

# Određivanje statusa vitamina D analizom matematičkog modela metabolizma vitamina D

---

Juričić, Josipa

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:514733>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, svibanj 2023.

Josipa Juričić

ODREĐIVANJE STATUSA  
VITAMINA D ANALIZOM  
MATEMATIČKOG MODELA  
METABOLIZMA VITAMINA D

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

# 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

## ODREĐIVANJE STATUSA VITAMINA D ANALIZOM MATEMATIČKOG MODELA METABOLIZMA VITAMINA D

*Josipa Juričić, univ. bacc. nutr. 0177052987*

**Sažetak:** U ovom radu provedena je analiza modela metabolizma vitamina D korištenjem računalnog programa *CellDesigner* pri čemu je određivan status vitamina D. Simulacije modela provedene su koristeći različite početne vrijednosti vitamina D iz hrane koje su dobivene iz jelovnika izrađenih u okviru ovog rada – jelovnik mediteranske prehrane, jelovnik s hranom bogatom vitaminom D, jelovnik s obogaćenom hranom i plan suplementacije. Model uspješno simulira promjenu koncentracije vitamina D i njegovih metabolita. Rezultati pokazuju da suplementacija ima najbolju učinkovitost u liječenju nedostatka vitamina D. Analizom lokalne parametarske osjetljivosti uočeno je da su parametri brzine stvaranja te brzine razgradnje 25-hidroksivitamina D ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ) najosjetljiviji parametri, a primijećeno je i da koncentracija 1,25-dihidroksivitamina D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) nije u potpunosti ovisna o unosu vitamina D prehranom.

**Ključne riječi:** *model metabolizma vitamina D, CellDesigner, sistemska biologija, analiza lokalne parametarske osjetljivosti*

**Rad sadrži:** 50 stranica, 11 slika, 18 tablica, 52 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

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

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

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

**Datum obrane:** 2. lipnja 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### DETERMINATION OF VITAMIN D STATUS BY ANALYSIS OF THE MATHEMATICAL MODEL OF VITAMIN D METABOLISM

*Josipa Juričić, univ. bacc. nutr. 0177052987*

**Abstract:** Analysis of vitamin D metabolism model was performed using the *CellDesigner* software which was used to determine the vitamin D status. Simulations of the constructed model were conducted using different initial values of dietary vitamin D, obtained from different menus created for the purposes of thesis – Mediterranean diet menu, vitamin D-rich foods menu fortified foods menu and the supplementation plan. Model successfully simulates metabolism of vitamin D and its metabolites. The results show that dietary supplementation is the most effective in the treatment of vitamin D deficiency. Based on the analysis of local parameter sensitivity, it was concluded that the rate of formation and the rate of degradation of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) were estimated to be the most sensitive parameters. It was also observed that the concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) was not completely dependent on dietary intake of vitamin D.

**Keywords:** *vitamin D metabolism model, CellDesigner, systems biology, local parameter sensitivity analysis*

**Thesis contains:** 50 pages, 11 figures, 18 tables, 52 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** PhD. Ana Jurinjak Tušek, 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, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** June 2<sup>nd</sup>, 2023

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. <b>SISTEMSKA BIOLOGIJA</b> .....	2
2.1.1.  Primjena sistemske biologije u nutricionizmu .....	2
2.2. <b>NUTRITIVNE OMIKE</b> (engl. <i>Foodomics</i> ).....	3
2.3. <b>VITAMIN D</b> .....	7
2.3.1.  Metabolizam vitamina D .....	8
2.3.1.1.  Fotosinteza .....	8
2.3.1.2.  Apsorpcija .....	8
2.3.1.3.  Jetreni metabolizam .....	8
2.3.1.4.  Bubrežni metabolizam .....	8
2.3.1.5.  Regulacija stvaranja kalcitriola (1,25(OH) <sub>2</sub> D).....	10
2.3.1.6.  Biološki učinci 1,25(OH) <sub>2</sub> D.....	10
2.3.1.7.  Izlučivanje.....	10
2.3.2.  Status vitamina D .....	11
2.3.3.  Faktori koji utječu na status vitamina D.....	11
2.3.3.1.  Izloženost UV-B zračenju ( <i>suncu</i> ).....	11
2.3.3.2.  Pigmentacija kože .....	12
2.3.3.3.  Prehrana .....	12
2.3.3.4.  Tjelesna masa.....	12
2.3.3.5.  Starost .....	12
2.3.3.6.  Lijekovi i medicinska stanja.....	12
2.3.4.  Preporučeni status vitamina D.....	13
2.3.5.  Nedostatak vitamina D .....	14
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	15
3.1. <b>MATERIJALI</b> .....	15
3.1.1. <i>CellDesigner</i> .....	15
3.1.2.  Model metabolizma vitamina D.....	17
3.1.3.  Smjernice za planiranje jelovnika .....	20
3.1.3.1.  Smjernice za mediteransku prehranu .....	20
3.1.3.2.  Smjernice za opću populaciju .....	21
3.1.3.3.  Preporuke za unos vitamina D .....	21
3.1.3.4.  Izvori vitamina D .....	21

3.2.	METODE.....	23
3.2.1.	Razvoj i simulacija modela metabolizma vitamina D.....	23
3.2.2.	Analiza lokalne parametarske osjetljivosti.....	23
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>25</b>
4.1.	PRIKAZ MODELA METABOLIZMA VITAMINA D IZRAĐEN U PROGRAMSKOM PAKETU <i>CELLDESIGNER</i> .....	25
4.2.	PRIKAZ JELOVNIKA.....	26
4.3.	SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA VITAMINA D U RAČUNALNOM PROGRAMU <i>CELLDESIGNER</i> .....	34
4.4.	ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI.....	39
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČAK .....</b>	<b>45</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>46</b>



# 1. UVOD

U hrani koju konzumiramo nalazi se cijeli niz nutritivnih komponenti koje pokazuju specifične učinke na ljudsko tijelo. Osnovu čine makronutrijenti koji čine najveći dio prehrane pojedinca, a uz njih je bitan i unos mikronutrijenata koji su u usporedbi s makronutrijentima potrebni u relativno malim količinama. Vitamini kao mikronutrijenti predstavljaju organske tvari potrebne za normalno funkcioniranje organizma. Ukoliko unos vitamina nije dovoljan, može doći do nedostatka što može dovesti do poremećaja u radu organizma.

Manjak i nedostatak vitamina D predstavlja globalni javnozdravstveni problem koji pogađa oko milijardu ljudi diljem svijeta i može dovesti do različitih zdravstvenih problema. Najpoznatiji primjeri nedostatka vitamina D su rahitis kod djece te osteomalacija kod odraslih. Posljednjih godina nedostatak vitamina D se veže i uz brojne druge zdravstvene probleme kao što su bolesti kostiju, metabolički poremećaji, rak, kardiovaskularne bolesti, autoimune bolesti, infekcije, kognitivni poremećaji i povećan rizik od smrtnosti. Stoga se ističe važnost praćenja statusa vitamina D u serumu.

U istraživanju prehrane, sve češće se koristi pristup novije znanstvene grane nazvane sistemska biologija. Sistemska biologija naglašava važnost sagledavanja organizma kao složenog sustava u kojem su svi dijelovi sustava međusobno povezani. Zbog kompleksnosti tih metaboličkih mreža koriste se računalni matematički modeli koji omogućavaju razumijevanje i predviđanje ponašanja sustava u različitim uvjetima tijekom vremena. Rezultati dobiveni računalnim modeliranjem uspoređuju se s postojećim eksperimentalnim podacima nakon čega se potvrđuju postojeće ili stvaraju nove hipoteze što doprinosi boljem razumijevanju samog sustava.

Cilj ovog rada bio je analizirati matematički model metabolizma vitamina D u programu *CellDesigner* te simulacijom konstruiranog modela istražiti utjecaj unosa različitih količina vitamina D iz hrane na status vitamina D u serumu.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. SISTEMSKA BIOLOGIJA

Sistemska biologija predstavlja novije znanstveno polje koje je nastalo kao rješenje za suočavanje s velikom složenošću biologije s ciljem sagledavanja biologije na razini sustava. Ovaj pristup naglašava holistički pristup i uključuje kombiniranje različitih znanstvenih disciplina kako bi se razumjelo i predvidjelo ponašanje bioloških sustava kao cjeline (Kitano, 2002). Iako su se u prošlosti istraživanja uglavnom temeljila na pojedinačnim komponentama sustava te njihovim svojstvima, zbog potrebe za temeljnim razumijevanjem njihovih sastavnih dijelova, takav redukcionistički pristup postavio je temelje za istraživanje i razumijevanje strukture i funkcionalne dinamike cijelog sustava (Panagiotou i Nielsen, 2009; Kitano, 2002). Tehnološki i znanstveni napredak omogućio je stvaranje i analizu mnogih složenih bioloških modela. Primjenom računalnog modeliranja i eksperimentalne biologije, biološki sustavi se mogu promatrati kao složene signalne mreže, što omogućava izvođenje računalnih simulacija koji služe za razumijevanje i predviđanje ponašanja biološkog sustava u različitim uvjetima tijekom vremena (Moore i Weeks, 2011).

#### 2.1.1. Primjena sistemske biologije u nutricionizmu

Sistemska biologija predstavlja integraciju nekoliko tehnologija zajednički nazvanih "omika" tehnologije, koje se koriste za analizu strukture, funkcije i međumolekulskih interakcija biomolekula u biološkim uzorcima. Ove tehnologije uključuju genomiku, transkriptomiku, proteomiku, metabolomiku, bioinformatiku i računalno modeliranje (Mc Auley, 2020; Chaudhary i sur., 2020). Integracija ovih tehnologija u nutricionizmu, poznate i kao *foodomics*, omogućila je novi pristup proučavanju hrane i prehrane, koji povezuje komponente hrane, prehranu, pojedinca, zdravlje i bolesti (Capozzi i Bordoni, 2013).

Primjena sistemske biologije pokazuje perspektivnu budućnost u nutricionizmu, jer omogućuje bolje razumijevanje kompleksnosti povezivanja prehrane i njezinog utjecaja na zdravlje. U posljednjih nekoliko godina, sistemska biologija stekla je iznimnu važnost kao koristan alat u istraživanju prehrane. Implementacijom ove znanosti omogućava se identifikacija biološki aktivnih molekula te razumijevanje mehanizama kojima određene komponente hrane djeluju na sprječavanje bolesti i promicanje zdravlja (Badimon i sur., 2017).

Dosadašnja istraživanja su se uglavnom fokusirala na proučavanje pojedinačnih nutrijenata i njihove uloge u biokemiji organizma. Međutim, sistemska biologija omogućava nutricionistima da se usredotoče na sagledavanje šire slike te na interakcije i ispreplitanja bioloških sustava s različitim procesima, kao što su starenje i bolest (Mc Auley, 2020). Sistemska biologija predstavlja novi pristup u proučavanju prehrane, koji omogućava nutricionistima da u potpunosti iskoriste potencijal molekularnog istraživanja bioloških sustava u znanosti o prehrani.

U idealnim uvjetima, primjena sistemske biologije i analiza metaboličkih mreža omogućuje identifikaciju ključnih mrežnih čvorova koji su povezani s različitim bolestima, uključujući i poremećaje povezane s prehranom. Ova identifikacija može dovesti do otkrivanja novih terapijskih ciljeva lijekova, što bi moglo dovesti do personalizirane medicine i poboljšanja zdravlja pacijenata (Moore i Weeks, 2011).

Uz to, identificirane ključne točke metaboličke mreže mogu biti ciljane putem nutricionističke intervencije, što bi moglo dovesti do poboljšanja zdravlja na preventivni ili terapijski način. Analiza sustava normalnih i signalnih mreža poremećenih hranjivim tvarima, u kombinaciji sa znanjem o temeljnim genetskim polimorfizmima, može dovesti do budućnosti u kojoj će prehrana biti personalizirana i usmjerena prema specifičnim potrebama pojedinca. Stoga, znanost o prehrani može igrati ključnu ulogu u prediktivnoj i preventivnoj medicini, što bi moglo dovesti do značajnog poboljšanja zdravlja i smanjenja rizika od različitih bolesti povezanih s prehranom (Moore i Weeks, 2011).

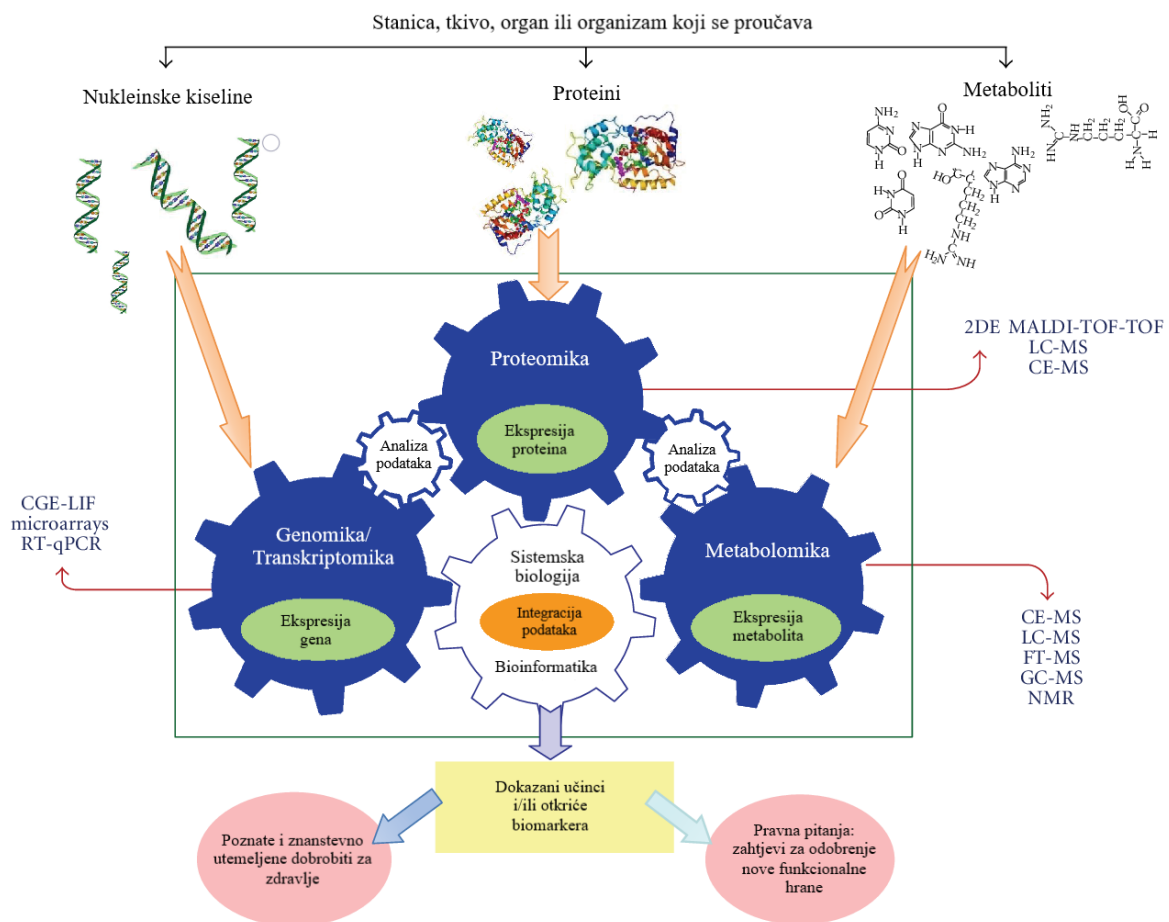
## **2.2. NUTRITIVNE OMIKE (engl. *Foodomics*)**

Kao što je već rečeno, *foodomics* uključuje razvoj, korištenje i integraciju genomike, transkriptomike, proteomike i metabolomike za pružanje molekularnih informacija o različitim razinama ekspresije gena, transkripta, proteina ili metabolita (Valdés i sur., 2022). Pružaju uvide o molekularnom mehanizmu bioaktivnih spojeva i ostalih komponenata hrane u našem tijelu iz perspektive sistemske biologije (Valdés i sur., 2017). Shema nutritivnih omika prikazana je na slici 1.

