



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Никола Б. Јовичић

**Утицај минералне воде Снежник на  
микробиоту, метаболичке, биохемијске и  
антропометријске параметре код пацијената  
са дијабетес мелитусом типа 2**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2023. године



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU  
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Nikola B. Jovičić

**Uticaj mineralne vode Snežnik na  
mikrobiotu, metaboličke, biohemijske i  
antropometrijske parametre kod pacijenata  
sa dijabetes melitusom tipa 2**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Nikola B. Jovicic

**The influence of Sneznik mineral water on  
microbiota, metabolic, biochemical and  
anthropometric parameters in patients  
with type 2 diabetes mellitus**

Doctoral dissertation

Kragujevac, 2023.

## ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>Аутор</i>
Име и презиме: Никола Јовичић
Датум и место рођења: 07.12.1977. године, Београд, Република Србија
Садашње запослење: начелник кабинета за унутрашње болести Института за ваздухопловну медицину Војномедицинске академије
<i>Докторска дисертација</i>
Наслов: Утицај минералне воде Снежник на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2
Број страница: 106
Број слика: 1 слика, 11 табела, 25 графика
Број библиографских података: 228
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац
Научна област (УДК): медицина
Ментор: Проф. др Владимир Јаковљевић
<i>Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 30.12.2022.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: бр. IV-03-172/13 од 21.03.2023.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Владимир Живковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;</li><li>2. Проф. др Иван Срејовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;</li><li>3. Проф. др Ненад Стојиљковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Физиологија, члан.</li></ol>
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Владимир Живковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;</li><li>2. Проф. др Иван Срејовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;</li><li>3. Проф. др Ненад Стојиљковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Физиологија, члан.</li></ol>
Датум одбране дисертације:

## IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

<i>Autor</i>
Ime i prezime: Nikola Jovičić
Datum i mesto rođenja: 07.12.1977. godine, Beograd, Republika Srbija
Sadašnje zaposlenje: načelnik kabineta za unutrašnje bolesti Instituta za vazduhoplovnu medicinu Vojnomedicinske akademije
<i>Doktorska disertacija</i>
Naslov: Uticaj mineralne vode Snežnik na mikrobiotu, metaboličke, biohemijske i antropometrijske parametre kod pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2
Broj stranica: 106
Broj slika: 1 slika, 11 tabela, 25 grafika
Broj bibliografskih podataka: 228
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac
Naučna oblast (UDK): medicina
Mentor: Prof. dr Vladimir Jakovljević
<i>Ocena i odbrana</i>
Datum prijave teme: 30.12.2022.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: IV-03-172/13 od 21.03.2023.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Prof. dr Vladimir Živković, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;</li><li>2. Prof. dr Ivan Srejšević, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, član;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu za užu naučnu oblast Fiziologija, član.</li></ol>
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Prof. dr Vladimir Živković, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;</li><li>2. Prof. dr Ivan Srejšević, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, član;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu za užu naučnu oblast Fiziologija, član.</li></ol>
Datum odbrane disertacije:

## DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

<i>Author</i>
Name and surname: Nikola Jovicic
Date and place of birth: 07.12.1977., Beograd, Republic of Serbia
Current employment: head of the cabinet for internal diseases Institute of Aviation Medicine of the Military Medical Academy
<i>Doctoral Dissertation</i>
Title: The influence of Sneznik mineral water on microbiota, metabolic, biochemical and anthropometric parameters in patients with type 2 diabetes mellitus
No. of pages: 106
No. of images: 1 image, 11 tables, 25 graphs
No. of bibliographic data: 228
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine
Mentor: Assoc. prof. Vladimir Jakovljevic
<i>Grade and Dissertation Defense</i>
Topic Application Date: 30.12.2022.
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic: no IV-03-172/13 from 21.03.2023.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Prof. dr Vladimir Zivkovic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;</li><li>2. Prof. dr Ivan Srejovic, Associate Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, member;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljkovic, Full professor at the Medical faculty, University of Nis, Physiology, member.</li></ol>
Commission for evaluation and defense of the doctoral dissertation: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Prof. dr Vladimir Zivkovic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;</li><li>2. Prof. dr Ivan Srejovic, Associate Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, member;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljkovic, Full professor at the Medical faculty, University of Nis, Physiology, member.</li></ol>
Date of Dissertation Defense:

## Сажетак

**Увод:** с обзиром да је минерална воде са извора „Снежник-1/79“ још од почетка 20. века била препозната за лечење проблема гастроинтестиналног тракта, главна хипотеза ове студије је била да њена употреба може допринети у отклањању констипације код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2.

**Циљ:** испитивање утицаја минералне, слабо киселе воде са извора „Снежник-1/79“ на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 (Т2ДМ).

**Метод:** студија је спроведена на 60 испитаника, пацијената оболелих од Т2ДМ који су лечени у Специјалној болници Меркур, Врњачка Бања. По пријему у болницу испитаници су методом случајног узорка сврстани у 2 једнаке групе: 1. група: испитаници који су уз одговарајућу терапију узимали и прописану количину минералне воде са извора „Снежник-1/79“ у трајању од 3 недеље; 2. група: испитаници који су уз одговарајућу терапију узимали и прописану количину обичне воде за пиће из водоводног система у трајању од 3 недеље. На почетку и на крају студије мерени су следећи параметри: антропометријски параметри процена телесног састава, дневник дневних obroка, дневник праћења цревног пражњења, микробиотска анализа столице, вредности HbA1C, гликемије и инсулинемије (наште), липидограм, јонограм, вредности артеријског крвног притиска, маркери оксидационог стреса и ензими антиоксидационе заштите (супероксид дизмутаза-SOD, каталаза-CAT и редуковани глутатион-GSH).

**Резултати:** конзумирање испитиване воде било повезано са позитивним променама микробиоте ових пацијената као и редукојом констипације. Осим тога, након употребе "Снежник" воде дошло је до упадљиво ниже продукције про-оксиданаса и истовремено повећане мобилности свих мерених ензима антиоксидационог система заштите.

**Кључне речи:** минерална вода, микробиота, гликемија, оксидациони стрес, дијабетес мелитус тип 2

## **Abstract**

**Introduction:** considering that the mineral water from the spring "Sneznik-1/79" has been recognized since the beginning of the 20<sup>th</sup> century for the treatment of gastrointestinal tract problems, the main hypothesis of this study was that its use can contribute in reduction of constipation in patients with diabetes mellitus type 2.

**Objective:** estimation of the effects of mineral, weakly acidic water from the spring "Sneznik-1/79" on microbiota, metabolic, biochemical and anthropometric parameters in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**Methods:** the study was conducted on 60 subjects, patients suffering from T2DM who were treated at the Merkur Special Hospital, Vrnjacka Banja. Upon admission to the hospital, the subjects were randomly divided into 2 equal groups: 1. group: subjects who, along with appropriate therapy, also took the prescribed amount of mineral water from the spring "Sneznik-1/79" for 3 weeks; 2. group: subjects who, along with appropriate therapy, also took the prescribed amount of ordinary drinking water from the water supply system for 3 weeks. At the beginning and at the end of the study, the following parameters were measured: anthropometric parameters, body composition assessment, diary of daily meals, diary of intestinal emptying, microbiota analysis of stool, values of HbA1C, glycemia and insulinemia, lipidogram, ionogram, arterial blood pressure, oxidative stress markers and antioxidant protection enzymes (superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT and reduced glutathione-GSH).

**Results:** the consumption of the tested water was associated with positive changes in the microbiota of these patients as well as with the reduction of constipation. In addition, after the use of "Sneznik" water, there was a significantly lower production of pro-oxidants and at the same time an increased mobility of all measured enzymes of the antioxidant protection system.

**Key words:** mineral water, microbiota, glycemia, oxidative stress, diabetes mellitus type 2



## САДРЖАЈ

I	УВОД.....	1
1.1.	Уводна разматрања.....	2
1.2.	Дефиниција минералних вода, њихово порекло и класификација.....	3
1.3.	Микробиолошка и хемијска исправност минералних вода.....	7
1.4.	Природне минералне воде Републике Србије - историјски значај, класификација, карактеристике.....	10
1.5.	Здравствени значај минералних вода.....	15
1.5.1.	Значај примене минералних вода у третману обољења дигестивног тракта.....	15
1.5.2.	Значај примене минералних вода у третману реуматских обољења.....	16
1.5.3.	Значај примене минералних вода у третману кардиоваскуларних обољења.....	17
1.5.4.	Значај примене минералних вода у третману дерматолошких обољења.....	19
1.6.	Особености минералних вода Врњачке Бање.....	19
1.6.1.	Карактеристике минералне воде Снежник.....	21
1.7.	Дијабетес мелитус.....	23
1.7.1.	Постављање дијагнозе дијабетес мелитуса тип 2.....	25
1.7.2.	Терапија дијабетес мелитуса тип 2.....	26
1.7.2.1.	Медикаментозна терапија дијабетес мелитуса типа 2.....	27
1.8.	Дисбиоза и дијабетес мелитус типа 2.....	30
1.9.	Потенцијална улога минералних вода у терапији дијабетес мелитуса типа 2.....	30
II	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	33
2.1.	Циљеви истраживања.....	34
2.2.	Хипотезе истраживања.....	34
III	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	35
3.1.	Врста студије.....	36
3.2.	Популација која се истражује.....	36
3.3.	Узорковање.....	36
3.4.	Варијабле које се мере у студији.....	37
3.5.	Снага студије и величина узорка.....	39

