koji sudjeluju u regulaciji glikemije (Dimitriadis i sur., 2021). Inzulin je glavni anabolički hormon koji snižava razinu glukoze u krvi te potiče transport glukoze, aminokiselina i lipida u citosol stanice, odnosno usmjerava njihovo skladištenje u mišiće i masno tkivo (Gropper i sur., 2021). Dakle, osim metaboličke funkcije u jetri, inzulin povećava preuzimanje glukoze od strane perifernog tkiva (Judge i Dodd, 2020). Glavni katalitički hormon koji povećava razinu glukoze u krvi poticanjem razgradnje glikogena iz jetre jest glukagon (Gropper i sur., 2021). Osim njega, dugo je poznato da na taj način dodatno mogu djelovati i epinefrin, kortizol te hormon rasta (Rizza i sur., 1979).

### 2.2.2. Dijabetes

Dijabetes je kronična, metabolička bolest koju karakteriziraju povišene razine glukoze (ili šećera u krvi), što s vremenom dovodi do ozbiljnih oštećenja srca, krvnih žila, očiju, bubrega i živaca (WHO, 2023). Postoje 3 poznate vrste dijabetesa ili šećerne bolesti:

- dijabetes tip 1 koji nastaje zbog autoimune reakcije organizma usmjerene na uništavanje  $\beta$ -stanica gušterače,
- dijabetes tip 2 u kojemu, zbog nezdravih životnih navika, tjelesne stanice nisu sposobne u potpunosti iskoristiti inzulin i zbog toga održavati normalne razine glukoze u krvi, te
- gestacijski (trudnički) dijabetes koji se javlja u trudnica koje nikada nisu imale šećernu bolest te najčešće nestaje po porođaju (CDC, 2022).

Neko vrijeme spominje se i "nova" vrsta dijabetesa – dijabetes tip 3, koji se zapravo pripisuje Alzheimerovoj bolesti. González sa suradnicima (2022) potvrđuje tu hipotezu i navodi kako na

napredovanje Alzheimerove bolesti utječe oštećeni metabolizam glukoze: 1) mitohondrijska disfunkcija koja uzrokuje obustavljanje proizvodnje energije, 2) disregulacija metabolizma i 3) posttranslacijske modifikacije ključnih proteina.

Dijabetes tip 2 daleko je najučestaliji (Rippe, 2023) te ne nastupa naglo već se pojavljuje i napreduje postupno, a razvoj se može prikazati kroz 4 faze modela pod nazivom "model kronične bolesti utemeljen na glikemiji" (engl. *The dysglycemia-based chronic disease model*):

- 1) inzulinska rezistencija čija je karakteristika povišen inzulin u krvi, a koja često ostane nedijagnosticirana jer se ne očituje odmah budući da su u početku razine glukoze u krvi u normalnom rasponu,
- 2) predijabetes se očituje u blagim oštećenjima  $\beta$ -stanica gušterače zbog čega količine izlučenog inzulina više nisu dovoljne za održavanje euglikemije te dolazi do porasta razina glukoze u krvi (razine glukoze nisu još u rasponu karakterističnom za dijabetes),
- 3) dijabetes tip 2 odnosi se na uznapredovalo oštećenje na  $\beta$ -stanicama gušterače što dovodi do kronične rezistencije na inzulin i još većih razina glukoze u krvi (raspon za dijagnozu podrazumijeva  $\geq 126$  mg/dL natašte i  $\geq 200$  mg/dL postprandijalno),
- 4) Dijabetes tip 2 s komplikacijama javlja se kada dugotrajno stanje dijabetesa uzrokuje kardiovaskularna (makrovaskularna i mikrovaskularna) oštećenja koja zahvaćaju različite organe poput mozga, miokarda, retine, bubrega i slično (Rippe, 2023).

I dijabetes tip 1 i tip 2 povezani su s vaskularnom upalom, dislipidemijom, hipertenzijom i posljedično s pretilošću (Eckel i sur., 2021). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji 1,5 milijuna smrti godišnje u svijetu pripisuje se dijabetesu, a trenutno dijabetes ima oko 422 milijuna ljudi (WHO, 2023).

### 2.2.3. Novi aspekti liječenja dijabetesa

Oblik liječenja dijabetesa koji danas ima najrašireniju upotrebu je smanjivanje čimbenika rizika te kontrola glikemije (Poznyak i sur., 2020). Unatoč tome što je djelovanje inzulina poznato već gotovo sto godina, mali broj ljudi uspijeva postići glikemijsku ravnotežu. Neumorno se nastoje otkriti novi načini regulacije glukoze kako bi se podigla kvaliteta života oboljelima, pa su tako automatizirane pumpe za infuziju inzulina doista doprinijele kontroli glikemije, no to rješenje se i dalje ne može mjeriti s preciznošću rada ljudskih stanica gušterače. Alternativa tome bila bi zamjena stanica transplantacijom koja se ispituje u zadnje vrijeme, no i tu postoje problemi ograničene opskrbe stanica, određivanja mjesta presađivanja te potrebe za dugoročnom imunosupresijom (Latres i sur., 2019). Osim ovih drastičnih rješenja i lijekova,



kod dijabetesa tip 2 mogu se primijeniti i razni prirodni spojevi koji imaju potencijalno terapijsko djelovanje na povećanje inzulinske osjetljivosti te poboljšanje metabolizma glukoze (Saadeldeen i sur., 2020). No, oblik liječenja i prevencije koji u zadnje vrijeme zaokuplja pažnju i daje obećavajuće rezultate je upravo primjena systemske biologije u personaliziranom pristupu oboljelima ali i zdravim pojedincima. Ove već spomenute tehnologije, ne samo da mogu pridonijeti razumijevanju i regulaciji metabolizma glukoze uz pomoć personalizirane prehrane, već i u pronalaženju ključnih točaka metabolizma za ciljano djelovanje lijekova (Kurata, 2021).

Znanje i tehnike procjene individualnog odgovora je sve veće zahvaljujući raznim provedenim studijama. Pa tako Waldemaier sa suradnicima (2022) provodi istraživanje na 36 zdravih sudionika kojima je uspješno procijenjen postprandijalni odgovor na glukozu pomoću CGM uređaja. Time su dokazali da primjena takvih uređaja u osoba bez dijabetesa, te poznavanje individualnog odgovora na određeni sadržaj ugljikohidrata, može pomoći u formiranju personaliziranih prehranbenih obrazaca za prevenciju metaboličkih poremećaja, u ovom slučaju dijabetesa. A da poznavanje individualnog postprandijalnog odgovora predviđa i postiže bolje glikemijske odgovore u odnosu na model koji je baziran na sadržaju energije i ugljikohidrata, pokazali su to u svom istraživanju Mendes-Soares i suradnici (2019). Naime, svojim prediktivnim personaliziranim modelom koji je uzimao u obzir jedinstvene karakteristike 327 zdravih sudionika i svojstva hrane, došli su do zaključka da je personalizirani pristup za održavanje normalne glikemije superiorniji nad standardnim pristupima koji u obzir uzimaju samo sadržaj prehrane. U istraživane parametre ove studije uključen je i mikrobiom kao nova varijabla koji donosi optimizaciju systemskoj biologiji (Martínez-López i sur., 2022). No, što je uopće potrebno za uporabu i korištenje ovakvih pristupa prevenciji i liječenju? Merino u svom radu iznosi deset stavki koje se moraju uzeti u obzir prilikom implementacije personalizirane prehrane stavljajući naglasak na dijabetes:

- personalizacija prehrane i davanje savjeta o prehrani trebali bi biti usporedni ciljevi pri planiranju prevencije i liječenja dijabetesa u populaciji,
- implementaciji novih alata za personalizirani pristup treba prethoditi znanstvena kontrola i monitoring,
- potrebno je provesti mnogo istraživanja za uspostavljanje i razlikovanje normalnih i nenormalnih oscilacija glikemije u zdravih pojedinaca,
- za detaljnu procjenu individualnog odgovora, može biti potrebno i 2 tjedna mjerenja algoritmima strojnog učenja,

- važnost ulaganja u istraživanje biokemijskih, bihevioralnih i socijalnih utjecaja na regulaciju apetita radi upotpunjavanja prehrambenih smjernica,
- tijekom korištenja novih tehnologija u ovom području istraživanja, u obzir treba uzeti i etičke, pravne i društvene norme,
- kod dijabetesa, nužno je pratiti i druge metabolite koji se mijenjaju nakon unosa hrane, a ne samo glukozu u krvi,
- razvijanje prehrambenog sustava pratit će uz bok i uspješno uspostavljanje personalizirane prehrane,
- napredovanje razvitka personalizacije treba biti usmjereno i na pojedinca i na populaciju,
- kolektivna odgovornost važna je stavka za uspješnu realizaciju personalizirane prehrane (Merino, 2022).

Dakle, napredak u tehnologiji i informatici utabao je put individualizaciji smjernica za prevenciju i liječenje, no potrebno je još puno istraživanja koja će biti usmjerena na ovo područje kako bi se konačni cilj mogao ostvariti.

### **2.3. ELEMENT PREHRANE U METABOLIZMU UGLJIKOHIDRATA**

Ugljikohidrati su esencijalni makronutrijent bez kojeg organizam ne može normalno funkcionirati. Preporučeni dnevni unos ugljikohidrata (eng. *Recommended dietary allowance*, RDA) iznosi 130 g, što je minimalan unos potreban za normalnu funkciju mozga (Diker, 2023). Preporuke izražene kao udio od ukupnog unosa energije prema "prihvatljivom rasponu distribucije makronutrijenata" (engl. *Acceptable macronutrient distribution range*, AMDR) iznose 45 do 65 % (OASH, 2022).

Postoje različite prehrambene strategije, koje mogu biti i učinkovitije od lijekova, za kontrolu postprandijalne glikemije (Pasmans i sur., 2022). Prehrana bogata vlaknima može poboljšati ne samo kontrolu glikemije, već i razine lipida u krvi, smanjiti tjelesnu masu i upalu, te preuranjenu smrt (Reynolds i sur., 2020). Često ih se ne unosi dovoljno, a najviše ih se može pronaći u žitaricama cjelovitog zrna, voću i povrću (Diker, 2023). Prema istraživanju provedenom na 8300 ispitanika s dijabetesom tip 1 i 2, te 42 ispitivanja s 1789 odraslih osoba s predijabetesom, dijabetesom tipa 1 ili 2, zaključeno je da povećanje unosa vlakana za 15 g (ili da ukupni unos iznosi 35 g) predstavlja racionalan cilj koji može smanjiti rizik od prerane smrti u dijabetičara (Reynolds i sur., 2020). Osim vlakana, značajan utjecaj pokazuju i proteini

koji, konzumirani s ugljikohidratima, utječu i na smanjenje glikemijskog indeksa hrane i na ublažavanje glikemijskog odgovora. Masti mogu smanjiti glikemijski odgovor, ali bez utjecaja na razine inzulina u serumu (Cui i sur., 1999). Redosljed unošenja namirnica isto igra važnu ulogu kako navode Shukla i suradnici. Prema njihovom istraživanju konzumacija povrća i proteina prije konzumacije ugljikohidrata ima značajan utjecaj na poboljšanje postprandijalne glikemije i inzulinskih oscilacija (Shukla i sur., 2015).

S obzirom na sve navedeno, jasno je da samom prehranom možemo jednostavno i značajno utjecati na razine glukoze i fluktuacije inzulina u krvi. O ovom načinu regulacije ne trebaju razmišljati samo dijabetičari, već i zdrave osobe kako bi zadržale pravilnu inzulinsku homeostazu i prevenirali metaboličke poremećaje u budućnosti. Konsenzusne preporuke za liječenje dijabetesa ne navode jednu dijetu kao jedinu ispravnu, već su prihvatljivi različiti obrasci prehrane, pri čemu je naglasak stavljen na pojedine grupe namirnica i unos ukupnih ugljikohidrata kojih bi se trebalo držati dok se ne usavrše individualizirane preporuke:

- prioritizirati neškrobno povrće,
- izbjegavati rafinirane žitarice,
- smanjiti unos šećera,
- davati prednost cjelovitim namirnicama umjesto visoko prerađene hrane,
- smanjiti unos ukupnih ugljikohidrata što je lako primjenjivo na sve dijete i vrlo je održivo kao zamjena za antiglikemijske lijekove (Evert i sur., 2019).

U sljedećim poglavljima bit će riječi o mediteranskoj i keto prehrani – prehranbenim obrascima koji su pokazali uvjerljive blagodati i koristi za kontrolu dijabetesa.

### 2.3.1. Mediteranska prehrana

Za današnji mediteranski obrazac prehrane može se reći da je polu vegetarijanska dijeta koja se temelji na svježim i cjelovitim namirnicama (Hoffman, 2023). Sama prehrana dio je mediteranskog stila života oblikovanog klimatskim uvjetima, oskudicom i životnim teškoćama (Trichopoulou i Vasilopoulou, 2000).

Tradicionalna mediteranska prehrana u stvari je tradicionalna prehrana maslinarskih zemlja Mediterana koja se prakticirala prije sredine 1960-ih godina (Hoffman, 2023). Osam je sastavnica nekadašnjeg oblika ove prehrane: 1) visok unos voća, 2) visok unos povrća, 3) niski unos mesa i mesnih proizvoda, 4) visok unos mahunarki, 5) visok unos žitarica, 6) visok unos mononezasićenih masnih kiselina, 7) umjeren unos mlijeka i mliječnih proizvoda te 8) umjeren

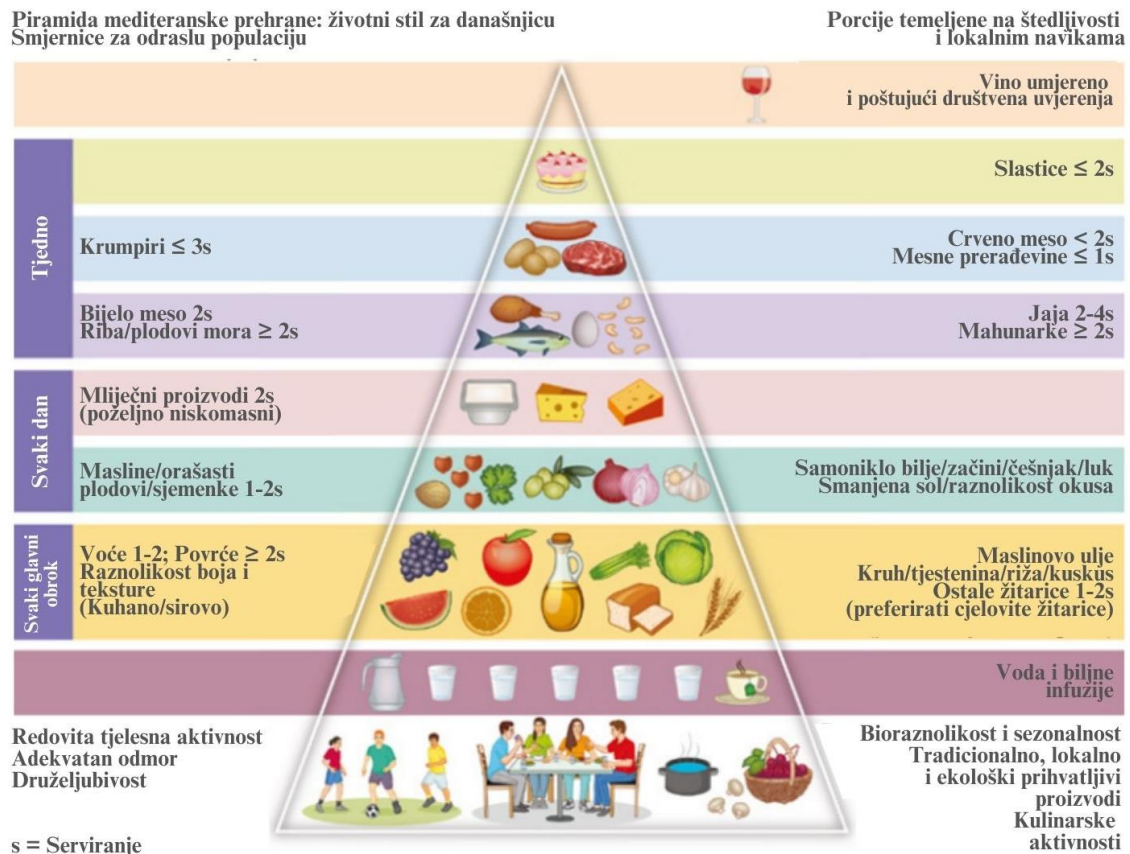
unos alkohola (Trichopoulou i Lagiou, 1997). Osim hrane, neizostavni čimbenici su kulturni, društveni i ekonomski segmenti (Hoffman, 2023). Unos kruha, maslinovog ulja, povrća i mahunarki bio je visok zbog raznih jušnih obroka i salata, dok se meso, u odnosu na lako dostupnu ribu, nije često konzumiralo zbog visoke cijene (Trichopoulou i Lagiou, 1997).

Suvremena mediteranska dijeta definirana je učestalošću konzumiranja pojedinih namirnica koje, zajedno konzumirane, imaju sinergistički pozitivni utjecaj na opće zdravlje pojedinca. Budući da je ova prehrana prakticirana u više različitih zemalja mediteranskog bazena, udjeli makronutrijenata također variraju: 35 do 45 % za masti, 35 do 40 % za ugljikohidrate te 15 do 20 % proteina (Hoffman, 2023). Dakle, današnji progresivni tip mediteranske prehrane, u odnosu na tradicionalnu, karakterizira nizak unos ugljikohidrata te umjeren unos masti. Slika 2 prikazuje piramidu mediteranske prehrane i njezine prehrambene sastavnice: 1) ekstra djevičansko maslinovo ulje kao glavni izvor masti, 2) voće i povrće u što većim količinama, 3) od žitarica maksimalan udio zauzimaju nerafinirane žitarice, 4) unos mahunarki minimalno dva puta tjedno, 5) orašasti plodovi, sjemenke i masline kao međuobroci, 6) unos ribe minimalno dva puta tjedno, 7) unos jaja dva do četiri komada tjedno, 8) umjeren unos mliječnih proizvoda, 9) tjedni unos mesa i mesnih proizvoda, 10) korištenje začinskog bilja i čajeva, 11) umjeren dnevni unos alkohola, te 12) slastice koje se temelje na voću, sjemenkama i orašastim plodovima, a pripremljene su samostalno (Hoffman, 2023). Niski glikemijski indeks namirnica neizostavan je i temeljni dio ovog obrasca prehrane koji značajno doprinosi zdravlju smanjujući razine glukoze u krvi (Bergia i sur., 2022).

Mediteranska prehrana često je istraživani obrazac prehrane koji se više puta pokazao kao vrlo djelotvoran za ljudsko zdravlje (Milenkovic i sur., 2021). Pa je tako dokazano vrlo korisna za dislipidemiju, vazodilataciju krvnih žila, inzulinsku rezistenciju, metabolički sindrom, antioksidativni kapacitet, koronarne i kardiovaskularne bolesti (Mirabelli i Brunetti, 2022; Romagnolo i Selmin, 2016). Pozitivan učinak primijećen je i kod gestacijskog dijabetesa (Zugravu i sur., 2023; Zaragoza-Martí i sur., 2022). Mediteranski oblik dijete smanjio je rizik od pojave šećerne bolesti (Cea-Soriano i sur., 2022), čak i kada nije primijenjena restriktivna dijeta (Salas-Salvadó i sur., 2011). Jasno je onda da se osobe s razvijenim dijabetesom nisu pridržavale ove prehrane što potvrđuju u svom istraživanju Grahovac i njegovi suradnici (Grahovac i sur., 2021).

Očekivano, zapadnjačka prehrana za koju je karakterističan visoki glikemijski indeks, hidrogenizirane masti, visok unos crvenog mesa i soli ima potpuno suprotan učinak, a to je

povećanje rizika i poticanje razvitka predijabetesa i dijabetesa tip 2 (Mirmiran i sur., 2023). Osim faktora prehrane, sjedilački način života, muški spol te dob (iznad 50 godina) znatno povećavaju rizik od razvitka loše glikemije i šećerne bolesti (Sbert i sur., 2022).