Prvi ključna disciplina je genomika. Glavni cilj genomike je ispitati kako hranjive tvari djeluju na ekspresiju gena, ali i razmatranje kako različiti genotipovi mogu utjecati na metabolizam hranjivih tvari koje putem hrane unosimo u organizam (Mc Auley, 2020).

Sljedeća disciplina je transkriptomika koja proučava transkripte RNA na razini stanice ili tkiva (Manzoni i sur, 2018). Istraživanja transkriptomike određuju status ekspresije gena pojedinca u određenom trenutku te pružaju mogućnost za proučavanje ekspresije mRNA. Također, omogućava dokazivanje promjena koje nastaju u ekspresiji gena potaknutih hranjivim tvarima kao posljedica prehrane (Bordoni i sur., 2007). Tehnike koje se koriste su PCR u stvarnom vremenu, sekvencioniranje RNA (RNA seq) te robusni DNA mikronizovi (Chaudhary i sur., 2020).

Genomika i transkriptomika nadopunjavaju se proteomikom koja obuhvaća sve eksprimirane proteine ili cijeli proteom u organizmu. Proteomičke analize omogućavaju praćenje dinamičkog odraza gena/transkripta i okoliša te karakterizaciju promjena u ekspresiji proteina uzrokovanih različitim nutrijentima i hranjivim tvarima. Također, proteomika omogućava identifikaciju i kvantifikaciju bioaktivnih peptida i proteina i njihovog utjecaja na zdravlje (Martini i sur., 2021). S obzirom da proteomika omogućava detaljno proučavanje ekspresije našeg genoma kao odgovor na prehranu, proteomika može biti korisna u razvoju personalizirane prehrane (Chaudhary i sur., 2020).



**Slika 1.** Prikaz sheme nutritivnih omika (prema Cifuentes, 2012)

Dalje slijedi metabolomika koja proučava metabolite i molekule male veličine prisutne u biološkom sustavu. Skup svih metabolita u sustavu naziva se metabolom (Nobeli i Thornton, 2006). Primjena metabolomike omogućava bolje razumijevanje učinaka prehrane na cjelokupno stanje metabolizma, zdravlje i bolesna stanja pojedinca (Chaudhary i sur., 2020). Ta znanja se mogu iskoristiti za prilagođavanje personaliziranih tretmana za stanja kao što su pretilost, ali i za dobivanje dubokog uvida u procese starenja (Mc Auley, 2020).

Zbog jako velike količine podataka koji se dobiju iz studija genomike, transkriptomike, proteomike i metabolomike, došlo je do potrebe za razvijanjem pristupa koji bi omogućio pretvaranje dobivenih kompleksnih neobrađenih podataka u korisne informacije (Cifuentes, 2012). Kada se za pomoć pri analizi, obradi i interpretaciji rezultata bioloških istraživanja koristi računalo govorimo o bioinformatici.

Glavni cilj bioinformatike bio bi tumačenje velikih skupova podataka te prikaz bioloških mehanizama koji podupiru eksperimentalna opažanja (Panagiotou i Nielsen, 2009). Stoga, kako bi se upravljanje podacima provelo na učinkovit i pouzdan način i bioinformatika je postala ključan dio nutritivnih omika.

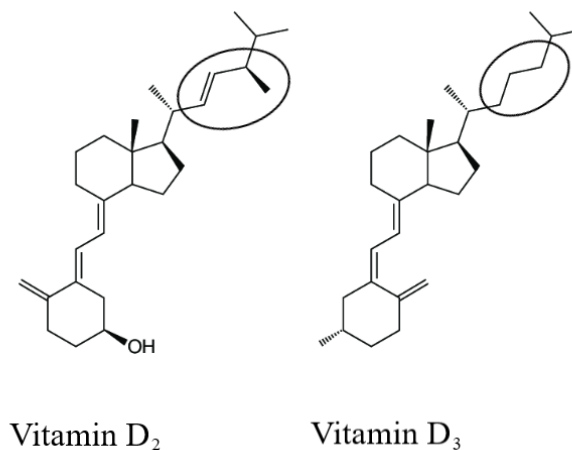
Računalno modeliranje predstavlja centar sistemske biologije i koristi se za opisivanje i dinamičku simulaciju kompleksnih bioloških sustava, a matematika predstavlja središte računalnog modeliranja. Budući da se iz svih disciplina dobivaju velike količine podataka, a biološki sustavi su vrlo kompleksni, računalno modeliranje uz pomoć matematike rješava navedene složenosti te na precizan način predstavlja biološki sustav u obliku računalnog modela. Zbog naprednih računalnih softverskih programa detaljno poznavanje matematike ipak nije potrebno, međutim, potrebno je imati određeno znanje o biološkom sustavu koji se modelira. Pored toga, vrlo bitno je i svojstvo apstrahiranja odnosno razlučivanje bitnih od sporednih informacija kako bi se granične točke modela jasno definirale jer bi u suprotnom model mogao izgubiti svoju korisnost (Mc Auley, 2020).

Prikaz stvaranja računalnog modela prikazan je na slici 2. Prvi korak uključuje jasno definiranje hipoteze koja predstavlja pitanje na koje model treba odgovoriti. Ukoliko ne postoji već izrađen model, izrađuje se novi. Potrebno je izraditi popis svih varijabli odnosno vrsta koje će biti u modelu kako bi se dobio predložak za skiciranje mrežnog dijagrama. Slijedi odabir računalnog softvera. Dostupni su različiti softverski alati, a dva najčešće korištena su CellDesigner i COPASI. U odabrani softverski alat dodaju se kinetičke reakcije i parametri te se postave početni uvjeti kako bi se započelo sa simulacijom modela.



### 2.3. VITAMIN D

Vitamin D svrstava se u vitamine topljive u mastima iako je specifičnim obilježjima i steroidnom strukturom sličniji hormonu. Prisutno je više oblika vitamina D, a dva glavna oblika su vitamin D<sub>3</sub> (kolekalciferol) i vitamin D<sub>2</sub> (ergokalciferol) (Nguyen, 2016). Vitamin D<sub>2</sub> se sintetizira u biljkama, dok se vitamin D<sub>3</sub> prirodno nalazi u malim količinama u masnoj ribi, žumanjku jajeta i nekim vrstama gljiva, ali najvećim dijelom se sintetizira u koži nakon izlaganja ultraljubičastom B zračenju ili sunčevoj svjetlosti. Vitamin D<sub>3</sub> je češći i biološki aktivniji oblik od vitamina D<sub>2</sub> (Muntingh, 2016). Strukturno, razlika između kolekalciferola i ergokalciferola je dvostruka veza između C-22 i C-23 te dodatna metilna skupina na C-24 postraničnom lancu ergokalciferola (Slika 3) (Ball, 2004). Vitamin D nalik je hormonima nadbubrežne žlijezde i spolnim hormonima odnosno kemijskom strukturom vrlo je sličan steroidnim hormonima (Ellison i Moram, 2021).



**Slika 3.** Struktura vitamina D<sub>2</sub> i vitamina D<sub>3</sub> (prema Ledesma-Amaro, 2013)

Iako pripada skupini vitamina, D vitamin se trenutno smatra multifunkcionalnim hormonom ili prohormonom (Ellison i Moram, 2021). Po definiciji, vitamini su organski spojevi koji su u malim količinama neophodni za normalno funkcioniranje metabolizma te se ne mogu stvoriti u tjelesnim stanicama (Guyton i Hall, 2012). Budući da postoji i endogeni oblik vitamina D koji se stvara u tijelu, ova tvrdnja je samo djelomično točna jer metabolizam nije u potpunosti ovisan o njegovom unosu hranom. Također, danas je poznato da vitamin D doprinosi mnogim procesima u tijelu te više nije fokus samo na njegovoj prvotnoj funkciji kao ključni skeletni element (Ellison i Moram, 2021).

### 2.3.1. Metabolizam vitamina D

#### 2.3.1.1. Fotosinteza

Glavni izvor vitamina D je endogena sinteza vitamina D<sub>3</sub> u koži pri izlaganju sunčevoj svjetlosti. Valno područje sunčevog zračenja koje je odgovorno za pretvorbu provitamina u previtamin je između 290 i 315 nm što odgovara ultraljubičastoj svjetlosti, a optimalno zračenje bilo bi između 295 i 300 nm (Ball, 2004). Provitamin D<sub>3</sub> odnosno 7-dehidrokolesterol (7-DHC) se fotolizira, pri čemu dolazi do pucanja B prstena i stvaranja previtamina D<sub>3</sub>. Previtamin D<sub>3</sub> se zatim izomerizira u vitamin D<sub>3</sub> putem nefotokemijske preraspodjele. Daljnjim izlaganjem UV zračenju dolazi do stvaranja tahisterola i lumisterola stoga duže izlaganje suncu neće dovesti do stvaranja toksičnih količina vitamina D<sub>3</sub> (Bikle i Christakos, 2020).

#### 2.3.1.2. Apsorpcija

Ukoliko vitamini D<sub>2</sub> (ergokalciferol) i D<sub>3</sub> (kolekalciferol) dolaze iz prehrambenih izvora, probavom u želucu i crijevima oslobađaju se iz hrane. Apsorpcija ovih vitamina ovisi o prisutnosti žučnih soli koje omogućuju da se vitamin D ugradi u micle u lumenu crijeva. Nakon toga, enterociti ih apsorbiraju i pakiraju u hilomikrone koji se zatim transportiraju limfnim sustavom u sistemsku cirkulaciju. U krvi se vitamin D veže na specifični glikoprotein poznat kao vitamin D-vezujući protein DBP (engl. *vitamin D binding protein*), dok se manja količina vezuje za albumin (Ball, 2004). Dio od nastalog i unesenog vitamina D može se pohraniti u adipocitima za kasniju upotrebu, dok ostatak vezan za DBP odlazi u jetru (Laktašić-Žerjavić, 2011).

#### 2.3.1.3. Jetreni metabolizam

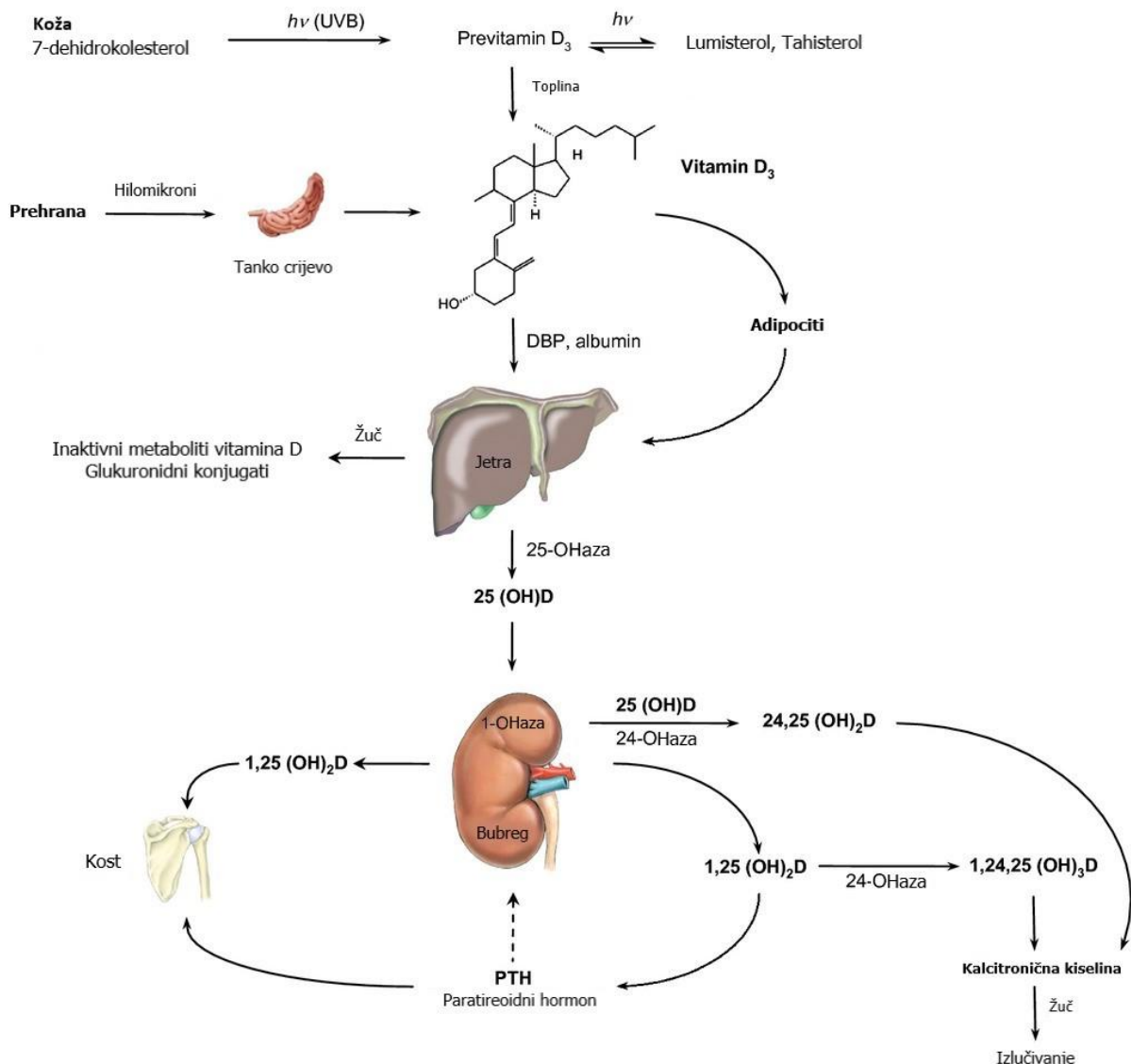
Vitamin D, u obliku D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>, u tijelu je biološki neaktivan. Kako bi prešao u aktivan oblik, treba proći dvije enzimske reakcije hidroksilacije. Prva hidroksilacija odvija se u jetri uz posredovanje mitohondrijskog enzima 25-hidroksilaze citokroma P450 na atomu C-25, pri čemu nastaje kalcifediol, odnosno 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) (IOM, 2011; Laktašić-Žerjavić, 2011).

#### 2.3.1.4. Bubrežni metabolizam

Proizvedeni 25(OH)D, prekursor kalcitriola, glavni je cirkulirajući oblik vitamina D te se iz jetre u cijelosti otpušta u krvotok. Vezan za DBP stiže u bubreg gdje dolazi do druge hidroksilacije u mitohondrijima, pretvarajući se u biološki aktivni hormon kalcitriol, odnosno 1,25-dihidroksivitamin D (1,25(OH)<sub>2</sub>D). Hidroksilacija na atomu C-1 odvija se pod



djelovanjem 25-hidroksivitamin-D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hidroksilaze (IOM, 2011, Ball, 2004) Nakon proizvodnje, 1,25(OH)<sub>2</sub>D se transportira vezan za DBP u krvi do ciljnih tkiva. U bubregu također dolazi i do inaktivacije kalcitriola koji prelazi u 24,25-dihidroksivitamin D (24,25(OH)<sub>2</sub>D) uz enzim 25-hidroksivitamin-D<sub>3</sub>-24-hidroksilazu koja je odgovorna za hidroksilaciju na atomu C-24 (Laktašić-Žerjavić, 2011).