3.6. Статистичка анализа резултата .....	39
IV РЕЗУЛТАТИ .....	40
4.1. Параметри телесне композиције.....	41
4.2. Дневник пражњења.....	41
4.3. Микробиотска анализа столице – GI Effects тест свеобухватног профила столице.....	43
4.4. Параметри оксидационог статуса.....	44
4.5. Биохемијски параметри крви.....	52
V ДИСКУСИЈА .....	71
5.1. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на микробиоту, дисбиозу и динамику пражњења пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 .....	73
5.2. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на биохемијске параметре из крви пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 .....	80
5.3. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на биомаркере оксидационог стреса пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 .....	83
VI ЗАКЉУЧЦИ.....	90
VII ЛИТЕРАТУРА .....	92

# **I**

# **УВОД**

## 1.1. Уводна разматрања

Вода прекрива највећи део земљине површине и чини већину телесне масе људског тела, те је сходно наведеном јасно зашто је заштита и одржавање њеног квалитета на светском нивоу од пресудног значаја за одржавање живота на Земљи. Светска здравствена организација (СЗО) је значај овог питања препознала још 1992. године и у Хелсинкију усвојила Конвенцију о водама којом се стимулише међувладина сарадња у овом домену и истиче чињеница да свако има дужност да воду користи пажљиво и економично (1). Како је и сам Платон (427-347. године пре нове ере) препознао: „*Оно што је ретко, скупо је. Вода, као најважнија ствар на свету, напротив, нема цену.*”

На хуманом нивоу значај воде се објашњава податком да највећи проценат масе људског тела чини вода подељена у више функционално и са хемијског аспекта различитих одељака. Подела одељака је извршена на интрацелуларну течност, која чини 40% телесне масе и екстрацелуларну течност која се даље дели на интерстицијумску течност, плазму и трансцелуларну течност. Податак да је свака ћелија испуњена и окружена водом имплицира да се целокупна међућелијска комуникација, сви транспортни, метаболички, биохемијски и регулаторни процеси одвијају захваљујући њеном присуству и адекватним хемијским карактеристикама, попут поларности, способности стварања водоничних веза и неутралне рН вредности (2-4). Препоруке дневних потреба за уносом воде варирају у односу на пол, старост и друга физиолошка стања (трудноћа, дојење), као и присуство одређених системских обољења и потребно је придржавати их се како би се одржао процес хомеостазе организма, односно унапредио здравствени статус појединца. Од пресудног је значаја за поштовање препорука везаних за конзумацију воде на дневном нивоу, а и све већи проблем данашњице, то да их је потребно испоштовати уносом воде адекватног квалитета (3, 5).

Поред маломинералних, минералне воде, према различитим регулаторним телима, представљају добар избор када се говори о постизању адекватног степена хидратације, њиховом употребом као пијаћих вода (5). У складу са поменутиим и чињеницама да само једна трећина светских количина слатке воде може да се користи за хуману употребу, да расте степен загађења животне средине и да светска популација бележи континуирани пораст, може се закључити да су све активности СЗО по питању очувања водених капацитета и њиховог квалитета и више него потребне (1, 5). Самим тим што је примена основне материје, задужене за одржавање живота, повезана са постизањем позитивних здравствених ефеката објашњено је и све веће интересовање научне заједнице усмерено на водне потенцијале и капацитете наше државе, која са аспекта богатства овим природним ресурсом представља једну од најперспективнијих земаља у региону, чије су резерве процењене на преко 1000 l/s (6). Додатна истраживања имају за циљ олакшање и унапређење коришћења минералних вода у домену превенције и лечења одређених стања и обољења попут дијабетес мелитуса типа 2, као и процеса рехабилитације.

## 1.2. Дефиниција минералних вода, њихово порекло и класификација

Према дефиницији минералне воде представљају воде пореклом из различитих слојева Земљине коре, које се од маломинерализованих и обичних вода за пиће јасно разликују према свом специфичном и сталном хемијско-гасном статусу, киселости/алкалности, радиоактивности, присуству специфичних компоненти, првобитној чистоћи или по својој повишеној температури (5, 7, 8). Карактеристике их то да имају добра хигијенска својства, позитиван ефекат на здравље, као и да могу извирати из једног или више извора природног или бушотинског порекла (5).

Минералне воде се карактеришу комплексним саставом у који улазе јони, растворени гасови, органске материје и колоидне честице. Још је Аристотел (4. век пре нове ере) писао да је вода онаква каква је стена из које потиче, док је данас и доказано да узајамно деловање мноштва фактора и процеса еволутивно утиче на састав минералних вода. Миграцијом се преносе растворене минералне материје водама простом и сложеном формом кретања, где њихов извор чине мантија (испарљиве компоненте магме), литосфера (стене и минерали), хидросфера (океани, мора, језера, реке) или атмосфера (падавине). Наравно, оваква комплексност састава представља велики проблем за истраживачке тимове у погледу изучавања услова њиховог настанка. Самим тим, интересантна је чињеница да је коришћење минералних вода забележено од најранијих периода цивилизације иако дуго није био познат начин формирања минералних вода нити њихово физиолошко деловање на људски организам (5, 7-10).

У 20. веку многи научници, различитих специјалности, покушавали су да формирају прецизну класификацију минералних вода и у томе били делимично успешни. Користивши критеријуме попут степена минерализације воде (сума растворених соли у води), тврдоће (сума соли земноалкалних метала), киселости воде, гасног састава, услова формирања и температуру створили су основу за многе данашње детаљније видове класификација, које су прецизније захваљујући савременијим, прецизнијим и специфичним хемијским методама, док је суштина остала иста (10). Данас се класификација минералних вода на глобалном нивоу врши на основу физичких, хемијских, физичко-хемијских, физиолошких, фармаколошких, клиничких, геолошких и хидрогеолошких критеријума у оквиру којих постоји више поткласа, које се могу применити када се врши класификација термоминералних вода на локалном нивоу. Критеријуми, класе и поткласе су сумирано представљени у наставку (2, 7, 8, 11-13):

1. брзина протока;
2. дубина порекла;
3. температура;
4. тачка мржњења;
5. суви остатак на 180°C;
6. рН вредност;
7. степену тврдоће (одређене на основу концентрације  $\text{CaCO}_3$ );
8. садржај угљен-диоксида;
9. доминантни хемијски састав;
10. утврђена физиолошка/фармаколошка активност.

Карактеристике, поделе минералних вода и дефинисане поткласе на основу сваког од поменутих критеријума представљене су у наставку:

1. На основу флукуације протока у току године, односно његове константности, која указује на дубину и величину самог резервоара изворишта, подела се врши на:
  - вишегодишње, код којих су флукуације протока у току године минималне;
  - сезонске изворе, код којих су флукуације протока изузетно велике што утиче на минерални састав воде.
  
2. На основу дубине порекла воде су подељене на:
  - површинске воде потичу из падавина, нестабилнијег су састава и мањих температура од дубинских вода. Оно што је карактеристично за њих је то да услед порозних површинских геолошких структура оне доспевају у одређене дубине, а затим проналазећи својим током одговарајуће пукотине поново избијају на површину где их региструјемо као изворе;
  - дубоке (вулканске) воде садрже састав минералних материја и растворених гасова који одговара саставу многоструких геолошких структура, кроз које пролазе на свом путу ка површини. Потичу из различитих дубина Земљине коре и стабилног су састава, а обично и већих температура. До већих дубина ове воде пристижу спором филтрацијом у специфичним хидродинамичким условима, па је за обнављање њихових лежишта потребно и до 20 000 година;
  - фосилне воде су дубинске воде заробљене унутар непорозних геолошких структура на већим дубинама. Њих карактерише случајни проналазак током бушења при истраживању постојања фосилних горива, као и ограничене резерве. Заправо, када се њихов капацитет исцрпи ове воде у потпуности нестају.
  
3. На основу температуре воде су подељене на:
  - хладне воде температуре испод 20°C;
  - хипотермалне воде температуре 20-35°C;
  - мезотермалне воде температуре 35-40°C;
  - хипертермалне воде температуре 40-50°C.
  
4. Тачка мржњења спада у колигативне особине раствора и као и све колигативне особине зависи од броја честица у раствору, односно у овом случају од минералног састава вода.

Наведена вредност може бити представљена у виду температуре на којој ће наведена вода мрзнути, као и са аспекта концентрације минерала у наведеним водама, при чему је повезаност концентрације и тачке мржњења обрнуто пропорционална, односно што је већи садржај минералних материја то је нижа тачка мржњења. Подела је на основу овог критеријума извршена на:

- изотоничне воде су воде чија ће тачка мржњења бити  $-0,58^{\circ}\text{C} < x > -0,55^{\circ}\text{C}$ , односно  $c= 325 \text{ mm/l}$ ;
- хипотоничне воде су воде чија ће тачка мржњења бити  $-0,55^{\circ}\text{C} < x > 0^{\circ}\text{C}$ , односно  $c < 325 \text{ mm/l}$ , што указује на њихов слабији минерални статус;
- хипертоничне воде су воде вишег минералног статуса чија ће тачка мржњења бити  $x < -0,58^{\circ}\text{C}$ , односно  $c > 325 \text{ mm/l}$ .