**Slika 2.** Piramida mediteranske prehrane (prema Hoffman, 2023; Bach-Faig i sur., 2011)

Naravno, svatko može različito reagirati na određene prehrambene intervencije i zato je personalizacija nužna za pronalaženje optimalne prehrambene dijete za normalizaciju glikemije u svakog pojedinca (Pasmans i sur., 2022). Isto tako, u zadnje vrijeme fokus istraživanja usmjeren je i na mikrobiom debelog crijeva koji može poslužiti za prilagodbu prehrane na temelju mikrobiološkog profila osobe (Wang i sur., 2022).

### 2.3.2. Ketogena prehrana

Ketogena ili keto prehrana, prema američkom Nacionalnom zdravstvenom institutu (engl. National Institutes of Health, NIH), niskouglikohidratna je prehrana s visokim udjelom masti. Zbog takvog omjera navedenih makronutrijenata, mast se intenzivno razgrađuje u ketone, koji ulaskom u krv, postaju glavni izvor energije u tijelu što se naziva ketoza (NIH, 2022). Zahvaljujući Russel Wilderu koji ju je osmislio, u samom početku 20-ih godina prošlog

stoljeća ovaj se tip prehrane koristio za liječenje epilepsije u pedijatriji. Pojavom antiepileptika, izgubila je na značaju, no kasnije se ponovno koristi kao dijeta za mršavljenje (Masood i sur., 2022). Danas se istražuje njezin učinak na karcinom (NIH, 2022) i dijabetes što je pobliže razjašnjeno u sljedećim odlomcima.

Udjeli makronutrijenata karakteristični za ovu dijetu raspodijeljeni su na sljedeći način: 1) 55 do 60 % masti, 2) 30 do 35 % proteina i 3) 5 do 10 % ugljikohidrata, odnosno 20 do 50 g dnevno na 2000 kilokalorija (Masood i sur., 2022). Izbjegavanje, odnosno zabrana unosa hrane bogate ugljikohidratima zajednička je točka svim varijacijama ketogene prehrane, a općenito obrazac prehrane podrazumijeva neunošenje: niti rafiniranih niti cjelovitih žitarica, škrobnog povrća, većinu voća i voćnih sokova, mahunarki. S druge strane, dozvoljene namirnice uključuju hranu bogatu mastima, uključujući i hranu s visokim udjelom zasićenih masti: meso i proizvodi od mesa, maslac, mast, orašasti plodovi, sjemenke, avokado, biljna ulja i masna riba (HSPH, 2023).

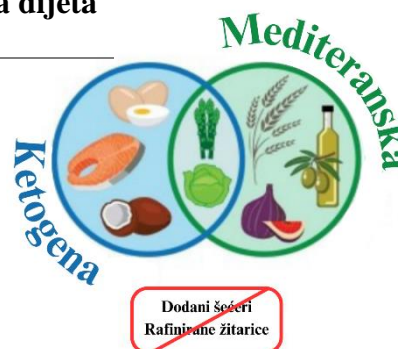
Ketogena dijeta daje zanimljive i obećavajuće rezultate po pitanju liječenja dijabetesa (Tinguely i sur., 2021). Pozitivno utječe na sastav tijela te metabolički profil uključujući udio masne mase, glukozu u krvi, hemoglobin A1c (HbA1c), inzulinsku osjetljivost, ali i na patofiziologiju sindroma policističnih jajnika (Barrea i sur., 2023; Deledda i sur., 2022). Smanjenje HbA1c parametra primjenom keto prehrane potvrđeno je u više studija (Gardner i sur., 2022; Tinguely i sur., 2021). Kontraindikacije za ovu dijetu obuhvaćaju bolesnike s: 1) pankreatitisom, 2) zatajenjem jetre, 3) poremećenim metabolizmom masti, 4) nedostatkom karnitina, 5) nedostatkom karnitin palmitoiltransferaze, karnitin translokaze, porfirija ili piruvat kinaze (Masood i sur., 2022). Kod oboljelih od dijabetesa tip 2, visoki unos masti može dovesti do povišenih triglicerida u krvi, a samim time i do pankreatitisa (Chan i sur., 2022). Zbog manjeg unosa mahunarki, cjelovitih žitarica i voća, keto dijeta može dovesti do povišenog LDL kolesterola i nedostatnog unosa određenih hranjivih tvari (Gardner i sur., 2022). Dakle, ne treba biti zaslijepljen pozitivnim učincima ove dijete, već treba biti svjestan i njezinih negativnih učinaka (Chan i sur., 2022). Zbog svoje kompleksnosti, ketogena prehrana zahtijeva preporuku i vodstvo kvalificiranih dijetetičara i liječnika za ostvarenje maksimalne usklađenosti i kontrole nad ketozom (Tinguely i sur., 2021; Chan i sur., 2022; Barrea i sur., 2023).

Shodno svemu navedenome, ove otkrivene blagodati ketogene prehrane treba dobro potkrijepiti istraživanjima u budućnosti te utvrditi sve negativne prateće posljedice i kako njima upravljati.

### 2.3.3. Zajedničke osobine mediteranske i ketogene prehrane

Uvidom u sva spomenuta istraživanja, jasno je da su obje vrste prehrane, i mediteranska i ketogena, pokazale povoljan učinak na metaboličke parametre u krvi, s posebnim naglaskom na glukozu. Gardner i suradnici predstavili su rezultate svog istraživanja mediteranske i ketogene dijeta prevedenoj na 40 odraslih osoba s predijabetesom ili dijabetesom tip 2. Ispostavilo se da su ispitanici i na mediteranskoj i na ketogenoj dijeti ostvarili povoljan učinak na razine HbA1c i razinu tjelesne mase. Prepostavili su da je ovaj rezultat vjerojatno posljedica nekih zajedničkih osobina ove dijeta, a to su neunošenje rafiniranih žitarica i šećera (slika 3) (Gardner i sur., 2022).

Izvori ugljikohidrata	Ketogena dijeta	Mediteranska dijeta
	<b>Sličnosti</b>	
Dodani šećeri	-	-
Rafinirane žitarice	-	-
Neškrobno povrće	+	+
	<b>Različitosti</b>	
Mahunarke	-	+
Voće	-	+
Cjelovite žitarice	-	+



**Slika 3.** Sličnosti i razlike između ketogene i mediteranske prehrane (prema Gardner i sur., 2022)

U eksperimentalnom dijelu ovoga rada predstavljen je upravo sintetski metabolizam glukoze i kako na njega utječu promjene u koncentraciji ugljikohidrata kao rezultat primjene mediteranske, ketogene i visoko ugljikohidratne prehrane.

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

Materijali korišteni u eksperimentalnom dijelu ovoga rada uključuju računalne programe WR Mathematica 10.0 (The Wolfram Centre Lower Road, Long Hanborough Oxfordshire, Ujedinjeno Kraljevstvo) za numeričku integraciju diferencijalnih jednadžbi, CellDesigner verzija 4.4.2 (The Systems Biology Institute, Tokyo, Japan) za dizajniranje simulacije metabolizma te Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, Redmond, Washington, SAD) iz programskog paketa MS Office za grafički prikaz rezultata.

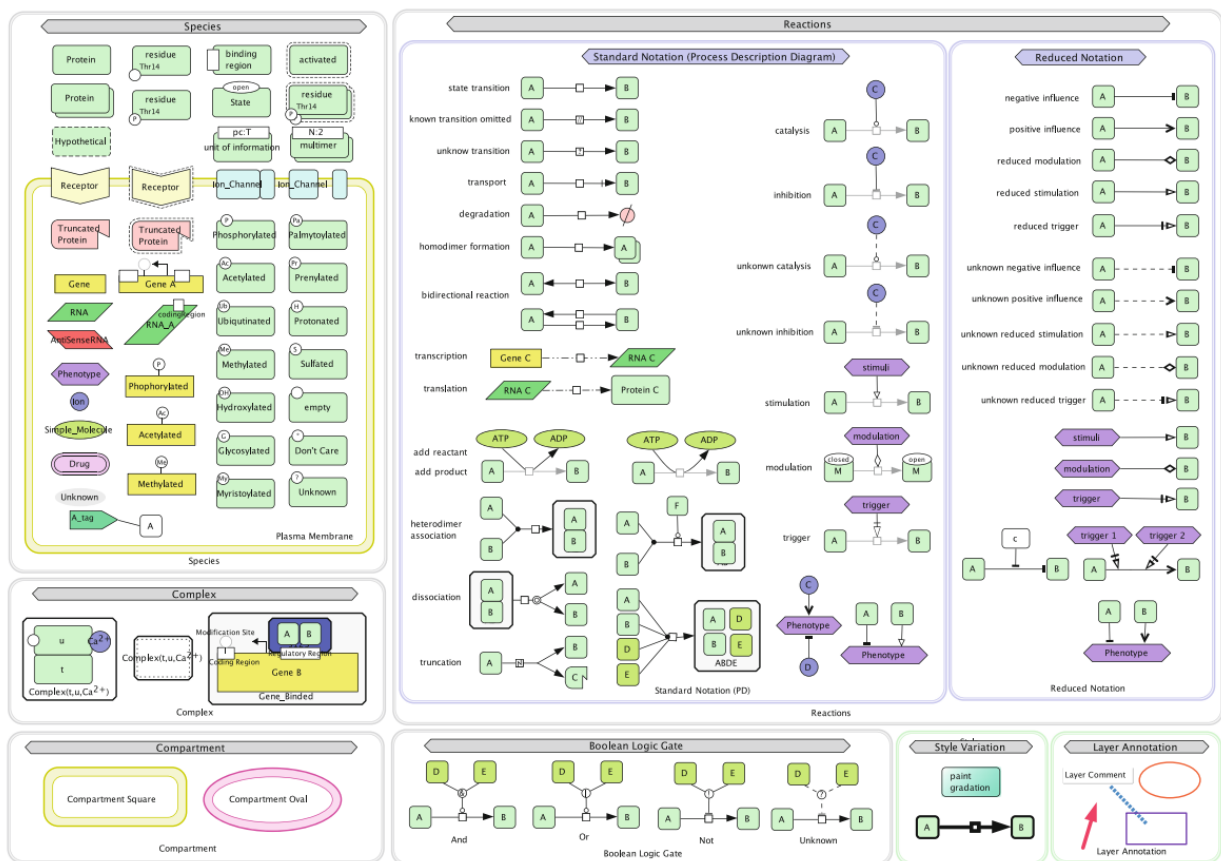
#### 3.1.1. Programski paket CellDesigner 4.4.2

Uvidom u složenost sistemske biologije, jasno je zašto je potreban program koji će moći uzeti u obzir sve prethodno navedene aspekte istraživanja metabolizma stanice. Upravo je CellDesigner program koji se koristi u tu svrhu, odnosno za samostalno uređivanje i crtanje bogatih grafičkih struktura biokemijskih i genetsko-regulatornih mreža (CellDesigner.org, 2019). Značajke koje obuhvaća uključuju prikaz biokemijske semantike, detaljan opis prijelaznih stanja proteina, standardiziranost programa za jednostavno korištenje s drugim aplikacijama (SBML), integracija s izvornom zbirkom simulacija, povezanost s bazom podataka te prenosivost kao Java aplikacija (Funahashi i sur., 2006).

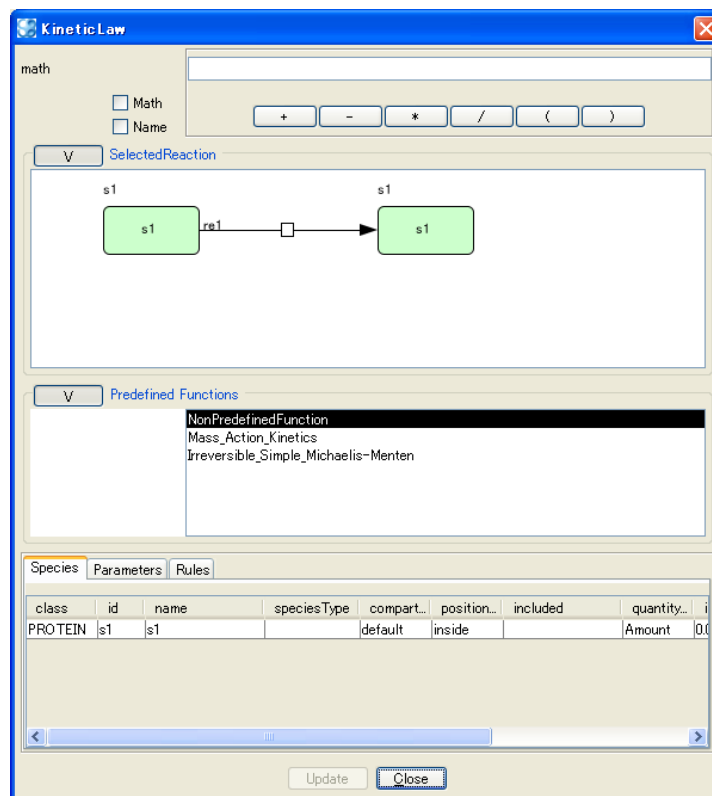
Dizajniranje modela za provedbu simulacije započinje odabirom nove datoteke u izborniku. Nakon otvaranja novog prozora upisuje se naziv i veličina radnog prostora. Uređivanje započinje dodavanjem proteina, gena, RNA, iona i ostalih jednostavnih molekula. Prilikom dodavanja ovih metabolita, upisuje im se naziv i određuje veličina. Za svo vrijeme tijekom dizajniranja modela moguće je pomicati navedene molekule (Funahashi i sur., 2003). Na slici 4. prikazani su svi simboli koji se mogu koristiti u CellDesigner-u.

Na alatnoj traci nalaze se strjelice koje predstavljaju različite vrste reakcija (katalize, inhibicije, aktivacije). Odabirom željene reakcije potrebno je povezati umetnute metabolite, odnosno reaktant s produktom, pri čemu je moguće dodati više reaktanata ili produkata u jednu reakciju (Funahashi i sur., 2003). Za svaku umetnutu reakciju upisuje se kinetički izraz, odnosno jednadžba za brzinu reakcije što je prikazano na slici 5. Prozor za upis ovih podataka otvara se klikom desne tipke miša na strjelici reakcije. Osim kinetike, u navedenom prozoru upisuju se i vrijednosti kinetičkih parametara odabrane reakcije. Potom se zadaju početne





Slika 4. Popis simbola koji se mogu koristiti za kreiranje modela u CellDesigner-u (Matsuoka i sur., 2014)



Slika 5. Prozor za unos kinetike reakcije (CellDesigner.org, 2010)

vrijednosti, odnosno koncentracije, parametrima čiji se metabolički put promatra. Pokretanjem simulacije moguće je vidjeti kako molekule utječu jedna na drugu, a sama simulacija pokreće se odabirom na padajućem izborniku *simulacije* na alatnoj traci. Promatranjem rezultata pokrenute simulacije dobiva se uvid u promjene koncentracija molekula tijekom zadanog vremena s obzirom na različite početne koncentracije određenih molekula koje su zadane na početku prije pokretanja simulacije. Rezultati u CellDesigner-u prikazani su numerički u obliku tablice i grafički. Simulacija se može spremiti u obliku standardiziranog SBML dokumenta koji sadrži sve potrebne informacije o modelu (Matsuoka i sur., 2014).

### 3.1.2. Programski paket WR Mathematica 10.0

WR *Mathematica* je interaktivni računalni sustav temeljen na matematičkim priručnicima, te proširen kompleksnim algoritmima koji omogućavaju raznoliku primjenu ovog programa. Na najnižoj razini, može se koristiti kao sofisticirani kalkulator ili na višoj razini za rješavanje algebarskih ili diferencijalnih jednadžbi. Podržava automatsko umetanje (*import*) i prijenos (*export*) svih standardnih grafičkih i zvučnih formata, statičkih 3D grafika, provođenja animacija, izradu vlastitih programa.

Sustav WR *Mathematica-e* sastoji se od 2 dijela – jezgre (odgovorno za računski dio) i radnog sučelja (odgovorno za interakciju s korisnikom putem radne bilježnice). Radna bilježnica (*notebook*) povezuje ulazne i izlazne informacije s tekstom, grafičkim prikazima, paletama formula, itd.

### 3.1.3. Model metabolizma ugljikohidrata jetrene stanice

U ovom radu prezentiran je model metabolizma glukoze u stanici jetre, odnosno njezin metabolički put za proizvodnju i skladištenje energije. Osim glukoze, u obzir su uzeti i njezini prekursori (piruvat, alanin, laktat, glicerol) koji također imaju važnu ulogu u ovom metaboličkom putu. Cilj ovog usporednog rada bio je odrediti utjecaj različitih količina konzumiranih ugljikohidrata iz tri različita prehrambena obrasca na glukozu u plazmi i citosolu te kako se to posljedično odrazilo na koncentracije glukoza-6-fosfata. Sam model sastoji se od 192 kinetička parametra, 44 varijable i 46 biokemijskih reakcija. U tablici 1 navedene su varijable i njihove pripadajuće vrijednosti karakteristične za zdravu stanicu jetre (Kurata, 2021). Primjena različitih početnih uvjeta odnosi se na manipulaciju koncentracijama plazmatske i citosolne glukoze, što se zatim odražavalo na ostatak metabolita pri izvođenju simulacije. Metaboliti koje je bilo nužno navesti za optimalnu funkciju simulacije, a čija konačna koncentracija ne utječe na kinetiku promatranog metaboličkog puta niti rezultate, su

ugljikov dioksid i riboza-5-fosfat. U tablici 2 nalaze se sve jednadžbe za brzinu biokemijskih reakcija koje su upotrijebljene tijekom izrade ovog modela (Kurata, 2021). Svaka jednadžba ovih enzimskih reakcija sadrži vlastite kinetičke parametre, a popis svih parametara korištenih u ovome radu nalazi se u Prilogu 1.