**Slika 4.** Metabolizam vitamina D (DBP: vitamin D-vezujući protein; 25(OH)D: 25-hidroksivitamin D; 1,25(OH)<sub>2</sub>D: 1,25-dihidroksivitamin D; 24,25(OH)<sub>2</sub>D: 24,25-dihidroksivitamin D; 1,24,25(OH)<sub>3</sub>D: 1,24,25-trihidroksivitamin D; 25-OHaza: 25-hidroksilaza; 24-OHaza: 24-hidroksilaza) (prema Stokes, 2013)

### 2.3.1.5. Regulacija stvaranja kalcitriola ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ )

Bubrežna sinteza kalcitriola kontrolirana je strogom regulacijom aktivnosti  $1\alpha$ -hidroksilaze. Produkcija je regulirana s dva hormona, snažnom regulacijom paratireoidnog hormona (PTH) te slabijom regulacijom putem faktora rasta 23 (FGF23) sličnog fibroblastu (IOM, 2011). Ovi hormoni potiču proizvodnju kalcitriola te su zajedno s kalcitriolom odgovorni za održavanje homeostaze kalcija i fosfora u cirkulaciji. Nedostatak kalcija ili fosfora potiče sintezu kalcitriola, dok povećana koncentracija ovih elemenata u krvi koči sintezu PTH, a time i sintezu  $1\alpha$ -hidroksilaze (Laktašić-Žerjavić, 2011; Ball, 2004). Također, kalcitriol djeluje u petlji negativne povratne sprege na svoju koncentraciju i tako regulira vlastitu sintezu. Kad je koncentracija kalcitriola visoka, potiče se aktivnost 24-hidroksilaze, a inhibira  $1\alpha$ -hidroksilaza što dovodi do stvaranja 24,25-dihidroksivitamina D ( $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ ). Pri niskim koncentracijama kalcitriola dolazi do obrnute situacije (Laktašić-Žerjavić, 2011).

### 2.3.1.6. Biološki učinci $1,25(\text{OH})_2\text{D}$

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$  izlučuje se u krv vezan za DBP te se nakon ulaska u svoje ciljne stanice veže za receptor vitamina D (VDR) pri čemu se stvara heterodimer s retinoidnim X receptorom (RXR). Vezanje na VDR povezuje se s diferencijalnom ekspresijom gena te preko toga vitamin D kao steroidni hormon modulira direktno ili indirektno funkciju velikog broja gena. Trenutačno se procjenjuje da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  regulira približno 2000 gena te da gotovo sva tkiva posjeduju VDR. To znači da osim djelovanja na klasične ciljne organe crijevo, bubreg i kost koji su uključeni u homeostazu kalcija, djeluje i na ostale organe i tkiva kao što su mišići, koža, imunostani sustav. Posljedično dolazimo do identifikacije mnogih novih bioloških učinaka povezanih s vitaminom D (Stokes, 2013; Laktašić-Žerjavić, 2011).

### 2.3.1.7. Izlučivanje

Enzim 24-hidroksilaza odgovorna je za katabolizam inaktivirajući  $25(\text{OH})\text{D}$  i  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  stvarajući  $24,25(\text{OH})_2\text{D}$  i  $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}$  koji se dalje kataboliziraju u kalcitroničnu kiselinu koja se izlučuje u žuč (EFSA, 2016). U jetri također dolazi do katabolizacije vitamina D, stvaraju se visoko polarni produkti koji su najvećim dijelom konjugirani s glukuronskom kiselinom i izlučuju se fecesom putem žuči kao i većina metabolita vitamina D. Samo mali dio metabolita topljiv je u vodi i izlučuje se urinom (Ball, 2004).

### 2.3.2. Status vitamina D

Status vitamina D u organizmu procjenjuje se određivanjem koncentracije ukupnog 25(OH)D u plazmi ili serumu i smatra se markerom uhranjenosti vitaminom D. Koncentracija 25(OH)D predstavlja ukupni vitamin D (u obliku D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>) iz izloženosti UV zračenju putem sinteze u koži te iz prehrambenih izvora i suplemenata. Može se koristiti i kao biomarker unosa vitamina D kod ljudi s niskom izloženošću UV-B zračenju sunčeve svjetlosti (EFSA, 2016).

Iako je 1,25(OH)<sub>2</sub>D aktivni hormonski oblik vitamina D, njegova koncentracija je znatno niža od koncentracije cirkulirajućeg oblika 25(OH)D, a njegova biološka aktivnost je 500 do 1000 puta veća od aktivnosti 25(OH)D (Laktašić-Žerjavić, 2011). Nekoliko je razloga zbog čega se koncentracija aktivnog oblika ne koristi se kao biomarker. Budući da 25(OH)D ima relativno dugo vrijeme poluživota od približno 2 do 3 tjedna, predstavlja relativno stabilan biomarker pogodan za procjenu zaliha vitamina D (Beentjes i sur., 2019). Pored toga, koncentracija 25(OH)D nije strogo kontrolirana djelovanjem endokrinog sustava za razliku od 1,25(OH)<sub>2</sub>D koji je ovisan o djelovanju nekoliko čimbenika kao što je paratireoidni hormon. To je razlog zbog čega u stanjima ozbiljnog nedostatka vitamina D, serumski 1,25(OH)<sub>2</sub>D može biti normalan, visok ili nizak jer će PTH stimulirati 1 $\alpha$ -hidroksilazu, povećavajući serumsku koncentraciju 1,25(OH)<sub>2</sub>D (Souberbielle i sur., 2008). Također, njegovo stvaranje nije izravno povezano s unosom vitamina D te je poluživot 1,25(OH)<sub>2</sub>D značajno je kraći od 25(OH)D i iznosi samo 4 do 6 sati, što su dodatni razlozi koji ga čine neodgovarajućim markerom za procjenu statusa vitamina D (Beentjes i sur., 2019; EFSA, 2016).

### 2.3.3. Faktori koji utječu na status vitamina D

#### 2.3.3.1. Izloženost UV-B zračenju (suncu)

Izlaganje suncu predstavlja primarni izvor vitamina D za većinu ljudi stoga osobe koje provode više vremena vani na suncu imaju više razine vitamina D u usporedbi s onima koji to ne čine (Holick, 2017). Procjena je da izloženost 25 % tjelesne površine na 25 % osobne minimalne eritemske doze (MED) povećava razinu vitamina D za isti iznos kao oralna doza od 1000 IU (1 MED se definira kao najniža doza UV zračenja za pojedinca koja uzrokuje blijedo ružičastu boju kože unutar četiri različite granice 24 sata nakon izlaganja). Također, ljudi koji žive na sjevernim geografskim širinama manje su izloženi sunčevoj svjetlosti, osobito u zimskim mjesecima (Tsiaras i Weinstock, 2011).

#### *2.3.3.2.Pigmentacija kože*

Tamnija pigmentacija kože povezana s manjim porastom koncentracije 25(OH)D u serumu za određenu količinu izloženosti UVB zračenju pa tako osoba s tamnije pigmentiranom kožom treba najmanje 5-10 puta dužu izloženost suncu u usporedbi s osobom svjetlije kože. Za to je odgovoran melanin koji, baš kao i sredstva za zaštitu od sunca, staklo te odjeća, učinkovito apsorbiraju UVB zračenje i time smanjuju učinkovitost sunca te sprječavaju sintezu vitamina D (Holick, 2017).

#### *2.3.3.3.Prehrana*

Vitamin D može se dobiti i putem hrane, međutim, može biti teško dobiti odgovarajuće količine samo prehranom. Razlog tomu je taj što vrlo mali broj namirnica prirodno sadrži vitamin D. Status vitamina D se osim hranom s prirodno prisutnim može povećati i s obogaćenom hranom te suplementima (Holick, 2017).

#### *2.3.3.4.Tjelesna masa*

Povećani postotak tjelesne masti i visok indeks tjelesne mase je u snažnoj i obrnutoj korelaciji s koncentracijama 25(OH)D u serumu, što je osobito izraženo kod bijelaca. Kao vitamin topiv u mastima, vitamin D se skladišti u masnom tkivu što ga čini teže dostupnim za iskorištavanje (Rosen i sur., 2012).

#### *2.3.3.5.Starost*

Kako ljudi stare, njihova koža postaje manje učinkovita u proizvodnji vitamina D. Starije odrasle osobe također imaju tendenciju da provode više vremena u zatvorenom prostoru i imaju smanjeni unos vitamina D hranom. U odraslih osoba razine vitamina D imaju tendenciju pada s godinama. To može biti posljedica smanjene sposobnosti apsorpcije vitamina D iz hrane i sunčeve svjetlosti, smanjene izloženosti sunčevoj svjetlosti i smanjene proizvodnje vitamina D u koži (Mosekilde, 2005).

#### *2.3.3.6.Lijekovi i medicinska stanja*

Određeni lijekovi, poput glukokortikoida i antikonvulziva, mogu ometati metabolizam vitamina D i dovesti do nižih razina vitamina D. Također, određena medicinska stanja, poput sindroma malapsorpcije, bolesti jetre i bubrega i cistične fibroze, mogu utjecati na metabolizam vitamina D i dovesti do nižeg statusa vitamina D (Holick, 2017).

#### 2.3.4. Preporučeni status vitamina D

Preporučeni status vitamina D definiran razinom 25-hidroksivitamina D (25(OH)D), primarnog cirkulirajućeg oblika vitamina D u krvi nije u cijelosti definiran te se trenutačno vode rasprave među zdravstvenim stručnjacima u određivanju optimalne razine 25(OH)D za cjelokupno zdravlje. Ipak, većina se slaže da je razina od najmanje 20 ng/mL (50 nmol/L) neophodna za sprječavanje nedostatka i održavanje odgovarajućeg zdravlja većine ljudi (Hilger i sur., 2014).

Institut za medicinu (engl. *Institute of Medicine*, IOM) sugerira da serumske vrijednosti 25(OH)D više od 20 ng/mL (50 nmol/L) zadovoljava potrebe za vitaminom D u otprilike 97,5 % populacije u svim dobnim skupinama (NIH, 2022). Međutim, drugi smatraju da su vrijednosti 25(OH)D od 75 nmol/L ili više odgovarajuće (da dostatnost predstavljaju vrijednosti 25(OH)D od 30-100 ng/mL) (Hilger i sur., 2014).

Najnovije smjernice koje daju dijagnostičke pragove koji definiraju koncentracije 25(OH)D u serumu u Poljskoj su sljedeće (Płudowski, 2023):

- Koncentracije  $\leq 20$  ng/ml (50 nmol/L) ukazuju na nedostatak vitamina D, stanje koje treba odmah medicinski liječiti primjenom terapijskog doziranja.
- Koncentracije od  $>20$  ng/ml (50 nmol/L)  $<30$  ng/ml (75 nmol/L) odražavaju suboptimalni status vitamina D koji zahtijeva umjereno povećanje doze.
- Koncentracije od  $\geq 30$  ng/ml (75 nmol/L) do 50 ng/ml (125 nmol/L) odražavaju odgovarajući optimalni status vitamina D.
- Koncentracije od  $>50$  ng/ml (125 nmol/L) do 100 ng/ml (250 nmol/L) ukazuju na visoku opskrbljenost vitaminom D.
- Koncentracije veće od 100 ng/ml (250 nmol/L) odražavaju povećani rizik od intoksikacije i potrebu za smanjenjem/prestankom suplementacije ili liječenja dok se ne postigne ciljane koncentracija 25(OH)D.

Intoksikacija vitaminom D definira se kao stanje u kojem je koncentracija 25(OH)D u serumu  $>100$  ng/mL te ju prate stanja kao što su hiperkalcemija, hiperfosfatemija, hiperkalciurija i očigledna supresija PTH. Intoksikacija je vrlo rijetka pojava, a nastaje prilikom neodgovarajuće primjene dodatka prehrani. Kliničke manifestacije hipervitaminoze D posljedica su visoke koncentracije kalcija i uključuju mučninu, povraćanje, slabost, poliuriju, nefrokalcinozu i zatajenje bubrega (Galior, 2018).

### 2.3.5. Nedostatak vitamina D

Nedostatak vitamina D jedan je od globalnih javnozdravstvenih problema. Pretpostavlja se da oko 1 milijarda ljudi ima nedostatak vitamina D, dok 50 % stanovništva ima nedovoljan status vitamina D. Nedostatak se najčešće javlja kod starijih osoba, pretilih bolesnika, štićenika domova za njegu te hospitaliziranih bolesnika (Sizar i sur., 2022).

Najveći dio pacijenata s nedostatkom vitamina D nema simptome što može predstavljati problem jer već blagi kronični nedostatak vitamina D može dovesti do kronične hipokalcijemije i hiperparatireoze. Ta stanja povećavaju rizik od nastanka osteoporoze te padova i prijeloma, osobito u starijoj dobi. Pacijenti koji nedostatak vitamina D imaju duže vrijeme mogu imati simptome povezane sa sekundarnim hiperparatireoidizmom kao što su bolovi u kostima, mialgije, trzanje mišića i slabost. Sekundarni hiperparatireoidizam zatim dovodi do fosfaturije i ubrzane demineralizacije kostiju što dalje može rezultirati osteomalacijom i osteoporozom kod odraslih te osteomalacijom i rahitisom kod djece (Sizar i sur., 2022).

Gotovo sva ljudska tkiva i stanice pokazuju ekspresiju VDR-a i enzima koji metaboliziraju vitamin D, što ukazuje na široku ulogu vitamina D u održavanju cjelokupnog ljudskog zdravlja. Epidemiološke studije su dokumentirale da nedostatak vitamina D i niske koncentracije 25(OH)D povećavaju rizik od ozbiljnih akutnih i kroničnih bolesti. Osim poznatih učinaka na metabolizam kostiju, sve je više dokaza o utjecaju vitamina D na zdravlje kardiovaskularnog sustava, razvoj raka, autoimune bolesti, infekcije kao i na ukupnu smrtnost (Pludowski i sur., 2022; Leidig-Bruckner i sur., 2011).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

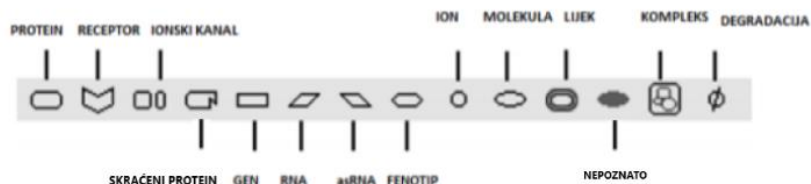
#### 3.1. MATERIJALI

##### 3.1.1. CellDesigner

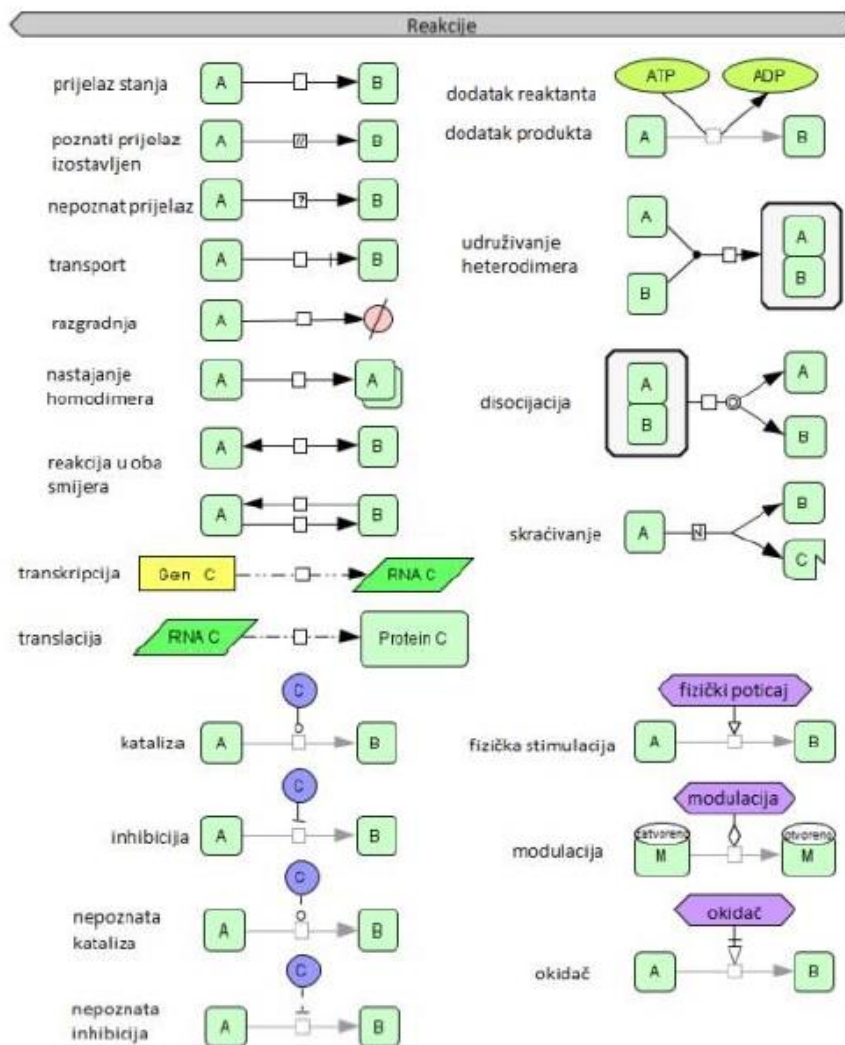
Za izradu modela u ovom diplomskom radu korišten je program *CellDesigner 4.4.2* (System Biology Institute, Tokyo, Japan). *CellDesigner* je računalni program koji se koristi za vizualizaciju biokemijskih i gensko-regulatornih mreža. Omogućuje korisnicima da modeliraju, analiziraju i simuliraju biokemijske procese na razini stanice.

