

Analiza modela metabolizma kolesterola

Sinković, Anđela

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:576332>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-07**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, ožujak 2023.

Anđela Sinković

**ANALIZA MODELA
METABOLIZMA KOLESTEROLA**

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

ANALIZA MODELA METABOLIZMA KOLESTEROLA

Anđela Sinković, univ. bacc. nutr.0177053092

Sažetak: U ovom radu provedena je analiza modela metabolizma kolesterola u računalnom programu *CellDesigner*. Simulacije modela provedene su koristeći različite početne vrijednosti kolesterola iz hrane koje su dobivene iz jelovnika izrađenih u okviru ovog rada – jelovnik za vegetarijansku prehranu, uravnoteženu prehranu i ketogenu prehranu. Model uspješno simulira promjenu koncentracije kolesterola i njegovih metabolita. Rezultati ukazuju na utjecaj mase kolesterola iz hrane na masu crijevnog i jetrenog kolesterola te na manjak utjecaja na koncentracije metabolita kolesterola u krvnoj plazmi. Provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti u kojoj se crijevni kolesterol pokazao kao najosjetljivija varijabla, a parametri jetrene sinteze nascentnog HDL-a i nastanka VLDL kolesterola iz jetrenog kolesterola pokazali su najveći utjecaj na izlazne rezultate nakon simulacije modela.

Ključne riječi: *model matabolizma kolesterola, CellDesigner, sistemska biologija, analiza lokalne parametraske osjetljivosti*

Rad sadrži: 50 stranica, 23 slike, 8 tablica, 36 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

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

Datum obrane: 27. ožujka 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

ANALYSIS OF CHOLESTEROL METABOLISM MODEL

Anđela Sinković, univ. bacc. nutr.0177053092

Abstract: Analysis of cholesterol metabolism model was performed using the *CellDesigner* software. Simulations of the constructed model were conducted using different initial values of dietary cholesterol, obtained from three different menus created for the purposes of thesis – vegetarian diet menu, balanced diet menu and keto diet menu. Model successfully simulates metabolism of cholesterol and its metabolites. Results show that mass of dietary cholesterol has an impact on masses of intestinal and hepatic cholesterol, but not on the concentrations of cholesterol metabolites in the blood plasma. Based on the analysis of local parameter sensitivity it was concluded that intestinal cholesterol is the most sensitive variable of the model. Parameters defining hepatic nascent HDL synthesis and VLDL cholesterol formation were shown to have the greatest impact on the results of the simulation.

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

Thesis contains: 50 pages, 23 figures, 8 tables, 36 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, Assistant 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: March 27th, 2023

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SVOJSTVA KOLESTEROLA	2
2.2. LIPOPOTEINI	3
2.3. METABOLIZAM KOLESTEROLA	5
2.3.1. Sinteza kolesterola <i>de novo</i>	5
2.3.2. Apsorpcija	5
2.3.3. Transport	5
2.3.4. Izlučivanje	6
2.3.5. Obrnuti prijenos kolesterola	6
2.3.6. Regulacija metabolizma	7
2.4. KOLESTEROL KAO ČIMBENIK RIZIKA ZA RAZVOJ SRČANO-ŽILNIH OBOLJENJA	7
2.5. UTJECAJ PREHRANE NA KOLESTEROL U KRVI	8
2.5.1. Zasićene masne kiseline i kolesterol u krvi	8
2.5.2. Prehrambena vlakna i kolesterol u krvi	9
2.5.3. Kolesterol iz hrane i kolesterol u krvi	9
2.6. SISTEMSKA BIOLOGIJA I NJEZINA PRIMJENA U NUTRICIONIZMU	11
2.6.1. Discipline u sistemskoj biologiji	11
2.6.2. Značaj sistemske biologije u nutricionističkim istraživanjima	11
2.6.3. Moguće primjene sistemske biologije u budućnosti	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. MATERIJALI	14
3.1.1. <i>CellDesigner</i>	14
3.1.2. Model metabolizma kolesterola	16
3.1.3. Smjernice za izradu jelovnika	22
3.2. METODE	23
3.2.1. Razvoj i simulacija modela u programu <i>CellDesigner</i>	23
3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti	24
4. REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA KOLESTEROLA	25
4.2. PRIKAZ JELOVNIKA	26

4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA KOLESTEROLA	30
4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI	38
5. ZAKLJUČCI	46
6. LITERATURA	47

1. UVOD

Kolesterol ima brojne značajne uloge u ljudskom organizmu. Služi kao građevna jedinica staničnih membrana gotovo svih stanica u tijelu, neophodan je za odvijanje procesa sinteze žučnih soli te služi kao prekursor u sintezi steroidnih hormona. S druge strane, visoke koncentracije kolesterola u krvnoj plazmi povezane su s razvojem aterosklerotskih procesa i povećanim rizikom od bolesti krvožilnog sustava.

Kako bi sve stanice u ljudskom tijelu bile adekvatno opskrbljene kolesterolom, u crijevu se apsorbira dio kolesterola unesenog hranom, kao i kolesterol koji sintetizira sam ljudski organizam. S obzirom na važnost održavanja ravnoteže između apsorbiranog, sintetiziranog i izlučenog kolesterola, postoji niz enzima i reakcija čija je aktivnost u tijelu regulirana upravo količinom kolesterola dostupnog tkivima.

Spoznajom o štetnosti visokih koncentracija kolesterola u plazmi po zdravlje krvožilnog sustava započeo je niz istraživanja ove molekule i njenih prehrambenih izvora. Dugo se smatralo da je unos kolesterola iz hrane direktno povezan s koncentracijom kolesterola u plazmi. Međutim, nova istraživanja dovela su do zaključka da ne postoji izravna povezanost višeg unosa kolesterola iz hrane i više razine kolesterola u plazmi. Naglasak se stavlja na sagledavanje proširene slike prehrane i potencijalan utjecaj drugih nutrijenata na kolesterol u krvi, posebice zasićenih masnih kiselina.

Dokazano je da postoje značajne razlike između različitih vrsta kolesterola odnosno lipoproteina na koje su vezane molekule kolesterola, a najpoznatiji su LDL kolesterol vezan za lipoproteine niske gustoće i HDL kolesterol vezan za lipoproteine visoke gustoće. Njihov omjer u krvnoj plazmi predstavlja biomarker za procjenu rizika od srčano-žilnih oboljenja.

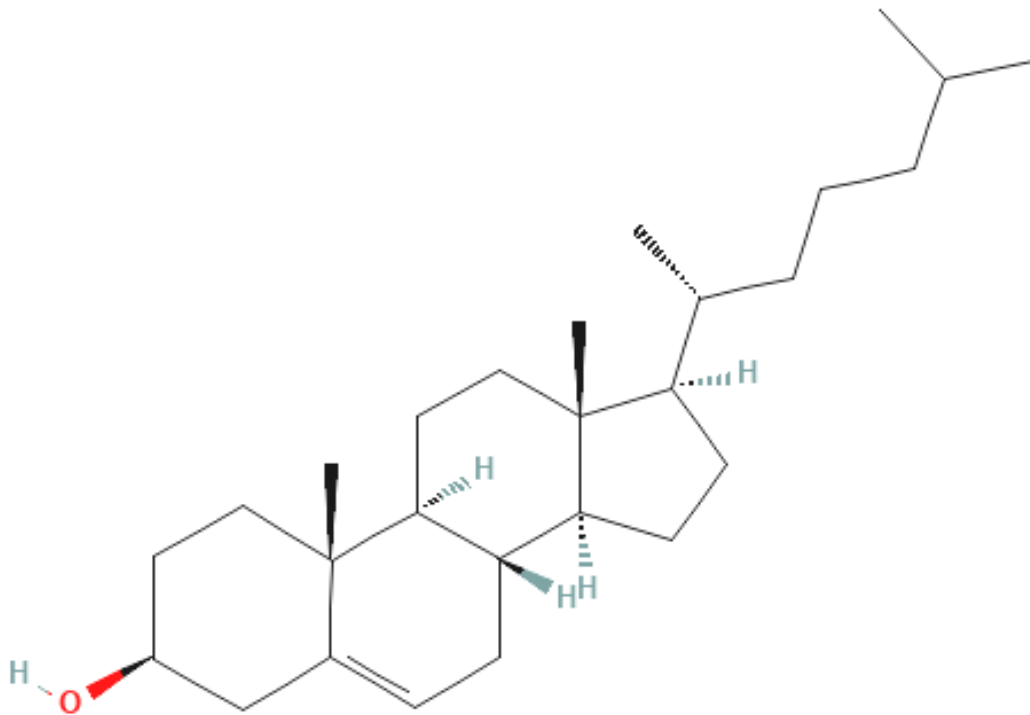
Za jednostavniji prikaz i lakše razumijevanje složenih metaboličkih mreža u posljednje se vrijeme sve više koriste računalni modeli nastali kao dio znanstvene grane pod nazivom sistemska biologija. Sistemska biologija temelji se na odmaku od redukcionističkog pristupa istraživanjima te na zastupanju sveobuhvatnog, holističkog pristupa. Računalno modeliranje složenih biokemijskih mreža i metaboličkih puteva ubrzo je pronašlo namjenu i u nutricionizmu, gdje je omogućilo istovremeno proučavanje utjecaja više nutrijenata na organizam, ali i utjecaj stanja organizma na iskorištenje nutrijenata.

Cilj ovog rada bio je konstruirati računalni model metabolizma kolesterola u računalnom programu *CellDesigner* te simulacijom konstruiranog modela istražiti utjecaj unosa različitih količina kolesterola iz hrane na razine ostalih metabolita prisutnih u modelu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SVOJSTVA KOLESTEROLA

Molekulska formula kolesterola glasi $C_{27}H_{46}O$. Pri standardnim uvjetima nalazi se u čvrstom agregatnom stanju, u obliku bijelih ili blijedo žutih granula ili kristala (slika 1)(1). Karakteristično svojstvo strukture kolesterola je steroidna jezgra od četiri ugljikovodična prstena povezana s ugljikovodičnim repom koji se sastoji od osam ugljikovodičnih lanaca. Kolesterol je najzastupljeniji sterol u životinjskim tkivima, a u ljudskom organizmu ima brojne značajne uloge. Služi kao strukturna komponenta u staničnim membranama gotovo svih stanica te osigurava fluidnost stanične membrane(2).



Slika 1. Struktura kolesterola(*prema 1*)

Raspodjela kolesterola unutar stanice je neravnomjerna: stanična membrana sadrži najviše koncentracije kolesterola, dok je endoplazmatski retikulum dio stanice koji je njime najsiromašniji. Ovakva raspodjela povezana je sa specifičnim ulogama koje različiti organeli obavljaju u stanici. Povišen sadržaj kolesterola u staničnoj membrani omogućuje veću čvrstoću i smanjenu propusnost za male molekule, u skladu s njezinom zaštitnom ulogom. S druge strane, smanjen sadržaj kolesterola u endoplazmatskom retikulumu čini njegovu

membranu fleksibilnijom kako bi se omogućilo umetanje proteina unutar lipidnog dvosloja(3).

Kolesterol je prekursor za sintezu spolnih hormona poput estrogena, testosterona i progesterona te kortikosterioda poput kortikosterona, kortizola, kortizona i aldosterona. Kolesterol služi i kao prekursor za sintezu žučnih soli koje su neophodne za crijevnu apsorpciju kolesterola, masti i vitamina topljivih u mastima(4).

2.2. LIPOPROTEINI

Lipoproteini su složene čestice koje se najčešće dijele prema svojoj gustoći. Prema tom kriteriju, lipoproteini se mogu razvrstati u sedam različitih skupina prikazanih u tablici 1. Sve navedene vrste lipoproteina sastoje se od neutralne lipidne jezgre sastavljene od estera kolesterola i triacilglicerida, okružene hidrofilnom ovojnicom koju čine amfipatski apolipoproteini, fosfolipidi i neesterificirani kolesterol(2). Uloga apolipoproteina je olakšavanje stvaranja i obavljanja funkcije lipoproteina.

Tablica 1. Vrste lipoproteina i njihova relativna gustoća(*prema 5*)

LIPOPROTEIN	GUSTOĆA (g/mL)
hilomikroni (eng. <i>chylomicrons, CM</i>)	< 0,930
ostaci hilomikrona (eng. <i>chylomicron remnants, CR</i>)	0,930 – 1,006
lipoproteini vrlo niske gustoće (eng. <i>very low density lipoproteins, VLDL</i>)	0,930 – 1,006
lipoproteini srednje gustoće (eng. <i>intermediate density lipoproteins, IDL</i>)	1,006 – 1,019
lipoproteini niske gustoće (eng. <i>low density lipoproteins, LDL</i>)	1,019 – 1,063
lipoproteini visoke gustoće (eng. <i>high density lipoproteins, HDL</i>)	1,063 – 1,210
lipoprotein (a) (eng. <i>lipoprotein (a), LP(a)</i>)	1,055 – 1,085

Hilomikroni su velike čestice niske gustoće bogate trigliceridima, čija je uloga prijenos prehrambenih triglicerida i kolesterola do perifernih tkiva i jetre. Stvaraju se u crijevima.

Ostaci hilomikrona su čestice koje nastaju u procesu uklanjanja triglicerida iz hilomikrona. Taj se proces događa prvenstveno u perifernom tkivu. U odnosu na hilomikrone, nastali ostaci hilomikrona su manjeg volumena, bogatiji kolesterolom te ispoljavaju jači aterogeni učinak. Lipoproteini vrlo niske gustoće nastaju u jetri i bogati su trigliceridima, a manjeg su volumena od hilomikrona. Njihova veličina može varirati u ovisnosti o količini triglicerida koju prenose, što znači da su otpuštene čestice VLDL-a veće u stanjima povećane proizvodnje triglicerida u jetri.

Lipoproteini srednje gustoće nastaju kao produkt reakcije uklanjanja triglicerida iz čestica VLDL-a u mišićnom tkivu. Nastale čestice IDL-a bogatije su kolesterolom i imaju jači aterogeni učinak u usporedbi s česticama VLDL-a. Lipoproteini niske gustoće nastaju daljnjim obogaćivanjem VLDL ili IDL čestica kolesterolom. Od svih lipoproteina, LDL čestice odgovorne su za prijenos najvećeg dijela kolesterola koji se nalazi u cirkulaciji(5). Uloga LDL-a je prijenos kolesterola do perifernih tkiva. Njegova povišena razina može uzrokovati veće nakupljanje masti u lumenu krvnih žila i stvaranja plaka što posljedično dovodi do sužavanja krvnih žila. Navedene pojave spadaju u obilježja aterosklerotskog procesa i na njima se temelji karakterizacija LDL kolesterola kao nepoželjnog, „lošeg“ kolesterola odgovornog za povećan rizik od bolesti krvožilnog sustava kod ljudi(2).

S druge strane, lipoproteini visoke gustoće odgovorni su za „reverzni“ ili obrnuti prijenos kolesterola, odnosno za njegov prijenos u smjeru od perifernog tkiva prema jetri u svrhu sinteze žučnih soli ili steroidnih hormona. Iz tog razloga, HDL se smatra poželjnim, „dobrim“ kolesterolom i dokazan je njegov pozitivan učinak na zdravlje krvožilnog sustava, s najvećim utjecajem na zaštitu krvnih žila i zaustavljanje napredovanja aterosklerotskog procesa(6). Tom zaštitnom utjecaju HDL-a doprinosi i njegovo antioksidativno, protuupalno i protuapoptotsko djelovanje. Postoji više podvrsta HDL čestica koje se mogu dijeliti prema gustoći, veličini, naboju ili sastavu apolipoproteina. Međutim, zajedničko svojstvo svim podvrstama je visoka zasićenost kolesterolom i fosfolipidima(5). Procijenjeno je da povećanje koncentracije HDL-kolesterola od 1 mg/dL dovodi do smanjenja rizika od razvoja srčano-žilnih oboljenja za 2-3 %(6).