**Tablica 1.** Popis metabolita koji sudjeluju u metabolizmu ugljikohidrata jetrene stanice i njihovih početnih koncentracija (*prema* Kurata, 2021)

<b>Simbol</b>	<b>Metabolit</b>	<b>Koncentracija (mmol/L)</b>
Glc_BL	Glukoza u krvi	5
Pyr_BL	Piruvat u krvi	0,68
Lac_BL	Laktat u krvi	0,7
Ala_BL	Alanin u krvi	0,192
Glyc_BL	Glicerol u krvi	0,07
Bhb_BL	$\beta$ -hidroksibutirat u krvi	0,01
FFA_BL	Slobodna masna kiselina u krvi	0,66
TG_BL	Triacilglicerol u krvi	0,8
Chol_BL	Kolesterol u krvi	5
Glc_L	Glukoza u citosolu jetrene stanice	5
G6p_L	Glukoza-6-fosfat u citosolu jetrene stanice	1
Glygn_L	Glikogen citosolu jetrene stanice	200
Gap_L	Gliceraldehid-3-fosfat u citosolu jetrene stanice	1
Pyr_L	Piruvat u citosolu jetrene stanice	1
Lac_L	Laktat u citosolu jetrene stanice	1
Ala_L	Alanin u citosolu jetrene stanice	1
Accoa_LM	Acetil-CoA u mitohondriju jetrene stanice	1
Bhb_L	$\beta$ -hidroksibutirat u citosolu jetrene stanice	0
Accoa_LC	Acetil-CoA u citosolu jetrene stanice	0
Malcoa_L	malonil-CoA u citosolu jetrene stanice	0
Hmgcoa_L	hidroksimetilglutaril-CoA u citosolu jetrene stanice	0
Chol_L	Kolesterol citosolu jetrene stanice	0
FFA_L	Slobodna masna kiselina u citosolu jetrene stanice	1
Glyc_L	Glicerol u citosolu jetrene stanice	1
Glycp_L	Glicerol-3-fosfat u citosolu jetrene stanice	1

**Tablica 1.** Popis metabolita koji sudjeluju u metabolizmu ugljikohidrata jetrene stanice i njihovih početnih koncentracija (prema Kurata, 2021) – nastavak

<b>Simbol</b>	<b>Metabolit</b>	<b>Koncentracija (mmol/L)</b>
TG_L	Triacilglicerol u citosolu jetrene stanice	2,93
Atp_L	ATP u citosolu jetrene stanice	2,74
Adp_L	ADP u citosolu jetrene stanice	1,22
Amp_L	AMP u citosolu jetrene stanice	0
Gtp_L	GTP u citosolu jetrene stanice	0,29
Gdp_L	GDP u citosolu jetrene stanice	0,01
Utp_L	UTP u citosolu jetrene stanice	0,27
Udp_L	UDP u citosolu jetrene stanice	0
Nadh_L	NADH u citosolu jetrene stanice	0,45
Nad_L	NAD <sup>+</sup> u citosolu jetrene stanice	0,05
Fadh_L	FADH <sub>2</sub> u citosolu jetrene stanice	0,45
Fad_L	FAD u citosolu jetrene stanice	0,05
Nadph_L	NADPH u citosolu jetrene stanice	0,25
Nadp_L	NADP <sup>+</sup> u citosolu jetrene stanice	0,25
Cre_L	Kreatin u citosolu jetrene stanice	0
Crep_L	Kreatin fosfat u citosolu jetrene stanice	0
P	Fosfat	100
R	Riboza-5-fosfat	0
CO <sub>2</sub>	Ugljikov dioksid	0

**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021)

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Transport glukoze iz krvi u stanicu	$v_{glut2}^{GlcBL} = Vdif_{glut2}^{GlcBL} \cdot \frac{Glc_B - Glc_L}{1 + \frac{Glc_B}{Kdif_{glut2}^{GlcBL}} + \frac{Glc_L}{Kdif_{glut2}^{GlcL}}}$	[1]
Prevođenje glukoze u glukozu-6-fosfat	$v_{hk}^{GlcL} = \alpha_L \cdot Vmax_{hk}^{GlcL} \cdot \frac{Glc_L}{Glc_L + Km_{hk}^{GlcL} (1 + \frac{G6pL}{Ki_{hk}^{G6pL}})} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{hk}^{AtpL} (1 + \frac{G6pL}{Ki_{hk}^{AtpL}})}$	[2]
Put pentoza fosfata	$v_{ppp}^{G6pX} = Vmax_{g6pase}^{G6pX} \cdot \frac{G6pL}{G6pL + Km_{ppp}^{G6pL}} \cdot \frac{Nadp_L}{Nadp_L + Km_{ppp}^{NadpL}}$	[3]
Prevođenje glukoze-6-fosfat u glukozu	$v_{g6pase}^{G6pL} = Vmax_{g6pase}^{G6pL} \cdot \frac{G6pL}{G6pL + Km_{g6pase}^{G6pL}}$	[4]
Sinteza glikogena	$v_{gs}^{G6pX} = \alpha_L \cdot Vmax_{gs}^{G6pL} \cdot \frac{G6p_L^{n_{gs}^{G6pL}}}{G6p_X^{n_{gs}^{G6pX}} + Km_{gs}^{G6pX n_{gs}^{G6pX}}} \cdot \frac{(Glygn_L^{max} - Glygn_L)}{(Glygn_L^{max} - Glygn_L) + Km_{gs}^{GlygnL}} \cdot \frac{Utp_L}{Utp_L + Km_{gs}^{UtpL}}$	[5]
Degradacija glikogena	$v_{gd}^{GlygnL} = \beta_L \cdot Vmax_{gd}^{GlygnL} \cdot \frac{Glygn_L}{Glygn_L + Km_{gd}^{GlygnL}} \cdot \frac{Phos_L}{Phos_L + Km_{gd}^{PhosL}}$	[6]
Prevođenje glukoze-6-fosfat u gliceraldehid-3-fosfat	$v_{pfk}^{G6pL} = \alpha_L \cdot Vmax_{pfk}^{G6pL} \cdot \frac{G6pL}{G6pL + Km_{pfk}^{G6pL}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{pfk}^{AtpL}} \cdot \frac{Ki_{pfk}^{AtpL}}{Atp_L + Ki_{pfk}^{AtpL}} \cdot \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{pfk}^{AdpL}} \cdot (1 - b_{pfk}^{GapL}) \cdot \frac{Gap_L}{Gap_L + Ki_{pfk}^{GapL}}$	[7]
Prevođenje gliceraldehid-3-fosfata u glukozu-6-fosfat	$v_{fbp}^{GapL} = \beta_L \cdot Vmax_{fbp}^{GapL} \cdot \frac{Gap_L}{Gap_L + Km_{fbp}^{GapL}}$	[8]

**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021) – nastavak 1

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Prevođenje gliceraldehid-3-fosfata u piruvat	$v_{pk}^{GapL} = \alpha_L \cdot Vmax_{pk}^{GapL} \cdot \frac{GapL}{GapL + Km_{pk}^{GapL}} \cdot \left( 1 - b_{pk}^{AccoaLM} \cdot \frac{AccoaLM}{AccoaLM + Ki_{pk}^{AccoaLM}} \right) \cdot \frac{AdpL}{AdpL + Km_{pk}^{AdpL}}$	[9]
Prevođenje piruvata u gliceraldehid-3-fosfat	$v_{pepck}^{PyrL} = \beta_L \cdot Vmax_{pepck}^{PyrL} = \frac{PyrL}{PyrL + Km_{pepck}^{PyrL}} \cdot \frac{AtpL}{AtpL + Km_{pepck}^{AtpL}} \cdot \frac{GtpL}{GtpL + Km_{pepck}^{GtpL}}$	[10]
Transport piruvata iz krvi u stanicu	$v_{pyrt}^{PyrBL} = Vdif_{pyrt}^{PyrBL} \cdot \frac{Pyr_B - Pyr_L}{1 + \frac{Pyr_B}{Kdif_{pyrt}^{PyrBL}} + \frac{Pyr_L}{Kdif_{pyrt}^{PyrL}}}$	[11]
Transport laktata iz krvi u stanicu	$v_{lact}^{LacBL} = Vdif_{lact}^{LacBL} \cdot \frac{Lac_B - Lac_L}{1 + \frac{Lac_B}{Kdif_{lact}^{LacBL}} + \frac{Lac_L}{Kdif_{lact}^{LacL}}}$	[12]
Prevođenje piruvata u laktat	$v_{ldh}^{PyrL} = Vmax_{ldh}^{PyrL} \cdot \frac{Pyr_L \cdot Nadh_L - Lac_L \cdot Nad_L / Keq_{ldh}^{LacL}}{\left( 1 + \frac{Pyr_L}{Km_{ldh}^{PyrL}} \right) \cdot \left( 1 + \frac{Nadh_L}{Km_{ldh}^{NadhL}} \right) + \left( 1 + \frac{Lac_L}{Km_{ldh}^{LacL}} \right) \cdot \left( 1 + \frac{Nad_L}{Km_{ldh}^{NadL}} \right) - 1}$	[13]
Transport alanina iz krvi u stanicu	$v_{alat}^{AlaBL} = Vdif_{alat}^{AlaBL} \cdot \frac{Ala_B - Ala_L}{1 + \frac{Ala_B}{Kdif_{alat}^{AlaB(L)}} + \frac{Ala_L}{Kdif_{alat}^{AlaL}}}$	[14]
Prevođenje piruvata u alanin	$v_{alata}^{PyrL} = Vmax_{alata}^{PyrL} \cdot \frac{Pyr_L - Ala_L / Keq_{alata}^{AlaL}}{\left( 1 + \frac{Pyr_L}{Km_{alata}^{PyrL}} \right) + \left( 1 + \frac{Ala_L}{Km_{alata}^{AlaL}} \right) - 1}$	[15]
Prevođenje piruvata u acetil-CoA	$v_{pdh}^{PyrL} = \alpha_L \cdot Vmax_{pdh}^{PyrL} \cdot \frac{Pyr_L}{Pyr_L + Km_{pdh}^{PyrL}} \cdot \frac{Nad_L}{Nad_L + Km_{pdh}^{NadL}} \cdot \frac{Km_{pdh}^{AccoaLM}}{AccoaLM + Km_{pdh}^{AccoaLM}}$	[16]

**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021) – nastavak 2

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Ciklus limunske kiseline	$v_{tca}^{AccoaLM} = Vmax_{tca}^{AccoaL} \cdot \frac{AccoaLM}{AccoaLM + Km_{tca}^{AccoaLM}} \cdot \frac{AdpL}{AdpL + Km_{tca}^{AdpL}} \cdot \frac{NadL}{NadL + Km_{tca}^{NadL}} \cdot \frac{FadL}{FadL + Km_{tca}^{FadL}} \cdot \frac{PhosL}{PhosL + Km_{tca}^{PhosL}} \cdot \frac{PyrL}{PyrL + Km_{tca}^{PyrL}}$	[17]
Transport slobodnih masnih kiselina iz krvi u stanicu	$v_{ffat}^{FFABL} = v_{ffat\_d}^{FFABL} + v_{ffat\_a}^{FFABL}$ $v_{ffat\_d}^{FFABL} = Vdif_{ffat}^{FFABL} \cdot \frac{FFA_B - FFA_L}{1 + \frac{FFA_B}{Kdif_{ffat}^{FFABL}} + \frac{FFA_L}{Kdif_{ffat}^{FFAL}}}$ $v_{ffat\_a}^{FFABL} = Vdif_{ffat}^{FFABL} \cdot \frac{FFA_B}{FFA_B + Km_{ffat}^{FFABL}}$	[18]
Sinteza triacilglicerola iz glicerola i slobodnih masnih kiselina	$v_{tgsyn}^{FFAL} = \alpha_L \cdot Vmax_{tgsyn}^{FFAL} \cdot \frac{FFA_L}{FFA_L + Km_{tgsyn}^{FFAL}} \cdot \frac{GlycpL}{GlycpL + Km_{tgsyn}^{GlycpL}} \cdot \frac{AtpL}{AtpL + Km_{tgsyn}^{AtpL}}$	[19]
Degradacija triacilglicerola na glicerol i slobodne masne kiseline	$v_{tgdeg}^{TGL} = \beta_L \cdot Vmax_{tgdeg}^{TGL} \cdot \frac{TGL}{TGL + Km_{tgdeg}^{TGL}}$	[20]
Transport glicerola iz krvi u stanicu	$v_{glyct}^{GlycBL} = Vdif_{glyct}^{GlycBL} \cdot \frac{Glyc_B - Glyc_L}{1 + \frac{Glyc_B}{Kdif_{glyct}^{GlycBL}} + \frac{Glyc_L}{Kdif_{glyct}^{GlycL}}}$	[21]
Prevođenje glicerola u glicerol-3-fosfat	$v_{glyk}^{GlycL} = Vdif_{glyk}^{GlycL} \cdot \frac{Glyc_L}{Glyc_L + Km_{glyk}^{GlycL} \left(1 + \frac{GapL}{Kl_{glyk}^{GapL}}\right)} \cdot \frac{AtpL}{AtpL + Km_{glyk}^{AtpL}}$	[22]
Transport triacilglicerola iz krvi u stanicu	$v_{tgt}^{TGBL} = v_{tgt\_a}^{TGL} + v_{tgt\_d}^{TGL}$ $v_{tgt\_d}^{TGBL} = Vdif_{tgt}^{TGL} \cdot \frac{TG_B - TG_L / Keq_{tgt}^{TGL}}{TG_B + Kdif_{tgt}^{TGBL} + \frac{TG_L}{Keq_{tgt}^{TGL}}}$ $v_{tgt\_a}^{TGBL} = -\beta_L \cdot Vmax_{tgt}^{TGL} \cdot \frac{TG_L}{TG_L + Km_{tgt}^{TGL}}$	[23]

**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021) – nastavak 3

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Prevođenje glicerol-3-fosfata u gliceraldehid-3-fosfat	$v_{g3pd}^{Gap_L} = Vmax_{g3pd}^{Gap_L} \cdot \frac{Gap_L \cdot Nadh_L - \frac{Glycp_L}{Keq_{g3pd}} \cdot Nad_L}{\left(1 + \frac{Gap_L}{Km_{g3pd}^{Gap_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Nadh_L}{Km_{g3pd}^{Nadh_L}}\right) + \left(1 + \frac{Glycp_L}{Km_{g3pd}^{Glycp_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Nad_L}{Km_{g3pd}^{Nad_L}}\right) - 1}$	[24]
β-oksidacija	$v_{boxid}^{FFAL} = Vmax_{boxid}^{FFAL} \cdot \frac{FFAL}{FFAL + Km_{boxid}^{FFAL}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{boxid}^{Atp_L}} \cdot \frac{Nad_L}{Nad_L + Km_{boxid}^{Nad_L}} \cdot \frac{Fad_L}{Fad_L + Km_{boxid}^{Fad_L}} \cdot \frac{Ki_{boxid}^{Accoa_{LM}}}{Accoa_{LM} + Ki_{boxid}^{Accoa_{LM}}} \cdot \frac{Ki_{boxid}^{Malcoa_L}}{Malcoa_L + Ki_{boxid}^{Malcoa_L}}$	[25]
Otpuštanje acetil-CoA u citoplazmu za sintezu slobodnih masnih kiselina	$v_{accoat}^{Accoa_{LM}LC} = Vmax_{accoat}^{Accoa_{LM}LC} \cdot \frac{Accoa_{LM}}{Accoa_{LM} + Km_{accoat}^{Accoa_{LM}}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{accoat}^{Atp_L}} \cdot \frac{Pyr_L}{Pyr_L + Km_{accoat}^{Pyr_L}}$	[26]
Sinteza β - hidroksibutirata	$v_{bhbsyn}^{Accoa_{LM}} = \beta_L \cdot Vmax_{bhbsyn}^{Accoa_{LM}} \cdot \frac{Accoa_{LM}}{Accoa_{LM} + Km_{bhbsyn}^{Accoa_{LM}}} \cdot \frac{Nadh_L}{Nadh_L + Km_{bhbsyn}^{Nadh_L}} \cdot \frac{Ki_{bhbsyn}^{Pyr_L}}{Ki_{bhbsyn}^{Pyr_L} + Km_{bhbsyn}^{Pyr_L}} \cdot \frac{Pyr_L}{Pyr_L + Km_{bhbsyn}^{Pyr_L}}$	[27]
Transport β – hidroksibutirata iz krvi u stanicu	$v_{bhbt}^{Bhb_{BL}} = Vdif_{bhbt}^{Bhb_{BL}} \cdot \frac{Bhb_B - Bhb_L}{1 + \frac{Bhb_B}{Kdif_{bhbt}^{Bhb_{BL}}} + \frac{Bhb_L}{Kdif_{bhbt}^{Bhb_L}}}$	[28]
Lipogeneza 1, odnosno prevođenje citosolnog acetil-CoA u malonil-CoA	$v_{lipog1}^{Accoa_{LC}} = Vmax_{lipog1}^{Accoa_{LC}} \cdot \frac{Accoa_{LC}}{Accoa_{LC} + Km_{lipog1}^{Accoa_{LC}}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{lipog1}^{Atp_L}}$	[29]



**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021) – nastavak 4

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Lipogeneza 2, odnosno sinteza masnih kiselina iz malonil-CoA	$v_{lipog2}^{Malcoa_L} = Vmax_{lipog2}^{Malcoa_L} \cdot \frac{Malcoa_L}{Malcoa_L + Km_{lipog2}^{Malcoa_L}} \cdot \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{lipog2}^{Adp_L}} \cdot \frac{Nadph_L}{Nadph_L + Km_{lipog2}^{Nadph_L}}$	[30]
Sinteza kolesterola 1, prevođenje acetil-CoA u 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA	$v_{cholsyn1}^{Accoa_{LC}} = Vmax_{cholsyn1}^{Accoa_{LC}} \cdot \frac{Accoa_{LC}}{Accoa_{LC} + Km_{cholsyn1}^{Accoa_{LC}}}$	[31]
Sinteza kolesterola 2, odnosno prevođenje 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA u kolesterol	$v_{cholsyn2}^{Hmgcoa_L} = Vmax_{cholsyn2}^{Hmgcoa_L} \cdot \frac{Hmgcoa_L}{Hmgcoa_L + Km_{cholsyn2}^{Hmgcoa_L}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{cholsyn2}^{Atp_L}} \cdot \frac{Fadh_L}{Fadh_L + Km_{cholsyn2}^{Fadh_L}} \cdot \frac{Nadph_L}{Nadph_L + Km_{cholsyn2}^{Nadph_L}}$	[32]
Transport kolesterola iz krvi u stanicu	$v_{cholt}^{Chol_{BL}} = -Vmax_{cholt}^{Chol_{BL}} \cdot \frac{Chol_L}{Chol_L + Km_{cholt}^{Chol_L}}$	[33]
Sinteza ATP-a iz FADH	$v_{atpsynf}^{Fadh_L} = Vmax_{atpsynf}^{Fadh_L} \cdot \frac{Fadh_L}{Fadh_L + Km_{atpsynf}^{Fadh_L}} \cdot \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{atpsynf}^{Adp_L}}$	[34]
Sinteza ATP-a iz NADH	$v_{atpsynn}^{Nadh_L} = Vmax_{atpsynn}^{Nadh_L} \cdot \frac{Nadh_L}{Nadh_L + Km_{atpsynn}^{Nadh_L}} \cdot \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{atpsynn}^{Adp_L}}$	[35]
Iskorištenje ATP-a	$v_{atpuse}^{Atp_L} = Vmax_{atpuse}^{Atp_L} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{atpuse}^{Atp_L}}$	[36]
Obnavljanje AMP-a u ADP	$v_{ampreg}^{Amp_L} = Vmax_{ampreg}^{Amp_L} \cdot \left( \frac{Amp_L}{Amp_L + Km_{ampreg}^{Amp_L}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{ampreg}^{Atp_L}} - \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{ampreg}^{Adp_L}} \cdot \frac{Adp_L}{Adp_L + Km_{ampreg}^{Adp_L}} \right)$	[37]

**Tablica 2.** Popis kinetičkih izraza za brzinu biokemijskih reakcija metabolizma ugljikohidrata (prema Kurata, 2021) – nastavak 5

Reakcija	Kinetički izraz za brzinu reakcije	Br. jed.
Obnavljanje GDP-a u GTP	$v_{gdpreg}^{Gdp_L} = Vmax_{gdpreg}^{Gdp_L} \cdot \frac{Gdp_L \cdot Atp_L - \frac{Gtp_L \cdot Adp_L}{Keq_{gdpreg}^{Gtp_L}}}{\left(1 + \frac{Gdp_L}{Km_{gdpreg}^{Gdp_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Atp_L}{Km_{gdpreg}^{Atp_L}}\right) + \left(1 + \frac{Gtp_L}{Km_{gdpreg}^{Gtp_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Adp_L}{Km_{gdpreg}^{Adp_L}}\right) - 1}$	[38]
Obnavljanje UDP-a u UTP	$v_{udpreg}^{Udp_L} = Vmax_{udpreg}^{Udp_L} \cdot \frac{Udp_L \cdot Atp_L - \frac{Utp_L \cdot Adp_L}{Keq_{udpreg}^{Utp_L}}}{\left(1 + \frac{Udp_L}{Km_{udpreg}^{Udp_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Atp_L}{Km_{udpreg}^{Atp_L}}\right) + \left(1 + \frac{Utp_L}{Km_{udpreg}^{Utp_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Adp_L}{Km_{udpreg}^{Adp_L}}\right) - 1}$	[39]
Transfer fosfata s ATP-a na NADH	$v_{nadhk}^{Nadh_L} = Vmax_{nadhk}^{Nadh_L} \cdot \frac{Nadh_L}{Nadh_L + Km_{nadhk}^{Nadh_L}} \cdot \frac{Atp_L}{Atp_L + Km_{nadhk}^{Atp_L}}$	[40]
Iskorištenje UTP-a	$v_{utpuse}^{Utp_L} = Vmax_{utpuse}^{Utp_L} \cdot \frac{Utp_L}{Utp_L + Km_{utpuse}^{Utp_L}}$	[41]
Iskorištenje GTP-a	$v_{gtpuse}^{Gtp_L} = Vmax_{gtpuse}^{Gtp_L} \cdot \frac{Gtp_L}{Gtp_L + Km_{gtpuse}^{Gtp_L}}$	[42]
Iskorištenje NADH	$v_{nadhuse}^{Nadh_L} = Vmax_{nadhuse}^{Nadh_L} \cdot \frac{Nadh_L}{Nadh_L + Km_{nadhuse}^{Nadh_L}}$	[43]
Iskorištenje NADPH	$v_{nadhphuse}^{Nadhph_L} = Vmax_{nadhphuse}^{Nadhph_L} \cdot \frac{Nadhph_L}{Nadhph_L + Km_{nadhphuse}^{Nadhph_L}}$	[44]
Iskorištenje FADH	$v_{fadhuse}^{Fadh_L} = Vmax_{fadhuse}^{Fadh_L} \cdot \frac{Fadh_L}{Fadh_L + Km_{fadhuse}^{Fadh_L}}$	[45]
Transfer fosfata s ATP-a na kreatin	$v_{ck}^{Cre_L} = Vmax_{ck}^{Cre_L} \cdot \frac{Cre_L \cdot Atp_L - \frac{Crep_L \cdot Adp_L}{Keq_{ck}^{Crep_L}}}{\left(1 + \frac{Cre_L}{Km_{ck}^{Cre_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Atp_L}{Km_{ck}^{Atp_L}}\right) + \left(1 + \frac{Crep_L}{Km_{ck}^{Crep_L}}\right) \cdot \left(1 + \frac{Adp_L}{Km_{ck}^{Adp_L}}\right) - 1}$	[46]

#### 3.1.4. Jelovnici

Prilikom planiranja prehrambenih obrazaca i jelovnika koji su upotrijebljeni za ovu vrstu eksperimenta, ispostavilo se da su najbolji izbor bile dvije krajnosti, visoko ugljikohidratni, nisko ugljikohidratni jelovnik, te uravnoteženi jelovnik s optimalnom količinom ugljikohidrata.