*CellDesigner* omogućuje jednostavnu izradu modela koja uključuje nekoliko koraka (Funahashi i sur., 2003):

1. Kreiranje nove mreže: Nakon pokretanja programa, može se kreirati nova mreža odabirom opcije novo (engl. "New") u izborniku datoteka (engl. "File") ili klikom na ikonu novo (engl. "New") na alatnoj traci. Prilikom stvaranja novog dokumenta, otvara se prozor u kojem korisnik može odabrati veličinu radnog prostora i upisati naziv dokumenta. Također, moguće je otvoriti postojeću mrežu iz datoteke.
2. Dodavanje komponenti: Nakon kreiranja nove mreže, dodaju se vrste koje je moguće izabrati iz alatne trake. Vrste uključuju različite komponente kao što su proteini, geni, signalni putevi, metaboliti i prikazani su na slici 5.
3. Povezivanje komponenti: Nakon dodavanja komponenti, potrebno ih je povezati kako bi se stvorila mreža. Za to možete koristiti alat za povezivanje na alatnoj traci. Također, možete prilagoditi svoje veze, određujući vrstu interakcije i njihov smjer. Različite vrste reakcija prikazane su na slici 6.



**Slika 5.** Vrste simbola u *CellDesigneru* (prema Matsuoka i sur., 2014)



**Slika 6.** Simboli za različite vrste reakcija u programu *CellDesigner* (prema Funahashi i sur., 2008)

4. Dodavanje kinetičkih izraza: Klikom desne tipke miša na strelicu reakcije, otvara se prozor u kojem se odabire unos kinetičkog izraza (engl. "*Edit Kinetic Law*"). U ovom prozoru, potrebno je unijeti kinetički izraz, kao i vrijednosti kinetičkih parametara i početnih koncentracija, koje su neophodne za pravilno funkcioniranje simulacije.
5. Simulacija mreže: Nakon stvaranja mreže, moguće je simulirati njezino ponašanje kroz vrijeme. *CellDesigner* ima ugrađeni simulator, koji omogućuje analizu mreže. Program nudi grafički i numerički prikaz rezultata te se mreža može izvoziti u formatima koji se mogu koristiti za daljnju analizu i simulaciju.



### 3.1.2. Model metabolizma vitamina D

U ovom radu provedeno je određivanje statusa vitamina D analizom matematičkog modela njegovog metabolizma. Mreža metabolita za vitamin D sastoji se od skupa običnih diferencijalnih jednadžbi (ODE) i opisuje ponašanje metabolita vitamina D u mreži metabolita ovisno o vremenu (Beentjes i sur., 2019).

Korišten je sažeti model koji se sastoji od 8 biokemijskih reakcija i jednadžbi kinetičke brzine prikazanih u tablici 1. Može se opisati sustavom od 4 diferencijalne jednadžbe koje su prikazane u tablici 2. Jednadžbe se mogu u potpunosti parametrizirati, a vrijednosti korištenih parametara prikazane su u tablici 4. Početne koncentracije korištene u modelu su serumske koncentracije metabolita vitamina D iz West Midlands kohorte (Beentjes i sur., 2019), nalaze se u tablici 3 s prikazanim medijanom i interkvartilnim rasponom (engl. *interquartile range*, IQR).

**Tablica 1.** Biokemijske reakcije i pripadajući kinetički izrazi (prema Beentjes i sur., 2019)

REAKCIJA	OPIS	KINETIČKI IZRAZ
1	Proizvodnja 25(OH)D <sub>3</sub> iz prehrane i sunčeve svjetlosti	$p_{25(OH)D_3}$
2	Pretvorba 25(OH)D <sub>3</sub> u 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> uz djelovanje 1 $\alpha$ -hidroksilaze	$\frac{\alpha \cdot [25(OH)D_3]}{(K + [25(OH)D_3])}$
3	Epimerizacija 25(OH)D <sub>3</sub> u 3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	$k_3 \cdot [25(OH)D_3]$
4	Pretvorba 25(OH)D <sub>3</sub> u 24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> uz djelovanje 24-hidroksilaze	$k_4 \cdot [25(OH)D_3]$
5	Razgradnja 25(OH)D <sub>3</sub>	$k_5 \cdot [25(OH)D_3]$
6	Enzimska konverzija 24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> u kalcitričnu kiselinu	$k_6 \cdot [24,25(OH)_2D_3]$
7	Učinkovita razgradnja 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	$k_7 \cdot [1,25(OH)_2D_3]$
8	Učinkovita razgradnja 3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	$k_8 \cdot [3 - \text{epi} - 25(OH)D_3]$

25(OH)D<sub>3</sub>: 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: 3-epi-25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; parametri  $p_{25(OH)D_3}$ ,  $\alpha$ ,  $K$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ ,  $k_5$ ,  $k_6$ ,  $k_7$ ,  $k_8$  objašnjeni su u tablici 4

**Tablica 2.** Kinetičke jednačbe (prema Beentjes i sur., 2019)

KINETIČKE JEDNADŽBE	REAKCIJSKI IZRAZI
$\frac{d [25(OH)D_3]}{dt}$	$= R_1 - R_2 - R_3 - R_4 - R_5$
$\frac{d [1,25(OH)_2D_3]}{dt}$	$= R_2 - R_7$
$\frac{d [24,25(OH)_2D_3]}{dt}$	$= R_4 - R_6$
$\frac{d [3 - epi - 25(OH)D_3]}{dt}$	$= R_3 - R_8$

25(OH)D<sub>3</sub>: 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: 3-epi-25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>

Reakcijski izrazi R<sub>i</sub> za i = 1, ..., 8 odgovaraju biokemijskim reakcijama prikazanim u tablici 1

**Tablica 3.** Početne koncentracija metabolita vitamina D (prema Beentjes i sur., 2019)

	Medijan (IQR)
<b>25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/L)</b>	33,4 (20,8-44,3)
<b>1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (pmol/L)</b>	34,2 (29,3-55,0)
<b>3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/L)</b>	5,1 (3,9-6,4)
<b>24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (nmol/L)</b>	3,3 (1,6-4,7)

25(OH)D<sub>3</sub>: 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: 3-epi-25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>

**Tablica 4.** Vrijednosti parametara modela (*prema* Beentjes i sur., 2019)

PARAMETAR	OPIS	VRIJEDNOST	JEDINICA
$p_{25(OH)D_3}$	Stvaranje 25(OH)D <sub>3</sub>	varijabilno	nM/d
$\alpha$	Maksimalna brzina pretvorbe 25(OH)D <sub>3</sub> u 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0,29	nM/d
$K$	Michaelisova konstanta brzine pretvorbe 25(OH)D <sub>3</sub> u 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	47	nM
$k_3$	Konstanta brzine epimerizacije 25(OH)D <sub>3</sub>	0,008	1/d
$k_4$	Konstanta brzine pretvorbe 25(OH)D <sub>3</sub> u 24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0,01	1/d
$k_5$	Konstanta brzine razgradnje 25(OH)D <sub>3</sub>	0,05	1/d
$k_6$	Konstanta brzine pretvorbe 24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0,1	1/d
$k_7$	Konstanta brzine pretvorbe 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	2,8	1/d
$k_8$	Konstanta brzine pretvorbe 3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	0,06	1/d

25(OH)D<sub>3</sub>: 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: 3-epi-25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>

**Tablica 5.** Jednadžbe stacionarnih stanja (*prema* Beentjes i sur., 2019)

$$0 = [25(OH)D_3]^2 \cdot (k_3 + k_4 + k_5) + [25(OH)D_3] \cdot (K \cdot (k_3 + k_4 + k_5) + \alpha - p_{25(OH)D_3}) - (K \cdot p_{25(OH)D_3})$$

$$[1,25(OH)_2D_3] = \frac{\alpha}{k_7} \cdot \frac{[25(OH)D_3]}{K + [25(OH)D_3]}$$

$$[24,25(OH)_2D_3] = \frac{k_4}{k_6} \cdot [25(OH)D_3]$$

$$[3 - epi - 25(OH)D_3] = \frac{k_3}{k_8} \cdot [25(OH)D_3]$$

25(OH)D<sub>3</sub>: 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>; 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>: 3-epi-25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>; 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>

### 3.1.3. Smjernice za planiranje jelovnika

Za dnevni unos vitamina D napravljena su 3 različita jelovnika: jelovnik po principima mediteranske prehrane, jelovnik koji uključuje hranu s prirodno prisutnim vitaminom D, jelovnik koji uključuje hranu obogaćenu vitaminom D te primjer s uključenom suplementacijom. Za planiranje jelovnika korištene su prehrambene smjernice za mediteransku prehranu te smjernice za opću populaciju. Dnevni energetske unos svih jelovnika je 2000 kcal ( $\pm$  100 kcal). Jelovnik se sastoji od 3 glavna obroka (zajuttrak, ručak i večera) i 2 međuobroka (doručak i užina). Uz svaki obrok napisana je količina vitamina D, količina makronutrijenata te kalorijska vrijednost. Za planiranje obroka i izračun količine nutrijenata korištene su USDA baza namirnica v. 19 (USDA, 2019).

#### 3.1.3.1. Smjernice za mediteransku prehranu

Mediteranska prehrana proizlazi iz tradicionalnog načina prehrane ljudi iz zemalja koje graniče sa Sredozemnim morem. Osnovna načela mediteranske prehrane predstavljena su piramidom mediteranske prehrane u kojoj su odabrane namirnice pažljivo raspoređene po skupinama. Skupine namirnica u piramidi podijeljene su u tri kategorije: namirnice čija se konzumacija preporuča svaki dan, namirnice koje treba konzumirati nekoliko puta tjedno i namirnice čija se konzumacija preporuča nekoliko puta mjesečno (Bach-Faig, 2011).

U podnožju piramide nalaze se namirnice koje bi trebale biti osnova prehrane i osigurati najveći energetske unos, a u gornjim razinama su namirnice koje treba jesti u umjerenim količinama. Osnovu prehrane čine namirnice biljnog podrijetla stoga bi uravnoteženi sastav glavnih obroka trebao uključivati voće, povrće i žitarice. Prednost treba dati proizvodima na bazi cjelovitih žitarica. Ostatak energetske unosa nadopunjuje se ostalom biljnom hranom, mliječnim proizvodima i izvorima proteina. Međuobrok čini razumna konzumacija maslina, orašastih plodova i sjemenki. U središtu piramide nalazi se maslinovo ulje koje predstavlja glavnu masnoću za pripremu hrane. Uz ulje, koriste se začini, začinsko bilje, češnjak i luk za dodatno obogaćivanje hrane. Svakodnevno se savjetuje i umjerena konzumacija crnog vina uz obrok. Nekoliko puta na tjedan preporuča se konzumiranje ribe, školjki, preradi i jaja. Tradicionalna mediteranska jela obično nemaju proteinske namirnice životinjskog podrijetla kao glavni sastojak, već kao izvor okusa. Konzumacija crvenog mesa i mesnih prerađevina trebala bi biti rijetka i u malim količinama. U vrhu piramide nalaze se namirnice bogate šećerom i mastima stoga bi njihova konzumacija trebala biti u malim količinama i samo u posebnim prilikama (Bach-Faig, 2011).

### 3.1.3.2. Smjernice za opću populaciju

Prehrambene smjernice za opću populaciju uključuju nekoliko osnovnih principa kao što su dostatan unos energije, hranjivih tvari i vlakana za održavanje zdravlja, postizanje ravnoteže između različitih skupina namirnica, kontrolu energetske unosa (kalorija) prilagođenog metabolizmu i aktivnosti, unos hrane s visokom hranjivom gustoćom, umjerenost te kontrola unosa masnoća i šećera u cilju promicanja dobrog zdravlja te konzumiranje raznovrsne hrane unutar i među glavnim grupama namirnica kako bi se osigurao unos svih potrebnih hranjivih tvari i minerala.

### 3.1.3.3. Preporuke za unos vitamina D

RDA (preporučena dnevna količina nutrijenta, engl. *Recommended Dietary Allowances*) za vitamin D odnosi se na dnevni unos potreban za održavanje zdravlja kostiju i normalnog metabolizma kalcija kod zdravih ljudi. Preporučena količina izražena je u mikrogramima ( $\mu\text{g}$ ) i međunarodnim jedinicama (IU), pri čemu je 1  $\mu\text{g}$  vitamina D jednak 40 IU. Iako sunčeva svjetlost predstavlja glavni izvor vitamina D, RDA za vitamin D temelji se na pretpostavci minimalne izloženosti suncu. Međutim, diljem svijeta postoje različite smjernice za unos vitamina D. Razlikuju se zbog nepotpunog razumijevanja biologije i kliničkih implikacija, različitih ciljeva smjernica i/ili korištenja u studijama za utvrđivanje preporuka (NIH, 2022).

Američki Institut za medicinu (engl. *Institute of Medicine*, IOM) preporučuje unos od 10  $\mu\text{g}$  (400 IU) vitamina D na dan kod djece do godinu dana, 15  $\mu\text{g}$  (600 IU) vitamina D na dan za osobe u dobi od 1 do 70 godina te 20  $\mu\text{g}$  (800 IU) vitamina D na dan za starije od 70 godina. S obzirom na to da je nedostatak vitamina D vrlo rasprostranjen, Američko društvo za endokrinologiju (engl. *Endocrine Society*) smatra da preporuke IOM-a trebaju predstavljati minimalnu preporučenu količinu te preporučuje da odrasle osobe trebaju najmanje 37,5 do 50  $\mu\text{g}$  (1500–2000 IU) dnevno dodatnog vitamina D kako bi održale razinu 25(OH)D u serumu iznad 75 nmol/L (30 ng/mL), a djeca i adolescenti najmanje 25  $\mu\text{g}$  (1000 IU) (NIH, 2022; Vranešić Bender, 2016).

### 3.1.3.4. Izvori vitamina D

Za izradu jelovnika korištene su namirnice koje imaju visoku količinu vitamina D. U tablici prikazane su namirnice bogate vitaminom D koje predstavljaju prirodni izvor, zatim obogaćena hrana te dodaci prehrani. Količina vitamina D izražena je u mikrogramima ( $\mu\text{g}$ ) i međunarodnim jedinicama (IU) na 100 g namirnice.