5. На основу сувог остатка, сачињеног од минералних соли, који заостане након евапорације 1 l минералне воде на  $180^{\circ}\text{C}$  подела је извршена на:

- воде веома ниског степена минерализације чији је суви остатак  $x < 50 \text{ mg/l}$ ;
- воде ниског степена минерализације или олигометалне воде чији је суви остатак  $50 \text{ mg/l} < x > 500 \text{ mg/l}$ ;
- воде средњег степена минерализације чији је суви остатак  $500 \text{ mg/l} < x > 1500 \text{ mg/l}$ ;
- воде високог степена минерализације  $x > 1500 \text{ mg/l}$ .

Степен минерализације воде представља основу за дефинисање њеног начина примене у циљу постизања здравствених ефеката. Мањи степен минерализације омогућава да се одређена вода конзумира орално, док виши степени минерализације дефинишу да се одређена вода доминантно или искључиво користи за лечење купањем.

6. На основу рН вредности подела минералних вода је извршена на:

- јако киселе  $\text{pH} < 3,5$ ;
- киселе  $\text{pH} = 3,5 - 5,5$ ;
- слабо киселе  $\text{pH} = 5,5 - 6,8$ ;
- неутралне  $\text{pH} = 6,8 - 7,2$ ;
- слабо алкалне  $\text{pH} = 7,2 - 8,5$ ;
- веома алкалне  $\text{pH} > 8,5$ .

7. На основу степена тврдоће, односно одређивања присуства соли земноалкалног метала, подела је извршена на:

- веома меке воде  $0 - 100 \text{ mg/l CaCO}_3$ ;
- меке воде  $100 - 200 \text{ mg/l CaCO}_3$ ;
- тврде воде  $200 - 300 \text{ mg/l CaCO}_3$ ;
- веома тврде воде  $300 - 400 \text{ mg/l CaCO}_3$ .

8. На основу садржаја угљен-диоксида подела је извршена на:

- природно газирани минералне воде, где је концентрација угљен-диоксида измерена на изворишту  $250 \text{ mg/l}$ ;
- газирани минералне воде, код којих је угљен-диоксид додат и у већој је концентрацији него на изворишту;
- негазирани минералне воде, код којих је концентрација угљен-диоксида измерена на изворишту мања од  $250 \text{ mg/l}$ .

Наглашено је да је потребно концентрацију угљен-диоксида измерити на изворишту из разлога највеће прецизности добијених резултата. Са хемијског аспекта оправданост лежи у чињеници да молекули гаса, услед већег садржаја кинетичке енергије и њиховог хаотичног кретања, теже да напусте течност и самим тим свако накнадно мерење није поуздано.

9. На основу хемијског састава подела се може извршити на више начина. Поједини аутори класификацију врше само на основу најдоминантнијег катјона или анјона, што је подржано и Европском директивом, док су ставови појединих научника да у назив минералне воде треба уврстити све катјоне/анјоне чија је концентрација једнака или прелази 25% укупног meq/l (милиеквивалената по литру).

Подела извршена на основу најдоминантнијег јона је следећа:

- Бикарбонатне воде, код којих садржај бикарбоната износи >600mg/l;
- Сулфатне воде, код којих садржај сулфата износи >200 mg/l;
- Калцијумске воде, код којих је садржај калцијума >150 mg/l;
- Хлоридне воде, код којих је садржај хлоридног јона >200 mg/l;
- Магнезијумове воде, код којих је садржај магнезијума >50 mg/l;
- Флуоридне воде, код којих је садржај флуоридног јона >1 mg/l, при чему треба обратити пажњу да постоји ограничење по питању примене воде која садржи >1,5 mg/l код деце млађе од 7 година;
- Киселе воде, код којих је садржај угљен-диоксида >250 mg/l;
- Натријумове воде, код којих је садржај натријума >200 mg/l, као и воде са ниским садржајем натријума, код којих је ниво натријума <20 mg/l;
- Гвожђевите воде, код којих је ниво феро ( $Fe^{2+}$ ) јона >1 mg/l.

Табела бр. 1. Називи минералних вода према најприсутнијим јонима. У табели није наведена прецизно концентрација јона већ се подразумева да сваки јон има концентрацију >25 % укупног meq/l како би се нашао у називу воде.

Бикарбонатне воде	Магнезијумове воде
Сумпорне воде	Калцијумове воде
Хлоридне воде	Натријумове воде
Бикарбонатно-сумпорне воде	Калцијумско-магнезијумове воде
Бикарбонатно- хлоридне воде	Калцијумско-натријумове воде
Сумпорно-хлоридне воде	Магнезијумско-натријумове воде
Сумпорно-хлоридно-бикарбонатне воде	Калцијумско-магнезијумско-натријумове воде

Неопходно је нагласити да у минералним водама постоји присуство и великог броја микроелемената, попут литијума, бора, хрома, мангана, молибдена, бакра, стронцијума и силицијума, који се у минералним водама јављају у малим количинама, обично испод 1 mg/l и не одређују хемијски тип воде, али су зато одговорни за њихова специфична дејства (14).



10. На основу физиолошких и фармаколошких дејстава утврђених дуготрајном применом, подела вода је извршена на следећи начин:

- минералне воде које постижу диуретично дејство (15-17);
- минералне воде које остварују добре ефекте на хепато-билијарни систем постижући своје дејство попут холагога, холеретика или прокинетика, односно директно или индиректно стимулишући дејство дигестивног система (18, 19);
- минералне воде са добри ефектом код нефролошких проблема (20);
- минералне воде са ефектом на обољења кардиоваскуларног система (16, 21, 22);
- минералне воде са лаксативним дејством (23);
- минералне воде са ефектом на дерматолошке проблеме, укључујући и алергијске реакције (24-30);
- минералне воде које остварују добро дејство код посттрауматских и постоперативних стања (31);
- минералне воде са добрим дејством код гинеколошких проблема (32, 33);
- минералне воде са ефектом код реуматских проблема (34-37).

Сва истраживања која за циљ имају испитивање благотворних ефеката минералних вода и њихову примену код различитих органских обољења теже томе да се њиховим резултатима ова листа прошири, тако да је ово тренутни приказ сумације постојећих резултата са великим потенцијалом промене у будућности.

Све представљене поткласе минералних вода су резултат њиховог вишевековног испитивања, али како већина минералних вода има комплексан састав и остварује многоструке ефекте на организам и даље постоје различити предлози за стварање њихове униформне поделе, које би се придржавао већински број земаља. Наставља се дискусија између оних научника који за основу узимају физичко-хемијске карактеристике и минерални састав и оних који примарно посматрају њихову примену у балнеологији (8).

### **1.3. Микробиолошка и хемијска исправност минералних вода**

Састав и остале физичко-хемијске карактеристике минералних вода великим делом одређују примарни начин њиховог коришћења у сврхе лечења. Њихов квалитет свакако, без обзира на начин њиховог коришћења, треба да буде у складу са правилницима о хигијенској исправности воде за пиће, правилником о квалитету и другим захтевима за природну минералну воду, природну изворску воду и стону воду, као и у складу са европским прописима. Наведени подзаконски акти Републике Србије и европски прописи дефинишу параметре физичке, хемијске, микробиолошке, биолошке и радиолошке исправности воде како у нормалним околностима, тако и у току ванредног или ратног стања (13, 38-40). Такође, како би резултати поменутих праћених параметара били релевантни користе се искључиво методе које су специфичне, тачне, темељне, практичне и довољно осетљиве, при чему је дефинисано и то да опрема којом се врши експлоатација природне минералне воде мора да буде потпуно инертна, у погледу утицаја на било који праћени параметар квалитета воде (38).

Са микробиолошког аспекта је од највећег значаја да не дође до контаминације изворишта или воде за пиће, на било ком нивоу обраде/дистрибуције, било да се ради о фекалијама људи или животиња или неадекватности коришћене опреме, што би значило да је вода контаминирана патогеним бактеријама, вирусима, протозоама и хелминтима. Како би се спречио настанак наведеног проблема, потребно је осигурати систем приступа и примене воде на свим нивоима, јер би у супротном касније откривање постојећег проблема значило већ постојећу изложеност већег броја људи и њихово потенцијално обољевање (39, 40).

Правилником су дефинисани типови прегледа који се обављају на изворишту и морају испуњени како би вода са наведеног изворишта могла бити коришћена. Потребно је да се (13):

- докаже потпуно одсуство паразита и патогених микроорганизама;
- одреди квантитативно прецизан број колонија које указују на фекално загађење: у 250 ml воде мора постојати потпуно одсуство *Escherchie colli* на 37°C и 44,5°C, *Pseudomonas aeruginosa* и фекалних стрептокока, док у 50 ml мора постојати одсуство сулфиторедукујућих спорогених анаероба;
- утврдити укупан број израслих колонија у милилитру воде, при чему се одређивање врши на чврстој хранљивој подлози при условима 20-22°C у трајању од 72 сата или на 37°C у трајању од 24 сата.

Уколико вода са одређеног изворишта испуни наведене критеријуме и даљим анализама се утврди да је њена примена у виду воде за пиће погодна за постизање одређених здравствених ефеката, потребно је да се након обраде подвргне и испитивањима дефинисаним Правилником о хигијенској исправности воде за пиће (38), који су наведени у табели бр. 2, а који су проширени у односу на микробиолошке параметре квалитета за природну минералну воду, природну изворску воду и стону воду која је у промету у оригиналном паковању (39):

Табела бр. 2. Приказ врста лабораторијских прегледа и типа микробиолошких анализа којим се утврђује хигијенска исправност воде за пиће.