Za proučavanje simulacije izložene ekstremno niskim udjelima ugljikohidrata potrebno je bilo sastaviti jelovnik na temelju pravila ketogene dijeta. Kako je i navedeno u teorijskom dijelu ovoga rada u potpoglavlju o ketogenoj prehrani, pri planiranju obroka nit vodilja bio je sljedeći omjer makronutrijenata: 5 do 10 % ugljikohidrata, 55 do 60 % masti i 30 do 35 % proteina (Masood i sur., 2022). S druge strane, za kreiranje visoko ugljikohidratnog „nezdravog“ jelovnika koji je prožet jednostavnim ugljikohidratima, trebalo je obogatiti obroke rafiniranim žitaricama i obrocima koji su bogati šećerom. Cilj je bio postići udio ugljikohidrata od oko 60 %. Treći jelovnik, koji predstavlja uravnotežen unos ugljikohidrata i takozvanu „zlatnu sredinu“, je mediteranski jelovnik. Omjer makronutrijenata u mediteranskoj prehrani također je već opisan, a sadrži: 35 do 40 % ugljikohidrata, 35 do 45 % masti, te 15 do 20 % proteina (Hoffman, 2023). Ovisno o izvoru, unos ugljikohidrata u ovom tipu prehrane seže i do oko 55% (Gkouskou i sur., 2021; Estruch i Ros, 2020). Plan je bio, dakle, osmisliti tri jelovnika koji će se sastojati od pet obroka. Za kreiranje jelovnika korištena je USDA baza energetsko-nutritivnog sastava namirnica, a sami jelovnici sastavljeni su u programu Excel 2013.

### 3.2.METODE

#### 3.2.1. Simulacije modela metabolizma ugljikohidrata u CellDesigner-u

Nakon pripreme svih potrebnih materijala, provedene su simulacije konstruiranog modela metabolizma ugljikohidrata. Na ovaj način ispitan je utjecaj 15 različitih koncentracija glukoze (dobivenih analizom 15 obroka u sva tri jelovnika) na brzinu razgradnje glukoze. Također, ispitan je utjecaj navedenih koncentracija glukoze na promjene koncentracije glukoze-6-fosfat. Svi rezultati dobiveni provedbom ove simulacije prikazani su u obliku grafova ovisnosti koncentracije ( $c$ ) o vremenu ( $t$ ).

### 3.2.2. Analiza globalne parametarske osjetljivosti

U ovom radu provedena je i analiza globalne parametarske osjetljivosti primjenom FAST (engl. *Fourier Amplitude Sensitivity Test*) metode. Primjenom FAST metode, ulazni parametri se variraju čime dolazi do varijacija izlaza modela. Rastavljanje varijanci dobiva se na način da se variraju različiti parametri pri različitim frekvencijama, a Fourierova analiza mjeri amplitude na pojedinim frekvencijama svakog od parametara u izlazu modela (Xu i Gertner, 2011).

Uporaba FAST metode temelji se na transformaciji multidimenzionalnog područja parametra u jednodimenzionalno područje pojedinačnog parametra,  $s$ , nelinearnom transformacijom normaliziranih parametara  $x_i$  (jednadžba 47):

$$x_i = \frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \arcsin(\sin(\pi\omega_i s + \varphi_i)) \quad [47]$$

Raspon  $s$  područja parametra je  $s \in [-1, +1]$ . Transformacije parametara povezane su s parametrom frekvencije  $\omega_i$ , i parametra faznog kuta,  $\varphi_i$ . Fazni kutevi su proizvoljni brojevi iz raspona  $\varphi_i \in [-\pi, +\pi]$ , a frekvencije su cijeli brojevi koji čine nesrazmjern skup. Frekvencija  $i$  i fazni kut se odabiru kako bi dali nepovezane varijacije parametara kada se  $s$  varijabla ispituje u granicama od -1 do 1. Transformacija normaliziranih varijabli  $x_i$  u realni parametar  $k_i$  definirano je jednadžbom 48:

$$k_i = \frac{\hat{k}_i}{2} [10^n + 10^{-n} + x(10^n - 10^{-n})] \quad [48]$$

Pritom,  $\hat{k}_i$  je nominalna vrijednost parametra, a njegov raspon je  $k_i \in [10^{-n} \cdot \hat{k}_i, 10^n \cdot \hat{k}_i]$ . Eksponent  $n$  označava raspon varijacije parametara. Odgovori izlaznih varijabli se proširuje u Fourierovu seriju pri čemu je sveukupna varijanica  $D$  izlazne funkcije rastavljena na zbrojeve kvadrata Fourierovih koeficijenata  $A_\omega$  i  $B_\omega$  (jednadžbe 49 - 51):

$$D = 2 \sum_{\omega=1}^{\infty} (A_\omega^2 + B_\omega^2) \quad [49]$$

$$A_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \cos(\omega s) \cdot ds \quad [50]$$

$$B_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \sin(\omega s) \cdot ds \quad [51]$$

Parcijalni zbroj članova Taylorovog niza određen je  $s$  (jednadžne 52 i 53):

$$D_i = 2 \cdot \sum_{p=1}^M A_{p\omega_i}^2 + B_{p\omega_i}^2 \quad [52]$$

$$S_i = \frac{D_i}{D} \quad [53]$$

$M$  je maksimalna frekvencija u Fourierovom proširenju. Za simulaciju i određivanje osjetljivosti FAST metodom korišten je WR Mathematica 10.0. programski paket. Dobiveni rezultati potom su obrađeni u Microsoft Office Excelu 2013.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U okviru ovog rada provedena je simulacija i analiza modela metabolizma ugljikohidrata u programskim paketima CellDesigner i WR Mathematica. U poglavlju 4.1. dan je prikaz modela metabolizma ugljikohidrata konstruiran u programskom paketu CellDesigner. U poglavlju 4.2. prikazani su jelovnici konstruirani za analizu utjecaja početne koncentracije glukoze na metabolizam ugljikohidrata, dok su u poglavlju 4.3. prikazani rezultati simulacije modela s različitim početnim uvjetima. Nadalje u poglavlju 4.4. prikazani su rezultati analize globalne osjetljivosti modela metabolizma ugljikohidrata primjenom FAST metode.

### 4.2. MODEL METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA U PROGRAMSKOM PAKETU CELLDISIGNER

U ovome potpoglavlju prikazan je konačni rezultat kreiranog metaboličkog puta dobivenog upotrebom programa CellDesigner. Na predstavljenoj shemi nalaze se 44 vrste metabolita i 46 biokemijskih reakcija. Dizajn prikaza vizualno je prilagođen odabirom opcije *Layout > Edge Router > Organic Edge Router* kako bi shema bila preglednija i urednija.

Metabolički put glukoze započinje njezinim ulaskom u stanicu pomoću Glut 2 transportera te nastavljajući svoj glikolitički put do piruvata, zatim preko ciklusa limunske kiseline i oksidativne fosforilacije u konačnici daje energiju u obliku ATP-a. Osim glikolize, glukoza-6-fosfat može ući u reakcije sinteze glikogena ukoliko energija nije potrebna. Pored glukoze kao glavnog metabolita koji se promatra u ovome radu, u modelu su u obzir uzeti i prekursori glukoze (piruvat, alanin, laktat, glicerol), kolesterol, triacilglicerol te  $\beta$ -hidroksibutirat. Sve ove reakcije vidljive su na priloženoj detaljnoj shemi metabolizma ugljikohidrata u jetrenoj stanici (slika 6).



### 4.3. KETOGENI, MEDITERANSKI I VISOKO UGLJIKOHIDRATNI JELOVNIK

Kako bi početne koncentracije glukoze, čiji se utjecaj na metabolizam stanice istražuje, bile relevantne, izrađena su tri jelovnika: ketogeni, mediteranski i visoko ugljikohidratni. Jelovnici su kreirani uz pomoć USDA tablične baze podataka zbog svoje iscrpne količine namirnica i podataka. Energetski se jelovnici ne razlikuju te zadovoljavaju unos od oko 2000 kilokalorija (kcal). Nakon izrade jelovnika u Excel-u, izračunate su količine i udjeli ugljikohidrata. Keto jelovnik sadrži 10,3 % (ili 51,7 g), mediteranski 45,8 % (231 g), a visoko ugljikohidratni 61,1 % (306,6 g) ugljikohidrata. S obzirom da prehrambena vlakna nisu probavljiva te ih čovjek stoga ne može iskoristiti za proizvodnju energije (Prosky, 2000), njihov sadržaj oduzet je od ukupnih ugljikohidrata. Konačna masa (g) probavljivih ugljikohidrata preračunata je u koncentracije glukoze (mol/L) koje su zatim korištene pri izvođenju simulacija. Sadržaj jelovnika sa svim detaljima o namirnicama i numeričkim vrijednostima nalaze se u tablicama 3-5.

Izraz "ketogena dijeta" općenito se odnosi na dijetu koja je vrlo niska u unosu ugljikohidrata, skromna u proteinima i bogata mastima. Takva prehrana ima za cilj potaknuti ketozu ili proizvodnju ketonskih tijela koja služe kao alternativni izvor energije za neurone i druge vrste stanica koje ne mogu izravno metabolizirati masne kiseline. Razine ketona u mokraći često se koriste kao pokazatelj pridržavanja dijete (Batch i sur., 2020). U literaturi su dostupni podaci o različitim ketogenim dijetama. Najbolje definirana i proučena ponekad se naziva "klasična" ketogena dijeta, koja se odnosi na dijetu s vrlo niskim unosom ugljikohidrata a koja je općenito pod medicinskim nadzorom, s 4:1 ili 3:1 omjerom masti u prehrani prema kombinaciji proteina i ugljikohidrata u prehrani (Crosby i sur., 2021). Navedeni omjeri zadovoljeni su i keto jelovnicima razvijenim u ovom radu (tablica 3). Vidljivo je da u predloženim jelovnicima najviši udio ugljikohidrata otpada na doručak dok je najniži udio ugljikohidrata predviđen za večeru. Važno je naglasiti da ekstremna restrikcija ugljikohidrata može značajno utjecati na kvalitetu prehrane, obično ograničavajući ili eliminirajući voće, povrće, cjelovite žitarice i mahunarke te povećavajući konzumaciju životinjskih proizvoda. Dijetama s vrlo niskim udjelom ugljikohidrata može nedostajati vitamina, minerala, vlakana i fitokemikalija koje se nalaze u voću, povrću i cjelovitim žitaricama (Patterson i sur., 2020). Dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata često je siromašna tiaminom, folatom, vitaminom A, vitaminom E, vitaminom B6, kalcijem, magnezijem, željezom i kalijem (Freedman i sur., 2001). U nedostatku multivitaminskih dodataka, pojedinci na dijetama s niskim unosom



ugljikohidrata izloženi su riziku od očitih nedostataka u prehrani. Čak i kada se konzumira samo hrana bogata hranjivim tvarima, ketogena dijeta 4:1 ima manjak više mikronutrijenata, često nedostatak vitamina K, linolenske kiseline i vitamina topivih u vodi isključujući vitamin B12.

**Tablica 3.** Ketogeni jelovnik

Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Ugljikohidrati (g)	Masa ugljikohidrata bez vlakana u obrocima
<b>Zajutrak</b>				
Jogurt (1,5 % m.m.)	150	127,6	10,6	15,3
Chia, sjemenke	5	24,5	2,2	
Maline	40	20,8	4,8	
Bademi	15	86,7	3,0	
Orasi	15	98,1	2,1	
<b>Doručak</b>				
Sir gauda	60	213,6	1,3	3,4
Šunka, mršava, kuhana	60	87,0	0,9	
Jaja, kuhana	100	155	1,1	
<b>Ručak</b>				
Piletina, pečena, bijelo meso	160	264,0	0,0	5,3
Špinat na lešo	120	27,6	4,5	
Maslinovo ulje	15	132,6	0,0	
Grejp	50	16,5	4,2	
<b>Užina</b>				
Sir svježi	70	72,1	1,9	8,5
Breskva	40	15,6	3,8	
Maslac od kikirikija	15	88,4	3,2	
Lješnjaci	15	96,9	2,6	
<b>Večera</b>				
Losos, kuhani	150	309,0	0,0	2,5
Paprika	50	10,0	2,3	
Sezam, sjemenke	5	28,7	1,2	
Avokado	25	40,0	2,1	
Maslinovo ulje	15	132,6	0,0	
<b>Σ</b>		2014,1	51,7	35

Nadalje, tradicionalnu mediteransku prehranu karakterizira visok unos biljne hrane (voće, povrće, kruh i druge žitarice (tradicionalno minimalno rafinirane), krumpir, grah, orašasti plodovi i sjemenke); minimalno prerađena, sezonski svježa i lokalno uzgojena hrana; svježe

voće kao tipični desert, uz slatkiše koji sadrže šećer ili med nekoliko puta tjedno; visok unos maslinovog ulja (osobito djevičanskog i ekstradjevičanskog maslinovog ulja) koje se koristi kao glavni izvor masti; umjereni unos mliječnih proizvoda (uglavnom poput sira i jogurta); nula do četiri jaja tjedno; riba i perad u malim do umjerenim količinama; crveno meso konzumirano u malim količinama; i vino u umjerenim količinama, konzumirano uz obroke (Guasch-Ferré i Wilett 2021). Relativno visok unos orašastih plodova, maslinovog ulja i umjeren unos vina, posebice crnog vina tijekom obroka, čini mediteransku prehranu jedinstvenom i različitom od ostalih obrazaca zdrave prehrane. Navedene smjernice korištene su i u razvoju mediteranskih jelovnika u ovom radu (tablica 4). Kao što je prikazano, jelovnici se baziraju na voću, povrću i ribi pri čemu je ponovo doručak najbogatiji po unosu ugljikohidrata. Prema Tosti i sur. (2017) podaci iz nekoliko kliničkih ispitivanja pokazali su povoljan učinak mediteranske prehrane u primarnoj i sekundarnoj prevenciji kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2, fibrilacije atrijske i raka dojke. Nije poznat točan mehanizam kojim povećano pridržavanje tradicionalne mediteranske prehrane ispoljava svoje povoljne učinke (Dominguez i sur., 2023). Međutim, prikupljanje dokaza pokazuje da postoji pet najvažnijih prilagodbi izazvanih mediteranskim prehranbenim obrascem: (a) učinak snižavanja lipida, (b) zaštita od oksidativnog stresa, upale i agregacije trombocita, (c) modifikacija uključenih hormona i faktora rasta u patogenezi raka, (d) inhibicija putova osjeta hranjivih tvari specifičnim ograničenjem aminokiselina, i (e) proizvodnja metabolita posredovana crijevnom mikrobiotom koji utječu na metaboličko zdravlje.

**Tablica 4.** Mediteranski jelovnik

<b>Obrok</b>	<b>Masa (g)</b>	<b>Energija (kcal)</b>	<b>Ugljikohidrati (g)</b>	<b>Masa ugljikohidrata bez vlakana u obrocima</b>
<b>Zajutrak</b>				
Mlijeko (1-2, <1 % m.m.)	240	134,4	13,2	46,0
Kakao u prahu	5	11,5	2,7	
Pecivo, integralno	70	194,6	36,0	
<b>Doručak</b>				
Zobene pahuljice, suhe	50	186	37,4	55,5
Jogurt (1,5 % m.m.)	240	151,2	16,9	
Borovnice	100	57,0	14,5	
Lješnjaci	20	125,6	3,3	
Lan, sjemenke	10	49,2	3,4	
Med	5	15,2	4,1	
<b>Ručak</b>				
Bakalar, kuhani	130	136,5	0,0	31,1
Kelj na lešo	150	42,0	8,4	
Krumpiri, kuhani	100	78,0	17,2	
Zelena salata, endivija	35	6,0	1,2	
Maslinovo ulje	15	132,6	0,0	
Ocat	5	0,6	0,3	
Jabuka	100	52,0	13,8	
<b>Užina</b>				
Sir svježi	60	61,8	1,6	7,3
Kupine	100	43,0	9,6	
Orasi	20	130,8	2,7	
<b>Večera</b>				
Mrkva, kuhana	90	31,5	7,4	39,3
Leća, kuhana	90	104,4	18,1	
Piletina, kuhana, bijelo meso	110	166,1	0,0	
Grašak, kuhani	90	106,2	19,0	
<b>Σ</b>		<b>2016,1</b>	<b>230,9</b>	<b>179,2</b>