2.3. METABOLIZAM KOLESTEROLA

2.3.1. Sinteza kolesterola *de novo*

Gotovo sva tjelesna tkiva imaju sposobnost sinteze kolesterola iz acetil-koenzima A u nizu enzimski posredovanih reakcija koje se uglavnom događaju na endoplazmatskom retikulumu, ali ovaj se proces pretežno događa u jetri, crijevima te reproduktivnim organima. Glavni regulacijski enzim u ovom metaboličkom putu je 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktaza. On katalizira prvi korak u reakcijama redukcije HMG-CoA do kolesterola. Prisutnost kolesterola, kao i upotreba statina, smanjuje ekspresiju HMG-CoA reduktaze(2). Osim regulacije aktivnosti enzima odgovornih za sintezu kolesterola, postoji još jedan način održavanja homeostaze kolesterola, a odnosi se na smanjenje ekspresije proteina receptora za LDL (LDLr) u slučaju povišene razine neesterificiranog kolesterola u stanici. Oba mehanizma djeluju s ciljem sprječavanja daljnjeg porasta razine staničnog kolesterola(7). Ukoliko je apsorpcija kolesterola iz hrane povećana, njegova sinteza *de novo* bit će smanjena kako bi se održalo stanje homeostaze(2).

2.3.2. Apsorpcija

Kolesterol unesen putem hrane, kao i kolesterol koji nastaje iz žuči apsorbira se u tankom crijevu. Postoje značajne razlike između udjela apsorbiranog kolesterola unutar skupine zdravih pojedinaca i taj se raspon kreće u vrijednostima između 29 % i 80 %. Ove individualne razlike pripisuju se složenosti procesa apsorpcije koji se odvija u više koraka, a u svakom od tih koraka sudjeluje velik broj enzima i transportnih proteina. Neki od koraka u metabolizmu kolesterola još uvijek nisu potpuno razjašnjeni, ali jasno je da se tijekom probave hrane iz jetre i žučnog mjehura u crijevo izlučuju žučne soli. S obzirom da je kolesterol netopljiv u vodenom mediju, žučne soli služe za stvaranje lipidnih micela koje se zatim transportiraju do četkaste prevlake na cijevnim stanicama u jejunumu, gdje se odvija prijenos kolesterola u cijevne stanice odnosno enterocite(7).

2.3.3. Transport

Nakon ulaska u enterocite kolesterol se može ponovno prenijeti u lumen crijeva u svrhu njegovog izlučivanja. Taj se prijenos odvija uz pomoć membranskih proteina nazvanih adenozin trifosfat vezujući kasetni prijenosnici (eng. *ATP-binding cassette transporter, ABC*). Dio kolesterola koji se ne vraća natrag u lumen crijeva, u unutrašnjosti enterocita

prolazi kroz proces esterifikacije uz djelovanje enzima acil–koenzim A kolesterol aciltransferaze (eng. *acyl-CoA-cholestereol acyltransferase, ACAT*)(7). Zbog svojstava nepolarnosti i hidrofobnosti ugljikovodičnog lanca i središnjeg prstena u strukturi kolesterola, dolazi do spajanja kolesterola s apoproteinima, a proizvod ovog procesa je spoj apolipoprotein koji omogućuje prijenos kolesterola putem krvi(8).

2.3.4. Izlučivanje

U ljudskom organizmu ne postoje enzimi koji bi mogli razgraditi prstenastu strukturu kolesterola, stoga se on ne može metabolizirati do ugljičnog dioksida i vode. Velik dio kolesterola u tijelu koristi se za pretvorbu u žučne soli tijekom procesa njihove biosinteze. Ovaj je korak značajan za sniženje koncentracije kolesterola u plazmi te za uklanjanje viška kolesterola iz tijela. Žučne soli proizvedene u jetri prenose se do probavnog sustava, odakle se mogu ponovno apsorbirati ili izlučiti iz tijela. Jedan od načina izlučivanja kolesterola je njegova pretvorba u druge sterolne produkte uz pomoć modifikacija pojedinih supstituenata na ugljikovodičnom repu ili na prstenastoj strukturi molekule kolesterola(4).

2.3.5. Obrnuti prijenos kolesterola

Tok kolesterola u smjeru od perifernog tkiva prema jetri poznat je pod nazivom obrnuti ili reverzni prijenos kolesterola. Ovaj metabolički put igra važnu ulogu u održavanju ravnoteže razine kolesterola te obuhvaća procese izbacivanja viška kolesterola iz stanica perifernog tkiva, njegova prijenosa putem krvotoka, dostavljanje u jetru i izlučivanje iz tijela. HDL čestice u ovom metaboličkom putu služe kao specifični prijenosnici kolesterola. Postoji više puteva kojima se kolesterol može prenijeti na HDL, od jednostavne pasivne difuzije do složenih transportnih procesa koji uključuju ATP vezujuće kasetne prijenosnike A1 i G1 (ABCA1 i ABCG1). Vezani kolesterol zatim prolazi proces esterifikacije uz djelovanje enzima lecitin-kolesterol aciltransferaze (LCAT). Posljedica ove reakcije je nastanak estera kolesterola, a čestice HDL-a koje vežu kolesterol u esterificiranom obliku postaju zrele HDL čestice. U jetri dolazi do hidrolize estera kolesterola nakon čega se slobodni kolesterol može izravno izlučiti u žuč putem ABCG5 i ABCG8 prijenosnika kako bi se izbacio putem fecesa, a može se izlučiti i neizravno, prethodnom pretvorbom kolesterola u žučne soli ili kiseline(6).

2.3.6. Regulacija metabolizma

Organ koji je najviše uključen u regulaciju metabolizma kolesterola je jetra. Smatra se da proces regulacije započinje u trenutku ulaska kolesterola u jetrene stanice. Ukoliko je koncentracija kolesterola niska, povećava se stopa njegove biosinteze i obrnuto, ukoliko je koncentracija visoka, biosinteza kolesterola se usporava.

Jetra aktivno preuzima kolesterol iz lipoproteina putem receptora za LDL koji prihvaćaju LDL čestice iz krvotoka te receptora sličnih LDL-u koji prihvaćaju hilomikrone iz probavnog sustava. Kao što je već spomenuto, kolesterol u jetru može dospjeti i obrnutim prijenosom putem HDL-a(9). Jetra je i važno mjesto sinteze kolesterola *de novo*, služi kao skladište estera kolesterola te je uključena u izlučivanje lipoproteina koji sadrže kolesterol. Još jedna važna uloga jetre je uklanjanje viška kolesterola iz tijela i to izlučivanjem u žuč ili pretvorbom u žučnu kiselinu. Ostatak kolesterola, koji se ne iskoristi za pretvorbu u žučnu kiselinu i ne izluči u žuč, može biti otpušten iz jetre i putem cirkulacije dospjeti do perifernih tkiva(7). Slobodni kolesterol može jetru napustiti vezanjem za HDL ili stvaranjem kompleksa sa trigliceridima i apolipoproteinima pri čemu nastaje VLDL(9).

2.4. KOLESTEROL KAO ČIMBENIK RIZIKA ZA RAZVOJ SRČANO-ŽILNIH OBOLJENJA

Jedan od biljega srčano-žilnih poremećaja je ateroskleroza, stanje karakterizirano odlaganjem kolesterola i vlaknastog vezivnog tkiva u stijenke arterija praćeno kroničnim upalnim procesom. Posljedica nakupljanja kolesterola i zadebljanja stijenki arterija jest smanjenje unutrašnjeg promjera arterijskog lumena i ometanje protoka krvi(2).

Utvrđena je povezanost povišene razine kolesterola u krvi s povećanim rizikom od srčano-žilnih oboljenja od kojih su najučestaliji koronarna bolest srca i srčani udar te je uočeno da su stope smrtnosti više u zemljama čiji stanovnici imaju više prosječne vrijednosti kolesterola u krvi u odnosu na zemlje čiji stanovnici imaju niže prosječne vrijednosti kolesterola u krvi(10).

Neupitna je povezanost povišene razine LDL kolesterola i rizika od srčano-žilnih oboljenja.

Smatra se da čestice LDL kolesterola u svom izvornom obliku nemaju negativan učinak na zdravlje, već za ispoljavanje nepovoljnog djelovanja moraju biti modificirane. Vezanjem za proteoglikane dolazi do promjena strukture LDL-a koje utječu na promjenu konfiguracije apolipoproteina i sastav lipida unutar same čestice. Posljedica tih promjena je povećana osjetljivost na oksidaciju i međusobno povezivanje čestica te nastanak pjenastih stanica i izazivanje upalnog odgovora. Novonastali oksidirani LDL može izazvati daljnje stvaranje

proteoglikana unutar stanica glatkog mišićja krvnih žila što dovodi do još većeg taloženja i zadržavanja čestica LDL-a u arterijskom zidu te posljedično do pogoršavanja stanja ateroskleroze(11).

Analizom randomiziranih kontroliranih istraživanja provedenih u prošlosti uočeno je da prehrabene intervencije koje dovode do sniženja razine kolesterola u plazmi također dovode i do smanjenja učestalosti pojave događaja vezanih za bolesti krvožilnog sustava. S druge strane, ispitivani prehrabeni obrasci koji nisu djelovali na sniženje razine kolesterola u plazmi, nisu pokazali niti utjecaj na pojavu i brojnost srčanožilnih oboljenja(10).

2.5. UTJECAJ PREHRANE NA KOLESTEROL U KRVI

2.5.1. Zasićene masne kiseline i kolesterol u krvi

Prehrabeni unos zasićenih masnih kiselina pokazuje najveću povezanost sa povišenjem razine LDL kolesterola u plazmi, uz istovremeno blago povišenje HDL kolesterola. Jedan od načina za snižavanje razine LDL kolesterola, ali i rizika od srčano-žilnih bolesti i komplikacija je ograničavanje unosa zasićenih masnih kiselina. Postoje razlike u utjecaju pojedinačnih zasićenih masnih kiselina na razinu lipida i lipoproteina, a duljina lanca smatra se najznačajnijim čimbenikom koji određuje razlike u biološkim učincima različitih zasićenih masnih kiselina. Općenito, najzastupljenije zasićene masne kiseline u ljudskoj prehrani su palmitinska, stearinska, miristinska i laurinska masna kiselina. Prehrabeni izvori palmitinske kiseline su biljna ulja, mliječni proizvodi te meso; izvori stearinske kiseline su meso, mliječni proizvodi i čokolada; izvori miristinske kiseline su mliječni proizvodi i tropska ulja, posebice kokosovo ulje; izvori laurinske kiseline također su mliječni proizvodi i tropska ulja.

Laurinska kiselina (12:0) ima najveći utjecaj na povišenje LDL kolesterola i HDL kolesterola, dok stearinska kiselina (18:0) ne pokazuje utjecaj na povišenje razine LDL kolesterola(12). Ta je pojava objašnjena sporijom i manje učinkovitom apsorpcijom stearinske masne kiseline, kao i njenom pretvorbom u oleinsku masnu kiselinu procesom desaturacije(13).

U praksi, ograničavanje prehrabnog unosa zasićenih masnih kiselina u pravilu dovodi do povećanja unosa nekog drugog nutrijenta kako bi se održalo stanje energetske ravnoteže u organizmu. Najbolji učinak na zdravlje krvožilnog sustava postiže se zamjenom zasićenih masnih kiselina višestruko nezasićenim ili jednostruko nezasićenim masnim kiselinama. Kod zamjene zasićenih masnih kiselina ugljikohidratima, treba obratiti pažnju na vrstu

ugljikohidrata koji se pretežito konzumiraju: kvalitetni ugljikohidrati poput onih iz žitarica, voća i povrća pokazuju pozitivan učinak, dok visok unos jednostavnih šećera može poništiti povoljne učinke smanjenog unosa zasićenih masnih kiselina(14). Prehrana niskog glikemijskog indeksa također može značajno utjecati na sniženje razine LDL kolesterola u usporedbi s prehranom visokog glikemijskog indeksa(15).

2.5.2. Prehrambena vlakna i kolesterol u krvi

Prehrambena vlakna su skupina ugljikohidrata i lignina koji se smatraju neprobavljivima, zbog toga što ih enzimi prisutni u ljudskom metabolizmu ne mogu hidrolizirati pa je njihova apsorpcija u crijevu onemogućena. Dijele se na dvije velike skupine: topljiva i netopljiva prehrambena vlakna. Topljiva vlakna otporna su na djelovanje probavnih enzima, ali ih bakterije u debelom crijevu mogu djelomično razgraditi do kratkolančanih masnih kiselina. Netopljiva vlakna prolaze cijelom dužinom probavnog sustava nepromijenjena(16).

Dokazano je da povećanje ukupnog unosa vlakana, kao i zasebno povećanje unosa topljivih ili netopljivih vlakana doprinosi smanjenju rizika od srčano-žilnih oboljenja(17). Postoji više mehanizama kojima se objašnjava povoljno djelovanje vlakana unesenih prehranom na lipidni profil i snižavanje razine kolesterola u krvi. Za početak, tijekom probave vlakna ometaju apsorpciju kolesterola u tankom crijevu što dovodi do smanjenja sadržaja kolesterola u hilomikronima i smanjenog dopremanja kolesterola u jetru. Manjak dostupnog kolesterola u jetri mijenja regulaciju sinteze i degradacije receptora za LDL i uzrokuje smanjenje koncentracije LDL kolesterola u plazmi(18). Vlakna mogu smanjiti i apsorpciju žučnih kiselina u taknom crijevu što dovodi do povećanog iskorištenja jetrenog kolesterola u svrhu sinteze žučnih soli. Također, već spomenuta fermentacija topljivih prehrambenih vlakana u debelom crijevu i nastanak kratkolančanih masnih kiselina poput acetata, propionata i butirata dovodi do promjena u sastavu crijevne mikroflore u smjeru poticanja rasta korisnih bakterija te inhibira sintezu kolesterola u jetri(16).

2.5.3. Kolesterol iz hrane i kolesterol u krvi

U proteklih par desetljeća vladala je pretpostavka kako je prehrambeni kolesterol usko i izravno povezan s razinom kolesterola u krvi, odnosno da je kolesterol unesen hranom glavni krivac za povišene koncentracije kolesterola u krvi. Međutim, suprotno tim pretpostavkama,

danas se smatra kako prehrambeni unos kolesterola kod većine ljudi tek zanemarivo pridonosi povišenju kolesterola u krvi i riziku od razvoja srčano-žilnih oboljenja. Jedno od mogućih objašnjenja za neopravdano okrivljavanje prehrambenog kolesterola je činjenica da većina namirnica koja sadrži veće količine kolesterola, također sadrži i značajne količine zasićenih masnih kiselina. Upravo zasićene masne kiseline danas se smatraju glavnim prehrambenim uzrokom povišenja kolesterola, posebice LDL čestica. Također, utvrđeno je da egzogeni unos i endogena sinteza kolesterola međusobno djeluju mehanizmom povratne sprege: povišeni egzogeni unos kolesterola putem hrane dovodi do njegove smanjene sinteze *de novo* i na taj način pomaže održavanju homeostaze kolesterola u tijelu(2). Iz navedenih razloga, znanstvenici su sve više pažnje počeli pridodavati otkrivanju utjecaja drugih nutrijenata na metabolizam kolesterola, umjesto prihvaćanja jednostavne pretpostavke da sami veći unos kolesterola znači i veći potencijal za njegovo štetno djelovanje u organizmu. Nove spoznaje praćene su i promjenama u prehrambenim smjernicama. Primjerice, američke prehrambene smjernice iz 2010. godine sadržavale su jasnu preporuku ograničenja unosa prehrambenog kolesterola na 300 mg dnevno u svrhu održavanja normalne razine kolesterola u krvi(19). Smjernice iz 2015. godine nisu sadržavale ranije navedenu preporučenu vrijednost dnevnog unosa, ali su ljude upućivale na praćenje prehrambenih obrazaca s niskim sadržajem kolesterola, ali uz objašnjenje da kolesterol u namirnicama uglavnom prati i značajna količina zasićenih masnih kiselina(20). Najnovije smjernice koje vrijede za razdoblje od 2020. do 2025. godine ne sadrže poglavlje posvećeno prehranbenom kolesterolu, već se naglašava utjecaj cjelokupne prehrane na koncentraciju kolesterola u krvi, a istaknuti nutrijent su ponovno zasićene masne kiseline(21). U svim navedenim izdanjima američkih prehrambenih smjernica stalna je preporuka za ograničavanje unosa zasićenih masnih kiselina na najviše 10 % ukupnog dnevnog energetskeg unosa.

Kao što je već navedeno, većina namirnica koje spadaju u izvore kolesterola, istovremeno sadrže i zasićene masne kiseline. Međutim, postoje i iznimke ovog pravila, a najzanimljivije iznimke su jaja i škampi. Količina zasićenih masnih kiselina u škampima jednaka je nuli, dok jedno prosječno jaje od 50 g sadrži 1,56 g zasićenih masti što čini samo 0,65 % njegove ukupne energetske vrijednosti(2). Jaja su zbog svoje nutritivne vrijednosti i sadržaja kvalitetnih potpunih bjelančevina, ali i ekonomske dostupnosti bila pogodnija za provođenje daljnjih istraživanja povezanosti prehrambenog kolesterola s razinom kolesterola u plazmi te s pojavom srčano-žilnih oboljenja. Rezultati istraživanja ukazuju na to da namirnice koje sadrže značajne količine kolesterola, ali ne i zasićenih masnih kiselina, nemaju utjecaj na koncentraciju kolesterola u plazmi(22).