Основни преглед	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. укупне колиформне бактерије</li> <li>2. колиформне бактерије фекалног порекла</li> <li>3. укупан број аеробних мезофилних бактерија</li> <li>4. стрептококе фекалног порекла</li> <li>5. сулфиторедукујуће кластридије</li> <li>6. <i>Proteus</i> врсте</li> <li>7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> </ol>
Периодични преглед	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. укупне колиформне бактерије</li> <li>2. колиформне бактерије фекалног порекла</li> <li>3. укупан број аеробних мезофилних бактерија</li> <li>4. стрептококе фекалног порекла</li> </ol>

	<ol style="list-style-type: none"> <li>5. сулфиторедукујуће кластридије</li> <li>6. <i>Proteus</i> врсте</li> <li>7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>8. Ентеровируси</li> <li>9. бактериофаги</li> <li>10. Цревне протозое, хелминти и њихови развојни облици</li> </ol>
Преглед новог захвата воде	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. укупне колиформне бактерије</li> <li>2. колиформне бактерије фекалног порекла</li> <li>3. улупан број аеробних мезофилних бактерија</li> <li>4. стрептококе фекалног порекла</li> <li>5. сулфиторедукујуће кластридије</li> <li>6. <i>Proteus</i> врсте</li> <li>7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>8. Ентеровируси</li> <li>9. Феругинозе</li> <li>10. бактериофаги</li> <li>11. Цревне протозое, хелминти и њихови развојни облици</li> </ol>
Хигијенско епидемиолошке индикације (прегледи који се врше уколико постоји могућност да је дошло до загађења воде микробиолошким, физичким, хемијским или радиолошким чиниоцима)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. укупне колиформне бактерије</li> <li>2. колиформне бактерије фекалног порекла</li> <li>3. улупан број аеробних мезофилних бактерија</li> <li>4. стрептококе фекалног порекла</li> <li>5. сулфиторедукујуће кластридије</li> <li>6. <i>Proteus</i> врсте</li> <li>7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>8. Патогени микроорганизми према хигијенско-епидемиолошким индикацијама</li> <li>9. Ентеровируси</li> </ol>

Поред наведених микробиолошких анализа чије тумачење се разликује у зависности од тога да ли се ради о отвореним, затвореним извориштима или флашираној води на извору, постоји обавеза одређивања и биолошке исправности воде, што подразумева испитивање присуства алги (које могу да измене мирис укус и изглед воде), зоопланктона и других организама. Све ове анализе је потребно да буду спроведене провереним научним методама које су прилагођене посебним критеријумима природним минералних вода (38). Строго поштовање поменутих критеријума је неопходно из разлога што неће све заражене особе развити симптоме, већ ће међу њима већи део бити асимптоматски, на шта утиче и имуни статус особе и врста микроорганизма, а што као последицу доводи до секундарног ширења патогена (40).

Наравно, да би се постигла микробиолошка и биолошка исправност воде најчешће је потребно обављати и њихову дезинфекцију методама које, као и методе одређивања микробиолошке исправности, морају да буду усклађење карактеристикама минералних вода. Користе се различите механичке методе, које се заснивају на савременим облицима филтрације (мембранска филтрација, спора филтрација песком, зрнаста филтрација високе брзине итд.), као и хемијска средства најчешће на бази неког хлоридног једињења (хлор, хлор-диоксид и др.).

Дозвољена количина и тип заосталих органских материја, пестицида, коагулационих, флокулационих и дезинфекционих средстава су прецизно дефинисани правилницима (13, 38, 40), а колико је широк спектар микроорганизама које треба уклонити наведеним методама и постићи циљеве наведених прегледа, који само верификују успешност примењене методе за дезинфекцију и потврђују могућност коришћења испитиване воде, може се уочити у табели бр. 3 (40).

Табела бр. 3. Врста микроорганизама у води и пут могућег настанка инфекције.

Врста микроорганизама	Пут могућег настанка инфекције
Бактерије: <i>Campylobacter jejuni</i> ; <i>Campylobacter coli</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Francisella tularensis</i> ; <i>Legionella pneumophila</i> ; <i>Salmonella typhi</i> ; <i>Salmonella enterica</i> ; <i>Salmonella bongori</i> ; <i>Shigella dysenteriae</i> ; <i>Vibrio cholera</i> .	гастроинтестинални (ингестијом)
Вируси: Adenoviruses; Astroviruses; Enteroviruses; Hepatitis A virus; Hepatitis E virus; Noroviruses; Parechoviruses; Rotaviruses; Sapoviruses.	
Протозое и хелминти: <i>Cryptosporidium hominis/parvum</i> ; <i>Cyclospora cayetanensis</i> ; <i>Dracunculus medinensis</i> ; <i>Entamoeba histolytica</i> ; <i>Giardia intestinalis</i> ; <i>Toxoplasma gondii</i> ;	
Adenoviruses; Enteroviruses; <i>Legionella pneumophila</i> ; <i>Mycobacterium avium</i> complex; <i>Naegleria fowleri</i> ; Parechoviruses.	респираторни (инхалацијом или аспирацијом)
<i>Acanthamoeba culbertsoni</i> ; <i>Burkholderia pseudomallei</i> ; <i>Leptospira interrogans</i> ; <i>Mycobacterium avium</i> complex; <i>Schistosoma mansoni</i> .	кожа, мукозне мембране, ране, очи (контактом)

#### 1.4. Природне минералне воде Републике Србије - историјски значај, класификација, карактеристике

У склопу првих историјских записа, односно најранијих периода људске цивилизације бележи се и примена минералних вода у циљу лечења, опоравка или хедонизма, иако се дуго није знао начин њиховог формирања и стварно њихово физиолошко дејство на људски организам. По примени благотворних ефеката минералних вода су били познати Грци, Египћани и Римљани, из чијег доба се бележе и први подаци о примени минералних вода на територији данашње Републике Србије. У периоду Римске империје поклањала се посебна пажња изворима минералних и термалних вода, па је тако

у Рибарској бањи постојало насеље римских колониста, а Врњачка термоминерална вода је коришћена као једна врста стационара за одмор и опоравак легионара, што је била пракса Римљана у целој тадашњој Европи. Римске терме су сачуване у Новопазарској бањи, Нишкој бањи, Гамзиградској бањи, Пећкој и Сијаринској бањи, а на многим другим локалитетима се старе каптаже термалних извора и данас називају „римским бунарима” (7, 10, 41, 42). Уколико поред историјског значаја посматрамо и апсолутну старост воде, која је одређена на основу мерења садржаја угљениковог изотопа  $C^{14}$ , може се увидети да старост неких минералних и термалних вода у Републици Србији износи и до 30 000 година (Табела бр. 4). На овај податак утиче постојање полуотворене хидрогеолошке структуре, која омогућава довољно дуг контакт воде и стене и тиме доприноси размени топлоте и минералних материја (41-44).

Табела бр. 4. Локалитет најпознатијих минералних и термалних вода у Републици Србији и њихова апсолутна старост према садржају  $C^{14}$

Локалитет	Апсолутна старост према садржају $C^{14}$ (год.)
Бања Ковиљача	18500 ± 430
Прибојска бања	28000 ± 1000
Матарушка бања	16700 ± 350
Врањска бања	24300 ± 850
Луковска бања	2500 ± 900
Врњачка бања	30000 ± 1700
Сокобања	4360 ± 110
Нишка бања	3150 ± 100

Проблем старог доба је представљала чињеница да су минералне воде коришћене неселективно, услед недостатка научних података о њиховом саставу и специфичностима, па им се истовремено приписивао и успех и неуспех у лечењу. Касније се, са напретком науке, ситуација променила и балнеотерапија бележи свој напредак од почетка XVIII века, највећи процват бележи у другој половини двадесетог века, а данас поприма све већи туристичко-здравствени потенцијал (7, 9, 10, 41). Прве научне документоване чињенице о бањским минералним водама на територији данашње Републике Србије износи Лека са сарадницима почетком двадесетог века. Књига М.Т. Лека се односила на хемијски састав минералних вода и послужила је за многа детаљнија испитивања која су се касније одвијала (42). Састав и склоп терена Републике Србије је сложеног и разноврсног литофацијалног комплекса дубоког неколико километара где се разламају многи планински венци и тиме се стварају услови за настанак, комплексно кретање и експлоатацију минералних вода разноврсног састава. Уједињене Нације су Републику Србију сврстале на 47. место од укупно 180 земаља према квалитету и количини водних ресурса, што значи да је Србија средње богата земља по питању резерви воде. Састав геолошког терена омогућава да велики број термоминералних вода у Србији има самоизливе, односно површинске изворе термоминералних вода, при чему је до данас регистровано ~1300 извора, бунара и бушотина, а већина њих је слабо истражена и лоше искоришћена.

Осим тога, термоминерална налажишта у Републици Србији имају велику топлотну снагу, али је њихова искоришћеност, у односу на суседну Мађарску, која је водећа земља по питању степена искоришћености геотермалног потенцијала, на занемарљивом нивоу (41-45).