**Tablica 6.** Izvori vitamina D (prema Kučan i sur., 2018; Hossein-nezhad i Holick, 2012)

	$\mu\text{g}/100\text{ g}$	IU/100 g
<b>PRIRODNI IZVORI vitamina D</b>		
Ulje jetre bakalara	250	10000
Shiitake gljive sušene sa suncu	40	1600
Dimljena haringa	32	1280
Šaran	25	1000
Jegulja	20	800
Losos	16	640
Pastrva	15	600
List	15	600
Bijela riba	12	480
Konzervirani losos	12	480
Srdela	11	440
Kamenice	8	320
Tuna	5	200
Žumanjak	5,6	224
Shiitake gljive	2,5	100
Maslac	1,2	48
Sir (45 % m.m.)	1	40
Jogurt (3,5 % m.m.)	0,1	4
<b>OBOGAĆENA HRANA vitaminom D</b>		
Obogaćeni margarin	10,7	429
Obogaćene žitarice	2,5	100
Obogaćeno mlijeko	1,25	50
Obogaćeni jogurt	1,25	50
<b>DODACI PREHRANI koji sadrže vitamin D</b>		
Multivitamin		400, 500, 1000
Vitamin D <sub>3</sub>	10, 20, 25, 50, 125, 250, 1250	400, 800, 1000, 2000, 5000, 10000, 50000

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Razvoj i simulacija modela metabolizma vitamina D

Korištenjem računalnog programa *CellDesigner*, u ovom radu je provedena simulacija metabolizma vitamina D prema modelu koji je prikazan u radu Beentjes i sur. (2019). Određivao se status vitamina D u serumu mijenjajući ulazne koncentracije vitamina D iz hrane. Promatrane su vrijednosti koncentracija  $25(\text{OH})\text{D}_3$ ,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  i  $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$  u serumu. Za određivanje koncentracije  $25(\text{OH})\text{D}_3$  korištena je pretpostavka da doza od  $25 \mu\text{g}$  vitamina  $\text{D}_3$  podiže razinu  $25(\text{OH})\text{D}_3$  u serumu za  $20 \text{ nmol/L}$  u prosjeku (Amrein i sur., 2020). Zatim su izračunate pretpostavljene vrijednosti  $25(\text{OH})\text{D}_3$  za svaki jelovnik te su te vrijednosti uvrštene u jednadžbu stacionarnog stanja prikazanu u tablici 5 iz čega je izračunata vrijednost za parametar  $p_{25(\text{OH})\text{D}_3}$ . Vrijednosti dobivene provedenom *CellDesigner* simulacijom prikazane su grafički programom *MS Excel 365*.

### 3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti

Matematički i računalni modeli predstavljaju glavni alat u razumijevanju bioloških procesa. Kao ključni dio pristupa sistemske biologije, modeliranje omogućava definiranje i analizu strukture sustava te uključuje integraciju znanja s različitih bioloških razina (Saltelli i sur., 2000).

Analiza osjetljivosti je metoda za kvantificiranje nesigurnosti u bilo kojoj vrsti složenog modela. Za cilj ima identificirati parametre i početne uvjete koji predstavljaju kritične ulazne podatke modela i kvantificirati kako te vrijednosti utječu na ishod modela (Marino, 2008).

Kada je biološki sustav prikazan matematičkim modelom, rezultati analize osjetljivosti koriste se za testiranje robusnosti rezultata modela, povećanje razumijevanja odnosa između ulaznih i izlaznih varijabli te za pojednostavljivanje modela fiksiranjem ulaza koji nemaju učinka na izlaz ili izostavljanjem reakcijskih pod mreža koje nisu osjetljive na podatke korištene za redukciju modela (Simoni i sur., 2020).

Kompleksni matematički i računalni modeli obično sadrže velik broj parametara čije vrijednosti nisu točno poznate. Nesigurnost u tim vrijednostima proizvodi nesigurnost u izlazu modela. Razumijevanje i kvantificiranje nesigurnosti korištenjem analize osjetljivosti važan je dio razvoja i upotrebe modela (Saltelli i sur., 2000).

Analiza lokalne osjetljivosti ili analiza jednog parametra jedna je od jednostavnijih načina provjere parametarske osjetljivosti i primjenjuje se kad su prisutne male nesigurnosti ili interakcije među ulaznim parametrima. Primjenom metode lokalne osjetljivosti, ulazni parametri mijenjaju se jedan po jedan za mali iznos pri čemu vrijednosti ostalih parametara ostaju nepromijenjene, a zatim se izračunava učinak pojedinačnih promjena na izlazne rezultate modela (Link i sur., 2018).

Relativna osjetljivost izlaznih varijabli računa se prema jednadžbi 1.  $S_{x/i}$  označava parametarski koeficijent osjetljivosti,  $k_i$  je vektor koncentracija,  $c_x$  je vektor parametara sustava, a izraz  $\partial c_x / \partial k_i$  predstavlja koeficijent lokalne osjetljivosti prvog reda,  $a = 0,01; 0,03$ .

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

U ovom radu, napravljena je analiza lokalne osjetljivosti za svaki od 9 kinetičkih parametra tako što je svaki parametar pojedinačno uvećan za 1 % i 3 % dok su ostali parametri ostali nepromijenjeni zadržavajući svoje početne vrijednosti navedene u tablici 4. Analiza je provedena i nakon smanjenja vrijednosti svakog od parametara za 1 % i 3 %. Izmjerene su vrijednosti varijabli modela za svaki od tih uvjeta te kinetičke brzine reakcija nakon provođenja simulacije u trajanju od 100 dana. Za prikaz i analizu rezultata korišten je *MS Excel 365* (Microsoft, Redmond, Washington, SAD).

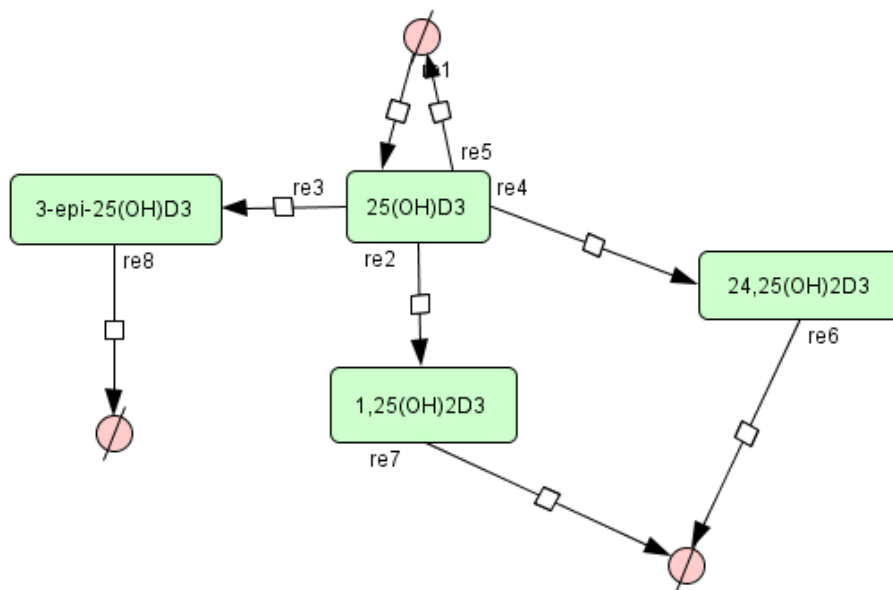


## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu je provedena je analiza statusa vitamina D simulacijom matematičkog modela metabolizma vitamina D. Prikaz modela metabolizma vitamina D izrađen u programskom paketu *CellDesigner* prikazan je u poglavlju 4.1. U poglavlju 4.2. prikazani su jelovnik mediteranske prehrane, jelovnik s hranom bogatom vitaminom D, jelovnik s obogaćenom hranom i plan suplementacije, dom su u poglavlju 4.3. prikazani rezultati simulacije modela metabolizma vitamina D s različitim početnim koncentracijama vitamina D prema razvijenim jelovnicima. U poglavlju 4.4. prikazani su rezultati analize lokalne parametarske osjetljivosti modela metabolizma vitamina D.

### 4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA VITAMINA D IZRAĐEN U PROGRAMSKOM PAKETU *CELLDESIGNER*

Simulacijom modela metabolizma ugljikohidrata u programu *CellDesigner* promatrana je promjena u serumskoj koncentraciji metabolita vitamina D:  $25(\text{OH})\text{D}_3$ ,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  i  $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$  u vremenskom razdoblju od 100 dana. Koncentracije navedenih metabolita promatrane su za svaki od 3 osmišljena jelovnika te nakon primjene suplementacije. U programu *CellDesigner* provedene su simulacije različitih dnevnih unosa vitamina D. Rezultati dobiveni simulacijom u *CellDesigneru* prikazani su grafički na slikama 8-11. Računalni program *CellDesigner* korišten je za izradu modela metabolizma vitamina D koji se sastoji od 8 biokemijskih reakcija prikazanih u tablici 1 i 9 kinetičkih parametara prikazanih u tablici 4. Izgled modela prikazanog u programu *CellDesigner* može se vidjeti na slici 7.



**Slika 7.** Matematički model metabolizma vitamina D u programu *CellDesigner*

## 4.2. PRIKAZ JELOVNIKA

U ovom radu prikazana su tri osmišljena jelovnika koji se razlikuju u količini vitamina D. Energetska vrijednost svakog jelovnika je 2000 kcal ( $\pm$  100 kcal).

Jelovnik 1 prikazan u tablici 7 prati smjernice za mediteransku prehranu. Mediteranska prehrana često se smatra jednim od „najzdravijih“ načina prehrane i povezuje se sa smanjenjem rizika od različitih kroničnih bolesti.

Mediteransku prehranu karakterizira hrana biljnog podrijetla, uključujući mahunarke, zeleno lisnato povrće, voće i orašaste plodove, zatim visoka konzumacija ribe i niska potrošnja crvenog mesa uz umjerenu konzumaciju mliječnih proizvoda. Uključuje i korištenje ekstra djevičanskog maslinovog ulja koje predstavlja glavni izvor prehrambenih masti. Također, mediteranska prehrana potiče umjerenu konzumaciju vina uz obrok, posebice crnog vina. Ova prehrana je bogata antioksidansima, vlaknima, vitaminima i mineralima, a ima niski udio zasićenih masti i visok udio nezasićenih masti, posebno omega-3 masnih kiselina. Međutim, mediteranska prehrana ne pruža samo hranjive tvari već promovira i socijalni aspekt obroka, budući da se često konzumira u obiteljskom ili društvenom okruženju, što može poboljšati ukupno mentalno zdravlje. Osim toga, potiče i ostale aspekte kao što su upotreba sezonskih namirnica, adekvatan san te fizička aktivnost. Sve ove komponente mediteranske prehrane

međusobno se pojačavaju i dopunjuju te svojim sinergističkim djelovanjem sudjeluju u stvaranju povoljnog učinka na zdravlje (Barrea i sur., 2020; Bach-Faig, 2011).

Nedostatak vitamina D i pretilost sve su rašireniji fenomeni diljem svijeta. Kliničke studije pokazuju da nedostatak vitamina D postaje sve češća pojava kod osoba s prekomjernom tjelesnom masom i smatra se kliničkim sindromom zbog niske razine 25(OH)D u serumu. Pretilost može dovesti do nedostatka vitamina D, a zatim nedostatak vitamina D može utjecati na zdravstvene rizike. Poznata je povezanost između nedostatka vitamina D i nekoliko bolesti povezanih s pretilošću, kao što su dijabetes tipa 2, kardiovaskularne bolesti, poremećaj spavanja povezan sa sindromom opstruktivne apneje u snu i neurološke bolesti (Barrea i sur., 2020).

Mediteranska prehrana se zbog svojih antioksidativnih i protuupalnih svojstava povezuje se s manjim rizikom od debljanja i pretilosti. U pretilosti, ključna stavka je prehrana, stoga različite prehranske strategije, uključujući i mediteransku prehranu, mogu pomoći u smanjenju tjelesne mase. Osim toga, pridržavanje mediteranske prehrane povezano je s većim unosom vitamina D hranom i smanjenjem rizika od njegovog nedostatka (Barrea i sur., 2020).

Vitamin D poboljšava gustoću kostiju, a pridržavanje mediteranske prehrane pokazuje protektivan učinak na osteoporozu. Veća konzumacija maslinovog ulja može biti povezana s manjim rizikom od prijeloma povezanih s osteoporozom. Također, masti iz prehrane mogu utjecati na apsorpciju vitamina D, a neke studije sugeriraju da povećana konzumacija ulja bogatih mononezasićenim masnim kiselinama, kao što je maslinovo ulje, može poboljšati bioraspoloživost vitamina D. Stoga se može pretpostaviti da je povezanost između pridržavanja mediteranske prehrane i razine 25(OH)D možda rezultat velikog unosa maslinovog ulja (Zupo i sur., 2020).

**Tablica 7.** Jelovnik mediteranske prehrane

	<b>Vitamin D (µg)</b>	<b>Ugljikohidrati/ proteini/ masti (g)</b>	<b>Energija (kcal)</b>
<b>Zajutrak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 jaja</li> <li>• 200 g povrća (luk, paprika, rajčica)</li> <li>• 2 čajne žličice maslinovog ulja</li> <li>• 1 šnita integralnog kruha</li> <li>• 1 srednja jabuka (180 g)</li> </ul>	1,8	54,6 17,3 19,2	447,1
<b>Doručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 200 g grčkog jogurta</li> <li>• 20 g malina</li> <li>• 1 čajna žlica meda</li> </ul>	0,1	17,4 7,2 6,6	153,4
<b>Ručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100 g zelene salate</li> <li>• 200 g piletine</li> <li>• 10 cherry rajčica</li> <li>• 30 g feta sira</li> <li>• 2 čajne žličice maslinovog ulja</li> </ul>	0,3	39,4 36,3 47,3	735,6
<b>Užina</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 šnita integralnog kruha</li> <li>• 15 g humusa</li> <li>• 70 g crvene paprike</li> </ul>	0,0	19,0 5,1 2,4	118,7
<b>Večera</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 200 g srdele</li> <li>• 2 čajne žličice maslinovog ulja</li> <li>• 100 g blitve</li> <li>• 150 g krumpira</li> </ul>	9,7	31,0 53,3 32,1	633,3
<b>UKUPNO:</b>	<b>11,9</b>	<b>161,5/ 119,2/ 107,7</b>	<b>2076,6</b>

Jelovnik 2 sadrži hranu prirodno bogatu vitaminom D i prikazan je u tablici 8. Hrana predstavlja vrlo važan izvor vitamina D, osobito ako nema dovoljno izlaganja sunčevoj svjetlosti kako bi se zadovoljile potrebe tijela. Ipak, hrana ne predstavlja najučinkovitiju strategiju za suzbijanje niskog unosa vitamina D jer postoji vrlo malo izvora hrane koji su bogati tim vitaminom te se većina takve hrane ne konzumira vrlo često u populaciji (Cashman i Kiely, 2014).

Neki od najboljih izvora vitamina D uključuju meso masne ribe poput pastrve, lososa, tune i skuše. Međutim, dugovječne ribe poput tune ili lososa sadrže veće koncentracije žive i drugih teških metala pa bi njihova konzumacija trebala biti umjerena. Ulje riblje jetre predstavlja jedan od najbogatijih izvora vitamina D, a danas se može pronaći i u obliku kapsula. Goveđa jetra, žumanjci i sir obično sadrže manje količine vitamina D<sub>3</sub>. Količina vitamina D u životinjskoj hrani ovisi o njihovoj prehrani pa tako životinje koje pasu na suncu ili se hrane obogaćenom hranom imaju više vitamina D u svojim tkivima. Različite količine vitamina D<sub>2</sub> mogu se naći u gljivama poput shiitake gljiva, a neke vrste koje su dostupne na tržištu tretiraju se UV svjetlom kako bi se povećala razina vitamina D<sub>2</sub>. Osim toga, prah od gljiva tretiranih UV zračenjem odobren je od strane FDA (Američka Agencija za hranu i lijekove, engl. *Food and Drug Administration*) kao prehrambeni aditiv koji se koristi kao izvor vitamina D<sub>2</sub> u prehrambenim proizvodima (NIH, 2022; Leskovar i sur., 2018).