Neke od pojedinačnih namirnica i grupa namirnica za koje se pokazalo da imaju utjecaj na sniženje koncentracije ukupnog kolesterola u plazmi su orašasti plodovi, sjemenke, češnjak te crni i zeleni čaj(23).

2.6. SISTEMSKA BIOLOGIJA I NJEZINA PRIMJENA U NUTRICIONIZMU

2.6.1. Discipline u sistenskoj biologiji

Sistemska biologija je sveobuhvatni, holistički pristup razvijen u svrhu boljeg razumijevanja bioloških sustava te promjena koje se događaju u njima tijekom pojedinih procesa ili tijekom određenog vremenskog razdoblja. Općenito, do velikog broja podataka u sistenskoj biologiji dolazi se primjenom različitih disciplina koje uključuju istraživanja utjecaja genoma, transkriptoma, proteoma te metaboloma organizma na njegov fenotip(24). Transkriptomika daje mogućnost uvida u sve gene koji su u ispitivanom uzorku aktivni u točno određenom trenutku, dok se proteomika bavi identificiranjem i kvantificiranjem ekspresije proteina te analizom njihovih posttranslacijskih modifikacija. Metabolomika osigurava podatke analizom metabolita, njihovog sastava i dinamike, ali i njihovog međudjelovanja(25). Osim navedenih „-omika“, u sistenskoj se biologiji upotrebljavaju i bioinformatički pristup te izrada računalnih modela. Područje bioinformatike odnosi se na upotrebu računala za pomoć u analizi, interpretaciji ili izvještaju o podacima dobivenim biološkim istraživanjima. Konkretno, u sistenskoj biologiji ovaj se pristup koristi za pohranu, analizu i interpretaciju velike količine podataka dobivenih u istraživanjima genoma, transkriptoma, proteoma i metaboloma. Računalna sustavna biologija je pristup koji koristi računalne modele u svrhu opisivanja i dinamičke simulacije bioloških sustava. Računalni modeli smatraju se temeljem sistemske biologije, a njihova glavna prednost je prikaz kompleksnih bioloških sustava i precizna analiza promjena koje se u njima događaju uz pomoć matematičkih formula(24).

2.6.2. Značaj sistemske biologije u nutricionističkim istraživanjima

Tijekom posljednjih godina došlo je do porasta interesa za uvođenje sistemske biologije u nutricionistička istraživanja. Sistemska biologija prepoznata je kao koristan alat za bolje razumijevanje mehanizama kojima različite prehrambene komponente utječu na zdravlje ili razvoj bolesti. Koristeći se velikom količinom dostupnih podataka, osigurani su uvjeti za stvaranje prediktivnih biokemijskih mreža koje omogućavaju detaljniju analizu odgovora pojedinca na neku prehrambenu intervenciju, ali i veće razumijevanje sveobuhvatnog utjecaja

hrane na nutritivni i zdravstveni status ljudi(25). Jedna od najznačajnijih prednosti korištenja systemske biologije u nutricionističkim istraživanjima je pomak od redukcionističkog prema holističkom pristupu. Usredotočenost na pojedinačnu komponentu hrane ili izolirani sustav u ranijim istraživanjima dovela je do brojnih saznanja o biokemiji, metabolizmu i ulozi nutrijenata u fiziološkim sustavima, ali nije nužno osiguravala dovoljno saznanja o međudjelovanju različitih sustava te ponašanju istraživanih komponenti i sustava tijekom dugotrajnih i kompleksnih procesa poput razvoja bolesti ili starenja. Systemska biologija ima ulogu u prevladavanju upravo tih problema jer daje mogućnost praćenja međudjelovanja više fizioloških sustava te mjerenje promjena koje pojedini nutrijenti uzrokuju u tim sustavima, ali i kako uvjeti sustava utječu na iskorištenje nutrijenata. Omogućuje i analizu te predviđanje promjena koje se događaju ili će se dogoditi u stanici tijekom dužeg vremenskog razdoblja i na taj način postavlja temelj za istraživanja vezana uz proces starenja ili razvoja bolesti. Izrada računalnih modela metabolizma koristi se kao alternativa za provođenje istraživanja koja bi inače bila dugotrajna, skupa, nepraktična i potencijalno neetična(24).

2.6.3. Moguće primjene systemske biologije u budućnosti

Postoje brojne moguće primjene systemske biologije u bližoj ili daljoj budućnosti, ali dvije se smatraju najzanimljivijima i potencijalno najkorisnijima: razvoj novih biomarkera te razvoj individualizirane prehrane.

Prehrambeni biomarkeri odnose se na karakteristike koje se mogu objektivno izmjeriti u različitim biološkim uzorcima, a daju informaciju o nutritivnom statusu uzimajući u obzir unos i metabolizam mjerene prehrambene komponente. U nutricionističkim istraživanjima koriste se različite vrste biomarkera: markeri izloženosti, markeri učinka ili funkcije te markeri zdravlja odnosno bolesti. Razvoj novih i unaprijeđenje postojećih biomarkera omogućili bi preciznije mjerenje i analizu povezanosti između premale ili previsoke razine pojedinih nutrijenata i različitih fizioloških stanja te određivanje optimalnog raspona njihovih koncentracija. Često je teško odrediti kvalitetan i dovoljno osjetljiv biomarker za pojedini nutrijent, a doprinos sustavne biologije rješenju ovog problema temelji se na velikom broju prikupljenih podataka te na mogućnosti boljeg razumijevanja međudjelovanja nutrijenata i fizioloških sustava u različitim stanjima te tijekom dužeg vremenskog razdoblja(26). Koristeći se podacima dobivenim u velikim kohortnim studijama, znanstvenici pokušavaju povezati različite genetičke varijacije sa odgovorom biomarkera u plazmi i urinu(27). Trenutna istraživanja usredotočena su na pronalazak biomarkera koji ukazuju na sami početak razvoja

bolesti kako bi se moglo preventivno djelovati i potpuno spriječiti ili usporiti nastanak bolesti(26).

Trenutno važeće prehrambene preporuke temelje se na prosječnim vrijednostima dobivenim za cjelokupnu populaciju. Međutim, pojedinci koji se pridržavaju uopćenih preporuka imaju različite fiziološke odgovore. Ove razlike su posljedica kompleksnosti genetskog sastava koji međudjeluje sa okolišnim čimbenicima. Stoga se u posljednje vrijeme sve više ističe koncept individualizirane prehrane kao najtočniji i pojedincu prilagođen model prehrane(27). Temelj za razvoj individualizirane prehrane su iscrpne nutrigenomske analize koje uzimaju u obzir genetski sastav, epigenetske modifikacije te molekularni fenotip pojedinca. S obzirom da zdravlje pojedinca ovisi o ekspresiji informacija sadržanih u genomu odnosno o njegovom epigenomu, metilomu, transkriptomu, proteomu i metabolomu, jasno je da bi podaci dobiveni istraživanjima u sistemskoj biologiji mogli doprinijeti daljnjem razvoju koncepta individualizirane prehrane(26).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

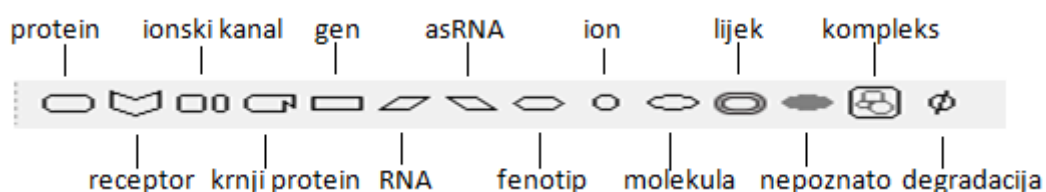
3.1. MATERIJALI

Sistemska biologija temelji se na zajedničkoj upotrebi teorijskih podataka, računalnih modela te rezultata dobivenih eksperimentalnim putem u razumijevanju složenih metaboličkih mreža. U svrhu njihovog lakšeg prikaza i boljeg razumijevanja razvijen je računalni program *CellDesigner*, alat za grafički prikaz biokemijskih reakcija koje čine metaboličke puteve. Za izradu ovog diplomskog rada korišten je računalni program *CellDesigner 4.4.2* (Systems Biolog Institute, Tokyo, Japan).

3.1.1. *CellDesigner*

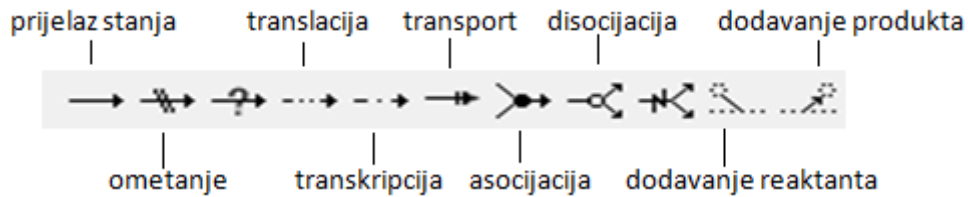
CellDesigner je strukturirani alat za grafički prikaz složenih mreža reakcija u biološkim sustavima i nudi mogućnost jednostavne izrade vlastitog dijagrama. Sukladan je sa SBML-om (eng. *Systems Biology Markup Language*), računalnim formatom za predstavljanje modela mreža biokemijskih reakcija. SBML je primjenjiv za izradu metaboličkih, regulatornih i signalnih puteva te omogućuje izmjenu podataka između *CellDesigner*-a i drugih softvera sukladnih sa SBML-om. Osim toga, *CellDesigner* je povezan sa bazama podataka u kojima su pohranjeni već postojeći modeli drugih autora, a izrađeni modeli se mogu preuzeti i pohraniti u drugim formatima, poput PDF ili SVG formata(28).

Izrada modela u *CellDesigner*-u započinje stvaranjem novog dokumenta kojem se odmah pridodaje naziv te se određuju dimenzije odnosno širina i visina radne površine koja će biti dostupna za izradu modela. Radnu površinu se može podijeliti na više odjeljaka koji predstavljaju različite stanice, dijelove stanice ili različita tkiva u kojima se odvijaju procesi od značaja za model te se njima također mogu pridodati nazive koji će biti vidljivi na radnoj površini. Zatim se iz alatne trake koja se nalazi iznad radne površine u model dodaju željeni reaktanti i produkti. Različiti simboli predstavljaju različite vrste atoma, molekula i kompleksa, kako je prikazano na slici 2.



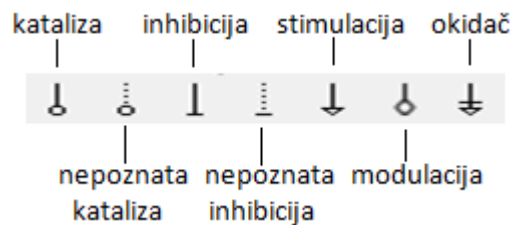
Slika 2. Simboli vrsta biokemijskih komponenti u računalnom programu *CellDesigner*

Dodane komponente odnosno metaboliti zatim se moraju povezati nekom vrstom reakcije kako bi se označio njihov međusobni kinetički odnos. Različite vrste reakcija označene su strelicama i prikazane su na slici 3.



Slika 3. Simboli vrsta reakcija u računalnom programu *CellDesigner*

S obzirom da su reakcije u biološkim sustavima rijetko jednostavne i da na velik broj prijelaza stanja utječu koncentracije drugih komponenti sustava, u modelima se često upotrebljavaju i označavaju različite vrste kataliza i inhibicija reakcija, a njihovi simboli prikazani su na slici 4.



Slika 4. Simboli vrsta modulatora reakcija u računalnom programu *CellDesigner*

Nakon povezivanja reaktanata, produkata i modulatora pojedinih reakcija strelicama koje označavaju različite promjene stanja, potrebno je zadati kinetički izraz po kojem se odvija svaka pojedina reakcija. To se može napraviti pritiskom desne tipke miša na strelicu koja označava željenu reakciju i odabirom opcije „Edit kinetic law“ u izborniku. U novootvorenom prozoru u kojem je izdvojena odabrana reakcija upisuje se jednadžba po kojoj se reakcija odvija, kao i parametri navedeni u jednadžbi zajedno s njihovim vrijednostima. Da bi simulacija funkcionirala, sve reakcije moraju biti opisane matematičkom jednadžbom, svi parametri moraju biti uneseni i definirani pod istim nazivom pod kojim se pojavljuju u jednadžbama te trebaju biti zadane početne vrijednosti svih komponenti u sustavu. Ukoliko neki od ovih uvjeta nije zadovoljen, program će javiti grešku i simulacija se neće moći

provesti.

3.1.2. Model metabolizma kolesterola

Model izrađen u okviru ovog rada opisuje mrežu metaboličkih puteva kolesterola u ljudskom tijelu, sve od njegovog unosa egzogenim putem odnosno hranom pa do izlučivanja iz tijela. Model se sastoji od 4 odjeljka: crijevo, jetra, periferno tkivo i krvna plazma. U svakom odjeljku grafički su prikazane reakcije koje se u njemu odvijaju. Model se sastoji od ukupno 19 biokemijskih reakcija prikazanih u tablici 2, a uz naziv svake reakcije prikazan je i kinetički izraz prema kojem se odvija.

Oznake i opis 43 parametra koji se pojavljuju u reakcijama metabolizma kolesterola te njihove vrijednosti navedene su u tablici 3. Početne vrijednosti za sve 34 varijable od kojih se model sastoji prikazane su u tablici 4. U prvom stupcu te tablice navedeni su nazivi varijabli u grafičkom prikazu modela, dok su u trećem stupcu navedene skraćenice tih naziva korištene u kinetičkim izrazima te na slikama s rezultatima analize lokalne parametarske osjetljivosti. Početne vrijednosti svih varijabli modela su stalne u provedenim simulacijama, osim vrijednosti komponente kolesterola iz hrane (u tablici 4 označena zvjezdicom). Početne vrijednosti ove komponente korištene u simulacijama dobivene su iz jelovnika izrađenih u sklopu ovog diplomskog rada. Najmanja korištena početna vrijednost mase kolesterola iz hrane iznosi 0 mg, a najveća 507,6 mg.