Подела минералних и термалних вода у Републици Србији је извршена на више начина. Класификације се међусобно преклапају и допуњују, а на њих се могу додатно применити и претходно представљене категорије минералних вода. Приказ основних класа и поткласа са примерима бања које им припадају је следећи (41-46):

1. према генетском пореклу;
  2. према хидрогеолошкој структури, која утиче на формирање одређеног лежишта воде, на основу којих је формирана и подела Републике Србије на хидрогеолошке рејоне;
  3. према хемијском саставу термоминералних вода;
  4. функционална класификација.
1. Према генетском пореклу све минералне воде у Републици Србији се могу сврстати у три групе и то:
- **Вулканске минералне воде** које се јављају у северном простору Вардарске зоне и у Српско-македонској маси Србије, а углавном припадају Шумадијском типу вода. Углавном су неутралног до слабо алкалног карактера што значи да нису у стању да врше значајно испирање елемента из околних стена, на шта имају утицај концентрација растворене материје у води, температура и притисак. Изузетно варијабилна и мала концентрација хлора у овим водама говори у прилог томе да су оне настале у континенталним условима, односно након регресије Панонског мора на овим просторима, уз локално присуство малих морских акумулација чије је ослађивање имало брзи ток. Карактеристичне су по садржају калијума, литијума, рубидијума и цезијума.
  - **Панонске минералне воде** се јављају у Панонском басену и његовим ободима, према пореклу су фосилне, морске и нафтне. Такође, више су или мање слане због варирајућег присуства натријум-хлорида, магнезијума, сулфата и хидрогенкарбоната у њима. Поред наведених јона садрже и хлор, бром, јод, флуор, литијум и стронцијум.
  - **Десцендентне минералне воде** су атмосферске воде које примарно пониру до мањих или већих дубина, а затим поново избијају на површину, док се и при понирању и при извирању делимично минерализују. Ниске су температуре, ниске минерализације и високе рН вредности.

Постоји могућност мешања ових вода сходно геолошкој структури терена, а расподела термоминералних вода према овој подели је приказана у табели бр. 5.

Табела бр. 5. Расподела термоминералних вода према геолошкој структури терена

Минералне воде вулканског порекла	Минералне воде Панонског басена	Минералне воде десцендентног типа
Богутовачка бања	Лештане- код Београда	Бељанице-Суви До
Брђани	Новосадска бања	Брестовачка бања
Бујановачка бања-Раковачко врело	Окањ	Деспотовачка бања
Букуља	Овча	Гамзиградска бања
Ђавоља варош-Радан планина	Паланачки кисељак	Јухор- околина Љига
Горња Трепча	Палић	Николићевска бања
Јошаничка бања	Пригревица	Ргошка бања- Књажевац
Бања Ковиљача	Бања Русанда – Меленци	Шарбановачка бања
Куршумлијска бања	Сланкаменска бања	Звоначка бања
Луковкса бања	Српски Милетић	
Матарушка бања	Торда	
Нишка бања		
Новопазарска бања		
Овчар бања		
Прилички кисељак-Ивањица		
Рибарска бања		
Сијаринска бања		
Сокобања		
Прокупачка бања		
Врањска бања		
Врњачка бања		
Врујци		

2. Према хидрогеолошкој структури на територији Србије су издвојене следеће групе термалних и минералних вода:

- **термалне и минералне воде вулканогених масива-** Радањска бања, Бања Љиг, Брђани, Горња Трепча, Брестовачка бања, Шарбановачка бања, Сумраковац, Гамзиградска бања, Сирчанска бања, Витановац, Матарушка бања, Рибарска бања, Јошаничка бања, Горњи Градац, Новопазарска бања, Луковска бања, Пролом бања, Куршумлијска бања, Ђавоља варош, Врањска бања, Сијаринска бања;
- **термалне и минералне воде карстних подручја-** Звоначка бања, Топлик-Крупац, Пиротска бањица, Нишка бања, Ргошка бања, Сокобања, Бања Јошаница, Сисевац, Деспотовачка бања, Крупајско врело, Суви До, Бања Вољавча, Бања Врујци, Књуч, Петница, Лађевац, Овчар бања, Лопатничка бања, Богутовачка бања, Прибојска бања, Пећка бања;

- **минералне и термалне воде области метаморфита**- Церска Слатина, Буковичка бања, Гараши, Брајковац, Крушевица, Паланачки кисељак, Церовац, Бела вода, Ломнички кисељак, Врњачка бања, Студенички извори, Брус, Вичка бања, Дечани, Магово, Бујановачка бања, Клокот бања, Кисела вода;
- **минералне и термалне воде хидрогеолошких басена**- бања Русанда-Меленци, Новосадска бања, Купиново, обод Фрушке Горе, Бања Врдник, Старо Хопово, Бања Ковиљача, Обреновачка бања, Скадарлија, Вишњичка бања, Кумодраж, Ритопек, Пожаревац, Селтерс бања, Кремна, Горња Добриња, Слатинска бања, Трстеник, Алексинац;

Такође, у оквиру хидрогеолошког контекста је извршена подела целокупне територије Републике Србије на следеће хидрогеолошке рејоне:

- **рејон Дакијског басена** - има 6 бунара/бушотина, нема активних бањских лечилишта и нису познате појаве природног истицања термоминералних вода;
- **рејон Карпато-балканида** - има 37 бунара/бушотина, има 8 активних бањских лечилишта. Имају минерализацију 1 g/l, термалне су, високих рН вредности и богате хидрогенкарбонатима, калцијумом и магнезијумом;
- **рејон Српског кристаластог језгра** - има 73 бунара/бушотина, има 10 активних бањских лечилишта. Минерализације су преко 5 g/l, хладне и термалне, рН вредности 3,5-9 и богате су хидрогенкарбонатима, натријумом, калцијумом, магнезијумом и сулфатима;
- **рејон Шумадијско-копаоничко-косовске области** - има 135 бунара/бушотина, има 17 активних бањских лечилишта. Најразноврсније су када је у питању степен минерализације, рН вредност и температура. Најдоминантнији минерал је натријум, а затим калцијум и магнезијум;
- **рејон Динарида западне Србије** - има 45 бунара/бушотина, има 8 активних бањских лечилишта. Слабо минералне, доминантно хладне и благо киселе, са доминантним присуством хидрогенкарбоната;
- **рејон Панонског басена**- има 78 бунара/бушотина, има 8 активних бањских лечилишта. Термалне воде високог степена минерализације, већински угљокиселе, повишених рН вредности и богате натријумом, калцијумом, амонијум јоном, јодом, бромом, флуором, силицијумом и стронцијумом. Њихова специфичност је присуство органских материја попут органских киселина, фенола, минералних уља, масти и полицикличних-ароматичних угљоводоника.

3. Према хемијском саставу термоминералних вода подела је извршена на:

- **хидрогенкарбонатне воде** које могу бити алкалне, када доминира натријум као катјон и земноалкалне, у случају доминације калцијума и магнезијума као земноалкалних метала. У алкалне бање спадају: Бања Кањижа, Врњачка бања, Буковичка бања, Бујановачка бања, Пролом бања, Паланачки кисељак, Бања Љиг. У земноалкалне бање се сврставају: Сокобања, Нишка бања,



Богутовачка бања, Јошаника бања, Горња Трепча, Луковкса бања, Гамзиградска бања, Бања Врујци, Прибојска бања, Звоначка бања;

- **сулфитне воде** могу бити салиничне, уколико је доминантно присуство сулфата, натријума и хидрогенкарбоната и горке, уколико концентрацијски доминирају магнезијум, натријум, хидрогенкарбонати и сулфати. У салиничне бање спадају: Брестовачка бања, Сијаринска бања, Рибарска бања, Бања Врдник и Врањска бања. У горке воде спада Велуће (Мивела стона вода);
- **хлоридне** или муријатичне воде обухватају бању Стари Сланкамен и Селтерс бању у Младеновцу;
- **сулфидне** или сумповите воде обухватају Матарушку бању, Бању Ковиљачу, Новопазарску бању и Овчар бању;
- јодне обухватају Бању Јунаковић, Бању Стари Сланкамен, Бању Меленци, Бању Кањижа, Младеновачка Селтерс бања;
- **грожђевито-арсенске** воде обухватају Сијаринску бању, Бујановачку бању, Прилички кисељак;
- **угљокиселе** воде обухватају Врњачку бању, Паланачки кисељак, Велуће, Луковску бању, Бању Ковиљачу, Буковичку бању, Сијаринску бању;
- **радонске** воде обухватају Сокобању, Сијаринску бању, Нишку бању, Богутовачка бања, Горња Трепча;
- **олигоминералне** воде обухватају Бању Врдник, Сокобању, Нишку бању, Јошаничку бању, Пролом бању.

4. Према функционалној класификацији подела је извршена на:

- здравствено-лечилишну;
- термо-култну;
- рекреативно-туристичку;
- експортно-експлоатациону;
- практично примењену.

## 1.5. Здравствени значај минералних вода

### 1.5.1. Значај примене минералних вода у третману обољења дигестивног тракта

Једни од најчешћих проблема савременог човека јесу проблеми везани за правилно функционисање дигестивног тракта, односно желуца, јетре, панкреаса и црева, а обухватају диспепсију, мучнину, повраћање, епигастрични бол, билијарну дискинезију, горушицу и констипацију као најдоминантније симптоме. Балнеотерапија и минералне воде су пронашле своје место као превентивна или помоћна средства у одржавању ремисије код ових проблема, а састав макро- и микронутријената, температура и рН

вредност вода које постижу наведене жељене ефекте је разнолик (2, 18, 19). Сваки од присутних јона је одговоран за одређени ефекат, што је у наставку и појашњено.