**Tablica 5.** Visoko ugljikohidratni jelovnik

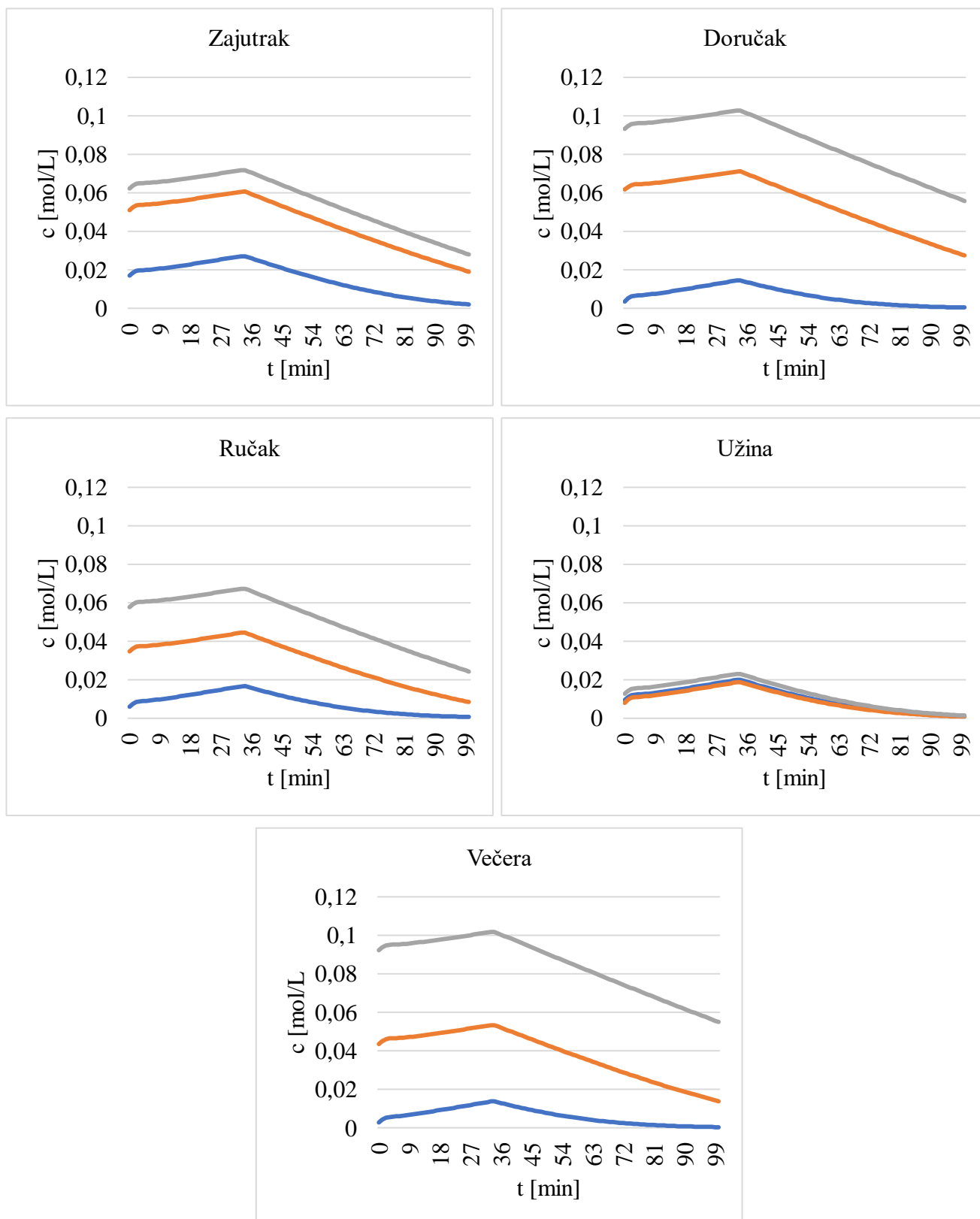
Obrok	Masa (g)	Energija (kcal)	Ugljikohidrati (g)	Masa ugljikohidrata bez vlakana u obrocima
<b>Zajutrak</b>				
Muesli, voćni	70	238,0	54,5	56,1
Jogurt (1,5 % m.m.)	180	113,4	12,7	
Med	10	113,4	12,7	
Crni ribiz	90	56,7	13,8	
<b>Doručak</b>				
Šunka, mršava, kuhana	50	72,5	0,8	84,1
Sir gauda	30	106,8	0,7	
Kruh	100	271,0	50,0	
<b>Ručak</b>				
Lasagne s mesom	200	258,0	24,6	51,9
Krastavci	100	12,0	2,2	
Rajčica	80	16,8	3,7	
Paprika	60	12,0	2,8	
Banana	120	106,8	27,4	
<b>Užina</b>				
Napolitanke	50	216,5	36,2	11,4
Kava s mlijekom, instant	200	13,7	1,4	
Šećer	10	38,7	10	
<b>Večera</b>				
Palačinke s marmeladom	120	276,3	37,1	83,2
Čokoladno mlijeko	200	166,0	20,7	
<b>Σ</b>		<b>2005,6</b>	<b>306,6</b>	<b>286,7</b>

Kao kontrast prethodno opisanim dijetama, osmišljen je i jelovnik s vrlo visokim sadržajem ugljikohidrata kao predstavnik jedne nezdrave zapadnjačke prehrane (tablica 5). Karakteristike takve prehrane uključuju pretjeran unos ugljikohidrata od 200 do 300 g pri čemu glavnina unosa dolazi od rafiniranih žitarica i jednostavnih šećera (Alpers, 2003). Ovakav tip prehrane ne preporučuje se, već se dapače izbjegava jer kod ustrajne primjene takve prehrane, povećan je rizik od nastanka raznih upala i nezaraznih kroničnih bolesti. Tu svakako utjecaj ima i sadržaj i vrsta masnoća, visok energetske nos i sjedilački način života koji su karakteristični za ovu vrstu prehrane (Christ i sur., 2019).

#### 4.4. GRAFIČKI PRIKAZI REZULTATA PROVEDENIH SIMULACIJA U PROGRAMSKOM PAKETU CELLDISIGNER

Sva tri prezentirana jelovnika sadrže po pet obroka: zajutak, doručak, ručak, užina i večera. To čini sveukupno 15 obroka. Za svaki je izračunat udio ugljikohidrata kao i količina vlakana koju smo zatim oduzeli. U konačnici je dobiveno petnaest različitih koncentracija glukoze koje su korištene u modelu metabolizma ugljikohidrata za provedbu simulacija. Svih petnaest provedenih simulacija dale su vrlo jasne rezultate. Koncentracije ugljikohidrata (glukoze) iz obroka koje su korištene za simulacije su sljedeće: 0,017; 0,0511; 0,0623; 0,0037; 0,0617; 0,0934; 0,0059; 0,0346; 0,0577; 0,0094; 0,0081; 0,0127; 0,0028; 0,0437 i 0,0924 mol/L. Dobiveni grafovi podijeljeni su u tri skupine s obzirom na promatranu varijablu: glukoza u krvi (plazmi), glukoza u citosolu i glukoza-6-fosfat.

Kada konzumirana glukoza dospije u krv, većinom se dostavlja crvenim krvnim stanicama, skeletnom mišićju, masnom tkivu, mozgu, živčanom i drugim tkivima u tijelu. Dostavljena glukoza odmah se oksidira i nastavlja put proizvodnje energije (ATP-a). Mišićno tkivo ima sposobnost pohrane: 1) glukoze u obliku glikogena kao i jetra, te 2) umjerene količine masnih kiselina (triacilglicerola) u stanju uhranjenosti. U trenutku kada glukoza i glukoneogeni prekursori premaše jetreni kapacitet skladištenja glikogena, odnosno kada energetski unos premašuje potrošnju energije, višak unesene glukoze (energije) jetra pretvara u masne kiseline, a potom i u triacilglicerole. Upravo kod prekomjernog unosa ugljikohidrata jetra postaje masna zbog nakupljenih triacilglicerola, povećava se izlučivanje lipoproteina vrlo niske gustoće (engl. *Very Low Density Lipoprotein, VLDL*) u krv koji zatim triacilglicerole dostavljaju u masno tkivo kako bi se uskladištio višak proizvedenih ugljikohidrata. Zbog toga dolazi do povećanja tjelesne mase pojedinca (Gropper i sur., 2021). Iz ovoga se jasno može zaključiti zašto visok unos ugljikohidrata donosi brojne komplikacije, a posebno osobama oboljelima od dijabetesa.

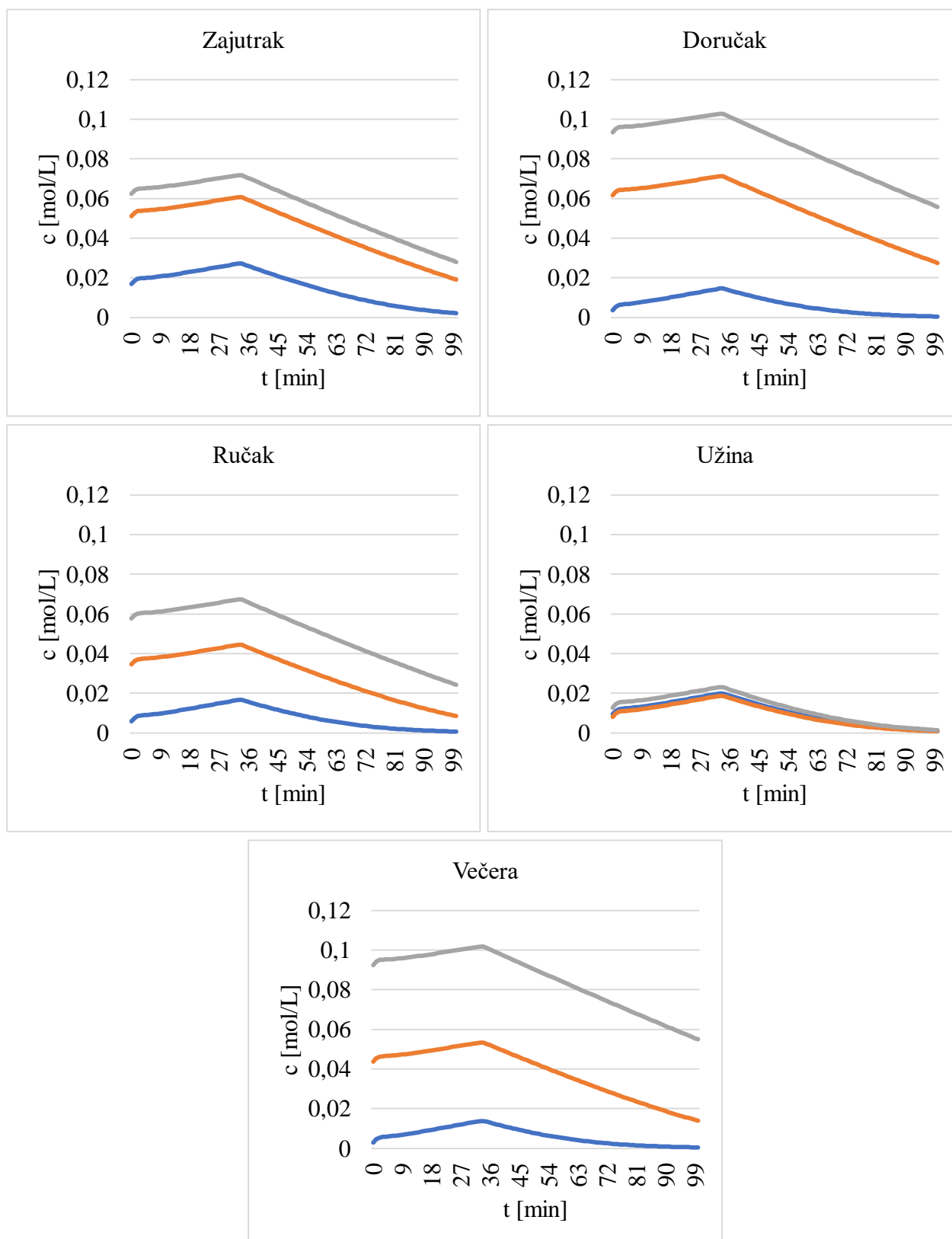


**Slika 7.** Koncentracije glukoze u krvi u vremenskom periodu od 100 minuta nakon konzumacije 3 različite koncentracije ugljikohidrata kod svakog obroka ovisno o prehranbenom obrascu (plavo predstavlja ketogeni, narančasto mediteranski, a sivo visoko ugljikohidratni jelovnik).

Prvi grafički prikaz odnosi se na glukozu u krvi. Nakon konzumacije obroka, postprandijalna glukoza u krvi može doseći 120 do 140 mg/dL, no kroz 2 sata vraća se u normalu. Ako je prisutno gladovanje, glukoza se osigurava putem glukoneogeneze. Ukoliko hipoglikemija potraje nekoliko sati ili čak dana, započet će izlučivanje hormona rasta i kortizola koji povećavaju potrošnju masti, a smanjuju iskorištavanje glukoze od strane stanica (Nakrani i sur., 2022). Na slici 7 prikazane su krivulje iskorištenja glukoze iz krvi. Koliko brzo glukoza ulazi u stanicu ovisi o brzini difuzije ( $V_{dif}$ ) Glut 2 transportera glukoze. Ovisnost koncentracije glukoze o vremenu prikazana je kroz svih pet obroka (zajuttrak, doručak, ručak, užina, večera). Razlike među krivuljama postoje prvenstveno zbog unosa različite količine probavljivih ugljikohidrata iz priloženih jelovnika. Dakle, najmanji porast glukoze postigli su obroci iz ketogenog jelovnika što je sasvim logično s obzirom na ekstremno niski unos ugljikohidrata u takvom tipu prehrane. Najveći porast glukoze postigao je, očekivano, visoko ugljikohidratni jelovnik. Užina kao najmanji obrok, jasno prikazuje kako sličan unos ugljikohidrata u obroku kod sva tri jelovnika daje i sličan rezultat. Ako se obrati pozornost na vremensku os  $t$ , na svim grafovima vidljivo je da je maksimalni doseg koncentracije glukoze postignut u jednakim trenucima.

Rezultati dobiveni ovom simulacijom prikazali su iskorištenje plazmatske glukoze kroz 1 sat i 40 minuta. Vremenske razlike među obrocima nema. Rezultati drugih istraživanja umjetno dizajniranih metabolizama ne podudaraju se u mjerenjima jer ovisi o tome koji matematički modeli se koriste, kako se provodi monitoring i mjerenja (Kurata, 2021; Al-Matouq i sur., 2020; Kang i sur., 2012). Prema istraživanju Kurate (2018) i njegovom virtualnom modelu metabolizma ugljikohidrata, vrijeme potrebno za iskorištenje glukoze je između 3 i 4 sata (Gropper i sur., 2021; Kurata, 2021). Te vrijednosti su približne i eksperimentalnim rezultatima dobivenim mjerenjem postprandijalne glukoze (Mason i sur., 2020).

Grafički rezultati promjena u koncentracijama glukoze u citosolu ne razlikuju se od plazmatske glukoze (slika 8). Ako to promotrimo sa zdravstvenog stajališta, ovaj model, konstruiran u programu CellDesigner, temelji se na podacima za zdravu stanicu u kojoj sve normalno funkcionira. Jasno je, dakle, da će sva glukoza nesmetano ući u stanicu jer nije prisutna inzulinska rezistencija koja bi to ometala u ovim simulacijama. Iz toga se može zaključiti da model funkcionira točno, no za upotrebu kod patoloških stanja poput inzulinske rezistencije potrebno je modificirati neke dijelove modela.



**Slika 8.** Koncentracije glukoze u citosolu u vremenskom periodu od 100 minuta nakon primjene 3 različite koncentracije ugljikohidrata kod svakog obroka ovisno o prehranbenom obrascu (plavo predstavlja ketogeni, narančasto mediteranski, a sivo visoko ugljikohidratni jelovnik)

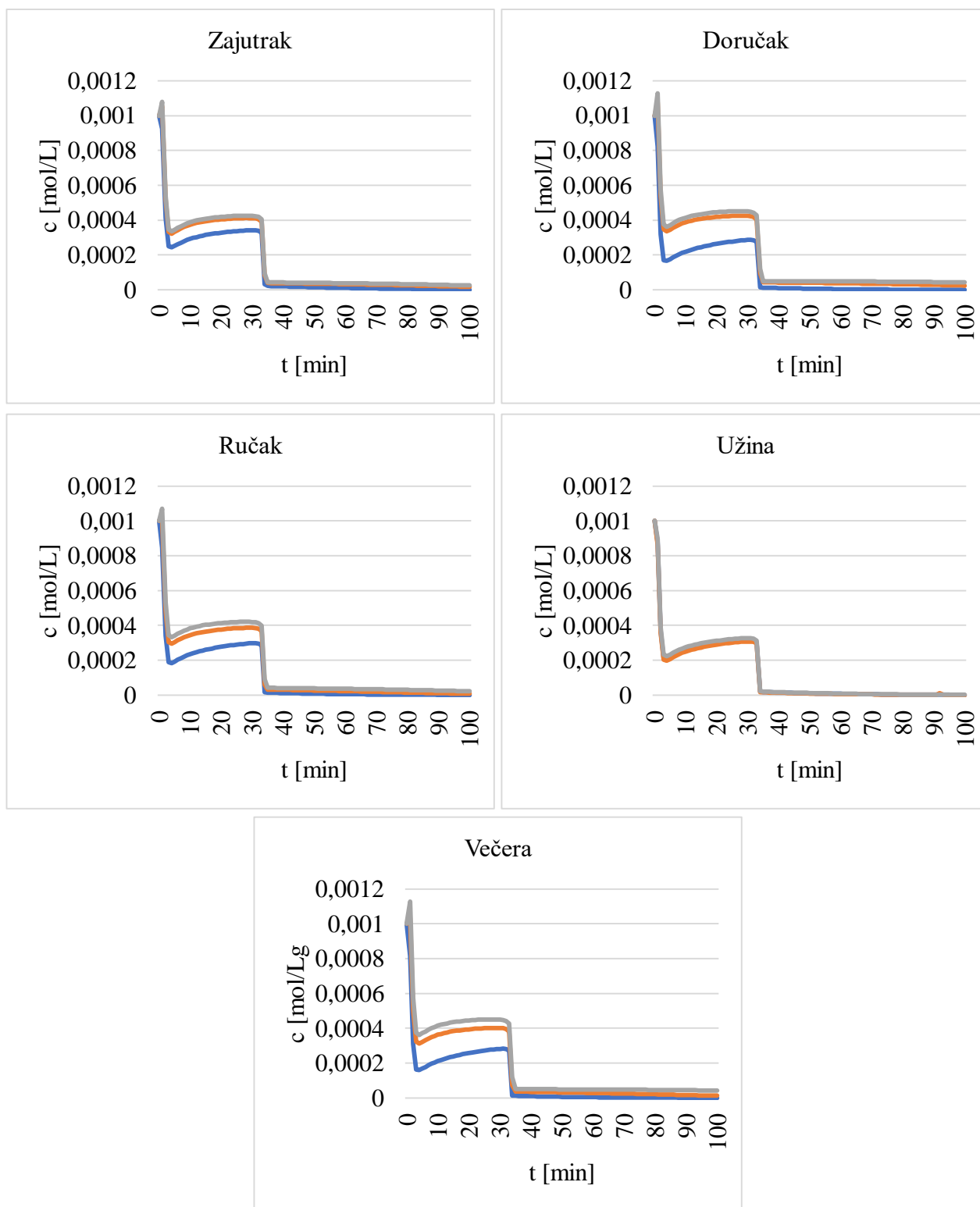


Primjerice uvrstiti hormonalnu regulaciju te uzeti u obzir utjecaj hormona i na druge metabolite, ne samo na glukozu (Kurata, 2021). Na Slici 8. prikazani su grafovi koncentracija citoplazmatske glukoze kroz svih pet obroka.

Sljedeći promatrani metabolit je glukoza-6-fosfat. Prilikom ulaska glukoze iz portalne vene jetre u hepatocite, glukoza se odmah aktivira fosforilacijom vlastitog 6. C atoma pri čemu nastaje glukoza-6-fosfat. Time je molekuli glukoze dovedena energija te je na taj način pripremljena za nadolazeće metaboličke puteve, odnosno reakcije. Jetreni enzim koji provodi ovu reakciju jest glukokinaza. U mišićima je ova reakcija katalizirana heksokinazom. Razlika između ova dva enzima je u Michaelisovoj konstanti ( $K_m$ ). Heksokinaza ima nizak  $K_m$  te može funkcionirati pri maksimalnoj brzini kad su normalne koncentracije glukoze u krvi. Nakupljanjem glukoze-6-fosfata, heksokinaza je inhibirana. S druge strane, glukokinaza ima visoki  $K_m$  što joj omogućava rad samo pri visokim koncentracijama glukoze u krvi, kao što je recimo slučaj kod konzumacije obroka. Glukokinaza nije inhibirana produktom reakcije jer uklanja višak glukoze iz krvi i time održava glikemiju. I glikoliza i glukoneogeneza metabolički su putovi koji su regulirani na mjestima ireverzibilnih reakcija. Tri egzergone reakcije u glikolitičkom putu koje su ireverzibilne i visoko regulirane jesu reakcije katalizirane glukokinazom (ili heksokinazom), fosfofruktokinazom i piruvat kinazom (Gropper i sur., 2021).

Na slici 9 prikazane su promjene u koncentracijama glukoza-6-fosfata u modelu stanice jetre. Promatrajući krivulje vidljivo je da ubrzo nakon ulaska glukoze u stanicu započinje njezina fosforilacija. Pad koncentracije glukoze-6-fosfat pojavljuje se u istom trenutku kada započinje i pad koncentracije glukoze oko 35. minute.