Tablica 2. Biokemijske reakcije u metabolizmu kolesterola i njihovi kinetički izrazi(*prema 7*)

REAKCIJA	KINETIČKI IZRAZ
crijevna sinteza kolesterola	$\frac{ICS_{max}}{1 + \left(\frac{IC}{ICt}\right)^{IS}}$
jetrena sinteza kolesterola	$\frac{HCS_{max}}{1 + \left(\frac{HFC}{HCSt}\right)^{HS}}$
periferna sinteza kolesterola	$\frac{PCS_{max}}{1 + \left(\frac{PFC}{PPCt}\right)^{PCSS}}$
otpuštanje žučnog kolesterola	$\frac{BCR_{max}}{1 + \left(\frac{BCRt}{HFC}\right)^{BS}}$
jetrena proizvodnja žučnih soli	$\frac{k5[HFC]}{[HBS]}$

Tablica 2. Biokemijske reakcije u metabolizmu kolesterola i njihovi kinetički izrazi (prema 7)

- nastavak

promjena koncentracije jetrenih žučnih soli	$\frac{d[\text{HBS}]}{dt} = \frac{k_5 [\text{HFC}]}{[\text{HBS}]} + k_3[\text{IBS}][\text{IC}] - k_2[\text{HBS}]$
promjena koncentracije crijevnih žučnih soli	$\frac{d[\text{IBS}]}{dt} = k_2[\text{BSP}] - k_3[\text{IBS}][\text{IC}] - k_4[\text{IBS}]$
promjena koncentracije crijevnog kolesterola	$\frac{d[\text{IC}]}{dt} = k_1[\text{DC}] + \frac{\text{BCRmax}}{1 + \left(\frac{\text{BCRt}}{\text{HFC}}\right)^{\text{BS}}} - k_6[\text{IBS}][\text{IC}] - k_7[\text{IBS}][\text{IC}] + \frac{\text{ICSmax}}{1 + \left(\frac{\text{IC}}{\text{ICt}}\right)^{\text{IS}}}$
promjena koncentracije izlučenog kolesterola	$\frac{d[\text{EC}]}{dt} = k_7[\text{IBS}][\text{IC}]$
promjena koncentracije jetrenog kolesterola	$\frac{d[\text{HFC}]}{dt} = k_{19} + k_{10}[\text{HCE}][\text{CEH}] - \frac{\text{BCRmax}}{1 + \left(\frac{\text{BCRt}}{\text{HFC}}\right)^{\text{BS}}} + \frac{\text{HCSmax}}{1 + \left(\frac{\text{HFC}}{\text{HCSt}}\right)^{\text{HS}}} + k_6[\text{IBS}][\text{IC}] + k_{16}[\text{HDLRs}][\text{VLDLC}] - k_{12}[\text{HFC}] - \frac{k_5[\text{HFC}]}{[\text{HBS}]} - k_9[\text{ACAT}][\text{HFC}]$
promjena koncentracije perifernog kolesterola	$\frac{d[\text{PFC}]}{dt} = k_{21} - k_{25} + k_{24}[\text{PCE}][\text{CEH}] - k_{26}[\text{LCAT}][\text{NHDL}][\text{PFC}] - k_{23}[\text{ACAT}][\text{PFC}] + \frac{\text{PCSmax}}{1 + \left(\frac{\text{PFC}}{\text{PPCt}}\right)^{\text{PCSS}}} + k_{20}[\text{LDLC}][\text{PLDLR}]$
sinteza jetrenih LDL receptora	$\frac{\text{khrs}[\text{HDLR}]}{[\text{HFC}]}$
promjena koncentracije jetrenih LDL receptora	$\frac{d[\text{HDLR}]}{dt} = \frac{\text{khrs}[\text{HDLR}]}{[\text{HFC}]} - k_{13}[\text{HDLR}]$
promjena koncentracije VLDL kolesterola	$\frac{d[\text{VLDLC}]}{dt} = k_{12}[\text{HFC}] - k_{14}[\text{HDLR}][\text{VLDLC}] - k_{15}[\text{LPL}][\text{VLDLC}]$
promjena koncentracije IDL kolesterola	$\frac{d[\text{IDL}]}{dt} = k_{15}[\text{LPL}][\text{VLDLC}] - k_{16}[\text{HDLR}][\text{IDL}] - k_{17}[\text{HSL}][\text{IDL}]$
promjena koncentracije LDL kolesterola	$\frac{d[\text{LDLC}]}{dt} = k_{17}[\text{HSL}][\text{IDL}] - k_{18}[\text{LDLC}][\text{HDLR}] - k_{19}[\text{LDLC}] - k_{20}[\text{LDLC}][\text{PLDLR}] - k_{21}$

Tablica 2. Biokemijske reakcije u metabolizmu kolesterola i njihovi kinetički izrazi(*prema 7*)
- nastavak

promjena koncentracije perifernih estera kolesterola	$\frac{d[PCE]}{dt} = k_{23}[ACAT][PFC] - k_{24}[PCE][CEH]$
promjena koncentracije nascentnog kolesterola	$\frac{d[NHDL]}{dt} = k_8 + k_{11}$
promjena koncentracije HDL kolesterola	$\frac{d[HDLC]}{dt} = k_{26}[LCAT][NHDL][PFC] - k_{27}[CETP][HDLC] - k_{28}[CETP][HDLC] - k_{29}[HDLC][SRB1]$

Tablica 3. Kinetički parametri i njihove vrijednosti(*prema 7*)

PARAMETAR	OPIS	VRIJEDNOST
ICSmax	maksimalna stopa sinteze crijevnog kolesterola	$1 \cdot 10^2$ mg/dan
ICS _t	prag sinteze crijevnog kolesterola	$3,12 \cdot 10^2$ mg/dan
IS	odgovarajući parametar crijevne sinteze	5
HCSmax	maksimalna stopa sinteze jetrenog kolesterola	$5 \cdot 10^2$ mg/dan
HCS _t	prag sinteze jetrenog kolesterola	$9,39 \cdot 10^4$ mg/dan
HS	odgovarajući parametar jetrene sinteze	5
BCRmax	maksimalna stopa otpuštanja žučnog kolesterola	$2 \cdot 10^3$ mg/dan
BCR _t	prag otpuštanja žučnog kolesterola	$5,55 \cdot 10^4$ mg/dan
BS	odgovarajući parametar žučne sinteze	5
PCSmax	maksimalna stopa sinteze perifernog kolesterola	$5 \cdot 10^2$ mg/dan
PPC _t	prag sinteze perifernog kolesterola	$8,0342 \cdot 10^4$ mg/dan
PCSS	odgovarajući parametar periferne sinteze	5
kh _{rs}	sinteza jetrenih LDL receptora	100 / dan
k _{pr}	sinteza perifernih LDL receptora	100 / dan

Tablica 3. Kinetički parametri i njihove vrijednosti(*prema 7*) - nastavak

k1	unos kolesterola	1 mg/dan
k2	otpuštanje žučnih soli	6 mg/dan
k3	povratak žučnih soli u jetru	4,29 mg/dan
k4	izlučivanje žučnih soli	$8,56 \cdot 10^{-1}$ mg/dan
k5	sinteza žučnih soli	2,66 mg/dan
k6	apsorpcija kolesterola	$5,29 \cdot 10^{-4}$ mg/dan
k7	izlučivanje kolesterola	$5,29 \cdot 10^{-4}$ mg/dan
k8	crijevna sinteza nascentnog HDL-a	$5 \cdot 10^{-4}$ mg/dan
k9	pohrana jetrenog kolesterola	1 mg/dan
k10	otpuštanje pohranjenog jetrenog kolesterola	5,998 mg/dan
k11	jetrena sinteza nascentnog HDL-a	$5 \cdot 10^{-2}$ mg/dan
k12	nastanak VLDL kolesterola	$1,6 \cdot 10^{-2}$ mg/dL/dan
k13	degradacija jetrenih LDL receptora	$1 \cdot 10^{-3}$ / dan
k14	ponovno preuzimanje VLDL kolesterola u jetri	$4,96 \cdot 10^{-3}$ mg/dL/dan
k15	nastanak IDL kolesterola	$4,3 \cdot 10^{-1}$ mg/dL/dan
k16	ponovno preuzimanje IDL kolesterola u jetri	$5,4 \cdot 10^{-2}$ mg/dL/dan
k17	nastanak LDL kolesterola	$3,8 \cdot 10^{-1}$ mg/dL/dan
k18	preuzimanje LDL kolesterola u jetru ovisno o jetrenim LDL receptorima	$6,8 \cdot 10^{-2}$ mg/dL/dan
k19	preuzimanje LDL kolesterola u jetru neovisno o jetrenim LDL receptorima	$5 \cdot 10^{-3}$ mg/dL/dan
k20	preuzimanje LDL kolesterola u periferno tkivo ovisno o perifernim LDL receptorima	$6,75 \cdot 10^{-3}$ mg/dL/dan

Tablica 3. Kinetički parametri i njihove vrijednosti(*prema 7) - nastavak*

k21	preuzimanje LDL kolesterola u periferno tkivo neovisno o perifernim LDL receptorima	$5 \cdot 10^{-6}$ mg/dL/dan
k22	degradacija perifernih LDL receptora	$1 \cdot 10^{-2}$ / dan
k23	pohrana perifernog kolesterola	$1,75 \cdot 10^{-2}$ mg/dan
k24	otpuštanje pohranjenog perifernog kolesterola	$1,07 \cdot 10^{-1}$ mg/dan
k25	proizvodnja steroidnih hormona	$5 \cdot 10^{-4}$ mg/dan
k26	nastanak HDL kolesterola	$1,5 \cdot 10^{-5}$ mg/dL/dan
k27	prijenos kolesterola između VLDL-a i HDL-a uz djelovanje CETP	$1 \cdot 10^{-2}$ mg/dL/dan
k28	prijenos kolesterola između LDL-a i HDL-a uz djelovanje CETP	$1 \cdot 10^{-3}$ mg/dL/dan
k29	obrnuti prijenos kolesterola	$5 \cdot 10^{-2}$ mg/dL/dan

Tablica 4. Varijable u modelu metabolizma kolesterola i njihove početne vrijednosti(*prema 7)*

VARIJABLA	PUNI NAZIV	SKRAĆENICA	POČETNA VRIJEDNOST
kol. iz hrane	kolesterol iz hrane	DC	*
crijevni kol.	crijevni kolesterol	IC	3150 mg
crijevne ž. soli	crijevne žučne soli	IBS	467 mg
izlučene ž. soli	izlučene žučne soli	EBS	0
izlučeni kol.	izlučeni kolesterol	EC	0
sinteza crijevnog kol.	sinteza crijevnog kolesterola	ICS	0
jetreni kol.	jetreni kolesterol	HFC	60 000 mg

Tablica 4. Varijable u modelu metabolizma kolesterola i njihove početne vrijednosti(*prema 7) - nastavak*

jetrene ž. soli	jetrene žučne soli	HBS	400 mg
sinteza jetrenog kol.	sinteza jetrenog kolesterola	HCS	0
jetreni esteri kol.	jetreni esteri kolesterola	HCE	10 000 mg
CEH	kolesterol ester hidrolaza	CEH	100
ACAT	acil-koenzim A:kolesterol acil transferaza	ACAT	100
jLDLr	jetreni LDL receptori	HLDLR	100
sinteza jLDLr	sinteza jetrenih LDL receptora	HLDLRS	600
degradacija jLDLr	degradacija jetrenih LDL receptora	HLDLRD	0
SRB1	receptor za čišćenje B1	SRB1	100
VLDL-kol.	VLDL-kolesterol	VLDLC	20 mg/dL
IDL-kol.	IDL-kolesterol	IDLC	20 mg/dL
LDL-kol.	LDL-kolesterol	LDLC	100 mg/dL
HDL-kol.	HDL-kolesterol	HDLC	45 mg/dL
LPL	lipoprotein lipaza	LPL	100
HSL	lipaza osjetljiva na hormone	HSL	100
nHDL	nascentni HDL	NHDL	100
cs-nHDL	crijevna sinteza nascentnog HDL-a	INHDLs	0
js-nHDL	jetrena sinteza nascentnog HDL-a	HNHDLs	0
LCAT	lecitin:kolesterol aciltransferaza	LCAT	100

Tablica 4. Varijable u modelu metabolizma kolesterola i njihove početne vrijednosti(*prema 7) - nastavak*

CETP	kolesterol ester transportni protein	CETP	100
periferni kol.	periferni kolesterol	PFC	57 516 mg
pLDLr	periferni LDL receptori	PLDLR	100
sinteza pLDLr	sinteza perifernih LDL receptora	PLDLRS	575.16
degradacija pLDLr	degradacija perifernih LDL receptora	PLDLRD	0
sinteza perifernog kol.	sinteza perifernog kolesterola	PCS	0
periferni esteri kol.	periferni esteri kolesterola	PCE	9363 mg
steroidni hormoni	steroidni hormoni	PSS	0

3.1.3. Smjernice za izradu jelovnika

Danas postoji velik broj prehrambenih smjernica i savjeta, a gotovo svaka razvijena država ima vlastite prehrambene smjernice koje služe kao vodič ljudima u održavanju zdravlja i sprječavanju razvoja raznih bolesti. Isto tako, postoje i posebne prehrambene smjernice za liječenje simptoma nekih specifičnih stanja i bolesti. U okviru ovog diplomskog rada izrađen je po jedan dnevni jelovnik za vegetarijansku prehranu, uravnoteženu prehranu i ketogenu prehranu. Kao baza za izradu svih jelovnika korištene su smjernice za održavanje zdravlja opće populacije, koliko je god to bilo moguće u okvirima restrikcija i pravila vezanih uz zahtjeve pojedine vrste prehrane(21).

Vegetarijanska prehrana obuhvaća širok raspon različitih obrazaca hranjenja, a uglavnom se temelji na izbacivanju mesa i proizvoda od mesa iz prehrane. Najblaži oblik vegetarijanstva naziva se fleksitarijanstvo i ono čak dozvoljava povremenu konzumaciju mesa i mesnih proizvoda. Najčešći oblik vegetarijanstva je laktoovovegetarijanstvo. Ljudi koji se hrane po ovom principu ne konzumiraju meso, ali dozvoljena im je konzumacija jaja, mlijeka i mliječnih proizvoda. Najstrožim oblikom vegetarijanstva smatra se veganstvo koje zabranjuje konzumaciju svih namirnica životinjskog podrijetla, ali često se proteže i na druge aspekte života pa vegani ne nose odjeću sa životinjskim krznom i ne koriste kozmetičke proizvode

testirane na životinjama(29).

Uravnoteženom prehranom smatra se prehrana koja omogućuje pojedincu da održi zdravlje svoga organizma te odgodi ili zaustavi potencijalni razvoj bolesti. Temelji se na unosu svih esencijalnih nutrijenata i ograničavanju unosa komponenti iz hrane za koje se smatra ili je dokazano da štete zdravlju ljudi. Neke od preporuka koje se provlače kroz sve smjernice za uravnoteženu prehranu opće populacije su sljedeće:

1. Preporučena je konzumacija više vrsta povrća različitih boja (tamnozeleno, crveno, narančasto), mahunarki i škrobnog povrća. Naglašena je prednost konzumacije cjelovitog voća u odnosu na prerađene voće proizvode.
2. Što se tiče proizvoda od žitarica, barem polovica bi ih trebala dolaziti iz cjelovitih žitarica.
3. Preporučena je konzumacija niskomasnih mliječnih proizvoda i unos bjelanjčevina iz različitih izvora - bijelog mesa, ribe, jaja, mahunarki, orašastih plodova i sjemenki.
4. Daje se prednost korištenju biljnih ulja nad životinjskim mastima.
5. U uravnoteženoj prehrani trebao bi biti ograničen unos zasićenih i trans masnih kiselina, kao i dodanog šećera i natrija(21).

Ketogena ili keto prehrana definira se kao prehrana s jako niskim unosom ugljikohidrata i visokim unosom masti. Postoje različite varijacije ove prehrane, a najčešći cilj je ograničenje unosa ugljikohidrata na manje od 50 g/dan. Takvim strogim ograničenjem unosa ugljikohidrata iscrpljuju se zalihe glikogena te dolazi do metaboličkih promjena u organizmu koje se odvijaju u smjeru povećanja razine glukoneogeneze i ketogeneze te korištenja njihovih produkata kao izvora energije za procese u tijelu(30). S obzirom na važnost voća i povrća u prehrani, ali i na njihovo bogatstvo ugljikohidratima, kod izbora vrsta voća i povrća u keto prehrani prednost se daje onima koje sadrže manji udio ugljikohidrata.

Za izračun mase makronutrijenata, kolesterola i energetske vrijednosti prilikom izrade jelovnika korištena je USDA (eng. *United States Department of Agriculture*) tablica koja sadrži detaljne podatke o energetske i nutritivnom sastavu velikog broja namirnica(31).

3.2. METODE

3.2.1. Razvoj i simulacija modela u programu CellDesigner

U računalnom programu *CellDesigner* razvijen je model metabolizma kolesterola, prema radu

Mc Auley i suradnika iz 2012. godine(7). Provedbom simulacije analizirana je promjena koncentracije metabolita u metaboličkom putu kolesterola nakon obroka koji se razlikuju prema početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane.

3.2.2. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti

Sve veću zastupljenost metoda sistemske biologije u proučavanju dinamike bioloških sustava i metaboličkih mreža pratila je i povećana upotreba metoda za analizu osjetljivosti. Analiza osjetljivosti koristi se za dobivanje informacija o snazi bioloških odgovora u odnosu na promjenu početnih parametara modela.

Prilikom planiranja izrade računalnih modela metabolizma, autori nerijetko nailaze na problem utvrđivanja točne vrijednosti pojedinih parametara, najčešće zbog nepotpunih podataka u literaturi ili nemogućnosti njihovog preciznog utvrđivanja iz živog modela. Iz tog razloga, neki modeli sadrže parametre koji predstavljaju najbolju moguću procjenu s obzirom na dostupne podatke, ali ipak sadrže dozu nesigurnosti. Analizom lokalne osjetljivosti možemo proučiti koliki utjecaj takvi „nesigurni“ parametri imaju na izlazne vrijednosti modela. Analiza lokalne osjetljivosti može uputiti i na zanemarivanje parametara čijom se promjenom ne može utjecati na rezultat te potaknuti daljnje istraživanje parametara koji imaju najveći utjecaj na mjerene izlazne parametre(32).