**Tablica 8.** Jelovnik s hranom bogatom vitaminom D

	<b>Vitamin D (µg)</b>	<b>Ugljikohidrati/ proteini/ masti (g)</b>	<b>Energija (kcal)</b>
<b>Zajutrak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 jaja</li> <li>• 60 g špinata</li> <li>• 200 g shiitake gljiva</li> <li>• 2 čajne žličice maslinovog ulja</li> <li>• 1 šnita integralnog kruha</li> </ul>	2,9	18,0 25,3 22,4	361,4
<b>Doručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 250 mL mlijeka</li> <li>• 1 srednja banana (120 g)</li> <li>• 1 srednji kivi (70 g)</li> <li>• 50 g jagoda</li> </ul>	0,1	53,8 10,6 9,3	322,8
<b>Ručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100 g lososa</li> <li>• 30 g sira goude</li> <li>• 2 čajne žličice maslinovog ulja</li> <li>• 50 g kvinoje</li> <li>• 200 g povrća (cvjetača, brokula, mrkva)</li> </ul>	11,0	39,4 37,9 16,0	451,8
<b>Užina</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 30 g orašastih plodova</li> <li>• 200 g jogurta</li> </ul>	0,1	16,0 11,4 21,3	288,0
<b>Večera</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 200 g šarana</li> <li>• 100 g šampinjona</li> <li>• 60 g tjestenine</li> <li>• 10 g maslaca</li> </ul>	49,9	47,7 46,9 21,5	578,1
<b>UKUPNO:</b>	<b>64,0</b>	<b>174,9/ 132,1/ 90,6</b>	<b>2002,1</b>

Sljedeći jelovnik 3 sadrži namirnice obogaćene vitaminom D i prikazan je u tablici 9. Obogaćivanje hrane je proces dodavanja nutrijenata u hranu kako bi se povećala njihova nutritivna vrijednost. Cilj obogaćivanja je ispunjavanje potreba za određenim nutrijentima kod populacija koje imaju nedostatak određenih hranjivih tvari.

Obogaćivanje hrane vitaminom D je jedna od strategija koja se koristi za povećanje unosa vitamina D u populaciji i pokazala se vrlo učinkovitom u različitim europskim zemljama. U Europskoj uniji za obogaćivanje hrane koristi se vitamin D<sub>2</sub> ili vitamin D<sub>3</sub>. Vitamin D<sub>3</sub> smatra se učinkovitijim od vitamina D<sub>2</sub> za podizanje razine 25(OH)D u krvi, stoga se preporučuje njegovo korištenje u hrani. Najčešće se obogaćuju namirnice kao što su masni namazi poput margarina, tekući mliječni proizvodi, žitarice za doručak i pšenično brašno. Nakon uvođenja ovih politika, pokazalo se da obogaćene namirnice daju važan doprinos unosu vitamina D te da je došlo do značajnih poboljšanja statusa vitamina D u populaciji. Međutim, mnoge obogaćene namirnice su jako prerađene i često dolaze s visokim udjelom natrija, masti i šećera (Leskovar i sur., 2018).

Neki istraživači sugeriraju da bi biofortificiranje šireg raspona namirnica s vitaminom D moglo biti učinkovitije u rješavanju problema nedostatka vitamina D. Biofortificiranje odnosi se na poboljšavanje nutritivnog sastava usjeva kroz primjenu biotehnoloških metoda, kao što su genetsko inženjerstvo. To bi moglo dovesti do prirodno obogaćenih namirnica koje bi mogle pružiti veće količine vitamina D u jednom obroku (Leskovar i sur., 2018).

Obogaćivanje hrane vitaminom D može biti učinkovita strategija za povećanje unosa vitamina D u populaciji. WHO/FAO također preporučuju obogaćivanje hrane kao najširi i najodrživiji način za povećanje unosa vitamina D u populaciji. Pokazalo se da bi različite namirnice poput mliječnih proizvoda, kruha, mesa i jaja mogle biti održiva sredstva za obogaćivanje, što bi povećalo unos vitamina D u populaciji i smanjilo rizik od njegovog nedostatka (Moulas i Vaiou, 2018).

**Tablica 9.** Jelovnik s obogaćenom hranom

	<b>Vitamin D (µg)</b>	<b>Ugljikohidrati/ proteini/ masti (g)</b>	<b>Energija (kcal)</b>
<b>Zajutrak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 250 mL obogaćenog mlijeka</li> <li>• 40 g obogaćenih žitarica</li> <li>• 1 srednja jabuka (180 g)</li> </ul>	2,9	69,2 2,8 9,2	400,5
<b>Doručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 šnite integralnog kruha</li> <li>• 15 g obogaćenog margarinog namaza</li> <li>• 15 g džema</li> </ul>	1,5	33,6 7,3 10,9	261,3
<b>Ručak</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 60 g tjestenine</li> <li>• 200 mL umaka od rajčice</li> <li>• 2 žličice maslinovog ulja</li> <li>• 100 g zelene salate</li> <li>• Čokoladna obogaćena pločica (25 g)</li> </ul>	0,8	69,7 16,1 16,8	477,2
<b>Užina</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100 g svježeg sira s voćem i dodanim vitaminom D</li> <li>• 30 g orašastih plodova</li> </ul>	0,8	15,7 13,0 30,7	379,2
<b>Večera</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 100 g piletine</li> <li>• 150 g povrća (tikvice, patlidžan, paprika)</li> <li>• 2 žličice maslinovog ulja</li> <li>• 200 g čokoladnog pudinga od sojinog mlijeka obogaćen vitaminom D</li> </ul>	2	42,3 20,9 28,2	504,6
<b>UKUPNO:</b>	<b>8,0</b>	<b>230,6/ 70,2/ 95,8</b>	<b>2022,8</b>



Ukupni unos vitamina D osim izvora iz hrane odražava i unos iz dodataka prehrani. Dodaci prehrani često se smatraju "brzim rješenjem". Ovi dodaci su obično dostupni u obliku pilula, tableta, kapsula ili drugih kontroliranih oblika doziranja, a mogu sadržavati vitamin D<sub>2</sub> ili vitamin D<sub>3</sub>. Vitamin D<sub>3</sub> je preferirani oblik jer je pokazao oko 87 % veću snagu u podizanju i održavanju koncentracije 25(OH)D u serumu te rezultira 2-3 puta većim skladištenjem vitamina D u odnosu na ekvimolarne koncentracije vitamina D<sub>2</sub> (Leskovar i sur., 2018).

Suplementacija vitaminom D pokazala je značajno poboljšanje unosa vitamina D u različitim dobnim, rasnim, etničkim i spolnim skupinama te poboljšava status vitamina D ovisno o dozi. Međutim, dokazi upućuju na to da je populacijski unos vitamina D iz dodataka prehrani prilično nizak, uglavnom zbog relativno niskog sadržaja vitamina D u većini dodataka prehrani u nekim zemljama u odnosu na potrebe. Ipak, dodatak vitamina D može biti prikladan u visokorizičnim skupinama kao što su starije osobe (Cashman i Kiely, 2014).

Suplementacija vitaminom D pokazala je značajne prednosti za zdravlje, poput poboljšanja apsorpcije kalcija, održavanja zdravih kostiju i zubi, smanjenja rizika od nekih kroničnih bolesti, poput dijabetesa tipa 2, srčanih bolesti, multiple skleroze i nekih oblika raka (Wang i sur., 2017). Primjer suplementacije prikazan je u tablici 10.

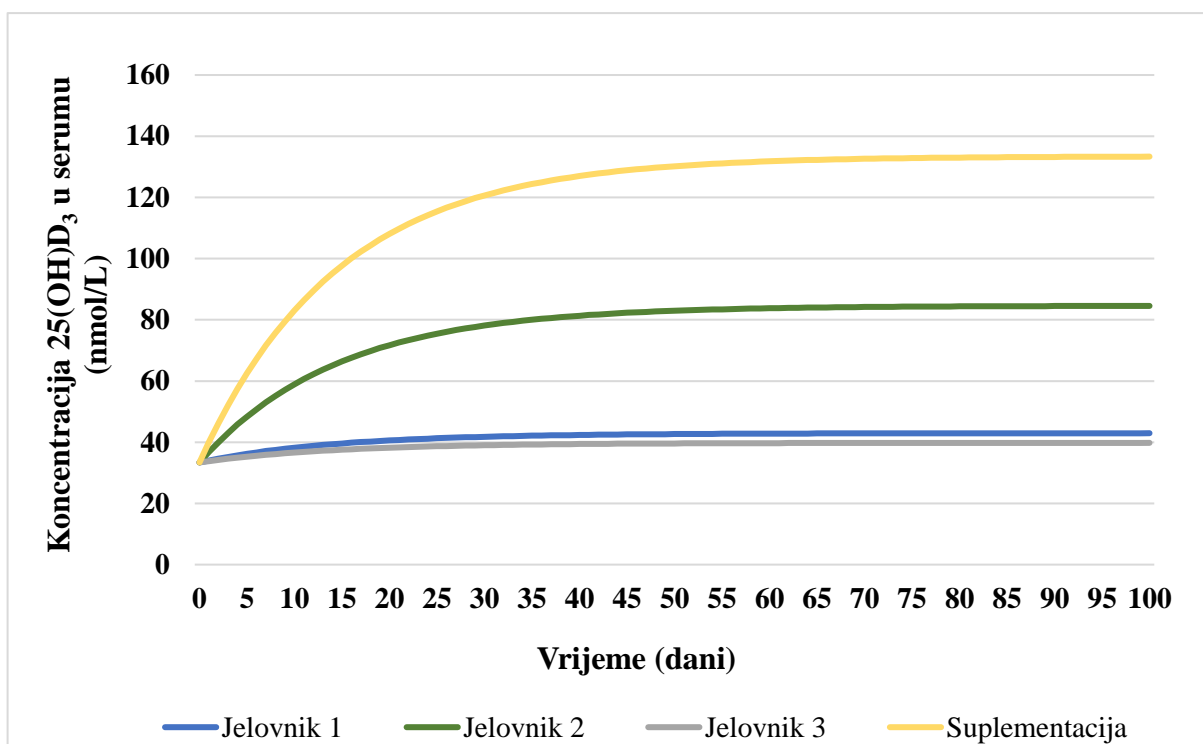
**Tablica 10.** Plan suplementacije

	<b>µg</b>	<b>IU</b>
<b>Vitamin D<sub>3</sub></b>	125	5000

### 4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA VITAMINA D U RAČUNALNOM PROGRAMU *CELLDESIGNER*

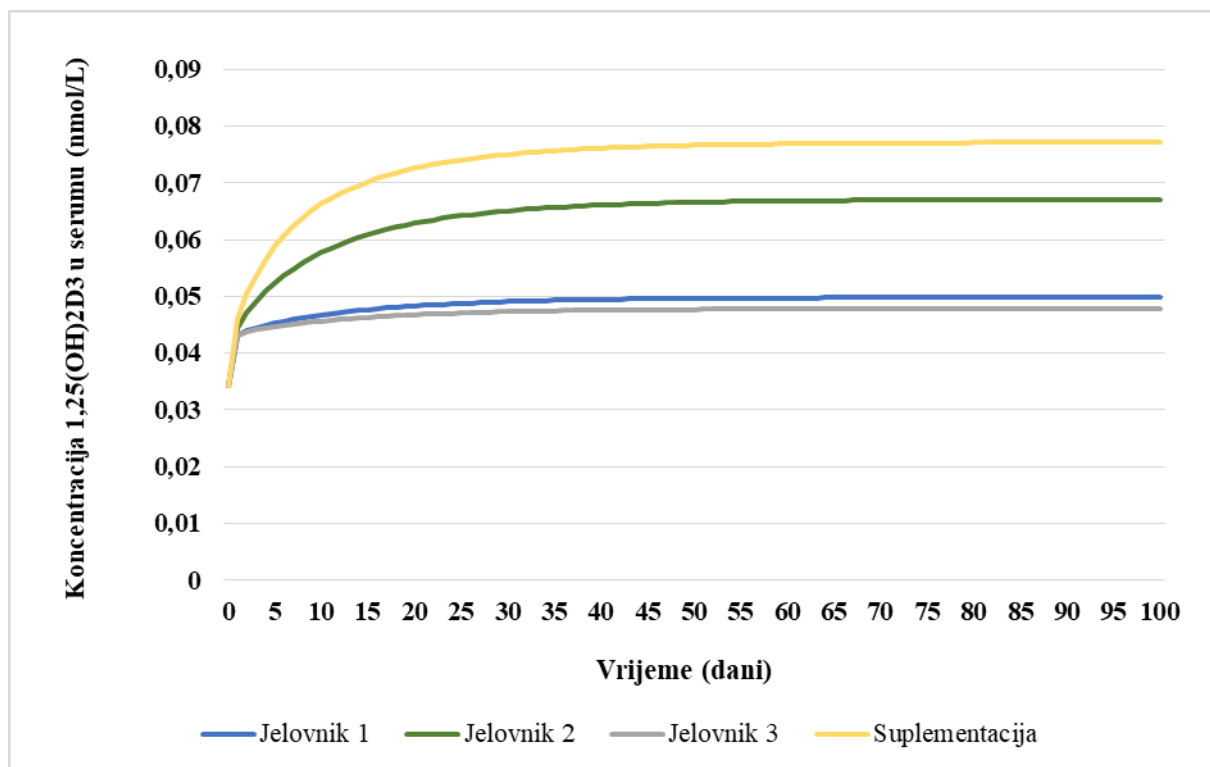
Vitamin D predstavlja esencijalni nutrijent koji kao prekursor steroidnog hormona regulira široki spektar fizioloških procesa. Nužan je u optimiziranju zdravlja kostiju, funkcije mišića, pozitivno utječe na kardiovaskularni i imunološki sustav, inhibira kancerogenezu te je zaslužan za mnoge druge funkcije u tijelu. Danas je nedostatak vitamina D uvelike je prisutan u svijetu te je prepoznat kao globalna pandemija. Budući da sudjeluje u mnogim fiziološkim procesima, nedostatak vitamina D povezan je s brojnim zdravstvenim rizicima (Kučan i sur., 2018). Sinteza u koži djelovanjem UVB zračenja iz sunca predstavlja primarni izvor ovog vitamina, međutim, tijekom zimskih mjeseci nema dovoljno sunca te zbog potencijalne štetnosti dužeg boravka na suncu sve se veći naglasak stavlja na rješavanje problema nedostatka vitamina D prehranom. Postoji nekoliko strategija koje se primjenjuju za kontrolu nedostatka mikronutrijenata, a one uključuju povećanje raznolikosti konzumirane hrane, obogaćivanje hrane i suplementaciju (Cashman, 2020).

Primjenjujući navedene strategije, u ovom radu sastavljena su tri jelovnika te plan suplementacije prikazani u tablicama 7-10. Za svaki jelovnik izračunata je količina vitamina D, a zatim su provedene simulacije izrađenog modela u računalnom programu *CellDesigner* s različitim početnim koncentracijama vitamina D. Trajanje simulacije je određeno na 100 dana. Na slikama 8-11 prikazane su promjene u koncentraciji 4 varijable:  $25(\text{OH})\text{D}_3$ ,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  i  $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ . Na istom grafu prikazane su krivulje svih jelovnika te suplementacije. U svim grafovima jelovnik mediteranske prehrane (jelovnik 1) prikazan je plavom bojom, jelovnik s hranom bogatom vitaminom D (jelovnik 2) zelenom, jelovnik s obogaćenom hranom (jelovnik 3) sivom bojom te suplementacija koja je označena žutom bojom.