Доказано је да минерална вода која садржи бикарбонате, натријум, калцијум и магнезијум као макронутријенте постиже прокинетско дејство на нивоу гастроинтестиналног тракта тиме што делује стимулишуће на глатке мишићне ћелије. Примена овог типа минералних вода као профилаксе настанка желудачног улцера, код особа које хронично примењују нестероидне-антиинфламаторне лекове, оправдана је тиме што калцијумови и хлоридни јони остварују антиинфламаторно дејство на гастричну мукозу (2, 47, 48). Због ефекта на неутрализацију хлороводоничне киселине, подизање рН вредности и стимулације стварања дигестивних хормона примена минералне воде са бикарбонатима је индикована и код особа са хипохлоричном-пептичком хиперсекрецијом и особа са гастроезофагеалном рефлуксном болести (2, 5, 49, 50). Магнезијумово дејство попут холагога је резултат релаксације Одијевог сфинктера, чиме се омогућава лакше отицање жучи и самим тим боље функционисање билијарног система (5, 51, 52). Присуство сулфата у већој концентрацији утиче на настанак осмотског дејства и ослобађање холецистокинина, утичући тиме на ендокрину и паракрину међућелијску комуникацију, што резултује повољним исходом код хроничне примитивне констипације (2). Такође, двоструко слепим рандомизованим клиничким студијама је потврђено да примена воде са вишим концентрацијама магнезијума и сулфата, након две недеље континуиране примене, доводи до побољшања стања код особа са функционалном констипацијом поправљајући им квалитет живота и смањујући потребу за применом препарата са лаксативним дејством. Процењено је да је потребно на дневном нивоу унети 300-500 ml наведене воде како би се након пар недеља постигло повећање мотилитета и одржала повољна структура столице (50, 53, 54). Интересантно је да је клиничким испитивањем потврђено да магнезијум-сулфат-бикарбонатна вода постиже боље побољшање диспептичних тегоба у односу на примену инхибитора протонске пумпе, па се може закључити да смањење потребе за применом фармаколошког третмана након примене минералних вода представља један од главних бенефита оваквог облика терапије (55).

Код хроничног хепатитиса и холециститиса се применом минералних вода постиже диуретични ефекат, смањење отока јетриног паренхима, смањење концентрације холестерола и двоструког смањења интензитета инфламације, док наведено није постигнуто код особа са цирозом јетре. Биохемијским анализама је доказан и позитиван ефекат на нормализацију новог билирубина, аланинаминотрансферазе и алкалне-фосфатазе код истих група пацијената (56). Код панкреатитиса примену минералних вода треба избећи у акутној фази болести и применити их само уколико се особа налази у хроничној ремисији (57, 58).

### **1.5.2. Значај примене минералних вода у третману реуматских обољења**

За примену балнеотерапије код пацијената са реуматоидним артритисом који представља хронично аутоимунско инфламаторно обољење и захвата приближно 1% светске популације, још није успостављен концензус између истраживача (59-61). Подаци да је за настанак реуматоидног артритиса 60% одговорна генетска основа, а да са 40% на то утичу услови околине, да нема до сада каузалног облика лечења већ се протоколи свODE на третман симптома попут бола, укочености и покретљивости, наводе на то да ће поред

фармаколошког вида лечења и физикалне терапије примена балнеологије у будућности имати још већи удео. Такође, у циљу побољшања квалитета живота у европским земљама се балнеотерапија користи и код особа са фибромијалгијом и остеоартритисом (61).

Најчешћи видови коришћења минералних вода у сврхе смањења бола и побољшања покретљивости зглобова, код пацијената са реуматоидним артритисом, заснивају се на купању целог тела или захваћених делова тела водом одговарајућих карактеристика, где се посебно мисли на њихову потребну температуру (59). У свим спроведеним клиничким испитивањима је коришћена вода чија је температура у просеку била 34-38 °С, док су вежбе у води спровођене и ако је температура воде била 42°С, а најчешће присутне хемијске компоненте од интереса у примењеним термалним водама су натријум, хлориди, калцијум, магнезијум, радон и угљен-диоксид. Такође, просек трајања једне сесије је око 20 минута, њихов број се разликује према типу студије и креће се од 12-15, укупно препоручено трајање лечења варира од 7-28 дана, а третмани минералном водом могу бити самостални или у комбинацији са млазницама под притиском или пешчаним купкама.

Утврђен повољан ефекат термалних вода се објашњава тиме да ослобађање од бола настаје услед повољног ефекта температуре и хидростатског притиска воде на кожу, као и ефекта повишене температуре на многе неуроендокрине реакције. Повећава се секреција адреналног хормона, кортизола, хормона раста и пролактина, па се наведеним ефектом на хиполамусно-хипофизно-адреналну осовину побољшава антиедематозни и антиинфламаторни ефекат примењених кортикостероида. Осим наведеног, показан је и утицај на смањење нивоа оксидационог стреса (59-64).

Резултати различитих клиничких истраживања, који се односе на утицај оваквих третмана на квалитет живота пацијената, што је праћено применом различитих стандардизованих скала, неконзистентни су из разлога недовољно добро конципираних методологија, кратког интервала праћења пацијената након завршетка испитивања (како би се пратио дугорочан ефекат), недостајућих података након истраживања и њихове неадекватне обраде (59). Може се закључити да је потенцијал примене балнеотерапије у овом домену од великог здравственог, економског и туристичког значаја, па је то довољан подстрек за истраживаче да конципирају више мултицентричних, рандомизованих клиничких студија које би се бавиле овом тематиком.

### **1.5.3. Значај примене минералних вода у третману кардиоваскуларних обољења**

Кардиоваскуларне болести, као најчешћи узрочници морталитета и морбидитета у савременом друштву, представљају највеће оптерећење за здравствене системе, укључујући и социоекономски аспект. Нови статистички подаци показују да је напредак у њиховом фармаколошком третману допринео смањењу морталитета, али да се наведено смањење примарно односи на уређене друштвене системе и категорије друштва са бољим животним стилем. Како у кардиоваскуларне болести сврставамо болести и срца и крвних судова следствено у њих убрајамо инфаркт миокарда, конгенитално срчано обољење, поремећаје ритма, субклиничку атеросклерозу, коронарну болест срца, валвуларне болести, болести вена и периферне артеријске болести. Како би се у позитивном смислу статистика променила, а квалитет живота сваког појединца поправио, потребно је придржавати се седам правила, а то су: правилна исхрана, престанак пушења, адекватна

физичка активност, вођење контроле о телесној маси, контрола нивоа гликемије, холестерола и крвног притиска (65, 66).

Контрола квалитета исхране подразумева и контролу квалитета воде која се уноси на дневном нивоу, што потврђују и истраживања која повезују тврдоћу воде (минерални састав) на ризику за настанак кардиоваскуларних обољења. Присуство алкалних, земноалкалних и прелазних метала попут калцијума, магнезијума, литијума, кобалта, мангана и ванадијума у води се повезује са постизањем потенцијалних бенефита у домену функционисања кардиоваскуларног система, док се присуство прелазних метала попут кадмијума, сребра, цинка и антимона повезује са штетним ефектима. Апсорпција цинка из минералних вода може имати и штетних ефеката доприносећи интрацелуларној акумулацији калцијума и тиме подстичући настанак хипертензије, међутим, главни бенефит апсорпције цинка је његов ефекат антагонизације дејства микронутријената попут олова и кадмијума. Присуство литијума и хрома резултује успоравањем процеса атеросклерозе утичући на процес синтезе холестерола и метаболизам липида и угљених-хидрата (65-67).

Постоје препоруке да особама са постављеном дијагнозом неке од кардиоваскуларних болести не треба препоручивати воду која је богата садржајем натријума и хлора, јер су са хемијског аспекта ова два јона у изузетно великој могућности да појединачно везују неколико молекула воде јон-дипол интеракцијама и самим тим би, повећањем волумена крвне плазме, утицали на повишење крвног притиска. Насупрот наведеном, примена алкалних вода, у оквиру којих су главни макронутријенти натријум и бикарбонати, показале су протективно дејство у домену превенције настанка кардиоваскуларних обољења код жена у постменопаузи (5, 50, 68, 69). Такође, уколико се особама са ниским садржајем калцијума и магнезијума у урину препоручи примена воде са њиховим високим садржајем у циљу њихове суплементације, након неколико недеља се бележи значајан ефекат у погледу регулације нивоа крвног притиска (70).

Клиничка испитивања која су укључивала пацијенте са првим и другим степеном хипертензије су доказала повољан ефекат оралне примене минералних вода у домену регулације крвног притиска, што се објашњава смањењем симпатичке активације и повећањем вагусне активности (71). Десетодневни третман заснован на двадесетоминутном купању у сулфатно-сулфидној минералној води је допринео регулацији и систолног и дијастолног крвног притиска код пацијената са хипертензијом првог степена, а претпоставка механизма насталог ефекта је вазодилатација крвних судова под дејством термоминералних вода и последично смањење периферног отпора. Постизање психичке релаксације у овом случају доприноси наведеном ефекту смањењем секреције хормона стреса, опуштањем скелетних мишића и смањењем потрошње кисеоника (72). Минералне воде које садрже високу концентрацију раствореног силицијума и угљен-диоксида, утичући на пермеабилност и структуру ћелијских мембрана, смањено стварање алдостерона и смањену осетљивост бета-адренергичких рецептора, доводе до хипотензивног ефекта (73). У неким истраживањима је утврђено постојање потенцијала природно газираних вода богатих натријумом да одржавају ниске вредности параметара (лептин, алдостерон, инсулин) који утичу на настанак метаболичког синдрома (5, 50).