Najraširenija metoda analize lokalne parametarske osjetljivosti je promjena vrijednosti svih ulaznih parametara pojedinačno te proučavanje utjecaja tih promjena na izlazne rezultate prilikom simulacije modela. U ovom radu provedena je na način da je svaki od 43 kinetička parametra pojedinačno uvećan za 1 %, 3 % i 5 % dok su svi ostali parametri zadržali svoje početne vrijednosti (ranije navedene u tablici 3). Isto tako, analiza je provedena i nakon smanjenja vrijednosti svakog od parametara za 1 %, 3 % i 5 %. Za svaki od tih uvjeta izmjerene su vrijednosti varijabli modela nakon provođenja simulacije u trajanju od 2 dana. Za prikaz i analizu rezultata korišten je *Microsoft Office Excel 2007* (Microsoft, Redmond, Washington, SAD).

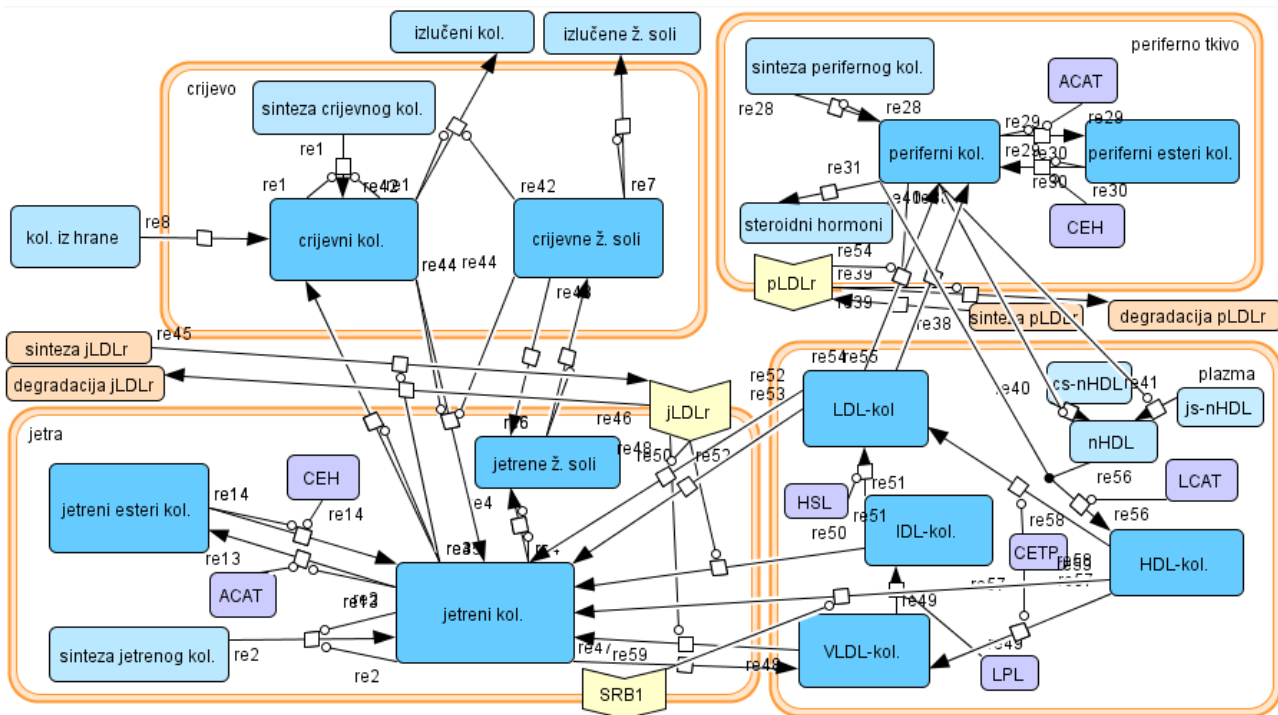
4. REZULTATI I RASPRAVA

Prilikom simulacije modela u računalnom programu *CellDesigner* korištene su različite početne vrijednosti mase za varijablu kolesterol iz hrane te su promatrane promjene mase ili koncentracije ostalih varijabli modela, s naglaskom na masu crijevnog kolesterola, masu jetrenog kolesterola te koncentraciju LDL kolesterola u plazmi. Promatrane promjene odnose se na razdoblje od 2 dana nakon konzumacije obroka iz jelovnika u okviru ovog diplomskog rada (doručka, ručka i večere). Dobivene rezultati prikazani su na način da se na istom grafu nalaze tri krivulje koje se odnose na različite jelovnike odnosno različite početne vrijednosti kolesterola iz hrane. Dobiveni grafovi kasnije su prikazani na slikama 6-17.

4.1. PRIKAZ MODELA METABOLIZMA KOLESTEROLA

Model metabolizma kolesterola korišten u radu konstruiran je u računalnom programu *CellDesigner* 4.2.2. Model se sastoji od četiri odjeljka: crijevo, jetra, plazma i periferno tkivo. Pravokutna oznaka varijable kolesterol iz hrane nalazi se izvan odjeljka koji predstavlja crijevo jer se radi o egzogenoj komponenti, kao i izlučeni kolesterol i izlučene žučne soli koje se također nalaze izvan tog odjeljka jer se radi o dijelu kolesterola i žučnih soli koji napuštaju organizam. Svaki od četiri odjeljka ilustrira organ ili tkivo u ljudskom organizmu koji igra važnu ulogu u metaboličkom putu kolesterola. Tako se u crijevu događa apsorpcija kolesterola iz hrane, ključan korak koji prethodi svim sljedećim biokemijskim reakcijama u koje ulazi molekula kolesterola(7). Jetra služi kao skladište kolesterola, ali i kao ključno mjesto regulacije biosinteze kolesterola u ovisnosti o njegovoj raspoloživosti u organizmu(9). S obzirom da se kolesterol kroz tijelo prenosi krvlju, u plazmi se može naći vezan za razne vrste lipoproteina, od kojih su u ljudskoj medicini najznačajniji HDL kolesterol i LDL kolesterol(8). U perifernom tkivu također dolazi do skladištenja kolesterola, ali i do sinteze steroidnih hormona, što predstavlja jedan od načina uklanjanja kolesterola iz tijela.

Model sadrži 34 varijable s nazivima prikazanim u kvadratnim okvirima te posebnim simbolima za receptore. Međusobno su povezane sa 35 reakcija prikazanih strelicama koje predstavljaju promjene stanja između različitih varijabli. Grafički prikaz razvijenog modela nalazi se na slici 5.



Slika 5. Prikaz modela metabolizma kolesterola u računalnom programu *CellDesigner*

4.2. PRIKAZ JELOVNIKA

U radu su prikazana tri osmišljena jelovnika koja osiguravaju energetska vrijednost od oko 2200 kcal (± 2 kcal). Jelovnik 1 prikazan u tablici 5 baziran je na načelima vegetarijanske prehrane i ne sadrži meso niti mesne proizvode. Osigurava 2202 kcal i sadrži 311 g ugljikohidrata (52,8 %), 83 g bjelančevina (15,1 %) te 82 g masti (33,5 %). Kao što je i karakteristično za vegetarijansku prehranu, sadrži i visok udio prehrambenih vlakana od 41 g(29). S obzirom da se kolesterol uglavnom nalazi u namirnicama životinjskog podrijetla čiji unos je kod vegetarijanaca ograničen ili potpuno zabranjen, ukupna količina kolesterola u vegetarijanskom jelovniku iznosi 0 mg. Jelovnik 2 prikazan u tablici 6 odnosi se na uravnoteženu prehranu koja se obično preporučuje općoj populaciji(21). Osigurava energetska vrijednost od 2200,8 kcal i sadrži 233 g ugljikohidrata (39,7 %), 137 g bjelančevina (24,9 %) te 84 g masti (34,4 %). Jelovnik uravnotežene prehrane osigurava unos 28,7 g prehrambenih vlakana i sadrži 295,2 mg kolesterola. Jelovnik 3 prikazan u tablici 7 izrađen je prateći principe ketogene prehrane s naglaskom na strogo ograničenje unosa ugljikohidrata(30). Osigurava 2199,2 kcal i sadrži 57 g ugljikohidrata (8,1 %), 120 g bjelančevina (21,7 %) te 174,7 g masti (71,4 %). Jelovnik za ketogenu prehranu osigurava unos 24,1 g prehrambenih vlakana i sadrži 776,7 g kolesterola.

Tablica 5. Jelovnik sastavljen prema smjernicama za vegetarijansku prehranu

JELOVNIK 1. VEGETARIJANSKA PREHRANA			
OBROK	NAZIV JELA	SASTOJCI	KOLESTEROL
<i>doručak</i>	zobena kaša	zobene pahuljice (40 g) biljno mlijeko (150 mL) chia sjemenke (12 g) maslac od kikirikija (15 g) borovnice (50 g)	0 mg
<i>međubrok 1</i>	banana i indijski oraščići	banana (120 g) indijski oraščići (20 g)	0 mg
<i>ručak</i>	varivo s kvinojom i gljivama	maslinovo ulje (15 g) crveni luk (50 g) mrkva (150 g) šampinjoni (200 g) kvinoja (100 g) kruh sa sjemenkama (90 g)	0 mg
<i>međubrok 2</i>	voćni jogurt s bademima	voćni skyr (150 g) bademi (25 g)	0 mg
<i>večera</i>	salata s tjesteninom	zelena salata (30 g) rajčica (130 g) krastavac (100 g) kukuruz (100 g) tjestenina (70 g) maslinovo ulje (15 g) ocat (10 mL)	0 mg
UKUPNA KOLIČINA KOLESTEROLA:			0 mg
UKUPNA ENERGETSKA VRIJEDNOST:			2202 kcal
ENERGETSKI UDIO MARKONUTRIJENATA:			52,8 % UH 15,1 % P 33,5 % M

Tablica 6. Jelovnik sastavljen prema smjernicama za uravnoteženu prehranu

JELOVNIK 2. URAVNOTEŽENA PREHRANA			
OBROK	NAZIV JELA	SASTOJCI	KOLESTEROL
<i>doručak</i>	sendvič i jogurt	kruh od cjelovitih žitarica (90 g) pureća šunka (60 g) jogurt (250 g)	78,1 mg
<i>međubrok 1</i>	mandarine i lješnjaci	mandarine (150 g) lješnjaci (20 g)	0 mg
<i>ručak</i>	pileći batak i krumpir iz pećnice	pileći batak (200 g) krumpir (220 g) maslinovo ulje (10 g) cikla (150 g)	176 mg
<i>međubrok 2</i>	keksi od žitarica	keksi sa cjelovitim žitaricama (50 g)	0 mg
<i>večera</i>	tortilja s tunom i povrćem	tortilja (80 g) tuna (80 g) rajčica (70 g) kukuruz (50 g) grah (50 g) mozzarella (30 g)	41,1 mg
UKUPNA KOLIČINA KOLESTEROLA:			295,2 mg
UKUPNA ENERGETSKA VRIJEDNOST:			2200,8 kcal
ENERGETSKI UDIO MARKONUTRIJENATA:			39,7 % UH 24,9 % P 34,3 % M

Tablica 7. Jelovnik sastavljen prema smjernicama za ketogenu prehranu

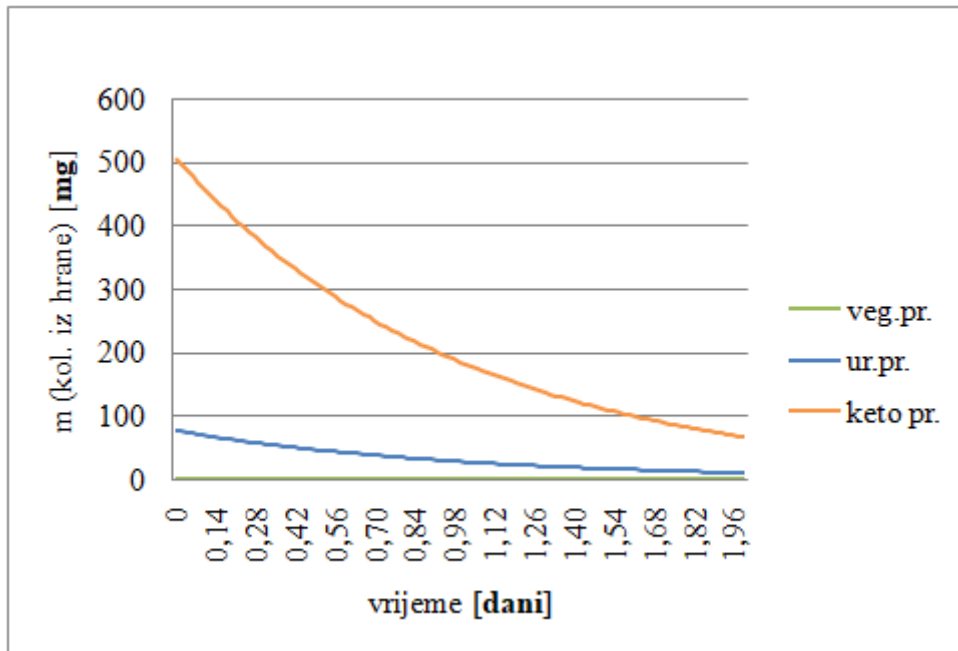
JELOVNIK 3. KETOGENA PREHRANA			
OBROK	NAZIV JELA	SASTOJCI	KOLESTEROL
<i>doručak</i>	omlet i salata	maslinovo ulje (10 g) jaja (120 g) matovilac (30 g) cherry rajčice (50 g)	507,6 mg
<i>međubrok 1</i>	smoothie	kokosovo mlijeko (150 mL) šumsko voće (60 g) sjemenke suncokreta (20 g) sjemenke sezama (20 g)	0 mg
<i>ručak</i>	svinjski file omotan slaninom i špinat	svinjski file (140 g) slanina (50 g) špinat (250 g) maslinovo ulje (10 g)	182,6 mg
<i>međubrok 2</i>	keto krekeri	blanširani bademi (40 g) sir cheddar (40 g)	42 mg
<i>večera</i>	salata s avokadom i feta sirom	krastavac (150 g) avokado (80 g) feta sir (50 g) maslinovo ulje (10 g)	44,5 mg
UKUPNA KOLIČINA KOLESTEROLA:			776,7 mg
UKUPNA ENERGETSKA VRIJEDNOST:			2199,2 kcal
ENERGETSKI UDIO MARKONUTRIJENATA:			8,1 % UH 21,7 % P 71,5 % M

4.3. SIMULACIJA MODELA METABOLIZMA KOLESTEROLA

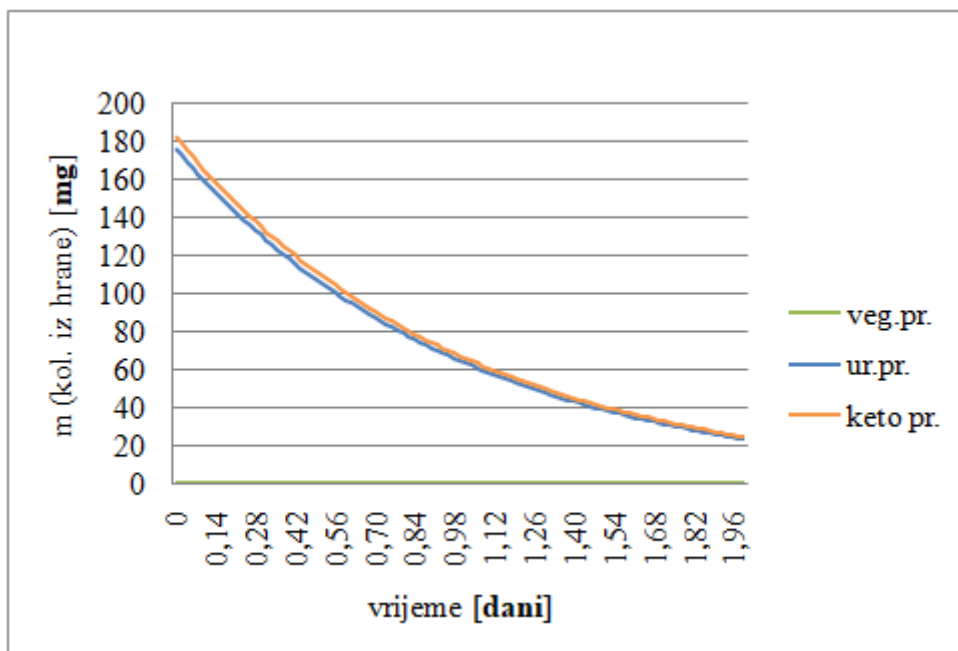
Nakon izrade modela metabolizma kolesterola, kreiranja jelovnika za tri karakteristična načina prehrane te izračuna mase kolesterola u svakom jelovniku, provedena je simulacija izrađenog modela u računalnom programu *CellDesigner*. S obzirom da su kinetički parametri modela izraženi u jedinicama po danu (mg/dan ili mg/dL/dan) te da se uglavnom radi o sporim procesima, trajanje simulacije određeno je na 2 dana. U tom periodu događa se najznačajniji pad vrijednosti kolesterola iz hrane odnosno njegov prelazak u jetreni kolesterol i zatim prolazak kroz ostale reakcije prikazane u modelu. Na slikama 6-17 prikazani su grafovi koji se odnose na promjene 4 varijabe: mase kolesterola iz hrane (mg), mase crijevnog kolesterola (mg), mase jetrenog kolesterola (mg) i koncentracije LDL kolesterola. Promjene se odnose na razdoblje nakon unosa kolesterola iz 3 različita obroka: doručka, ručka i večere iz svakog jelovnika. Iako su u jelovnicima navedena i dva međuobroka, promjene varijabli nakon njihovog unosa nisu prikazane u rezultatima iz razloga što su vrijednosti kolesterola prvog međuobroka u svim jelovnicima jednake i iznose 0 mg, dok su vrijednosti kolesterola drugog međuobroka vegetarijanske i uravnotežene prehrane jednake 0 mg. U tom slučaju, odgovor modela bio bi jednak za sva 3 prva međuobroka te za 2 druga međuobroka, što ne bi dalo značajne rezultate u usporedbi utjecaja različitih početnih masa kolesterola iz hrane. U tablici 8 prikazane su korištene početne vrijednosti varijable kolesterol iz hrane. Svaki redak predstavlja isti obrok u različitim jelovnicima i njihove su krivulje prikazane na istom grafu. Krivulja vegetarijanske prehrane u svim je grafovima prikazana zelenom bojom, uravnotežena prehrana označena je plavom bojom, a ketogena prehrana narančastom bojom.