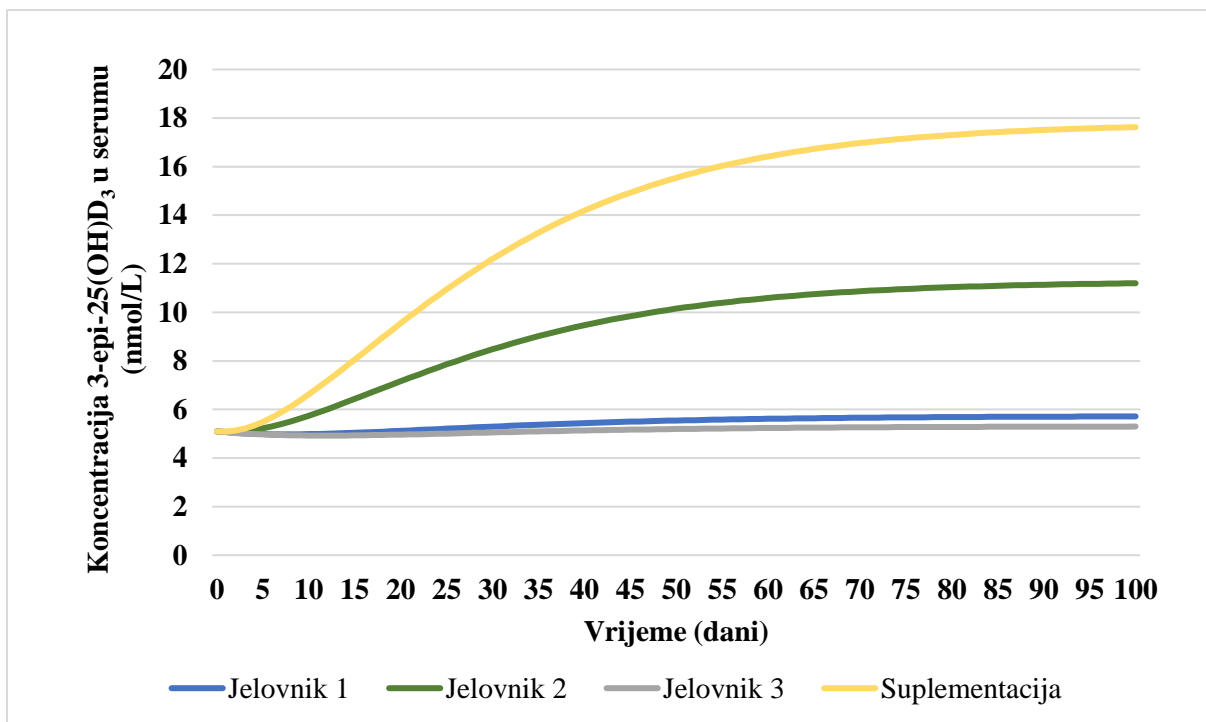
**Slika 8.** Promjena koncentracije 25-hidroksivitamina D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>) u serumu pri različitim početnim vrijednostima mase vitamina D iz hrane (jelovnik 1 = 11,9 µg, jelovnik 2 = 64,0 µg, jelovnik 3 = 8 µg, suplementacija = 125 µg)

Na slici 8 vidljivo je kako se povećanjem unosa vitamina D iz hrane povisuje serumska koncentracija 25(OH)D<sub>3</sub>. Upravo ta koncentracija predstavlja glavni marker uhranjenosti vitaminom D, a koncentracije od 75 nmol/L do 125 nmol/L odražavaju optimalni status vitamina D (Płudowski, 2023). Početna koncentracija 25(OH)D<sub>3</sub> iznosi 33,4 nmol/L što ukazuje na nedostatak vitamina D. Primjećuje se znatno brže povećanje razine 25(OH)D<sub>3</sub> tijekom prvih 10 dana, zatim se lagano doseže plato oko 30. dana (1 mjesec) s kontinuiranom varijacijom do otprilike 60. dana (2 mjeseca). Pri unosu od 125 µg i nakon 60 dana koncentracija 25(OH)D<sub>3</sub> nastavlja lagano rasti. Jelovnik 1 povisio je razinu 25(OH)D<sub>3</sub> ≈ 42,9 nmol/L, jelovnik 2 ≈ 84,5 nmol/L, jelovnik 3 ≈ 39,8 nmol/L, a suplementacija ≈ 133,3 nmol/L. U poglavlju 3.1.3.3 navedene su preporuke za unos vitamina D i iznose najmanje 37,5 do 50 µg što pokazuje da preporuke zadovoljavaju jelovnik 2 i suplementacija te su postigli povišenje koncentracije 25(OH)D<sub>3</sub> do optimalnih razina. Preporuka IOM-a je unos od 15 µg za odrasle osobe što je najbliže unosu jelovnika 1 i vidljivo je da je to prenizak unos ukoliko je osoba u nedostatku.

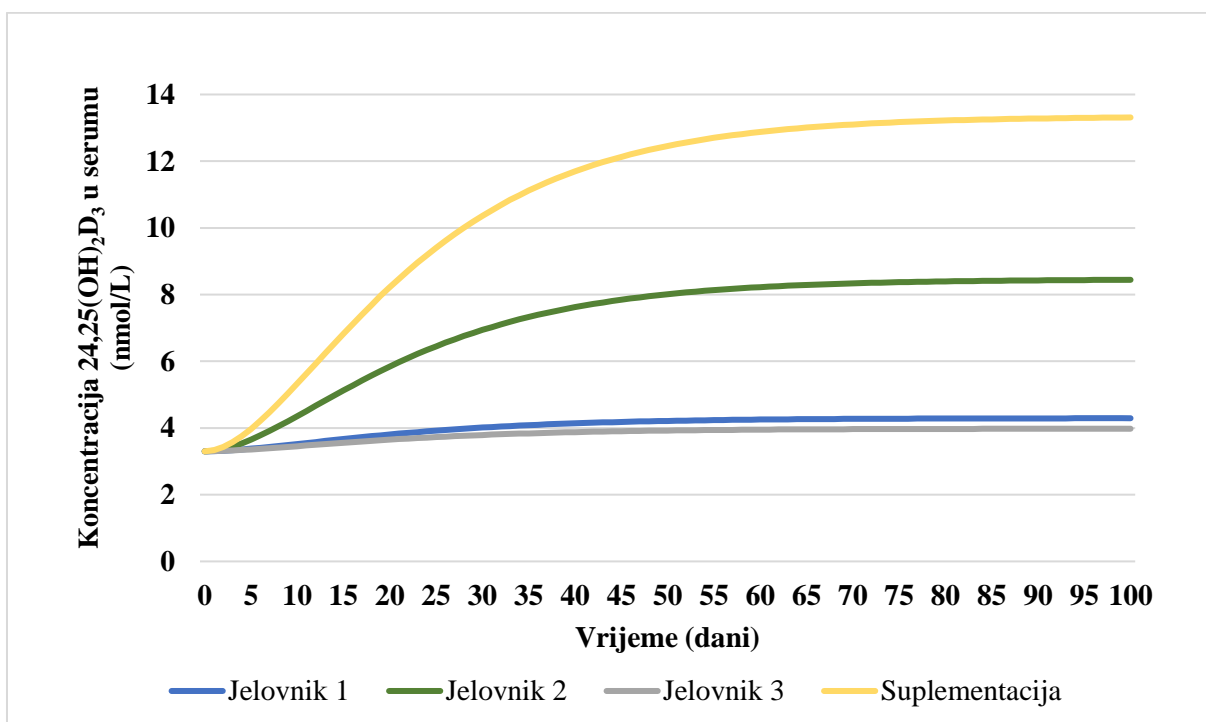


**Slika 9.** Promjena koncentracije 1,25-dihidroksivitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) u serumu pri različitim početnim vrijednostima mase vitamina D iz hrane (jelovnik 1 = 11,9 µg, jelovnik 2 = 64,0 µg, jelovnik 3 = 8 µg, suplementacija = 125 µg)

Na slici 9 uočava se zajednički linearni porast koncentracije 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> u serumu tijekom prvih 2 dana. Nakon toga, pri nižim unosima vitamina D (jelovnik 1 i jelovnik 3) primjećuje se blagi porast do stvaranja platoa oko 30. dana (1 mjesec). Pri višim unosima vitamina D (jelovnik 2 i suplementacija) dolazi do porasta serumske koncentracije 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> do otprilike 60. dana (2 mjeseca). Iako se primjećuje blagi porast koncentracije u serumu povećanjem unosa vitamina D putem hrane, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> koji predstavlja aktivni hormonski oblik vitamina D, nije izravno reguliran prehranbenim unosom kao 25(OH)D<sub>3</sub>. Kao što je objašnjeno u poglavlju 2.3.1.5, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> djeluje kao regulator homeostaze kalcija i fosfora te je njegova sinteza hormonski uvjetovana.



**Slika 10.** Promjena koncentracije 3-epi-25-hidroksivitamina D<sub>3</sub> (3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>) u serumu pri različitim početnim vrijednostima mase vitamina D iz hrane (jelovnik 1 = 11,9 µg, jelovnik 2 = 64,0 µg, jelovnik 3 = 8 µg, suplementacija = 125 µg)



**Slika 11.** Promjena koncentracije 24,25-dihidroksivitamina D<sub>3</sub> (24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) u serumu pri različitim početnim vrijednostima mase vitamina D iz hrane (jelovnik 1 = 11,9 µg, jelovnik 2 = 64,0 µg, jelovnik 3 = 8 µg, suplementacija = 125 µg)

Na slikama 10 i 11 vidljivo je postupno povećanje koncentracije 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> i 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> u serumu. Povećanjem unosa vitamina D prehranom rezultirao je istodobnim povećanjem ovih metabolita što može ukazivati na povećani katabolizam. Smatra se da 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> i 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> imaju biološku aktivnost, međutim, njihove uloge još nisu u potpunosti razjašnjene. Također, predloženo je da bi se omjer metabolita vitamina D mogao koristiti kao bolji pokazatelj statusa vitamina D.

Na temelju navedenih rezultata, može se zaključiti da je suplementacija optimalni izbor ukoliko je u pitanju nedostatak vitamina D. Također, jelovnik s hranom bogatom vitaminom D pokazuje odlične rezultate, međutim, takva prehrana na dnevnoj razini nije održiva. Stoga, za održavanje adekvatnog statusa vitamina D, najbolji izbor bio bi kombinacija navedena 3 jelovnika. To bi značilo da se u raznovrsnu prehranu poput mediteranske uvrste obogaćeni proizvodi te povremeno namirnice bogate vitaminom D.

#### 4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKJE OSJETLJIVOSTI

Provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti odnosno osjetljivosti varijabli modela metabolizma vitamina D na povećanje i smanjenje vrijednosti svih parametara za 1 % i 3 %. Analiza je provedena na način da su početne vrijednosti svakog parametra pojedinačno uvećane za 1 % dok su vrijednosti ostalih parametara ostale nepromijenjene. Provedena je simulacija u navedenim uvjetima za svaki parametar zasebno te su analizirani rezultati u konačnom vremenu od 100 dana. Jednak postupak ponovljen je nakon smanjenja vrijednosti svih parametara za 1 %, a zatim i za povećanje i smanjenje za 3 %. Kao početna vrijednost vitamina D korištena je vrijednost 64,0 µg koja prikazuje dnevni unos vitamina D iz hrane u izrađenom jelovniku s hranom bogatom vitaminom D.

Dobiveni rezultati prikazani su u programu *MS Excel 365*, a zatim su obrađeni na način da je negativna promjena mase ili koncentracije metabolita označena crvenom, a pozitivna promjena zelenom bojom. Svijetlo žuta polja označavaju zanemarivu promjenu u odnosu na vrijednosti dobivene u simulaciji bez promjena u vrijednostima parametara. U tablicama se mogu uočiti tri različite nijanse crvene i zelene boje. Veći intenzitet odnosno jačina boje ukazuje na značajniju promjenu koncentracije metabolita, dok manje intenzivne i slabije izražene nijanse ukazuju na slabiju promjenu. Rezultati analize lokalne parametarske osjetljivosti prikazani su u tablicama 11-18.

Na temelju prikazanih rezultata prikazanih u tablicama 11-14 primjećuje se kako izlazne vrijednosti serumskih koncentracija metabolita vitamina D pokazuju najveću osjetljivost na promjene vrijednosti parametara brzine stvaranja te brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub>. Povećanjem unosa vitamina D iz hrane povećava se brzina stvaranja 25(OH)D<sub>3</sub> što posljedično dovodi do povećanja koncentracije ostalih metabolita. Također, povećavanjem brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> smanjuju se koncentracije svih metabolita. Ipak, primjećuje se da je koncentracija 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> najmanje ovisna o promjenama brzine stvaranja i razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> pa time i unosom vitamina D iz hrane. Stvaranje 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> regulirano je djelovanjem endokrinog sustava te nije izravno povezano s unosom iz hrane (EFSA, 2016). To je i jedan od razloga zašto se 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ne koristi kao marker statusa vitamina D. Na koncentraciju 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> pozitivno utječe parametar brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, dok se povećanjem konstante brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, konstante brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> i konstante brzine pretvorbe 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> koncentracija smanjuje.

Povećanjem konstante brzine pretvorbe 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> očekivano dolazi do smanjenja koncentracije 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, a također povećanjem konstante brzine pretvorbe 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dolazi do smanjenja koncentracije 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Povećanjem konstante brzine epimerizacije 25(OH)D<sub>3</sub> povećava se koncentracija 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, a smanjuje koncentracija 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. U skladu s tim, povećanjem konstante brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dolazi do povećanja koncentracije 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> te smanjenja koncentracije 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>. Iz ovoga možemo zaključiti da su koncentracije 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> i 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> obrnuto proporcionalne. Pri povećanju kao i pri sniženju vrijednosti parametara za 1 % i 3 % primjećuju se jednaki uzorci djelovanja na izlazne rezultate.

Iz rezultata prikazanih u tablicama 15-18 može se vidjeti kako parametar brzine stvaranja 25(OH)D<sub>3</sub> ima utjecaj na gotovo sve reakcije, međutim, najmanje djelovanje pokazuje pri stvaranju i učinkovitoj razgradnji 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Povećanjem brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> smanjuju se brzine svih ostalih reakcija u modelu, no i dalje je najmanji utjecaj na reakcije koje uključuju 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Povećanje parametra  $\alpha$  pozitivno utječe na pretvorbu 25(OH)D<sub>3</sub> u 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> te učinkovitu razgradnju 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dok parametri konstanta brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> i konstanta brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> djeluju obrnuto. Brzine reakcija epimerizacije 25(OH)D<sub>3</sub> i učinkovite razgradnje 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> povećavaju se povećanjem konstante brzine epimerizacije dok se povećanjem konstante brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> i konstante brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> brzine reakcija smanjuju. Povećanjem parametara konstante brzine epimerizacije 25(OH)D<sub>3</sub> te konstante brzine razgradnje 25(OH)D<sub>3</sub> dolazi do smanjenja brzine reakcija pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> i enzimske konverzije 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> u kalcitriolnu kiselinu, dok se porast brzine događa povećanjem parametara konstante brzine pretvorbe 25(OH)D<sub>3</sub> u 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Pri povećanju parametara za 1 % i 3 % kao i pri jednakom snižavanju vrijednosti, pokazuje se jednaki trend na brzine izlaznih reakcija modela.