Како метаболички синдром представља скуп повишеног крвног притиска, дислипидемије, хипергликемије и гојазности, битно је праћење параметара који показују евентуалну промену код сваког од поменутих поремећаја. Конзистентност резултата више клиничких студија није апсолутна, али се њиховом анализом закључује да већина истраживања показује позитиван утицај примене високоминералних вода на смањење телесне тежине услед прокинетског и холагогног дејства на дигестивни тракт, смањење нивоа триглицерида и укупног холестерола, а повећање нивоа HDL-а, смањење нивоа циркулишуће глукозе и регулације крвног притиска (74).

#### **1.5.4. Значај примене минералних вода у третману дерматолошких обољења**

Још у XIX веку је повезаност дерматологије, минералних вода и хидротерапије досегла до научних кругова. Примену сумпорних вода пореклом са Пиринеја су француски научници повезали са повољним ефектима код особа са инфламаторним обољењима коже попут псоријазе, хроничних екцема и атопијског дерматитиса и тежили да се примени минерална вода адекватног састава и код особа које то себи нису могле да приуште, тако што су фармацеути у унутрашњости земље покушавали да исту припреме екстерним додавањем минерала (75, 76).

Псоријаза представља хронично, аутоимунско и рекурентно обољење које ремети квалитет живота оболелог и од великог је значаја дефинисати начин и научно објаснити место примене минералних вода у било којем облику третмана овог обољења. Испитивањима је доказано антиинфламаторно, антибиотско, антиоксидационо и антипролиферативно дејство минералних вода са различитих подручија (Италија, Француска, Бугарска), што резултује смањењем симптома код оболелог, тиме што се регулише хиперпролиферација површинског слоја коже (75-79). Смањење дебљине коже код пацијената са псоријазом је повезано и са доказаним утицајем водоник-сулфида, магнезијума и селена, након њихове трансдермалне ресорпције. На раст кератиноцита и процес инфламације, минералне воде остварују ефекат утицајем на ћелијску адхезију и функцију интерлеукина 2 и 8, као и интерферона  $\gamma$  (76).

Многим рандомизованим клиничким студијама у италијанским и француским балнеолошким центрима је доказано да комбинација хидротерапије и фототерапије даје статистички значајно побољшање резултата и доприноси дуготрајном одржавању ремисије код пацијената са хроничним дерматолошким обољењима (75-77, 79).

#### **1.6. Особености минералних вода Врњачке Бање**

Извор минералне воде Снежник се налази у регији умерено-континенталне климе, на северним обронцима планине Гоч, у оквиру бањског лечилишта Врњачка бања, а недалеко од Краљева. У геотектонском смислу положај Врњачке бање има посебан значај, јер је ров који се кроз њу простире центар дејства младог вулканизма који је дао воде шумадијског типа, а које се данас користе за третман обољења дигестивног, хепато-билијарног, урогениталног система, реуматских и дерматолошких обољења. У директној генетској вези са овим водама су и концентрације минералних компоненти као што су калијум, литијум, рубидијум, цезијум и стронцијум (10, 42, 80-85).

Са историјског аспекта значај извора Врњачке бање се није мењао кроз векове, већ само начин и обим њихове искоришћености. Још од доба Римске империје познати су извори угљено-киселе воде у овом рејону што доказују и открића 1924. године у току каптажних радова када је откривено код извора топле воде једно удубљење у стени, које је у доба Римљана било удубљење где се захватала вода. У њему је нађено приближно 200 новчића из III и IV века нове ере. Након пропасти Римске империје на лековите изворе се заборавило све до друге половине XIX века када је 1870. године отворена прва званична сезона у лечилишту. Број гостију, број угоститељских објеката и укупан број посета од наведеног периода до данас континуирано расте што говори о великом здравственом потенцијалу овог лечилишта. Наравно, последице савременог доба попут урбанизације, индустријског развоја и пораста броја људи негативно утичу на квалитет минералних вода, што је проблем који захтева посебну пажњу (42, 81, 82).

У Бањи су постојала два природна извора минералне воде. Извор хладне минералне воде Снежник, издашности 0,8 l/s и температуре 17°C и извор Топле минералне воде, температуре 36,5°C. Касније су у подручју ових извора вршене истражне бушотине различите дубине, применом различитих геолошких метода истраживања, у циљу експлоатације веће количине минералне воде, што је резултовало добијањем нових налазишта на локалитетима у близини. Називи активних водоизворишта чији се капацитет процењује на 70 l/s су следећи (42, 81, 82):

- Снежник
- Језеро
- Слатина
- Топли извор (Топли минерални извор)
- Бели извор
- Борјак
- Врњачко врело
- Изворак
- Лигорекс
- Витојевачко поље
- Белимарковац

Иако нам је извор Снежник од примарног значаја у овом истраживању, у циљу свеобухватнијег увида у минерални статус водних налазишта Врњачке бање, њихово порекло приказано и са аспекта њиховог открића, физичко-хемијске карактеристике, сличности и разлике, биће представљене и карактеристике осталих природних и вештачких налазишта од значаја.

На локалитету Топлог извора је у периоду 1932-1934. године вршено копање више истражних бушотина дубине до 200 m, где је највећа количина воде температуре 31,5°C пронађена на највећој дубини. Данас се вода са овог извора исцрпљује са различитог распона дубина, па постоје благе варијације у њеној забележеној температури и осталим карактеристикама, које је ремете њену класификацију и основна својства.

Свакако, Топли извор представља извор са тврдом водом, високим садржајем натријума у односу на остале макронутријенте, највише температуре и највишим садржајем органских материја и магнезијума у овом рејону.

Такође, са бактериолошког аспекта је доказано да је вода Топлог извора погодна за коришћење у сврхе балнеотерапије, али да постоје микробиолошки показатељи фекалног и нефекалог загађења (42, 81, 82).

Након радова на изворишту Топли извор, 1935. године је откривена минерална вода Слатина и тада су урађене две каптаже (извор „ров” и извор „зид”) које су биле у функцији до 1978. године када су урађене још 4 истражне бушотине дубине до 44,5 m. Минерална вода Слатина је тврда, нижих температура и по минералном саставу слична Снежнику. По високом садржају натријума ова минерална вода је слична минералној води Кањижа и Витнички Кисељак у Босни и Херцеговини. Посебно је карактерише висок садржај литијума и присуство арсена и бора (42, 81, 82).

На 150 m од извора Слатина је извршено је истражно бушење на 505 m при чему се дошло до воде назване Бели извор, која је била у тренутку бушења капацитета 0,6 l/s, високог степена минерализације и температуре  $\sim 30^{\circ}\text{C}$ . Попут минералне воде Слатина, Бели извор садржи висок ниво литијума, док се по садржају калцијума може упоредити са одређеним изворима на територији Албаније (42, 81, 82).

Минерална вода Језеро је откривена 1978. године када је завршена истражна бушотина дубине 260 m, као и експлоатациони бунар на дубини од 302 m. Добијена вода је благо кисела, хидроген-карбонатна, богата угљен-диоксином, средње минерализације и температуре  $\sim 25^{\circ}\text{C}$  (42, 81, 82).

### **1.6.1. Карактеристике минералне воде Снежник**

На локалитету извора Снежник који је откривен 1916. године извршено је копање два плитка бунара у периоду 1922-1925. године, који су били у функцији до 1978. године када су избушене још три бушотине дубине 30-51 m. Након тога је урађен експлоатациони бунар „Снежник 1/79”, дубине 67,7 m у којем је урађена бивета за коришћење воде. Анализом воде је утврђено да минерална вода Снежник има најнижу рН вредност у односу на остала изворишта Врњачке Бање и на основу које је минерална вода Снежник сврстана у умерено киселе, док минерална вода Врњачко врело бележи највишу рН вредност. Снежник пропада тврдим водама, са високим садржајем гвожђа, флуора и кобалта, што настаје као резултат растварања серпентинске групе минерала, док је на основу измерене вредности арсена утврђено да је 50/1000 посетилаца потенцијално у карциногеном ризику. Такође, садржај угљен-диоксида се креће у распону 300-1000 mg/l што представља одраз локалног геолошког и хидрогеолошког окружења. Бактериолошким анализом је утврђено да је минерална вода Снежник безбедна за конзумацију у здравствене сврхе захваљујући налазу да је присуство аеробних мезофилних бактерија мање или једнако 1, што је у складу са националним прописима (10, 13, 38, 42, 81, 82). Ако упоредимо садржаје макронутријената у водама Врњачке Бање Топли извор, Снежник и Слатина увиђа се да постоје одређене међусобне разлике, али да су сличности много више изражене да би се правиле посебне класификације, па се према закључцима геолога може рећи да се ради о три извора које храни један исти корен (42).