Tablica 8. Početne vrijednosti kolesterola iz hrane korištene u simulaciji modela kolesterola

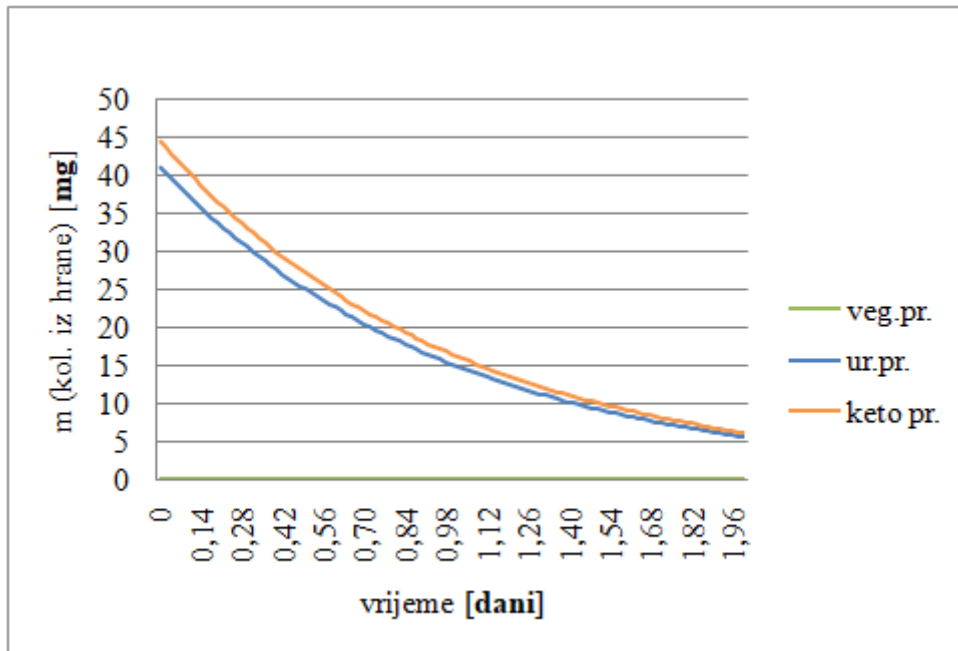
	VEGETARIJANSKA PREHRANA	URAVNOTEŽENA PREHRANA	KETOGENA PREHRANA
doručak	0 mg	78,1 mg	507,6 mg
ručak	0 mg	176 mg	182,6 mg
večera	0 mg	41,1 mg	44,5 mg



Slika 6. Promjene mase kolesterola iz hrane nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 78,1 mg, keto prehrana= 507,6 mg)

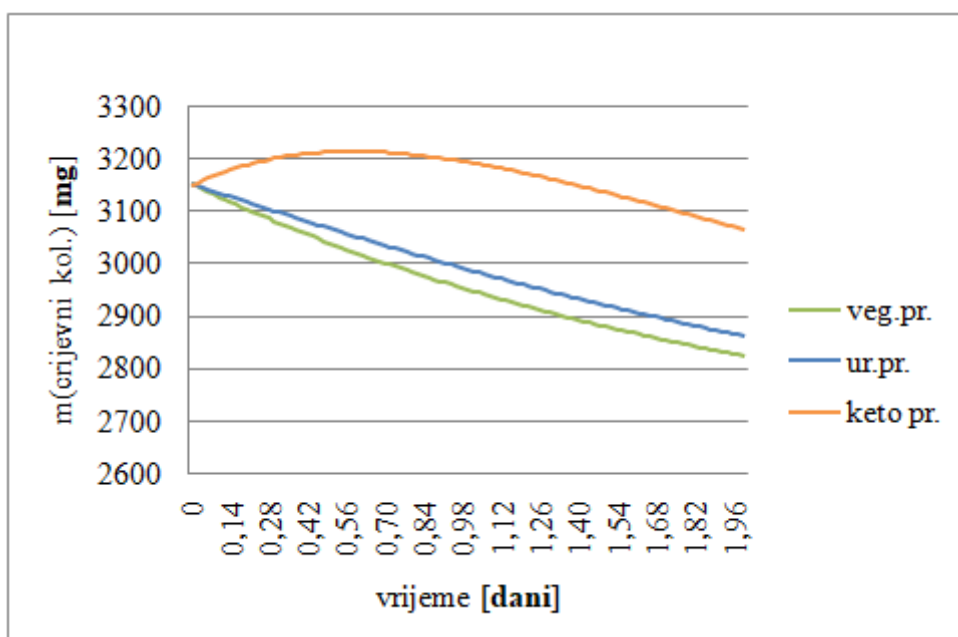


Slika 7. Promjene mase kolesterola iz hrane nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 176 mg, keto prehrana= 182,6 mg)

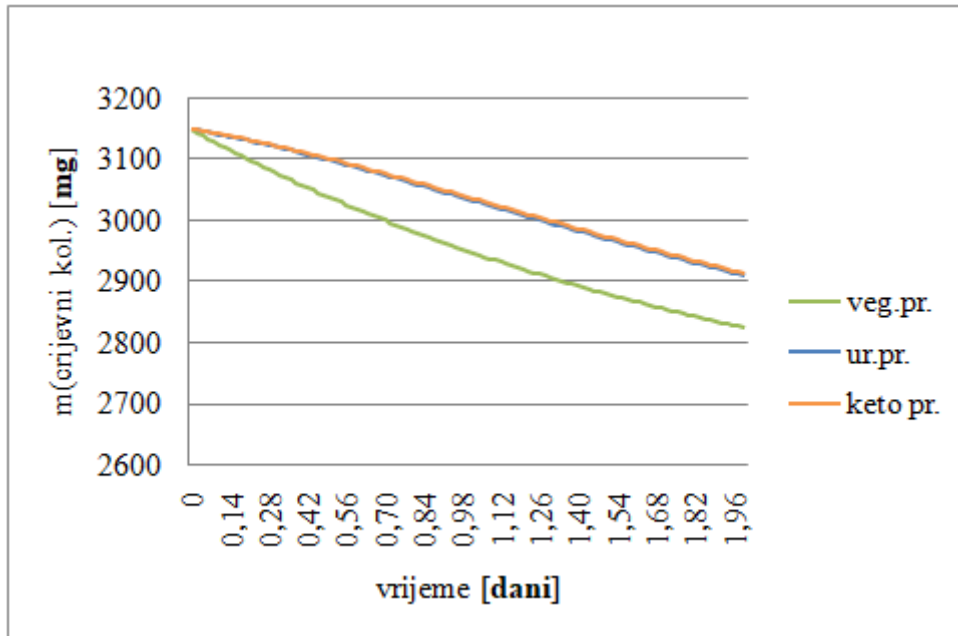


Slika 8. Promjene mase kolesterola iz hrane nakon večere pri različitim početnim vrijednostima (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 41,1 mg, keto prehrana= 44,5 mg)

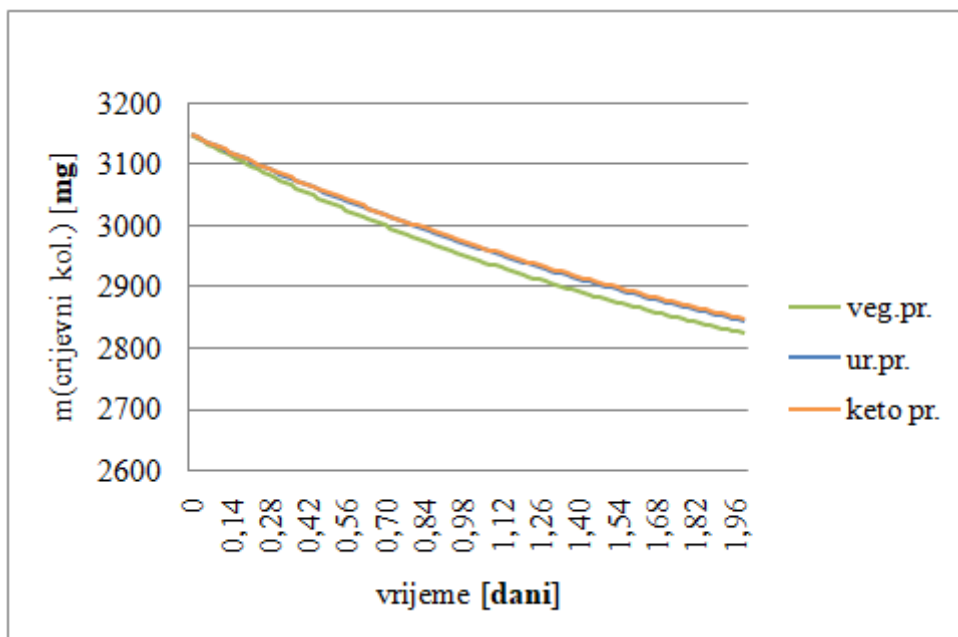
Nakon izrade modela provedeno je nekoliko simulacija s ciljem odabira vremena trajanja simulacije te je uočeno da se najveća promjena u masi kolesterola iz hrane događa u vremenu od 2 dana nakon početka simulacije, što je i vidljivo na slikama 6-8. U skladu s najvećim međusobnim razlikama početnih vrijednosti kolesterola u doručku, slika 6 upućuje da će razlike među jelovnicima vjerojatno biti najvidljivije upravo na primjeru doručka.



Slika 9. Promjene mase crijevnog kolesterola nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 78,1 mg, keto prehrana= 507,6 mg)



Slika 10. Promjene mase crijevnog kolesterola nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 176 mg, keto prehrana= 182,6 mg)

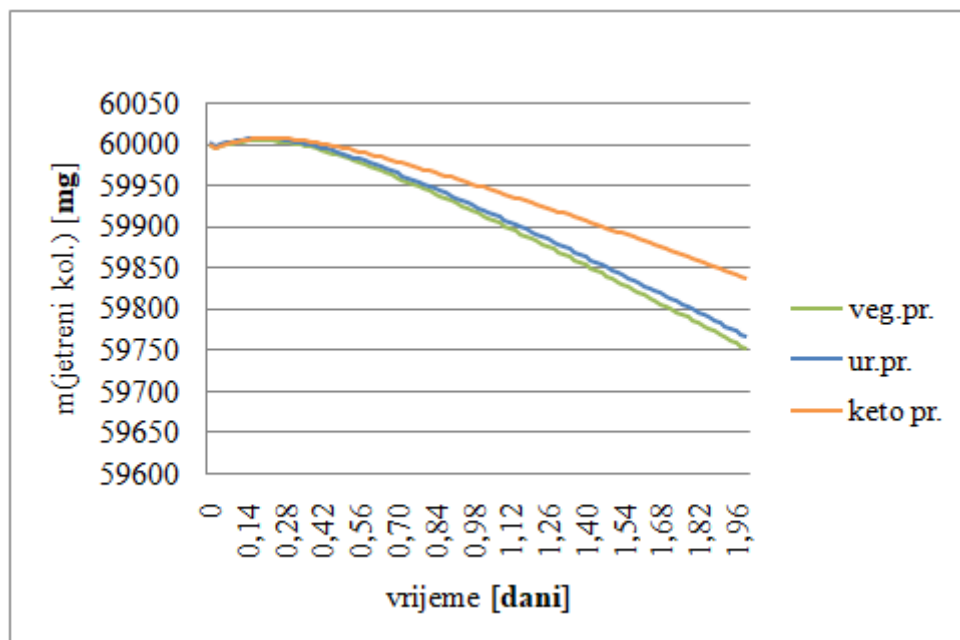


Slika 11. Promjene mase crijevnog kolesterola nakon večere pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena

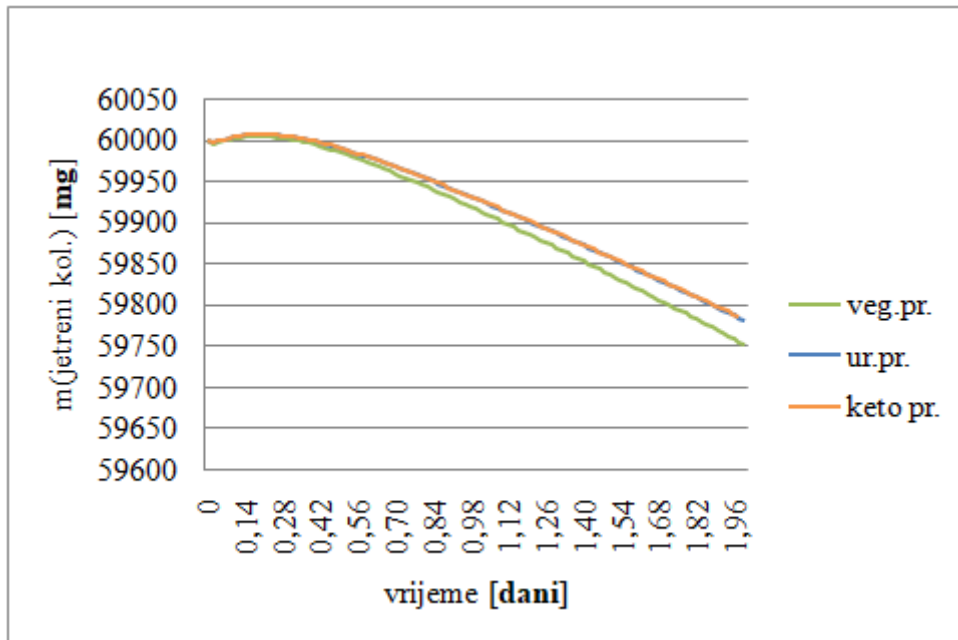
prehrana= 41,1 mg, keto prehrana= 44,5 mg)

Tanko crijevo je mjesto odvijanja složenog procesa apsorpcije kolesterola koji se odvija u više koraka, a sastoji se od dva glavna procesa: prvi je preuzimanje kolesterola i odnosi se na ulazak kolesterola u epitelne stanice crijeva, a drugi je prijenos kolesterola iz epitelnih stanica u limfu preko bazolateralne membrane, tijekom čega se događa esterifikacija te pakiranje kolesterola u lipoproteinske komplekse(33). U novije se vrijeme tanko crijevo prepoznaje kao jedna od glavnih kontrolnih točaka u regulaciji homeostaze kolesterola, zbog utjecaja na apsorpciju i izlučivanje kolesterola kao i na sintezu kolesterola *de novo*. Otkrićem više gena koji sudjeluju u regulaciji crijevne apsorpcije kolesterola te nekoliko molekula koje inhibiraju taj proces, dogodio se odmak od prijašnjeg shvaćanja apsorpcije kao jednostavne pasivne difuzije(34). Apсорpcija kolesterola smatra se sporim procesom jer se vrhunac kolesterola u cirkulaciji može pronaći 24-48 sati nakon unosa hranom. Za usporedbu, razina triglicerida u cirkulaciji najviša je otprilike 2 sata nakon unosa. Dio kolesterola se zadržava i skladišti u epitelnim stanicama crijeva(33).