Jetra će glukozu-6-fosfat većinom pohraniti u glikogen u trenucima kada je mala zaliha glukoze, a razine u krvi su visoke. Relativno mali dio će iskoristiti za vlastite energetske potrebe. Oko dvije trećine glukoza-6-fosfata koji ulazi u metabolički put sinteze glikogena potječe od glukoze apsorbirane u tankom crijevu. Preostali dio glukoze koji ulazi u sintezu glikogena je novo sintetizirana glukoza nastala glukoneogenezom jer ovaj metabolički put „radi“ u svim uvjetima metabolizma. Razlog tomu je kontinuirani protok laktata koji ponajviše pristizuje iz skeletnih mišića u jetru, a kojeg jetra pretvara u glukoza-6-fosfat kako bi mogla održavati adekvatnu razinu laktata u krvi (Gropper i sur., 2021).



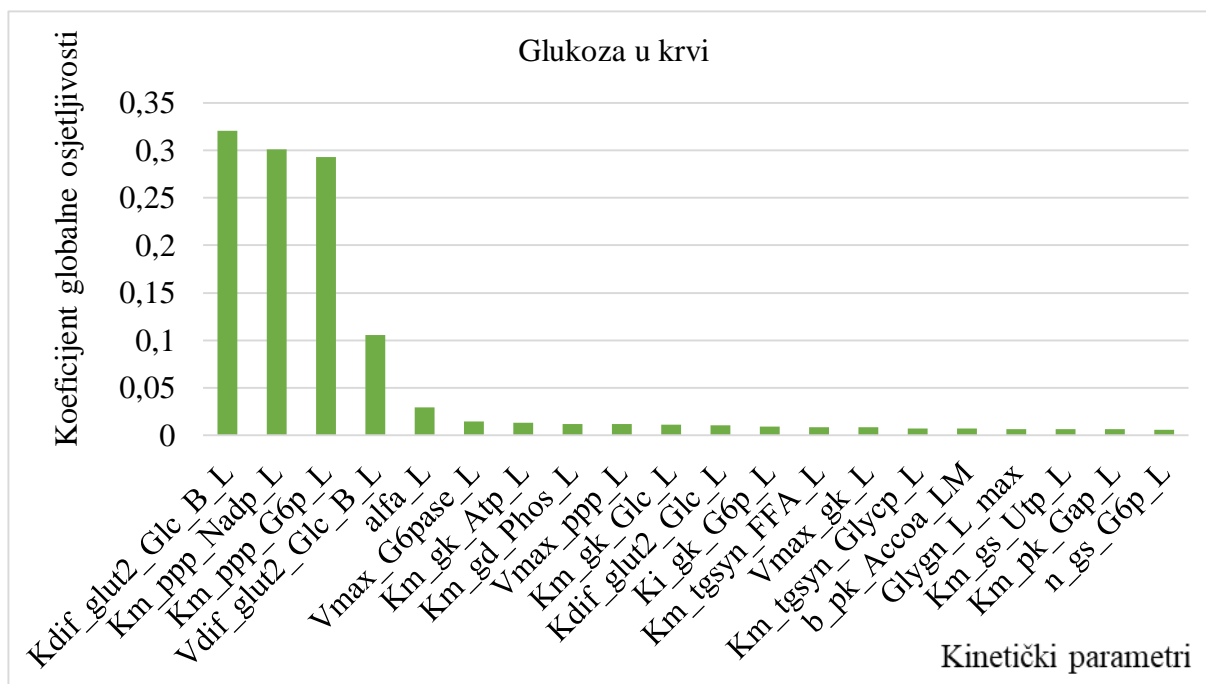
**Slika 9.** Koncentracije glukoza-6-fosfata u vremenskom periodu od 100 minuta nakon primjene 3 različite koncentracije ugljikohidrata kod svakog obroka ovisno o prehranbenom obrascu (plavo predstavlja ketogeni, narančasto mediteranski, a sivo visoko ugljikohidratni jelovnik)

Dizajniranje ovakvog modela metabolizma ne samo da je korisno za analizu ponašanja metabolita i upravljanje njima u svrhu pronalaženja rješenja prvenstveno za bolesti (ali i prevenciju), već i za otkrivanje potencijalnih lijekova. Pa tako Kurata (2021) u svom istraživanju na virtualnom modelu metaboličke mreže ugljikohidrata omogućava racionalno oblikovanje kombinirane terapije te predviđa lijek koji smanjuje trigliceride u jetri i glukozu u krvi – inhibitor glicerol kinaze (Kurata, 2021). Dakle, neosporna je široka primjena ovakvih modela u budućim istraživanjima zbog mogućnosti otkrivanja ciljanih potreba i specifičnog djelovanja kod svake osobe.

#### 4.5. ANALIZA GLOBALNE PARAMETRSKE OSJETLJIVOSTI

Provedena je analiza globalne osjetljivosti modela metabolizma ugljikohidrata nakon 150 min. Prema Felixu i sur. (2019) većina matematičkih modela metabolizma uključuje brojne parametre koji se moraju procijeniti uz značajnu nelinearnost, što znači da se tijekom procesa optimiranja može dobiti nekoliko rješenja funkcije cilja te da optimalna kombinacija parametara možda nije zajamčena i, stoga, potrebno je koristiti metodologiju analize osjetljivosti za potvrđivanje optimalnog skupa vrijednosti parametara. Analiza osjetljivosti ispituje utjecaj manjih promjena u nominalnim vrijednostima parametara modela na rezultate modela.

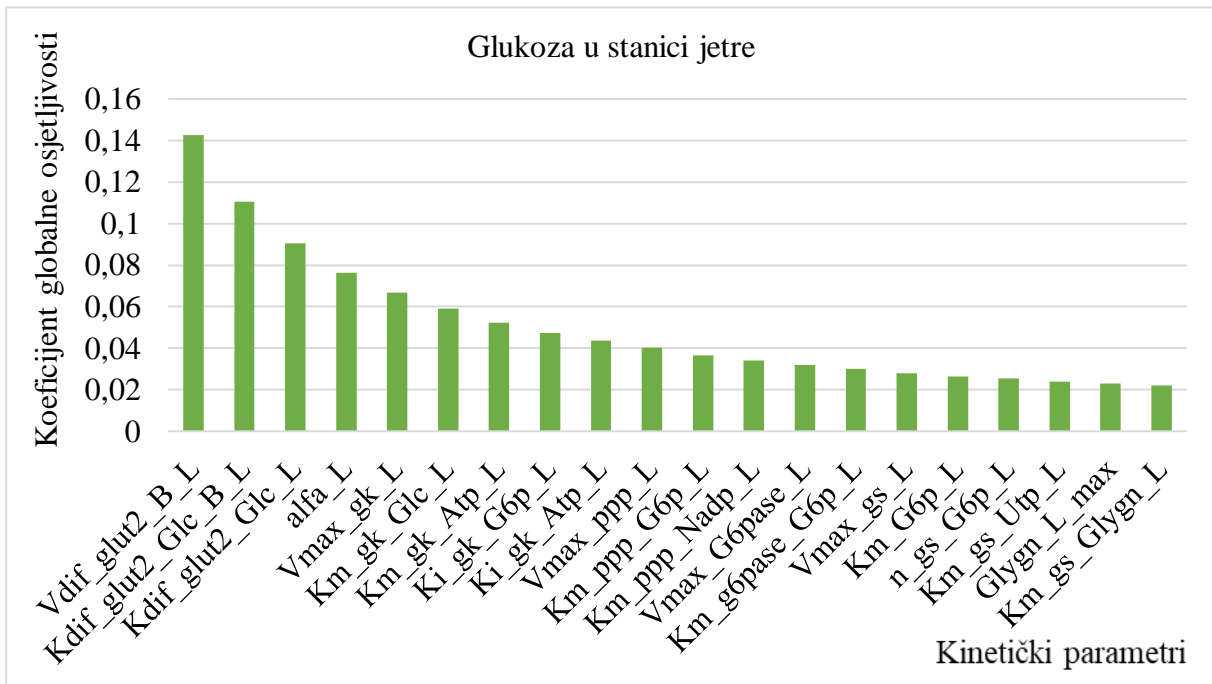
Analizirani model se sastoji od 336 kinetičkih parametara, 80 varijabli i 81 biokemijske reakcije. Svaki od 336 kinetičkih parametara modela je uvećan za 3 % i njegova modifikacija rezultira promjenom aktivnosti enzima i brzine reakcije koju katalizira, stoga se takva reakcija i enzim smatraju ishodištem perturbacije. Odražavanje perturbacije dalje kroz metaboličku mrežu promatra se iz aspekta svih metabolita i brzina reakcija modela. Primjenom FAST metode ispitani su istovremeni utjecaji promjena svih parametara modela metabolizma ugljikohidrata. Simulacija modela provedena je uzimajući u obzir počete koncentracije ugljikohidrata prema visokouglikohidratnom jelovniku za doručak. Analiziran je zasebno utjecaj promjene vrijednosti kinetičkih parametara modela na promjenu koncentracije glukoze u krvi u stacionarom stanju (slika 10), na promjenu koncentracije glukoze u stanici jetre u stacionarom stanju (slika 11), na promjenu koncentracije glukoze-6- fosfat (slika 12) i na promjenu brzine reakcije katalizirane glukokinazom (slika 13). Na navedenim grafovima prikazani su koeficijenti globalnih parametarskih osjetljivosti za 20 najosjetljivijih kinetičkih parametara. Na temelju prikazanih rezultata može se uočiti da je stacionarna koncentracija glukoze u krvi, glukoze u jetri i stacionarna koncentracija glukoze-6-fosfat najosjetljivija na promjenu konstante saturacije i maksimalne brzine reakcije transporta glukoze iz krvi u stanicu jetre. Dobiveni rezultat je i očekivan jer upućuje na činjenicu da je brzina razgradnje glukoze u jetri određena koncentracijom glukoze u krvi. Nadalje, brzina reakcije katalizirana glukokinazom najviše ovisi o konstanti saturacije piruvatkinaze za ADP u jetri. Kao što je opisano u literaturi protok glukoze kroz glikolitički put reguliran je uglavnom konstantnom razinom ATP. Promjene brzine glikolize dešavaju se potrošnjom ATP, regeneracijom NADH te alosteričkim regulacijama nekolicine glikolitičkih enzima, kao što su heksokinaza, fosfofruktokinaza i piruvat kinaza, kao i stalnim promjenama koncentracija ključnih metabolita koji održavaju staničnu ravnotežu između sinteze ATP i njegove potrošnje.



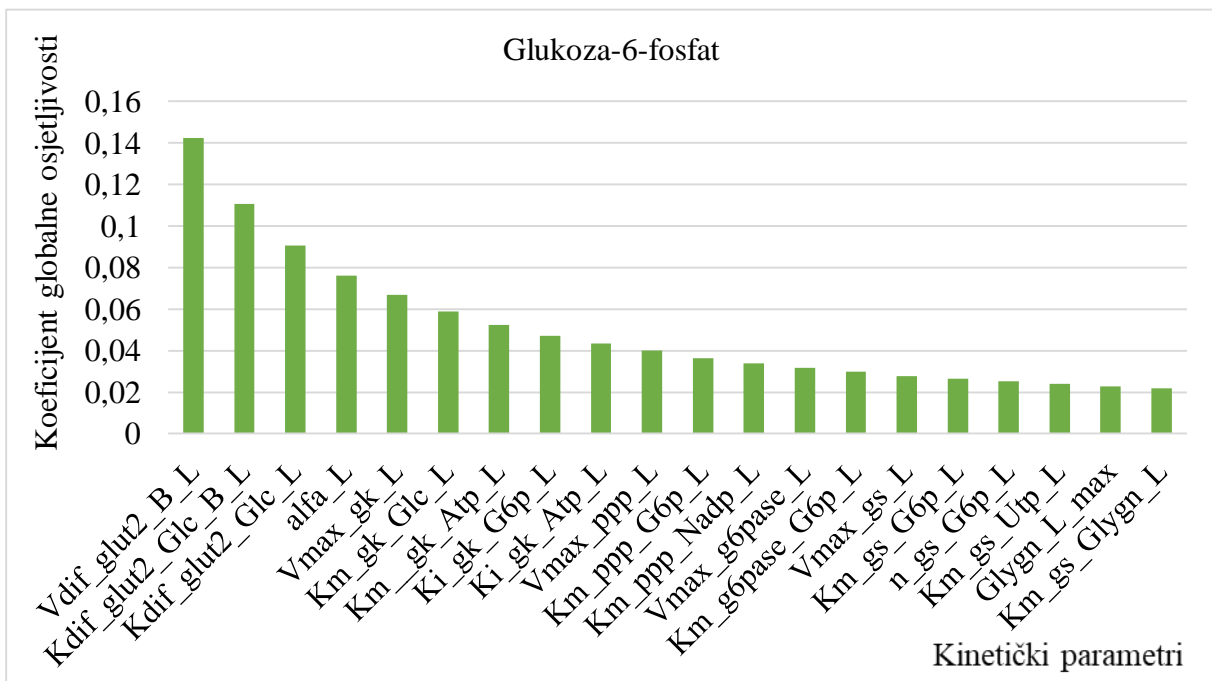
**Slika 10.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti 20 najosjetljivijih kinetičkih parametara za koncentraciju glukoze u krvi nakon konzumacije doručka visokouglikohidratnog jelovnika.

Iz priloženih rezultata na slici 10 vidljivo je da od svih kinetičkih parametara, koeficijent difuzije glukoze iz krvi (Kdif\_glut2\_Glc\_B\_L), Michaelisove konstante afiniteta NADP i glukoze-6-fosfat u pentoza fosfatnom putu (Km\_ppp\_Nadp\_L i Km\_ppp\_G6p\_L), te brzina difuzije glukoze u stanici jetre (Vdif\_glut2\_Glc\_B\_L) pokazuju daleko najveću globalnu osjetljivost u metaboličkom putu glukoze u krvi. Kolika je korist dobivenih rezultata pokazuje sama činjenica da se upravo pentoza fosfatni put pokazao kao važniji metabolički put glukoze iz krvi, a koji nije detaljno razrađen u ovom modelu ugljikohidrata. Tu je otvoren prostor i usmjerenje za sljedeća istraživanja dizajniranja ovakvih modela.

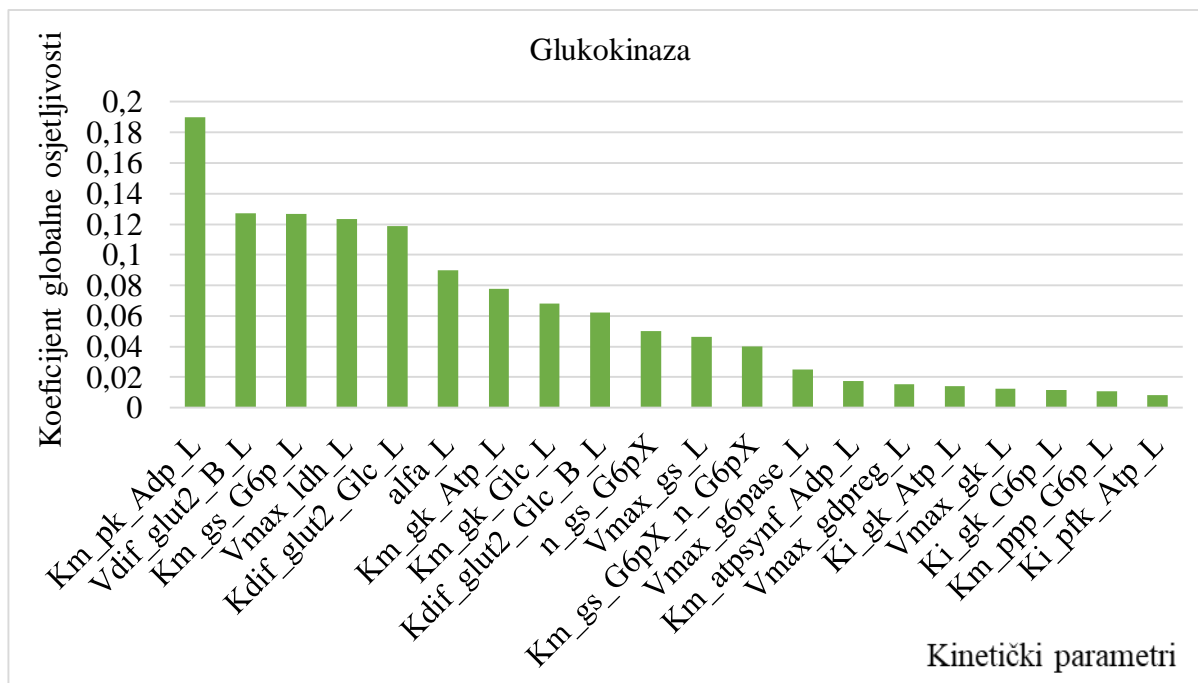
Kod metaboličkog puta glukoze u citosolu jetrene stanice malo je drugačija situacija, no i u ovom putu najveću osjetljivost pokazuju parametri brzine difuzije i koeficijent difuzije glukoze iz krvi (Vdif\_glut2\_Glc\_B\_L i Kdif\_glut2\_Glc\_B\_L). Tu se ističu i koeficijent difuzije stanične glukoze (Kdif\_glut2\_Glc\_L) i parametar  $\alpha$  (alfa\_L) (slika 11). Istu situaciju vidimo i u glukoza-6-fosfat metaboličkom putu (slika 12).



**Slika 11.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti 20 najosjetljivijih kinetičkih parametara za koncentraciju glukoze u stanici jetre nakon konzumacije doručka visokouglikohidratnog jelovnika.



**Slika 12.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti 20 najosjetljivijih kinetičkih parametara za koncentraciju glukoze-6-fosfat nakon konzumacije doručka visokouglikohidratnog jelovnika.



**Slika 13.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti 20 najosjetljivijih kinetičkih parametara za brzinu reakcije katalizirane enzimom glukokinaza nakon konzumacije doručka visokouglikohidratnog jelovnika.

Na slici 13 prikazan je rezultat analize globalne osjetljivosti za enzim glukokinazu, enzim koji katalizira ireverzibilnu prvu reakciju glikolitičkog puta. U ovoj reakciji kinetički parametar koji se izdvaja od svih ostalih, a koji ima najveću globalnu osjetljivost, jest Michaelisova konstanta afiniteta ADP za piruvat kinazu ( $Km_{pk\_Adp\_L}$ ). Prate ga parametri brzina difuzije glukoze iz krvi ( $Vdif\_glut2\_B\_L$ ) i Michaelisova konstanta afiniteta glukoze-6-fosfat za glikogen sintazu ( $Km\_gs\_G6p\_L$ ).

## 5. ZAKLJUČAK

1. Virtualni model metabolizma ugljikohidrata konstruiran u CellDesigneru pokazao se kao vrlo učinkovit za manipulaciju metabolitima i za promatranje njihovog ponašanja ovisno o postavljenim početnim uvjetima.
2. Promatrani metabolički put zdrave stanice funkcionirao je skladno i dao je jasne grafičke prikaze promjene koncentracija glukoze u krvi i stanici, te glukoza-6-fosfata. Međutim, dobiveni rezultati koncentracija nisu precizni. Promjene u koncentracijama glukoze tijekom vremena ne podudaraju se s eksperimentalnim podacima, odnosno glukoza se prebrzo metabolizira, te je stoga potrebno dizajnirati precizniji model za buduća istraživanja.
3. Programski paket CellDesigner omogućuje jednostavno, praktično i temeljito istraživanje virtualnih metaboličkih sustava te time značajno doprinosi razvitku sistemske biologije.
4. Očigledan je i velik doprinos programa CellDesigner u području personalizirane prehrane. Iz priloženih rezultata jasno je da optimiranje prehrane primjenom prehrambenih obrazaca s manje ugljikohidrata (ketogena i mediteranska prehrana) donosi veliku korist i dobrobit kod kontrole glikemije, posebno u oboljelih od dijabetesa.
5. Analiza globalne parametrske osjetljivosti omogućava detekiranje i detaljno analiziranje ključnih točaka metaboličkog puta.
6. Za buduća istraživanja metabolizma ugljikohidrata potrebno je unaprijediti model metabolizma dodatnim varijablama poput inzulina i glukagona kako bi se u obzir mogla uzeti hormonska regulacija ovog metaboličkog puta.