**Tablica 11.** Odgovor varijabli modela metabolizma vitamina D na povećanje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (varijable prikazane u stupcima:  $s_1$  = vitamin D iz hrane,  $s_2$  = 25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_3$  = 1,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_4$  = 3-epi-25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  (3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_5$  = 24,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_6$  i  $s_7$  = razgradni metaboliti; kinetički parametri u redovima prikazani su prema redoslijedu danom u tablici 4)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
$p_{25}$							
$\alpha$							
$K$							
$k_3$							
$k_4$							
$k_5$							
$k_6$							
$k_7$							
$k_8$							

**Tablica 12.** Odgovor varijabli modela metabolizma vitamina D na smanjenje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (varijable prikazane u stupcima:  $s_1$  = vitamin D iz hrane,  $s_2$  = 25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_3$  = 1,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_4$  = 3-epi-25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  (3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_5$  = 24,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_6$  i  $s_7$  = razgradni metaboliti; kinetički parametri u redovima prikazani su prema redoslijedu danom u tablici 4)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
$p_{25}$							
$\alpha$							
$K$							
$k_3$							
$k_4$							
$k_5$							
$k_6$							
$k_7$							
$k_8$							

**Tablica 13.** Odgovor varijabli modela metabolizma vitamina D na povećanje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (varijable prikazane u stupcima:  $s_1$  = vitamin D iz hrane,  $s_2$  = 25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_3$  = 1,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_4$  = 3-epi-25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  (3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_5$  = 24,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_6$  i  $s_7$  = razgradni metaboliti; kinetički parametri u redovima prikazani su prema redoslijedu danom u tablici 4)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
$p_{25}$							
$\alpha$							
$K$							
$k_3$							
$k_4$							
$k_5$							
$k_6$							
$k_7$							
$k_8$							

**Tablica 14.** Odgovor varijabli modela metabolizma vitamina D na smanjenje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (varijable prikazane u stupcima:  $s_1$  = vitamin D iz hrane,  $s_2$  = 25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_3$  = 1,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_4$  = 3-epi-25-hidroksivitamin  $\text{D}_3$  (3-epi- $25(\text{OH})\text{D}_3$ ),  $s_5$  = 24,25-dihidroksivitamin  $\text{D}_3$  ( $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ),  $s_6$  i  $s_7$  = razgradni metaboliti; kinetički parametri u redovima prikazani su prema redoslijedu danom u tablici 4)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
$p_{25}$							
$\alpha$							
$K$							
$k_3$							
$k_4$							
$k_5$							
$k_6$							
$k_7$							
$k_8$							

**Tablica 15.** Odgovor brzine reakcija modela metabolizma vitamina D na povećanje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (reakcije u stupcima prikazane su redosljedom navedenim u tablici 1; kinetički parametri u redovima prikazani su redosljedom navedenim u tablici 4)

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>	<b>R<sub>8</sub></b>
$p_{25}$								
$\alpha$								
$K$								
$k_3$								
$k_4$								
$k_5$								
$k_6$								
$k_7$								
$k_8$								

**Tablica 16.** Odgovor brzine reakcija modela metabolizma vitamina D na povećanje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (reakcije u stupcima prikazane su redosljedom navedenim u tablici 1; kinetički parametri u redovima prikazani su redosljedom navedenim u tablici 4)

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>	<b>R<sub>8</sub></b>
$p_{25}$								
$\alpha$								
$K$								
$k_3$								
$k_4$								
$k_5$								
$k_6$								
$k_7$								
$k_8$								

**Tablica 17.** Odgovor brzine reakcija modela metabolizma vitamina D na smanjenje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (reakcije u stupcima prikazane su redosljedom navedenim u tablici 1; kinetički parametri u redovima prikazani su redosljedom navedenim u tablici 4)

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>	<b>R<sub>8</sub></b>
<i>p<sub>25</sub></i>								
$\alpha$								
<i>K</i>								
<i>k<sub>3</sub></i>								
<i>k<sub>4</sub></i>								
<i>k<sub>5</sub></i>								
<i>k<sub>6</sub></i>								
<i>k<sub>7</sub></i>								
<i>k<sub>8</sub></i>								

**Tablica 18.** Odgovor brzine reakcija modela metabolizma vitamina D na smanjenje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti vitamina D iz hrane od 64,0  $\mu\text{g}$  u trajanju simulacije od 100 dana (reakcije u stupcima prikazane su redosljedom navedenim u tablici 1; kinetički parametri u redovima prikazani su redosljedom navedenim u tablici 4)

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>	<b>R<sub>8</sub></b>
<i>p<sub>25</sub></i>								
$\alpha$								
<i>K</i>								
<i>k<sub>3</sub></i>								
<i>k<sub>4</sub></i>								
<i>k<sub>5</sub></i>								
<i>k<sub>6</sub></i>								
<i>k<sub>7</sub></i>								
<i>k<sub>8</sub></i>								

## 5. ZAKLJUČAK

Nakon provedbe simulacije modela metabolizma vitamina D, na temelju analize dobivenih rezultata doneseni su sljedeći zaključci:

- 1) Simulacija modela metabolizma vitamina D u računalnom programu *CellDesigner* je uspješna, a promjena koncentracija metabolita vitamina D u skladu je s dosadašnjim eksperimentalnim podacima.
- 2) Glavni nedostatak modela predstavlja unos vitamina D iz hrane koji se u model unosi preko parametra brzine stvaranja  $25(\text{OH})\text{D}_3$  koji zahtijeva dodatne izračune te pretpostavljenu koncentraciju  $25(\text{OH})\text{D}_3$ . Također, zbog pojednostavljenja je isključena uloga ostalih čimbenika koji mogu djelovati na apsorpciju vitamina D što predstavlja nedostatak, ali i mogućnost za buduća istraživanja.
- 3) Uočeno je da suplementacija pokazuje najbolje rezultate u liječenju nedostatka vitamina D te da je za održavanje adekvatnog statusa vitamina D najbolja kombinacija mediteranske prehrane i obogaćene hrane s povremenom konzumacijom namirnica bogatih vitaminom D.
- 4) Analiza lokalne parametarske osjetljivosti omogućuje otkrivanje najvažnijih parametara modela. Prilikom simulacije konstruiranog modela metabolizma vitamina D, parametrima od najveće važnosti pokazali su se parametri brzine stvaranja te brzine razgradnje  $25(\text{OH})\text{D}_3$ . Također, primijećeno je da koncentracija  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  nije u potpunosti ovisna o unosu vitamina D prehranom.
- 5) Sistemska biologija pruža uvid u razumijevanje mehanizama kojima određene komponente hrane djeluju na sprječavanje bolesti i promicanje zdravlja. Daljnja istraživanja u ovom području mogla bi doprinijeti razvoju personalizirane prediktivne i preventivne prehrane koja bi uzela u obzir sve individualne potrebe i karakteristike pojedinca u cilju optimiziranja zdravlja.

## 6. LITERATURA

Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger S, Köstenberger M, Tmava Berisha A, Martucci G, Pilz S, Malle O (2020) Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *Eur J Clin Nutr* **74**, 1498–1513. <https://doi.org/10.1038/s41430-020-0558-y>

Bach-Faig A, Berry E, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, ... Serra-Majem L (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr* **14**, 2274-2284. doi:10.1017/S1368980011002515

Ball GFM (2004) *Vitamins: Their Role in the Human Body*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford.

Barrea L, Muscogiuri G, Laudisio D, Pugliese G, de Alteriis G, Colao A, Savastano S (2020) Influence of the Mediterranean Diet on 25-Hydroxyvitamin D Levels in Adults. *Nutrients* **12**, 1439. <http://dx.doi.org/10.3390/nu12051439>

Beentjes CHL, Taylor-King JP, Bayani A, Davis CN, Dunster JL, Jabbari S, Mirams GR, Jenkinson C, Kilby MD, Hewison M, Tamblyn JA (2019) Defining vitamin D status using multi-metabolite mathematical modelling: A pregnancy perspective. *J Steroid Biochem Mol Biol* **190**, 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.03.024>

Bikle D, Christakos S (2020) New aspects of vitamin D metabolism and action - addressing the skin as source and target. *Nat Rev Endocrinol* **16**, 234–252. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0312-5>

Bordoni A, Astolfi A, Morandi L, Pession A, Danesi F, Di Nunzio M, Franzoni M, Biagi P, Pession A (2007) N-3 PUFAs modulate global gene expression profile in cultured rat cardiomyocytes. Implications in cardiac hypertrophy and heart failure. *FEBS Lett* **581**, 923–929

Capozzi F, Bordoni A (2013) Foodomics: a new comprehensive approach to food and nutrition. *Genes Nutr* **8**, 1–4. <https://doi.org/10.1007/s12263-012-0310-x>

Cashman KD, Kiely M (2014) Recommended dietary intakes for vitamin D: where do they come from, what do they achieve and how can we meet them? *J Hum Nutr Diet* **27**, 434–442 doi: 10.1111/jhn.12226

Chaudhary N, Kumar V, Sangwan P, Pant NC, Saxena A, Joshi S, Yadav AN (2020) Personalized Nutrition and -Omics. Reference Module in Food Science. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22880-1>.

Cifuentes A (2012) Food analysis: Present, future, and foodomics. *Int Sch Res Notices* **2012**, 1-16.

EFSA (2016) European Food Safety Authority, Dietary reference values for vitamin D. *EFSA J* **14**, 1 – 121.

Funahashi A, Matsuoka Y, Jouraku A, Morohashi M, Kikuchi N, Kitano H (2008) CellDesigner 3.5: A versatile modeling tool for biochemical networks. *Proc IEEE* **96**, 1254-1265. <https://doi.org/10.1109/JPROC.2008.925458>

Funahashi A, Morohashi M, Kitano H, Tanimura N (2003) CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico* **1**, 159-162.

Galior K, Grebe S, Singh R (2018) Development of Vitamin D Toxicity from Overcorrection of Vitamin D Deficiency: A Review of Case Reports. *Nutrients* **10**, 953. <https://doi.org/10.3390/nu10080953>

Holick MF (2017) The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* **18**, 153-165.

Hosseini-nezhad A, Holick MF (2012) Optimize dietary intake of vitamin D. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **15**, 567–579. doi:10.1097/mco.0b013e3283594978

IOM (Institute of Medicine) (2011) Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press

Kitano H (2002) System biology: a brief overview. *Science* **295**, 1662-1664. <https://doi.org/10.1126/science.1069492>.

Kučan R, Soltirovska Salamon A, Andronikov D, Benedik E (2018) Dietary Sources of Vitamin D, Vitamin D Supplementation, and Its Bio-Viability. *Eur J Pediatr* **14**, 115-122. doi:10.5457/p2005-114.209.

Laktašić-Žerjavić N, Koršić M, Crnčević-Orlić Z, Anić B (2011) Vitamin D: vitamin prošlosti, hormon budućnosti [Vitamin D: vitamin from the past and hormone of the future]. *Lijec Vjesn* **133**, 194–204.

Ledesma-Amaro R, Santos MA, Jiménez A, Revuelta JL (2013) Microbial Production of Vitamins. doi:10.1533/9780857093547.2.571.

Leidig-Bruckner G, Roth HJ, Bruckner T, Lorenz A, Raue F, Frank-Raue K (2011) Are commonly recommended dosages for vitamin D supplementation too low? Vitamin D status and effects of supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels--an observational study during clinical practice conditions. *Osteoporos Int* **22**, 231–240. <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1214-5>

Leskovar D, Meštrović T, Barešić A, Kraljević I, Panek M, Čipčić Paljetak H, ... Verbanac D (2018) Uloga vitamina D u upalnoj bolesti crijeva – procjena terapijskog i preventivnog potencijala nadomještanja vitamina i obogaćivanje hrane. *Food Technol Biotechnol* **56**, 455-463. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.04.18.5805>

Link KG, Stobb MT, Di Paola J, Neeves KB, Fogelson AL, Sindi SS i sur. (2018) A local and global sensitivity analysis of a mathematical model of coagulation and platelet deposition under flow. *Plos One* **13**, 1-38. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200917>

Manzoni C, Kia DA, Vandrovцова J (2018) Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences. *Briefings Bioinf* **19**, 286-302. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw114>

Marino S, Hogue IB, Ray CJ, Kirschner DE (2008) A methodology for performing global uncertainty and sensitivity analysis in systems biology. *J Theor Biol* **254**, 178-196. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.04.011>.

Martini S, Solieri L, Tagliazucchi D (2021) Peptidomics: New trends in food science. *Curr Opin Food Sci* **39**, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.016>

Matsuoka Y, Funahashi A, Ghosh S, Kitano H (2014) Modeling and Simulation Using Celldesigner. *Method Mol Cell Biol* **1164**, 45-121. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9_11)

Mc Auley MT (2020) Systems biology and nutrition. U: Marriott BP, Birt DF, Stalling VA, Yates AA (ured.) Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism, 11. izd., Elsevier, str. 593-604.

Moore JB, Weeks ME (2011) Proteomics and systems biology: current and future applications in the nutritional sciences. *Adv Nutr* **2**, 355–364. <https://doi.org/10.3945/an.111.000554>



- Mosekilde L (2005) Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol* **62**, 265–281.
- Moulas AN, Vaiou M (2018) Vitamin D fortification of foods and prospective health outcomes. *J Biotechnol* **285**, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.08.010>
- Muntingh G (2016) Vitamin D – The Vitamin Hormone. *S Afr Fam Pract* **58**, 32-36.
- National Institutes of Health (NIH) Office of Dietary Supplements (ODS) (2022) Vitamin D. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/> Pristupljeno 15. ožujka 2023.
- Nobeli I, Thornton JM (2006) A bioinformatician's view of the metabolome. *Bioessays* **28**, 534–545.
- Panagiotou G, Nielsen J (2009) Nutritional System Biology: Definitions and Approaches. *Annu Rev Nutr* **29**, 329-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141138>.
- Pludowski P, Kos-Kudła B, Walczak M, Fal A, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Sieroszewski P, Peregud-Pogorzelski J, Lauterbach R, Targowski T, Lewiński A, Spaczyński R, Wielgoś M, Pinkas J, Jackowska T, Helwich E, Mazur A, Ruchała M, Zygmunt A, Szalecki M, Bossowski A, Czech-Kowalska J, Wójcik M, Pyrżak B, Żmijewski MA, Abramowicz P, Konstantynowicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Bleizgys A, Karras SN, Grant WB, Carlberg C, Pilz S, Holick MF, Misiorowski W (2023) Guidelines for Preventing and Treating Vitamin D Deficiency: A 2023 Update in Poland. *Nutrients* **15**, 695. <https://doi.org/10.3390/nu15030695>
- Pludowski P, Takacs I, Boyanov M, Belaya Z, Diaconu CC, Mokhort T, Zherdova N, Rasa I, Payer J, Pilz S (2022) Clinical Practice in the Prevention, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency: A Central and Eastern European Expert Consensus Statement. *Nutrients* **14**, 1483. <https://doi.org/10.3390/nu14071483>
- Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH, Kovacs CS (2012) The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* **33**, 456–492. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1000>
- Saltelli A, Tarantola S, Campolongo F (2000) Sensitivity analysis as an ingredient of modelling. *Stat Sci* **15**, 377–395.
- Simoni G, Thanh Vo H, Priami C, Marchetti L (2020) A comparison of deterministic and stochastic approaches for sensitivity analysis in computational systems biology. *Brief Bioinform* **21**, 527–540.

Sizar O, Khare S, Goyal A, i sur. (2023) Vitamin D Deficiency. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532266/>

Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, i sur. (2008) Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status. *Ann Endocrinol* **69**, 501-510. doi: 10.1016/j.ando.2008.07.010. PMID: 18804195.

Stokes CS, Volmer DA, Grünhage F, Lammert F (2013) Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int* **33**, 338–352. doi:10.1111/liv.12106

Tsiaras W, Weinstock MA (2011) Factors Influencing Vitamin D Status. *Acta Derm-Venereol* **91**, 115–124. <https://doi.org/10.2340/00015555-0980>

USDA (2019) U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central, 2019. [fdc.nal.usda.gov](http://fdc.nal.usda.gov).

Valdés A, Álvarez-Rivera G, Socas-Rodríguez B, Herrero M, Ibáñez E, Cifuentes A (2022) Foodomics: Analytical Opportunities and Challenges. *Anal chem* **94**, 366–381. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04678>.

Valdés A, Cifuentes A, León C (2017) Foodomics evaluation of bioactive compounds in foods. *TrAC - Trends Anal Chem* **96**, 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.06.004>.

Vranešić Bender D, Giljević Z, Kušec V, Laktašić Žerjavić N, Bošnjak Pašić M, Vrdoljak E, Ljubas Kelečić D, Reiner Ž, Anić B, Krznarić Ž (2016) Smjernice za prevenciju, prepoznavanje i liječenje nedostatka vitamina d u odraslih. *Lijec vjesn* **138**, 121-132.

Wang H, Chen W, Li D, Yin X, Zhang X, Olsen N, Zheng SG (2017) Vitamin D and Chronic Diseases. *Aging Dis* **8**, 346–353. <https://doi.org/10.14336/AD.2016.1021>

Zupo R, Lampignano L, Lattanzio A, Mariano F, Osella AR, Bonfiglio C, Pergola GD (2020) Association between adherence to the Mediterranean Diet and circulating Vitamin D levels. *Int J Food Sci Nutr* **71**, 884–890. doi:10.1080/09637486.2020.1744533

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Josipa Juričić, izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

*Josipa Juričić*

Vlastoručni potpis