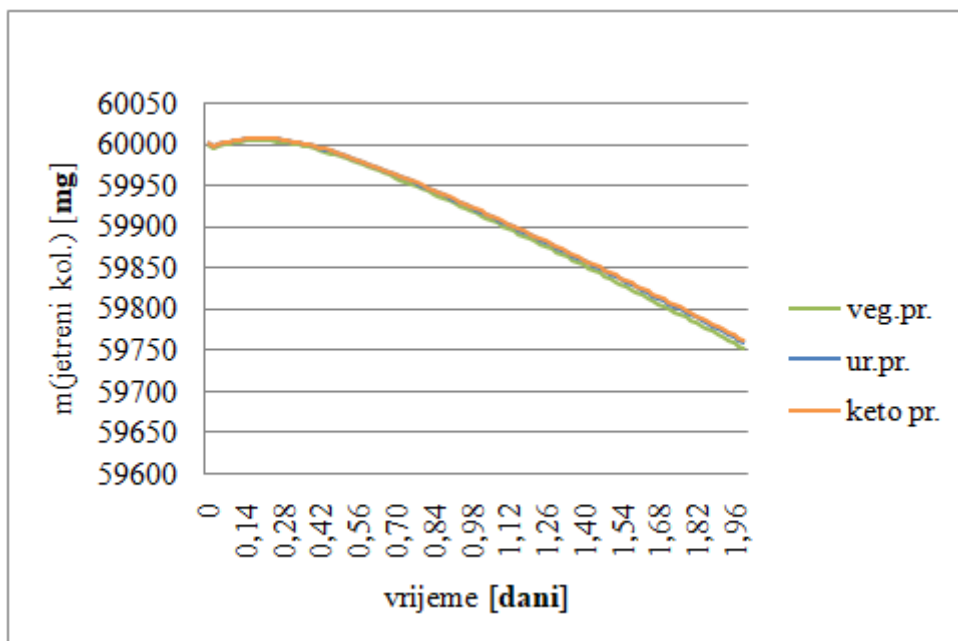
Na slikama 9-11 možemo vidjeti kako različite mase kolesterola unesenog hranom utječu na zalihe crijevnog kolesterola.



Slika 12. Promjene mase jetrenog kolesterola nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 78,1 mg, keto prehrana= 507,6 mg)



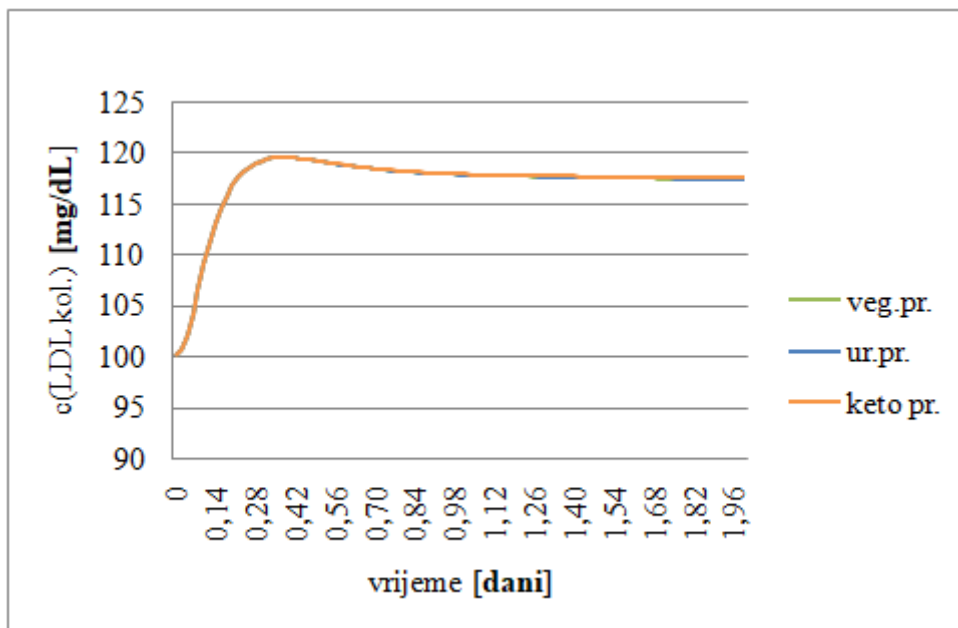
Slika 13. Promjene mase jetrenog kolesterola nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 176 mg, keto prehrana= 182,6 mg)



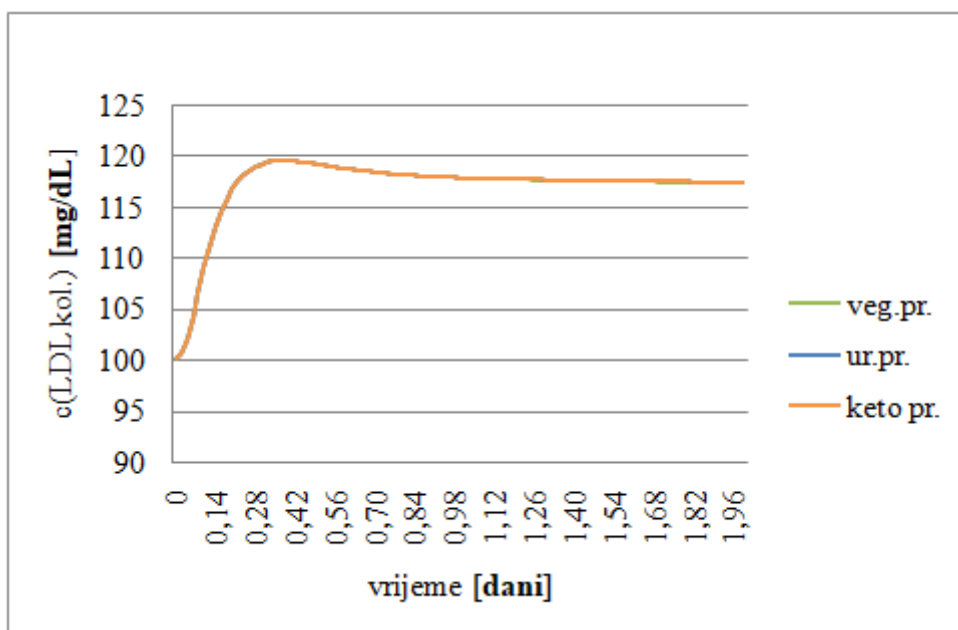
Slika 14. Promjene mase jetrenog kolesterola nakon večere pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana.= 0 mg, uravnotežena prehrana= 41,1 mg, keto prehrana= 44,5 mg)

Jetra, kao najvažniji organ u održavanju homeostaze kolesterola, ima veliku sposobnost održavanja relativno stabilne koncentracije kolesterola uz pomoć mehanizma povratne

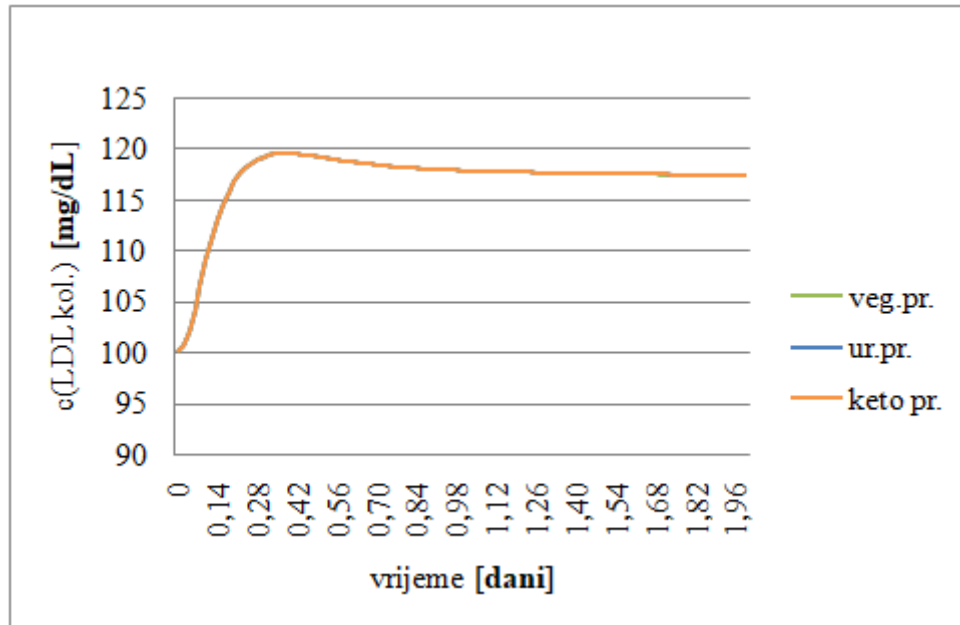
sprege(9). Kao što je vidljivo na prikazu modela metabolizma kolesterola na slici 5, jetreni kolesterol povezan je s velikim brojem ostalih komponenti sustava, a na slikama 12-14 koje predstavljaju rezultate nakon simulacije modela metabolizma kolesterola, možemo uočiti male razlike u masi jetrenog kolesterola s obzirom na njegov unos hranom. Ovi su rezultati u skladu s funkcijom jetre kao najvažnijeg organa za skladištenje, metabolizam i izlučivanje viška kolesterola.



Slika 15. Promjene koncentracije LDL kolesterola nakon doručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 78,1 mg, keto prehrana= 507,6 mg)



Slika 16. Promjene koncentracije LDL kolesterola nakon ručka pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 176 mg, keto prehrana= 182,6 mg)



Slika 17. Promjene koncentracije LDL kolesterola nakon večere pri različitim početnim vrijednostima mase kolesterola iz hrane (vegetarijanska prehrana= 0 mg, uravnotežena prehrana= 41,1 mg, keto prehrana= 44,5 mg)

Za razliku od mišljenja uvriježenog od 1960-ih godina, danas se smatra da ne postoji izravna korelacija između unosa prehranbenog kolesterola i koncentracije kolesterola u krvi. Manjak njihove povezanosti objašnjava se kao posljedica brojnih kompenzatornih mehanizama koje ljudsko tijelo ima na raspolaganju kako bi moglo upravljati viškom kolesterola unesenog hranom, kao što su smanjenje stope crijevne apsorpcije, povećanje sinteze žučnih kiselina ili usporavanje sinteze kolesterola *de novo*. Velik broj istraživanja i meta-analiza upućuje na nepostojanje povezanosti između prehranbenog kolesterola i rizika od srčano-žilnih oboljenja. U pojedinim istraživanjima izloženost većim količinama kolesterola iz hrane dovela je do povišenja koncentracije LDL kolesterola u plazmi. Međutim, u tim slučajevima došlo je i do porasta koncentracije HDL kolesterola pa je omjer LDL/HDL koji se smatra jednim od biomarkera za srčana oboljenja ostao jednak ili se čak snizio. Treba naglasiti da su u većini istraživanja kao izvor kolesterola iz hrane korištena jaja, kako bi se otklonila mogućnost utjecaja zasićenih masnih kiselina ili nekih drugih nutrijenata na razinu kolesterola u krvi(35).

Na slikama 15-17 prikazana je promjena koncentracije LDL kolesterola u plazmi nakon unosa različitih masa kolesterola iz hrane. Na ovim grafovima možemo uočiti da su krivulje gotovo identične i da se preklapaju, što govori u prilog tome da kolesterol iz hrane nema trenutačan utjecaj na razinu LDL kolesterola u krvnoj plazmi. Međutim, s obzirom da se u simulaciji mjere promjene u periodu od samo 2 dana nakon unosa obroka, iz dobivenih rezultata ne možemo zaključiti da dugoročan nizak ili visok unos kolesterola iz hrane neće imati utjecaj na razinu LDL kolesterola u krvi.

4.4. ANALIZA LOKALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI

Provedena je analiza lokalne parametarske osjetljivosti odnosno osjetljivosti varijabli modela metabolizma kolesterola na povećanje i smanjenje vrijednosti svih parametara za 1 %, 3 % i 5 %. 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 $t=2$ dana. Isti je postupak ponovljen nakon smanjenja vrijednosti svih parametara za 1 %, a zatim i za povećanje i smanjenje za 3 % odnosno 5 %. Kao početna vrijednost varijable kolesterol iz hrane korištena je vrijednost od 295,2 mg koja se odnosi na dnevni unos kolesterola iz hrane prateći izrađeni jelovnik za uravnoteženu prehranu.

Dobiveni su rezultati prikazani u programu *Microsoft Office Excel 2007* te su obrađeni na način da je negativna promjena mase ili koncentracije metabolita označena crvenom, a pozitivna promjena zelenom bojom. Polja koja su obojana svijetlo žutom bojom označavaju zanemarivu promjenu u odnosu na vrijednosti dobivene u simulaciji bez ikakve promjene parametara. U tablicama se mogu uočiti tri različite nijanse crvene i zelene boje. Veći intenzitet odnosno jačina boje ukazuju na značajniju promjenu mase ili koncentracije metabolita, dok manje intenzivne i slabije izražene nijanse ukazuju na njihovu manju promjenu. Rezultati analize lokalne parametarske osjetljivosti prikazani su na slikama 18-23.

Slika 18. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na povećanje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HLDLR, HLDLRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICt, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HLDLR	HLDLRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD	
ICSmax																					
ICt																					
IS																					
HCSmax																					
HCSt																					
HS																					
BCRmax		Green			Green																
BCRt		Orange			Orange																
BS																					
k5		Green	Green	Green	Green		Green														
k2		Green	Green	Green	Green		Orange														
k4		Green	Orange	Green	Orange		Orange														
k1	Red																				
k9								Green													
k10								Orange													
PCSmax																					
PPCt																					
PCSS																					
k23														Green				Green			
k24														Green		Orange		Green			
k25																	Green				
kprs																					
k22																					Green
k8																			Green		Green
k11																			Green	Green	Green
k7		Orange			Green																
k3		Green	Orange	Orange	Orange		Green														
k6		Orange			Orange																
khrs																					
k13										Green											
k12										Green	Green	Green	Green								
k14																					
k15											Orange										
k16												Orange	Green								
k17												Orange	Green								
k18													Orange								
k19																					
k20																					
k21																					
k26																					Orange
k27																			Green		
k28																					
k29																			Orange		

Slika 19. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na smanjenje parametara za 1 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HDLDR, HDLDRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICt, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HDLDR	HDLDRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD
ICSmax																				
ICt																				
IS																				
HCSmax																				
HCSt																				
HS																				
BCRmax		Orange			Orange															
BCRt		Green			Green															
BS																				
k5		Green	Orange	Orange	Orange		Orange													
k2		Green	Orange	Orange	Orange		Green													
k4		Orange	Green	Orange	Green		Green													
k1	Green																			
k9		Orange						Orange												
k10								Green			Orange	Orange	Orange							
PCSmax																				
PPCt																				
PCSS																				
k23																Orange				
k24														Orange		Green		Orange		
k25																	Orange			
kprs																				
k22																				Orange
k8																			Orange	
k11																			Orange	Orange
k7		Green			Orange															
k3		Orange	Green	Green	Green		Orange													
k6		Green																		
khrs																				
k13										Orange										
k12										Orange	Orange	Orange	Orange							
k14																				
k15											Green									
k16																				
k17												Green	Orange							
k18												Green	Green							
k19																				
k20																				
k21																				
k26																				Green
k27																				
k28																				
k29																				Green

Slika 20. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na povećanje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HLDLR, HLDLRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICt, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HLDLR	HLDLRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD	
ICSmax																					
ICt																					
IS																					
HCSmax																					
HCSt																					
HS																					
BCRmax		Green			Green																
BCRt		Orange			Orange																
BS		Green			Green																
k5		Orange	Green	Green	Green			Orange													
k2		Orange	Green	Green	Green			Orange													
k4		Green	Orange	Green	Orange			Orange													
k1	Red																				
k9								Green													
k10		Green			Green	Green		Orange			Green	Green	Green								
PCSmax																					
PPCt																					
PCSS																					
k23														Orange		Green		Orange			
k24														Green		Orange		Green			
k25																	Green				
kprs																					
k22																					Green
k8																			Green	Green	
k11												Green	Green	Green					Green	Green	
k7		Orange			Green																
k3		Green	Orange	Orange	Orange			Green													
k6		Orange			Orange																
khrs																					
k13										Green	Green	Green	Green	Green							
k12											Green	Green	Green	Green							
k14																					
k15											Orange										
k16												Orange	Orange								
k17												Orange	Green								
k18													Orange								
k19																					
k20																					
k21																					
k26																				Orange	
k27																			Orange		
k28																					
k29																			Orange		