## 6. LITERATURA

Abrahams M, Matusheski NV (2020) Personalised nutrition technologies: a new paradigm for dietetic practice and training in a digital transformation era. *J Hum Nutr Diet* **33**, 295–298. <https://doi.org/10.1111/jhn.12746>

Adeva-Andany MM, Pérez-Felpete N, Fernández-Fernández C, Donapetry-García C, Pazos-García C (2016) Liver glucose metabolism in humans. *Biosci Rep* **36**, e00416. <https://doi.org/10.1042/BSR20160385>

Al-Matouq AA, Laleg-Kirati TM, Novara C, Rabbone I, Vincent T (2020) Sparse Reconstruction of Glucose Fluxes Using Continuous Glucose Monitors. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform* **17**, 1797–1809. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2019.2905198>

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

Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, Medina FX, i sur. (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr* **14**, 2274–2284. <https://doi.org/10.1017/S1368980011002515>

Badimon L, Vilahur G, Padro T (2017) Systems biology approaches to understand the effects of nutrition and promote health. *Br J Clin Pharmacol* **83**, 38–45.

Barrea L, Verde L, Camajani E, Cernea S, Frias-Toral E, Lamabadusuriya D, i sur. (2023) Ketogenic Diet as Medical Prescription in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Curr Nutr Rep* **12**, 56–64. <https://doi.org/10.1007/s13668-023-00456-1>

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>

Bergia RE, Giacco R, Hjorth T, Biskup I, Zhu W, Costabile G, i sur. (2022) Differential glycemic effects of low-versus high-glycemic index mediterranean-style eating patterns in adults at risk for type 2 diabetes: The MEDGI-Carb randomized controlled trial. *Nutrients* **14**, 706. <https://doi.org/10.3390/nu14030706>

CDC (2022) What is Diabetes? CDC-Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/diabetes.html>. Pristupljeno 30. ožujka 2023.

CDC (2023) Diabetes Tests. CDC-Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/getting-tested.html>. Pristupljeno 29. ožujka 2023.

Cea-Soriano L, Pulido J, Franch-Nadal J, Santos JM, Mata-Cases M, Díez-Espino J, i sur. (2022) Mediterranean diet and diabetes risk in a cohort study of individuals with prediabetes: propensity score analyses. *Diabet Med* **39**, e14768. <https://doi.org/10.1111/dme.14768>

CellDesigner.org (2010) Setting the Kinetic Laws / Parameters (The KineticLaw dialog). CellDesigner Help. [https://www.celldesigner.org/help/CDH\\_Reaction\\_14.html](https://www.celldesigner.org/help/CDH_Reaction_14.html). Pristupljeno 14. travnja 2023.

CellDesigner.org (2019) Major Features of CellDesigner. <https://www.celldesigner.org/features.html>. Pristupljeno 13. travnja 2023.

Chan JT, Mude PJ, Canfield W, Makhija J, Yap JEL (2022) Severe hypertriglyceridemia-induced necrotizing pancreatitis associated with ketogenic diet in a well-controlled patient with type 2 diabetes mellitus. *Cureus* **14**, e20879. <https://doi.org/10.7759/cureus.20879>

Cherrington, A. D. (1999) Banting Lecture 1997. Control of glucose uptake and release by the liver in vivo. *Diabetes*, **48**, 1198-1214. <https://doi.org/doi:10.2337/diabetes.48.5.1198>

Christ A, Lauterbach M, Latz E (2019) Western Diet and the Immune System: An Inflammatory Connection. *Immunity* **51**, 794-811. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.09.020>

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

Cui H, Yang Y, Bian L, He M (1999) Effect of food composition of mixed food on glycemic index. *J Hyg* **28**, 356–358.

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

Deledda A, Palmas V, Heidrich V, Foschi M, Lombardo M, Cambarau G, i sur. (2022) Dynamics of gut microbiota and clinical variables after ketogenic and mediterranean diets

in drug-naïve patients with type 2 diabetes mellitus and obesity. *Metabolites* **12**, 1092. <https://doi.org/10.3390/metabo12111092>

Diker A (2023) Introduction to nutrition - LibreTexts. [https://med.libretexts.org/Courses/Metropolitan\\_State\\_University\\_of\\_Denver/Introduction\\_to\\_Nutrition\\_\(Diker\)](https://med.libretexts.org/Courses/Metropolitan_State_University_of_Denver/Introduction_to_Nutrition_(Diker)). Pristupljeno 1. travnja 2023.

Dimitriadis GD, Maratou E, Kountouri A, Board M, Lambadiari V (2021) Regulation of postabsorptive and postprandial glucose metabolism by insulin-dependent and insulin-independent mechanisms: An integrative approach. *Nutrients* **13**, 1–33. <https://doi.org/10.3390/nu13010159>

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>

Eckel RH, Bornfeldt KE, Goldberg IJ (2021) Cardiovascular disease in diabetes, beyond glucose. *Cell Metab* **33**, 1519–1545. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.07.001>

Estruch R, Ros E (2020) The role of the Mediterranean diet on weight loss and obesity-related diseases. *Rev Endocr Metab Disord* **21**, 315–327. <https://doi.org/10.1007/s11154-020-09579-0>

Evert AB, Dennison M, Gardner CD, Timothy Garvey W, Karen Lau KH, MacLeod J i sur. (2019) Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: A consensus report. *Diabetes Care* **42**, 731–754. <https://doi.org/10.2337/dci19-0014>

Félix G, Ancheyta J, Trejo F (2019) Sensitivity analysis of kinetic parameters for heavy oil hydrocracking. *Fuel* **241**, 836-844. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.12.058>

Freedman MR, King J, Kennedy E (2001) Popular diets: a scientific review. *Obes res* **1**, 1S–40S. <https://doi.org/10.1038/oby.2001.113>

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)

- Gardner CD, Landry MJ, Perelman D, Petlura C, Durand LR, Aronica L, i sur. (2022) Effect of a ketogenic diet versus Mediterranean diet on glycated hemoglobin in individuals with prediabetes and type 2 diabetes mellitus: The interventional Keto-Med randomized crossover trial. *Am J Clin Nutr* **116**, 640–652. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac154>
- Gibney ER (2020) Personalised nutrition - phenotypic and genetic variation in response to dietary intervention. *Proc Nutr Soc* **79**, 236–245. <https://doi.org/10.1017/S0029665119001137>
- Gkouskou K, Lazou E, Skoufas E, Eliopoulos AG (2021) Genetically guided mediterranean diet for the personalized nutritional management of type 2 diabetes mellitus. *Nutrients* **13**, 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu13020355>
- González A, Calfio C, Churruca M, Maccioni RB (2022) Glucose metabolism and AD: evidence for a potential diabetes type 3. *Alzheimers Res Ther* **14**, 56. <https://doi.org/10.1186/s13195-022-00996-8>
- Grahovac M, Kumric M, Vilovic M, Martinovic D, Kreso A, Ticinovic Kurir T, i sur. (2021) Adherence to Mediterranean diet and advanced glycation endproducts in patients with diabetes. *World J Diabetes* **12**, 1942–1956. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i11.1942>
- Gropper SS, Smith JL, Carr TP (2021) Advanced Nutrition and Human metabolism, 8. izd., Cengage Learning, str. 76, 79, 100, 267, 272.
- 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>
- Hoffman R (2023) Implementing the Mediterranean Diet: Nutrition in Practice and Public Health. Wiley Blackwell, str. 11-14.
- HSPH (2023) Diet Review: Ketogenic Diet for Weight Loss. HSPH - Harvard T. H. Chan - School of public health. <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-weight/diet-reviews/ketogenic-diet/>. Pristupljeno 3. travnja 2023.
- IBS (2023) What is systems biology. IBS-Institute for systems biology. <https://isbscience.org/about/what-is-systems-biology/>. Pristupljeno 7. ožujka 2023.
- Janson LW, Tischler ME (2018) Carbohydrate metabolism. The Big Picture: Medical Biochemistry. McGraw Hill.

- Judge A, Dodd MS (2020) Metabolism. *Essays Biochem* **64**, 607–647. <https://doi.org/10.1042/EBC20190041>
- Kang H, Han K, Choi MY (2012) Mathematical model for glucose regulation in the whole-body system. *Islets* **4**, 84–93. <https://doi.org/10.4161/isl.19505>
- Kent E, Neumann S, Kummer U, Mendes P (2013) What can we learn from global sensitivity analysis of biochemical systems? *Plos One* **8**, 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079244>
- Kitano H (2000) Perspectives on Systems Biology. *New Gener Comput* **18**, 199-216. <https://doi.org/10.1007/bf03037529>
- Kurata H (2021) Virtual metabolic human dynamic model for pathological analysis and therapy design for diabetes. *iScience* **24**, 102101. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102101>
- Latres E, Finan DA, Greenstein JL, Kowalski A, Kieffer TJ (2019) Navigating two roads to glucose normalization in diabetes: Automated insulin delivery devices and cell therapy. *Cell Metab* **29**, 545–563. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.02.007>
- Livingstone KM, Ramos-Lopez O, Pérusse L, Kato H, Ordovas JM, Martínez JA (2022) Precision nutrition: A review of current approaches and future endeavors. *Trends Food Sci Technol* **128**, 253-264. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.08.017>
- Martínez-López YE, Esquivel-Hernández DA, Sánchez-Castañeda JP, Neri-Rosario D, Guardado-Mendoza R, Resendis-Antonio O (2022) Type 2 diabetes, gut microbiome, and systems biology: A novel perspective for a new era. *Gut Microbes* **14**, 2111952. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2111952>
- Mason IC, Qian J, Adler GK, Scheer FAJL (2020) Impact of circadian disruption on glucose metabolism: implications for type 2 diabetes. *Diabetologia* **63**, 462–472. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05059-6>
- 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](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9_11)

Mc Auley MT (2020) Systems biology and nutrition. *Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism*, 11. izd., Academic Press, str. 593–604.

McKee JR, McKee T (2020) Carbohydrate metabolism. *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*, 7. izd. Oxford University Press, Philadelphia, str. 1–43.

Mendes-Soares H, Raveh-Sadka T, Azulay S, Edens K, Ben-Shlomo Y, Cohen Y, i sur. (2019) Assessment of a personalized approach to predicting postprandial glycemic responses to food among individuals without diabetes. *JAMA Netw Open* **2**, e188102. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.8102>

Merino J (2022) Precision nutrition in diabetes: when population-based dietary advice gets personal. *Diabetologia* **65**, 1839–1848. <https://doi.org/10.1007/s00125-022-05721-6>

Milenkovic T, Bozhinovska N, Macut D, Bjekic-Macut J, Rahelic D, Asimi ZV, i sur. (2021) Mediterranean diet and type 2 diabetes mellitus: A perpetual inspiration for the scientific world. a review. *Nutrients* **13**, 1307. <https://doi.org/10.3390/nu13041307>

Mirabelli M, Brunetti A (2022) The rise and fall of the mediterranean diet and related nutrients in preventing diabetes. *Nutrients* **14**, 379. <https://doi.org/10.3390/nu14020379>

Mirmiran P, Hosseini S, Bahadoran Z, Azizi F (2023) Dietary pattern scores in relation to pre-diabetes regression to normal glycemia or progression to type 2 diabetes: a 9-year follow-up. *BMC Endocr Disord* **23**, 20. <https://doi.org/10.1186/s12902-023-01275-9>

Moore JB (2020) From personalised nutrition to precision medicine: The rise of consumer genomics and digital health. In: *Proceedings of the Nutrition Society. Cambridge University Press* **79**, 300–310. <https://doi.org/10.1017/S0029665120006977>

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

NIH (2022) Ketogenic diet. NIH-National Institutes of Health. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/ketogenic-diet>. Pristupljeno 3. travnja 2023.

- OASH (2022) Appendix E-3.1.A4. Nutritional goals for each age/sex group used in assessing adequacy of USDA Food Patterns at various calorie levels. OASH-Office of Disease Prevention and Health Promotion. <https://health.gov/our-work/nutrition-physical-activity/dietary-guidelines/previous-dietary-guidelines/2015/advisory-report/appendix-e-3/appendix-e-31a4>. Pristupljeno 1. travnja 2023.
- Ordovas JM, Ferguson LR, Tai ES, Mathers JC (2018) Personalised nutrition and health. *Br Med J* **361**. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2173>
- Ortea I (2022) Foodomics in health: Advanced techniques for studying the bioactive role of foods. *Trends Anal Chem* **150**, 116589. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116589>
- Pasmans K, Meex RCR, van Loon LJC, Blaak EE (2022) Nutritional strategies to attenuate postprandial glycemic response. *Obes Rev* **23**, e13486. <https://doi.org/10.1111/obr.13486>
- Patterson MA, Maiya M, Stewart ML (2020) Resistant Starch Content in Foods Commonly Consumed in the United States: A Narrative Review. *J Acad Nutr Diet* **120**, 230–244. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.10.019>
- Poznyak A, Grechko A V., Poggio P, Myasoedova VA, Alfieri V, Orekhov AN (2020) The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *Int J Mol Sci* **21**, 1835. <https://doi.org/10.3390/ijms21051835>
- 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>
- Ramos-Lopez O, Martinez JA, Milagro FI (2022) Holistic Integration of Omics Tools for Precision Nutrition in Health and Disease. *Nutrients* **14**, 4074. <https://doi.org/10.3390/nu14194074>
- Reynolds AN, Akerman AP, Mann J (2020) Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses. *PLoS Med* **17**, e1003053. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003053>
- Rippe JM (2023) Integrating Lifestyle Medicine for Prediabetes, Type 2 Diabetes, and Cardiometabolic Disease, 1. izd. CRC Press, Boca Raton, Abingdon.

Rizza RA, Cryer PE, Gerich JE (1979) Role of glucagon, catecholamines, and growth hormone in human glucose counterregulation. Effects of somatostatin and combined  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulin-induced hypoglycemia. *J Clin Invest* **64**, 62–71. <https://doi.org/10.1172/JCI109464>

Romagnolo DF, Selmin OI (eds) (2016) Mediterranean Diet: Dietary Guidelines and Impact on Health and Disease, 1. izd. Humana Cham.

Saadelden FSA, Niu Y, Wang H, Zhou L, Meng L, Chen S, i sur. (2020) Natural products: Regulating glucose metabolism and improving insulin resistance. *Food Sci Hum Wellness* **9**, 214–228. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.04.005>

Salas-Salvadó J, Bulló M, Babio N, Martínez-González MÁ, Ibarrola-Jurado N, Basora J, i sur. (2011) Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the mediterranean diet: Results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care* **34**, 14–19. <https://doi.org/10.2337/dc10-1288>

Sbert PR, Fe BR, Fe NR, Bote SA, López González ÁA, Ramírez Manent JI (2022) Influence of Physical Activity, Mediterranean Diet, Smoking, and Different Sociodemographic Variables on the Prevalence of Diabetes. *Clin Diabetol* **11**, 90–96. <https://doi.org/10.5603/DK.a2022.0011>

Shukla AP, Iliescu RG, Thomas CE, Aronne LJ (2015) Food order has a significant impact on postprandial glucose and insulin levels. *Diabetes Care* **38**, 98–99. <https://doi.org/10.2337/dc15-0429>

Tebani A, Bekri S (2019) Paving the way to precision nutrition through metabolomics. *Front Nutr* **6**, 41. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00041>

Tinguely D, Gross J, Kosinski C (2021) Efficacy of Ketogenic Diets on Type 2 Diabetes: a Systematic Review. *Curr Diab Rep* **21**, 39. <https://doi.org/10.1007/s11892-021-01399-z/Published>

Tosti V, Bertozzi B, Fontana L (2018) Health Benefits of the Mediterranean Diet: Metabolic and Molecular Mechanisms. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **73**, 318–326. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx227>



Trichopoulou A, Lagiou P (1997) Healthy traditional mediterranean diet: An expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev* **55**, 383-389. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1997.tb01578.x>

Trichopoulou A, Vasilopoulou E (2000) Mediterranean diet and longevity. *Br J Nutr* **84**, S205–S209. <https://doi.org/10.1079/096582197388554>

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

Veenstra TD (2021) Omics in systems biology: Current progress and future outlook. *Proteomics* **21**, 3-4. <https://doi.org/10.1002/pmic.202000235>

Wang DD, Qi Q, Wang Z, Usyk M, Sotres-Alvarez D, Mattei J, i sur. (2022) The Gut Microbiome Modifies the Association between a Mediterranean Diet and Diabetes in USA Hispanic/ Latino Population. *J Clin Endocrinol Metab* **107**, 924–934. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab815>

WHO (2023) Diabetes. WHO-World Health Organization. [https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1). Pristupljeno 30. ožujka 2023.

Xu C, Gertner G (2011) Understanding and comparisons of different sampling approaches for the Fourier Amplitudes Sensitivity Test (FAST). *Comput Stat Data Anal* **55**, 184-198. <https://doi.org/10.1016/j.csda.2010.06.028>

Zaragoza-Martí A, Ruiz-Ródenas N, Herranz-Chofre I, Sánchez-SanSegundo M, Serrano Delgado V de la C, Hurtado-Sánchez JA (2022) Adherence to the Mediterranean Diet in Pregnancy and Its Benefits on Maternal-Fetal Health: A Systematic Review of the Literature. *Front Nutr* **9**, 813942. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.813942>

Zugravu C, Petra A, Pietroșel V-A, Mihai B-M, Mihai D-A, Bohîlțea R-E, i sur. (2023) Nutritional interventions and lifestyle changing in gestational diabetes mellitus prevention: A narrative review. *Sustainability* **15**, 1069. <https://doi.org/10.3390/su15021069>

## 7. PRILOG

### Prilog 1

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
1.	alfa_L	0,05	-
2.	Vdif_glut2_Glc_B_L	12	L/min
3.	Kdif_glut2_Glc_B_L	17	mM
4.	Kdif_glut2_Glc_L	17	mM
5.	Vmax_gk_Glc_L	22	mmol/min
6.	Km_gk_Glc_L	15	mM
7.	n1_gk_Atp_L	2	-
8.	Km2_gk_Atp_L	7,50	mM
9.	n2_gk_Atp_L	1,4	-
10.	Km1_gk_Atp_L	0,24	mM
11.	Vmax_ppp_G6p_L	1,00	mmol/min
12.	Km_ppp_G6p_L	0,10	mM
13.	Km_ppp_Nadp_L	0,10	mM
14.	Vmax_g6pase_G6p_L	12	mmol/min
15.	Km_g6pase_G6p_L	2,41	mM
16.	Vmax_gs_G6p_L	11	mmol/min
17.	Km_gs_G6p_L	0,05	mM
18.	n_gs_G6p_L	1	-
19.	Km_gs_Utp_L	0,048	mM
20.	Glygn_L_max	375	mM
21.	Km_gs_Glygn_L	75	mM
22.	Vmax_gd_Glygn_L	2,80	mmol/min
23.	Km_gd_Glygn_L	10	mM
24.	Km_gd_Phos_L	4	mM
25.	Vmax_pfk_G6p_L	12,6	mmol/min
26.	Km_pfk_G6p_L	0,005	mM
27.	Km_pfk_Atp_L	0,0425	mM
28.	Ki_pfk_Atp_L	2,10	mM
29.	Km_pfk_Adp_L	0,0836	mM
30.	Ki_pfk_Gap_L	0,0207	mM
31.	b_pfk_Gap_L	0,75	-
32.	Vmax_fbp_Gap_L	8	mmol/min
33.	Km_fbp_Gap_L	0,25	mM
34.	Vmax_pk_Gap_L	275	mmol/min
35.	Km_pk_Gap_L	0,24	mM
36.	b_pk_Accoa_LM	0,8	-
37.	Ki_pk_Accoa_LM	0,03	mM
38.	Km_pk_Adp_L	0,24	mM