Slika 21. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na smanjenje parametara za 3 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HLDLR, HLDLRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICt, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HLDLR	HLDLRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD	
ICSmax																					
ICt																					
IS																					
HCSmax																					
HCSt																					
HS																					
BCRmax		Orange			Orange																
BCRt		Green			Green																
BS		Orange			Orange			Orange													
k5		Green	Orange	Orange	Orange		Orange														
k2		Green	Orange	Orange	Orange		Orange														
k4		Orange	Green	Orange	Orange		Orange														
k1	Green																				
k9								Orange													
k10		Orange			Orange	Orange	Orange	Green			Orange	Orange	Orange								
PCSmax																					
PPCt																					
PCSS																					
k23																Orange	Green				
k24														Orange		Green					
k25																	Orange				
kprs						Orange															
k22																					Orange
k8																			Orange	Orange	
k11																			Orange	Orange	
k7		Green			Orange			Orange													
k3		Orange	Green	Green	Orange			Orange													
k6		Green																			
khrs																					
k13										Orange	Orange	Orange	Orange								
k12										Orange	Orange	Orange	Orange								
k14										Orange	Orange	Orange	Orange								
k15										Green											
k16																					
k17												Green	Orange								
k18												Green	Green								
k19																					
k20																					
k21																					
k26																				Green	
k27																					
k28																					
k29																			Green		

Slika 22. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na povećanje parametara za 5 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HDLDR, HDLDRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICT, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HDLDR	HDLDRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD	
ICSmax																					
ICT																					
IS																					
HCSmax																					
HCSt																					
HS																					
BCRmax																					
BCRt																					
BS																					
k5																					
k2																					
k4																					
k1																					
k9																					
k10																					
PCSmax																					
PPCt																					
PCSS																					
k23																					
k24																					
k25																					
kprs																					
k22																					
k8																					
k11																					
k7																					
k3																					
k6																					
khrs																					
k13																					
k12																					
k14																					
k15																					
k16																					
k17																					
k18																					
k19																					
k20																					
k21																					
k26																					
k27																					
k28																					
k29																					

Slika 23. Odgovor varijabli modela metabolizma kolesterola na smanjenje parametara za 5 % prilikom simulacije modela s početnom vrijednosti kolesterola iz hrane od 295,2 mg u trajanju simulacije od 2 dana (varijable prikazane u stupcima: DC, IC, IBS, EBS, EC, HFC, HBS, HCE, HLDLR, HLDLRD, VLDLC, IDLC, LDLC, PFC, PLDLR, PCE, PSS, HDLC, NHDL, PLDLRD; parametri prikazani u retcima: ICSmax, ICt, IS, HCSmax, HCSt, HS, BCRmax, BCRt, BS, k5, k2, k4, k1, k9, k10, PCSmax, PPCt, PCSS, k23, k24, k25, kprs, k22, k8, k11, k7, k3, k6, khrs, k13, k12, k14, k15, k16, k17, k18, k19, k20, k21, k26, k27, k28, k29)

	DC	IC	IBS	EBS	EC	HFC	HBS	HCE	HLDLR	HLDLRD	VLDLC	IDLC	LDLC	PFC	PLDLR	PCE	PSS	HDLC	NHDL	PLDLRD	
ICSmax																					
ICt																					
IS																					
HCSmax																					
HCSt																					
HS																					
BCRmax		Orange			Orange																
BCRt		Green			Green																
BS																					
k5																					
k2		Green	Orange	Orange	Orange		Green														
k4		Orange	Green	Orange	Green																
k1	Green																				
k9								Red													
k10								Green													
PCSmax																					
PPCt																					
PCSS																					
k23															Green	Red					
k24														Orange		Green		Orange			
k25																	Red				
kprs																					
k22																					Orange
k8																					
k11																			Red	Red	
k7					Red																
k3		Orange	Green	Green			Orange														
k6		Green																			
khrs																					
k13										Red											
k12											Red	Red	Red								
k14																					
k15											Green										
k16																					
k17												Green	Orange								
k18													Green								
k19																					
k20																					
k21																					
k26																					Green
k27																					
k28																					
k29																					Green

Analizom dobivenih rezultata potvrđena je međusobna povezanost između metabolizma kolesterola i metabolizma žučnih soli. Već pri promjeni od 1 % za parametre k2 (otpuštanje

žučnih soli), k4 (izlučivanje žučnih soli) i k5 (sinteza žučnih soli) dolazi i do promjena u masi crijevnog kolesterola (IC) i izlučenog kolesterola (EC), uz očekivane promjene mase crijevnih žučnih soli (IBS), jetrenih žučnih soli (HBS), kao i izlučenih žučnih soli (EBS). Tijekom procesa probave, žučne kiseline se otpuštaju iz jetre i žučnog mjehura u crijevo te pomažu u stvaranju lipidnih micela s kolesterolom koji bi inače bio netopljiv u vodenom mediju. Većina žučnih kiselina se reapsorbira u crijevu nakon čega se portalnom venom prenosi u jetru i može se ponovno izlučiti u žuč(7).

Također, već pri povećanju parametra k11 koji se odnosi na jetrenu sintezu nascentnog HDL-a za 1 % dolazi do značajnog porasta koncentracije nascentnog HDL-a, a posljedično i koncentracije HDL kolesterola u plazmi. Uočeno je da korak nastanka VLDL kolesterola iz jetrenog kolesterola ima važnu ulogu i određuje koncentraciju VLDL kolesterola, IDL kolesterola i LDL kolesterola u plazmi. Taj je korak reguliran parametrom k12 pri čijem se povećanju za 1 % uočava porast koncentracije navedenih metabolita kolesterola. Za oba parametra vrijedi i obrnuto: smanjenjem njihovih vrijednosti za 1 % smanjuje se razina nascentnog HDL-a i HDL kolesterola u plazmi (za parametar k11) odnosno koncentracija VLDL kolesterola, IDL kolesterola i HDL kolesterola (za parametar k12).

Na snižavanje koncentracije LDL kolesterola u plazmi utječe porast parametra k18 koji određuje kinetiku reakcije preuzimanja LDL kolesterola u jetru ovisnog o LDL receptorima. Ovaj podatak ukazuje na važnost brojnosti LDL receptora prisutnih u jetri te se smatra da je smanjenje njihovog broja tijekom godina jedan od mogućih uzroka povećanja koncentracije LDL kolesterola i rizika od srčano-žilnih oboljenja tijekom starenja. Naime, uočeno je da u procesu starenja dolazi do dužeg vremena zadržavanja kolesterola u tijelu odnosno smanjene stope njegovog izlučivanja. S obzirom da je uklanjanje LDL kolesterola iz krvi te prijenos u jetru ovisan o jetrenim LDL receptorima, porast koncentracije LDL kolesterola u krvi tijekom starenja može se objasniti smanjenjem broja ili aktivnosti ovih receptora(36).

Crijevni kolesterol (IC) pokazao se kao najosjetljivija varijabla modela jer se na promjenu njegove vrijednosti može utjecati najvećim brojem parametara.

5. ZAKLJUČCI

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

- 1) Simulacija modela metabolizma kolesterola u računalnom programu *CellDesigner* je uspješna, a promjena mase kolesterola i ostalih prikazanih metabolita u skladu je s dosadašnjim eksperimentalnim podacima.
- 2) U modelu nije prikazan utjecaj zasićenih masnih kiselina na metabolizam kolesterola, što se može smatrati jednim od nedostataka modela i predstavljati ideju za proširenje modela i buduća istraživanja.
- 3) Uočen je utjecaj kolesterola iz hrane na masu crijevnog i jetrenog kolesterola, ali i manjak utjecaja kolesterola iz hrane na promjenu koncentracije metabolita kolesterola u krvnoj plazmi (VLDL kolesterol, IDL kolesterol, LDL kolesterol i HDL kolesterol) tijekom ispitivanog perioda od 2 dana nakon unosa.
- 4) Analiza lokalne parametarske osjetljivosti omogućuje vrednovanje parametara prema njihovom utjecaju na izlazne rezultate simulacije modela. Prilikom simulacije konstruiranog modela metabolizma kolesterola, parametrima od najveće važnosti pokazali su se parametar jetrene sinteze nascentnog HDL-a te parametar nastanka VLDL kolesterola iz jetrenog kolesterola.
- 5) Daljnji razvoj sustavne biologije i računalnog programiranja te njihova integracija s nutricionističkim intervencijama može u budućnosti unaprijediti istraživanja u nutricionizmu i omogućiti približavanje konceptu individualizirane prehrane ili dijetoterapije.

6. LITERATURA

1. NIH. (2022) Cholesterol. NIH-National Institutes of Health, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cholesterol>. Pristupljeno 2. veljače 2023.
2. Soliman GA (2018) Dietary cholesterol and the lack of evidence in cardiovascular disease. *Nutrients* **10**, 780. doi: 10.3390/nu10060780.
3. Röhrl C, Stangl H (2018) Cholesterol metabolism – physiological regulation and pathophysiological deregulation by the endoplasmatic reticulum. *Wien Med Wochenschr* **168**, 280-285. doi: 10.1007/s10354-018-0626-2.
4. Wang HH, Garruti G, Liu M, Portincasa P, Wang DQH (2017) Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: Recent advances in reverse cholesterol transport. *Ann Hepatol* **16**, 27-42. doi: 10.5604/01.3001.0010.5495.
5. Feingold KR (2021) Introduction to lipids and lipoproteins. Endotext[Internet]. Pristupljeno 6. veljače 2023.
6. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA (2019) HDL and reverse cholesterol transport: Basic mechanisms and their roles in vascular health and disease. *Circ Res* **124**, 1505-1518. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.312617.
7. Mc Auley MT, Wilkinson DJ, Jones JLL, Kirkwood TBL (2012) A whole-body mathematical model of cholesterol metabolism and its age-associated dysregulation. *BMC Syst Biol* **6**, 130. doi: 10.1186/1752-0509-6-130.
8. Craig M, Yarrarapu SNS, Dimri M (2021) Biochemistry, Cholesterol. StatPearls [Internet]. Pristupljeno 17. veljače 2023.
9. Zhang F, Macshane B, Searcy R, Huang Z (2022) Mathematical models for cholesterol metabolism and transport. *Processes* **10**, 115. <https://doi.org/10.3390/pr10010155>

10. Linton MFR, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL i sur. (2019) The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. Endotext [Internet]. Pristupljeno 8. veljače 2023.
11. Flood C, Gustafsson M, Pitas RE, Arnaboldi L, Walzem RL, Boren J (2004) Molecular mechanism for changes in proteoglycan binding on compositional changes of the core and the surface of low-density lipoprotein-containing human apolipoprotein B100. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24**, 564-570. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000117174.19078.85>
12. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB (2003) Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* **77**, 1146–1155. doi: 10.1093/ajcn/77.5.1146.
13. Flock MR, Kris-Etherton PM (2013) Diverse physiological effects of long-chain saturated fatty acids: implications for cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **16**, 133–140. doi: 10.1097/MCO.0b013e328359e6ac.
14. Fattore E, Botta F, Agostani C, Bosetti C (2017) Effects of free sugars on blood pressure and lipids: A systematic review and meta-analysis of nutritional isoenergetic intervention trials. *Am J Clin Nutr* **105**, 42-56. doi: 10.3945/ajcn.116.139253.
15. Goff LM, Cowland DE, Hooper L, Frost GS (2013) Low glycaemic index diets and blood lipids: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **23**, 1-10. doi: 10.1016/j.numecd.2012.06.002.
16. Soliman GA (2019) Dietary fiber, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Nutrients* **11**, 1155. doi: 10.3390/nu11051155.
17. Kim Y, Je Y (2016) Dietary fibre and mortality from cardiovascular disease and all cancers: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Arch Cardiovasc Dis* **109**, 39-54. doi: 10.1016/j.acvd.2015.09.005.

18. Jesch ED, Carr TP (2017) Food ingredients that inhibit cholesterol absorption. *Prev Nutr Food Sci* **22**, 67-80. doi: 10.3746/pnf.2017.22.2.67
19. ODPHP (2010) Dietary guidelines for Americans, 2010. ODPHP-Office of disease prevention and health promotion, <https://health.gov/our-work/nutrition-physical-activity/dietary-guidelines/previous-dietary-guidelines/2010>. Pristupljeno 10. veljače 2023.
20. ODPHP (2015) 2015-2020 Dietary guidelines. ODPHP-Office of disease prevention and health promotion, <https://health.gov/our-work/nutrition-physical-activity/dietary-guidelines/previous-dietary-guidelines/2015>. Pristupljeno 10. veljače 2023.
21. DGA (2020) Dietary guidelines for Americans, 2020-2025. DGA-Dietary guidelines for Americans, <https://www.dietaryguidelines.gov/resources/2020-2025-dietary-guidelines-online-materials>. Pristupljeno 10. veljače 2023.
22. Blesso CN, Fernandez ML (2018) Dietary cholesterol, serum lipids and heart disease: Are eggs working for or against you? *Nutrients* **10**, 426. doi: 10.3390/nu10040426.
23. Feingold KR (2021) The effect of diet on cardiovascular disease and lipid and lipoprotein levels. Endotext[Internet]. Pristupljeno 6. veljače 2023.
24. Mc Auley MT (2020) Systems biology and nutrition. U: Marriot BP, Birt DF, Stallings VA, Yates AA (ured.) Present Knowledge in Nutrition, 11.izd., Academic Press, str. 593-604.
25. Badimon L, Vilahur G, Padro T (2017) Systems biology approaches to understand the effects of nutrition and promote health. *Br J Clin Pharmacol* **83**, 38-45. doi: 10.1111/bcp.12965.
26. Pico C, Serra F, Rodriguez AM, Keijer J, Palou A (2019) Biomarkers of nutrition and health: New tools for new approaches. *Nutrients* **11**, 1092. doi: 10.3390/nu11051092.
27. Van Ommen B, van den Broek T, de Hoogh I, van Erk M, van Someren E, Rouhani-Rankouhi T, i sur. (2017) Systems biology of personalized nutrition. *Nutr Rev* **75**, 579-599. doi: 10.1093/nutrit/nux029.

28. Funahashi A, Morohashi M, Kitano H (2003) CellDesigner: A process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico* **1**, 159-162. doi: 10.1016/S1478-5382(03)02370-9.
29. Hargreaves SM, Raposo A, Saraiva A, Zandonadi RP (2021) Vegetarian diet: An overview through the perspective of quality of life domains. *Int J Environ Res Public Health* **18**, 4067. doi: 10.3390/ijerph18084067.
30. Batch JT, Lamsal SP, Adkins M, Sultan S, Ramirez MN (2020) Advantages and disadvantages of the ketogenic diet: A review article. *Cureus* **12**, 9639. doi: 10.7759/cureus.9639.
31. USDA (2018) Nutrient lists from standard reference legacy. USDA-United States Department of Agriculture, <https://www.nal.usda.gov/human-nutrition-and-food-safety/nutrient-lists-standard-reference-legacy-2018>. Pristupljeno 17. veljače 2023.
32. Zi Z (2011) Sensitivity analysis approaches applied to systems biology models. *IET Syst Biol* **5**, 336-346. doi: 10.1049/iet-syb.2011.0015
33. Nakano N, Inoue I, Murakoshi T (2019) A newly integrated model for intestinal cholesterol absorption and efflux reappraises how plant sterol intake reduces circulating cholesterol levels. *Nutrients* **11**, 310. doi: 10.3390/nu11020310
34. Iqbal J, Al Qarni A, Hawwari A (2017) Regulation of intestinal cholesterol absorption: A disease perspective. *ABC* **7**, 60-75. doi: 10.4236/abc.2017.71004
35. Fernandez ML, Murillo AG (2022) Is there a correlation between dietary and blood cholesterol? Evidence from epidemiological data and clinical interventions. *Nutrients* **14**, 2168. doi: 10.3390/nu14102168
36. Morgan AE, Mooney KM, Wilkinson SJ, Pickles NA, Mc Auley MT (2016) Investigating cholesterol metabolism and ageing using a systems biology approach. *Proc Nutr Soc* **76**, 378-391. doi:10.1017/S0029665116002822

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Vlastoručni potpis