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
39.	Vmax_pepck_Pyr_L	33	mM
40.	Km_pepck_Pyr_L	2,44	mM
41.	Km_pepck_Atp_L	0,01	mM
42.	Km_pepck_Gtp_L	0,064	mM
43.	Vdif_pyrt_Pyr_B_L	0	L/min
44.	Kdif_pyrt_Pyr_B_L	1	mM
45.	Kdif_pyrt_Pyr_L	1	mM
46.	Vdif_lact_Lac_B_L	12	L/min
47.	Kdif_lact_Lac_L	2,42	mM
48.	Kdif_lact_Lac_B_L	2,42	mM
49.	Vmax_ldh_Pyr_L	10	L <sup>2</sup> /mmol/min
50.	Km_ldh_Pyr_L	0,15	mM
51.	Km_ldh_Nadh_L	0,015	mM
52.	Km_ldh_Lac_L	36	mM
53.	Km_ldh_Nad_L	0,11	mM
54.	Keq_ldh_Lac_L	0,6	-
55.	Vdif_alat_Ala_B_L	12	L/min
56.	Kdif_alat_Ala_L	2,42	mM
57.	Kdif_alat_Ala_B_L	2,42	mM
58.	Vmax_alata_Pyr_L	4	L/min
59.	Km_alata_Pyr_L	0,15	mM
60.	Km_alata_Ala_L	36	mM
61.	Keq_alata_Ala_L	1	-
62.	Vmax_pdh_Pyr_L	1	mmol/min
63.	Km_pdh_Pyr_L	0,54	mM
64.	Ki_pdh_Accoa_LM	0,035	mM
65.	Km_pdh_Nad_L	0,01	mM
66.	Vmax_tca_Accoa_LM	13,8	mmol/min
67.	Km_tca_Accoa_LM	0,0004	mM
68.	Km_tca_Phos_L	1	mM
69.	Km_tca_AdP_L	0,41	mM
70.	Km_tca_Pyr_L	0,35	mM
71.	Km_tca_Nad_L	0,1	mM
72.	Km_tca_Fad_L	0,1	mM
73.	Vdif_ffat_FFA_B_L	1,71	L/min
74.	Kdif_ffat_FFA_B_L	0,2	mM
75.	Kdif_ffat_FFA_L	0,2	mM
76.	Vmax_ffat_FFA_B_L	0	mmol/min
77.	Km_ffat_FFA_B_L	0,002	mM
78.	Vmax_tgsyn_FFA_L	0,4	mmol/min

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
79.	Km_tgsyn_FFA_L	0,645	mM
80.	Km_tgsyn_Glycp_L	0,46	mM
81.	Km_tgsyn_Atp_L	0,1	mM
82.	TG_L_max	0	mM
83.	Km_tgsyn_TG_L	0	mM
84.	Vmax_tgdeg_TG_L	0,09	mmol/min
85.	Km_tgdeg_TG_L	50,7	mM
86.	Vdif_glyct_Glyc_B_L	4	L/min
87.	Kdif_glyct_Glyc_B_L	0,27	mM
88.	Kdif_glyct_Glyc_L	0,27	mM
89.	Vmax_glyk_Glyc_L	0,5	mmol/min
90.	Km_glyk_Glyc_L	0,04	mM
91.	Km_glyk_Atp_L	0,058	mM
92.	Ki_glyk_Gap_L	0,58	mM
93.	Vdif_tgt_TG_B_L	0	mmol/min
94.	Kdif_tgt_TG_B_L	1	mM
95.	Keq_tgt_TG_L	33,8	-
96.	Vmax_tgt_TG_B_L	0,42	mmol/min
97.	Km_tgt_TG_L	33,8	mM
98.	Vmax_g3pd_Gap_L	50	L <sup>2</sup> /mmol/min
99.	Km_g3pd_Gap_L	0,16	mM
100.	Km_g3pd_Glycp_L	0,22	mM
101.	Km_g3pd_Nadh_L	0,008	mM
102.	Km_g3pd_Nad_L	0,013	mM
103.	Keq_g3pd_Glycp_L	1	-
104.	Vmax_boxid_FFA_L	0,888	mmol/min
105.	Km_boxid_FFA_L	0,005	mM
106.	Km_boxid_Atp_L	0,087	mM
107.	Ki_boxid_Accoa_LM	0,12	mM
108.	Ki_boxid_Malcoa_L	100	mM
109.	Km_boxid_Nad_L	0,1	mM
110.	Km_boxid_Fad_L	0,1	mM
111.	Vmax_accoat_Accoa_LM_LC	10	mmol/min
112.	Km_accoat_Accoa_LM	0,058	mM
113.	Km_accoat_Atp_L	0,1	mM
114.	Km_accoat_Pyr_L	10	mM
115.	Vmax_bhbsyn_Accoa_LM	100	mmol/min
116.	Km_bhbsyn_Accoa_LM	0,1	mM
117.	Km_bhbsyn_Nadh_L	0,1	mM
118.	n_bhbsyn_Pyr_L	4	-

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
119.	Ki_bhbsyn_Pyr_L	0,05	mM
120.	Vmax_bhbdeg_Bhb_L	0	mmol/min
121.	Km_bhbdeg_Bhb_L	0,1	mM
122.	Km_bhbdeg_Atp_L	0,1	mM
123.	Km_bhbdeg_Nad_L	0,1	mM
124.	Vdif_bhbt_Bhb_B_L	10	L/min
125.	Kdif_bhbt_Bhb_B_L	1	mM
126.	Kdif_bhbt_Bhb_L	1	mM
127.	Vmax_lipog1_Accoa_LC	0,12	mmol/min
128.	Km_lipog1_Accoa_LC	10	mM
129.	Km_lipog1_Atp_L	0,1	mM
130.	Vmax_lipog2_Malcoa_L	1	mmol/min
131.	Km_lipog2_Malcoa_L	0,01	mM
132.	Km_lipog2_Adp_L	0,1	mM
133.	Km_lipog2_Nadph_L	0,01	mM
134.	Vmax_cholsyn1_Accoa_LC	0,02	mmol/min
135.	Km_cholsyn1_Accoa_LC	0,1	mM
136.	Vmax_cholsyn2_Hmgcoa_L	0,9	mmol/min
137.	Km_cholsyn2_Hmgcoa_L	0,1	mM
138.	Km_cholsyn2_Atp_L	0,1	mM
139.	Km_cholsyn2_Fadh_L	0,1	mM
140.	Km_cholsyn2_Nadph_L	0,1	mM
141.	Vmax_cholt_Chol_L	1	mmol/min
142.	Km_cholt_Chol_L	0,1	mM
143.	Vmax_atpsynf_Fadh_L	3,94	mmol/min
144.	Km_atpsynf_Fadh_L	0,1	mM
145.	Km_atpsynf_Adp_L	0,1	mM
146.	Vmax_atpsynn_Nadh_L	6,8	mmol/min
147.	Km_atpsynn_Nadh_L	0,1	mM
148.	Km_atpsynn_Adp_L	0,1	mM
149.	Vmax_atpuse_Atp_L	5	mmol/min
150.	Km_atpuse_Atp_L	2,5	mM
151.	Vmax_ampreg_Amp_L	10	mmol/min
152.	Km_ampreg_Amp_L	0,08	mM
153.	Km_ampreg_Atp_L	0,09	mM
154.	Km_ampreg_Adp_L	0,11	mM
155.	Vmax_nadhk_Nadh_L	0	mmol/min
156.	Km_nadhk_Nadh_L	0,1	mM
157.	Km_nadhk_Atp_L	0	mM
158.	Vmax_nadhuse_Nadh_L	0,4	mmol/min

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
159.	Km_nadhuse_Nadh_L	0,1	mM
160.	Vmax_gdpreg_Gdp_L	800	L <sup>2</sup> /mmol/min
161.	Km_gdpreg_Gdp_L	0,031	mM
162.	Km_gdpreg_Atp_L	1,33	mM
163.	Km_gdpreg_Gtp_L	0,15	mM
164.	Km_gdpreg_Adp_L	0,042	mM
165.	Keq_gdpreg_Gtp_L	1000	-
166.	Vmax_gtpuse_Gtp_L	0	mmol/min
167.	Km_gtpuse_Gtp_L	0,1	mM
168.	Vmax_udpreg_Udp_L	40	L <sup>2</sup> /mmol/min
169.	Km_udpreg_Udp_L	0,19	mM
170.	Km_udpreg_Atp_L	1,33	mM
171.	Km_udpreg_Utp_L	16	mM
172.	Km_udpreg_Adp_L	0,042	mM
173.	Keq_udpreg_Utp_L	1000	-
174.	Vmax_utpuse_Utp_L	0	mmol/min
175.	Km_utpuse_Utp_L	0,1	mM
176.	Vmax_nadphuse_Nadph_L	0	mmol/min
177.	Km_nadphuse_Nadph_L	0,1	mM
178.	Vmax_fadhuse_Fadh_L	0	mmol/min
179.	Km_fadhuse_Fadh_L	0,1	mM
180.	Vmax_ck_Cre_L	0	L <sup>2</sup> /mmol/min
181.	Km_ck_Cre_L	1	mM
182.	Km_ck_Atp_L	0,03	mM
183.	Km_ck_Crep_L	15	mM
184.	Km_ck_Adp_L	0,1	mM
185.	Keq_ck_Crep_L	1	-
186.	Phos_L	5	mM
187.	tot_Glc_B	410	mmol
188.	t_delay_Glc_B	50	min
189.	tot_TG_B	38	mmol
190.	t_delay_TG_B	240	min
191.	alfa_M	0,05	-
192.	Vdif_glut4_Glc_B_M	12	L/min
193.	Kdif_glut4_Glc_B_M	5	mM
194.	Kdif_glut4_Glc_M	5	mM
195.	Vdif_pyrt_Pyr_B_M	0,014	L/min
196.	Kdif_pyrt_Pyr_B_M	1	mM
197.	Kdif_pyrt_Pyr_M	1	mM
198.	Vdif_lact_Lac_B_M	8,07	L/min

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
199.	Kdif_lact_Lac_M	2,42	mM
200.	Kdif_lact_Lac_B_M	2,42	mM
201.	Vdif_alat_Ala_B_M	7,2	L/min
202.	Kdif_alat_Ala_M	2,42	mM
203.	Kdif_alat_Ala_B_M	2,42	mM
204.	Vdif_glyct_Glyc_B_M	0,12	L/min
205.	Kdif_glyct_Glyc_B_M	0,27	mM
206.	Kdif_glyct_Glyc_M	0,27	mM
207.	Vdif_tgt_TG_B_M	0,008	mmol/min
208.	Kdif_tgt_TG_B_M	1	mM
209.	Keq_tgt_TG_M	33,8	-
210.	Vmax_tgt_TG_B_M	0	mmol/min
211.	Km_tgt_TG_M	33,8	mM
212.	Vdif_ffat_FFA_B_M	0,37	L/min
213.	Kdif_ffat_FFA_B_M	0,2	mM
214.	Kdif_ffat_FFA_M	0,2	mM
215.	Vmax_ffat_FFA_B_M	0	mmol/min
216.	Km_ffat_FFA_B_M	0,002	mM
217.	Vdif_bhbt_Bhb_B_M	0	L/min
218.	Kdif_bhbt_Bhb_B_M	1	mM
219.	Kdif_bhbt_Bhb_M	1	mM
220.	alpha_A	0,05	-
221.	Vdif_glut4_Glc_B_A	0,155	L/min
222.	Kdif_glut4_Glc_B_A	5	mM
223.	Kdif_glut4_Glc_A	1	mM
224.	Vdif_pyrt_Pyr_B_A	0	L/min
225.	Kdif_pyrt_Pyr_B_A	1	mM
226.	Kdif_pyrt_Pyr_A	1	mM
227.	Vdif_lact_Lac_B_A	12	L/min
228.	Kdif_lact_Lac_A	2,42	mM
229.	Kdif_lact_Lac_B_A	2,42	mM
230.	Vdif_alat_Ala_B_A	0	L/min
231.	Kdif_alat_Ala_A	2,42	mM
232.	Kdif_alat_Ala_B_A	2,42	mM
233.	Vdif_ffat_FFA_B_A	0	L/min
234.	Kdif_ffat_FFA_B_A	0,2	mM
235.	Kdif_ffat_FFA_A	0,2	mM
236.	Vmax_ffat_FFA_B_A	0,22	mmol/min
237.	Km_ffat_FFA_B_A	0,4	mM

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
238.	Vdif_glyct_Glyc_B_A	10	L/min
239.	Kdif_glyct_Glyc_B_A	0,27	mM
240.	Kdif_glyct_Glyc_A	0,27	mM
241.	Vdif_tgt_TG_B_A	0,6	mmol/min
242.	Kdif_tgt_TG_B_A	1	mM
243.	Keq_tgt_TG_A	600	-
244.	Vmax_tgt_TG_B_A	0	mmol/min
245.	Km_tgt_TG_A	33,8	mM
246.	Vdif_bhbt_Bhb_B_A	10	L/min
247.	Kdif_bhbt_Bhb_B_A	1	mM
248.	Kdif_bhbt_Bhb_A	1	mM
249.	alpha_G	0,1	-
250.	Vdif_glut2_Glc_B_G	0,02	L/min
251.	Kdif_glut2_Glc_B_G	17	mM
252.	Kdif_glut2_Glc_G	17	mM
253.	Vdif_pyrt_Pyr_B_G	0	L/min
254.	Kdif_pyrt_Pyr_B_G	1	mM
255.	Kdif_pyrt_Pyr_G	1	mM
256.	Vdif_lact_Lac_B_G	10	L/min
257.	Kdif_lact_Lac_G	2,42	mM
258.	Kdif_lact_Lac_B_G	2,42	mM
259.	Vdif_alat_Ala_B_G	0	L/min
260.	Kdif_alat_Ala_G	2,42	mM
261.	Kdif_alat_Ala_B_G	2,42	mM
262.	Vdif_glyct_Glyc_B_G	10	L/min
263.	Kdif_glyct_Glyc_B_G	0,27	mM
264.	Kdif_glyct_Glyc_G	0,27	mM
265.	Vdif_tgt_TG_B_G	0	mmol/min
266.	Kdif_tgt_TG_B_G	1	mM
267.	Keq_tgt_TG_G	33,8	-
268.	Vmax_tgt_TG_B_G	2,2	mmol/min
269.	Km_tgt_TG_G	33,8	mM
270.	Vdif_ffat_FFA_B_G	5	L/min
271.	Kdif_ffat_FFA_B_G	0,2	mM
272.	Kdif_ffat_FFA_G	0,2	mM
273.	Vmax_ffat_FFA_B_G	0	mmol/min
274.	Km_ffat_FFA_B_G	0,002	mM
275.	Vdif_bhbt_Bhb_B_G	0	L/min
276.	Kdif_bhbt_Bhb_B_G	1	mM
277.	Kdif_bhbt_Bhb_G	1	mM



## Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
278.	alpha_H	0,1	-
279.	Vdif_glut2_Glc_B_H	0,0161	L/min
280.	Kdif_glut2_Glc_B_H	5	mM
281.	Kdif_glut2_Glc_H	5	mM
282.	Vdif_pyrt_Pyr_B_H	0	L/min
283.	Kdif_pyrt_Pyr_B_H	1	mM
284.	Kdif_pyrt_Pyr_H	1	mM
285.	Vdif_lact_Lac_B_H	0,0848	L/min
286.	Kdif_lact_Lac_H	2,42	mM
287.	Kdif_lact_Lac_B_H	2,42	mM
288.	Vdif_alat_Ala_B_H	0	L/min
289.	Kdif_alat_Ala_H	2,42	mM
290.	Kdif_alat_Ala_B_H	2,42	mM
291.	Vdif_ffat_FFA_B_H	2,48	L/min
292.	Kdif_ffat_FFA_B_H	0,2	mM
293.	Kdif_ffat_FFA_H	0,2	mM
294.	Vmax_ffat_FFA_B_H	0,0441	mmol/min
295.	Km_ffat_FFA_B_H	0,002	mM
296.	Vdif_glyct_Glyc_B_H	1	L/min
297.	Kdif_glyct_Glyc_B_H	0,27	mM
298.	Kdif_glyct_Glyc_H	0,27	mM
299.	Vdif_tgt_TG_B_H	0	mmol/min
300.	Kdif_tgt_TG_B_H	1	mM
301.	Keq_tgt_TG_H	33,8	-
302.	Vmax_tgt_TG_B_H	0	mmol/min
303.	Km_tgt_TG_H	33,8	mM
304.	Vdif_bhbt_Bhb_B_H	0	L/min
305.	Kdif_bhbt_Bhb_B_H	1	mM
306.	Kdif_bhbt_Bhb_H	1	mM
307.	alpha_N	0,1	-
308.	Vdif_glut3_Glc_B_N	0,5	L/min
309.	Kdif_glut3_Glc_B_N	2,9	mM
310.	Kdif_glut3_Glc_N	2,9	mM
311.	Vdif_pyrt_Pyr_B_N	0	L/min
312.	Kdif_pyrt_Pyr_B_N	1	mM
313.	Kdif_pyrt_Pyr_N	1	mM
314.	Vdif_lact_Lac_B_N	0	L/min
315.	Kdif_lact_Lac_N	2,42	mM
316.	Kdif_lact_Lac_B_N	2,42	mM
317.	Vdif_alat_Ala_B_N	0	L/min

Prilog 1 - nastavak

Popis kinetičkih parametara metabolizma ugljikohidrata koji su korišteni u programskom paketu CellDesigner

	Skraćenica za naziv parametra	Vrijednost	Mjerna jedinica
318.	Kdif_alat_Ala_N	2,42	mM
319.	Kdif_alat_Ala_B_N	2,42	mM
320.	Vdif_ffat_FFA_B_N	0	L/min
321.	Kdif_ffat_FFA_B_N	0,2	mM
322.	Kdif_ffat_FFA_N	0,2	mM
323.	Vmax_ffat_FFA_B_N	0	mmol/min
324.	Km_ffat_FFA_B_N	0,002	mM
325.	Vdif_glyct_Glyc_B_N	4	L/min
326.	Kdif_glyct_Glyc_B_N	0,27	mM
327.	Kdif_glyct_Glyc_N	0,27	mM
328.	Vdif_tgt_TG_B_N	0	mmol/min
329.	Kdif_tgt_TG_B_N	1	mM
330.	Keq_tgt_TG_N	33,8	-
331.	Vmax_tgt_TG_B_N	0	mmol/min
332.	Km_tgt_TG_N	33,8	mM
333.	Vdif_bhbt_Bhb_B_N	1	L/min
334.	Kdif_bhbt_Bhb_B_N	2	mM
335.	Kdif_bhbt_Bhb_N	2	mM
336.	Km_gs_G6pX_n_G6pX	0,039987	mM

## Prilog 2

### Dodatni metaboliti korišteni u analizi globalne parametarske osjetljivosti

Metabolit	Vrijednost	Mjerna jedinica
GlcM	0,0042	mol
GlcH	0,001	mol
GlcN	0,00112	mol
GlcA	0,0003	mol
GlcG	0,001	mol
PyrM	0,00028	mol
PyrH	0,0002	mol
PyrN	0,00015	mol
PyrA	0,00037	mol
PyrG	0,001	mol
LacM	0,00072	mol
LacH	0,00388	mol
LacN	0	mol
LacA	0,00082	mol
LacG	0,001	mol
AlaM	0,00019	mol
AlaH	0	mol
AlaN	0	mol
AlaA	0,00001	mol
AlaG	0,001	mol
GlycM	0,001	mol
GlycH	0,000015	mol
GlycN	0	mol
GlycA	0,00022	mol
GlycG	0,001	mol
TGM	0,004	mol
TGH	0,00312	mol
TGN	0	mol
TGA	5	mol
TGG	2	mol
FFAM	0,00053	mol

## Prilog 2-nastavak

Dodatni metaboliti korišteni u analizi globalne parametarske osjetljivosti

Metabolit	Vrijednost	Mjerna jedinica
FFAH	0,000021	mol
FFAN	0	mol
FFAA	0,00057	mol
FFAG	0,001	mol
BhbN	0	mol

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Antonija Matos 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