Минерални састав, физичко-хемијске карактеристике и начин експлоатације макронутријената извора Врњачке Бање су приказани у табели бр. 6 и табели бр.7 (42, 81, 82).

Табела бр. 6. Основне карактеристике извора Врњачке Бање.

Назив изворишта	Дубина бунара (m)	Капацитет (l/s)	Начин експлоатације	Температура (°C)	Водоносна стена
<b>Снежник</b>	<b>67.8</b>	<b>2.8</b>	<b>исpumпaвaњeм</b>	<b>15.5</b>	<b>серпентине</b>
	<b>180</b>	<b>3.0</b>		<b>16.5</b>	
Језеро	302	0.5	слободан проток	26.0	мермер/шкриљац
Слатина	40–44.5	0.12	слободан проток	16.0	шкриљац
Топли извор	300	5.5	исpumпaвaњeм	32.0	серпентине
	262	7.2			
Бели извор	505	0.6	слободан проток	33.8	шкриљац
Борјак	225	3.2	исpumпaвaњeм	19.9	серпентине
	325	4.0		23.3	серпентине/мермер
	298	2.5		20.9	серпентине/шкриљац
Врњачко врело	166.6	4.2	исpumпaвaњeм	19.0	серпентине/пешчаре
	550	8.0		22.1	серпентине
Изворак	98	4.0	исpumпaвaњeм	15.6	шкриљац
Лигорекс	280	1.2	исpumпaвaњeм	21.9	пешчара
Витојевачко поље	215	8.0	исpumпaвaњeм	20.5	серпентине
	264	10.0		19.7	
Белимарковац	-	6.3	пролећни ток	10.5	мермер

Табела бр. 7. Минерални састав и физичко-хемијске карактеристике извора Врњачке Бање.

Назив изворишта	pH	укупна тврдоћа (°dH)	Na <sup>+</sup> (mg/L)	K <sup>+</sup> (mg/L)	Li <sup>+</sup> (µg/L)	Ca <sup>2+</sup> (mg/L)	Mg <sup>2+</sup> (mg/L)
<b>Снежник</b>	<b>6.42</b>	<b>20.68</b>	<b>189.9 ± 8.7</b>	<b>32.7 ± 1.8</b>	<b>364.2 ± 18.4</b>	<b>70.9 ± 3.1</b>	<b>48.5 ± 2.5</b>
Језеро	6.49	30.94	69.9 ± 20.9	78.8 ± 2.7	872.5 ± 40.6	155.1 ± 5.0	44.1 ± 1.4
Топли извор	6.48	21.66	394.6 ± 16.6	56.9 ± 1.1	618.6 ± 28.3	72.7 ± 3.7	51.7 ± 1.5
Борјак	6.88	18.23	158.3 ± 5.3	31.0 ± 1.4	292.5 ± 12.4	64.3 ± 3.1	41.7 ± 1.4
Бели извор	6.55	27.98	48.6 ± 26.6	91.2 ± 2.3	989.5 ± 42.9	122.5 ± 5.9	50.2 ± 1.2
Врњачко врело	6.90	10.50	27.9 ± 1.4	7.2 ± 0.2	29.4 ± 1.2	6.7 ± 0.2	41.7 ± 1.8
Слатина	6.68	31.66	715.4 ± 27.4	92.7 ± 4.7	985.2 ± 40.1	158.9 ± 7.7	45.0 ± 1.9



## 1.7. Дијабетес мелитус

Дијабетес мелитус представља збирни назив за скуп хетерогених метаболичких поремећаја, које у основи карактерише постојање хипергликемије, а који представља озбиљно оптерећење за здравствене системе и епидемију у савременом добу (86-88).

Основу дијабетес мелитуса чини неадекватна секреција инсулина од стране  $\beta$ -ћелија панкреаса услед њихове деструкције, која може бити у потпуности или делимично спречена или неадекватно биолошко дејство излученог инсулина на ћелијском нивоу, у смислу неодговарајуће реакције ћелије на његово присуство и тиме последично изостајуће реакције у домену преузимања глукозе (86, 88, 89). Како говоримо о мултифакторијелном, хроничном, незаразном обољењу које захвата приближно 500 милиона људи на светском нивоу, односно око 800 000 људи у Републици Србији и за које се процењује да ће узроковати смрт 592 милиона људи у свету до 2035 године, јасно је од коликог је значаја проучавати примену нефармаколошких третмана, у овом случају примену минералне воде, у циљу побољшања стања, превенције или третмана особа са дијагностикованим неким типом дијабетеса (88, 89). Класификација дијабетес мелитуса се може извршити на следећи начин (86, 89-100):

**1. Дијабетес мелитус тип 1 (ДМ1)** представља аутоимунско обољење које се у основи заснива на немогућности  $\beta$ -ћелија панкреаса да продукују инсулин као последица настале аутодеструкције, а чији се потенцијални узрочници могу класификовати у три категорије: генетска предиспозиција/херeditарни фактор, вирусна инфекција и фактори околине.

Под генетском основом се подразумевају гени познати као главни комплекс хистокompatибилности (МНС) који кодира синтезу молекула под називом хумани леукоцитни антигенски комплекс (HLA), које можемо сврстати у три групе (и више поткласа) и за које је утврђена повезаност између њиховог постојања код појединца са настанком дијабетес мелитуса типа 1. Постоје и новији методи проучавања генетске основе дијабетес мелитуса типа 1 који обухватају скенирање целог генома на присуство полиморфизма појединачних нуклеотида. Суштина је да као последица оштећења  $\beta$ -ћелија панкреаса долази до њихове апоптозе и продукције антигена који резултују активацијом Т лимфоцита. Активирани Т лимфоцити делом диференцирају у меморијске ћелије, а делом учествују у активном убијању (цитотоксични Т лимфоцити )  $\beta$ -ћелија панкреаса резултујући настанком дијабетес мелитуса типа 1.

Одређене врсте ентеровирусних инфекција попут Коксаки вируса Б4 су повезане са настанком дијабетес мелитуса типа 1. Протеин 2С Коксаки Б4 вируса молекулском мимикријом (сличношћу са декарбоксилазом глутаминске киселине) бива заштићен од напада Т лимфоцита и успева да наруши функцију ћелија панкреаса. Излагање антигенима од раног детињства, као и учестала примена хране са високим гликемијским индексом показују позитивну корелацију са настанком дијабетес мелитуса типа 1. Јавља се у ранијем животном добу, при чему новији епидемиолошки подаци говоре да тренутно ову форму болести има 490 000 деце у свету.

**2. Дијабетес мелитус тип 2 (ДМ2)** представља комплексно обољење које не обухвата само недовољну секрецију инсулина и његову неадекватну функцију на периферији, која резултује немогућношћу ћелије да преузме глукозу присутну у крвној плазми и упркос присуству инсулина, поремећај функционисања јетре (продукције глукозе), бубрега, црева, мишића и адипоцита (липолизе, повећана продукција проинфламаторних цитокина). Фактори са којима се повезује већи ризик за настанак дијабетес мелитуса типа 2 су генетски фактори, односно постојање историје присуства дијабетес мелитуса типа 2 код чланова породице, гојазност посебно абдоминалног типа, припадност одређеним етничким групама, хиперинсулинемија, поремећена толеранција на глукозу, дислипидемија, хипертензија, хиперурикемија, синдром полицистичних јајника, постојање гестацијског дијабетеса и физичка неактивност.

Глукозу, која је доспела у крвоток након апсорпције у дигестивном тракту, продукције у јетри процесом глуконеогенезе или ослобађањем из гликогена нагомиланог у скелетним мишићима и јетри, потребно је да преузму ћелије тако што ће концентрација глукозе утицати на ниво секретованог инсулина, а он последично на активност транспортера за глукозу на површини ћелијске мембране. Сходно томе поремећај на било ком нивоу стварања (уколико се у хепатоцитима ствара превелика количина глукозе или се ради о прекомерном ослобађању из залиха гликогена) или потрошње глукозе (смањено преузимање услед постојања инсулинске резистенције) води ка дијабетес мелитусу типа 2. Инсулинска резистенција подразумева да организам услед неосетљивости периферних ткива на присуство излученог инсулина доводи до његове хиперпродукције, односно хиперинсулинемије. На такав начин се врши исцрпљивање  $\beta$ -Лангерхансових ћелија које губе могућност да секретују инсулин у потребном обиму, а као последица настаје хипергликемија. Хипергликемија делује инхибиторно на секрецију инсулина, као и на периферну осетљивост што резултује погоршањем стања и настанком дијабетес мелитуса тип 2. Јасно је из описаног да инсулинска резистенција у позадини подразумева постојање метаболичких поремећаја и носи велики потенцијал за настанак кардиоваскуларних обољења. Не сме се занемарити поремећена функција  $\alpha$ -Лангерхансових ћелија, инкретина и бубрега, који имају задатак да реапсорбују глукозу уз помоћ котранспортера за натријум и глукозу (SGLT-1, SGLT-2). Утицај на функцију бубрега данас представља један од примарних метода оралне медикаментозне терапије дијабетес мелитуса типа 2.

Овај тип болести се почетком XXI века доминантно повезивао са старијом популацијом, међутим промене стила живота праћене повећањем квалитета технологије, која физички одмеђује човека у обављању физичких активности, овај тип болести се данас регуструје код све млађе популације. Наведено је последица све веће инциденце гојазности и озбиљан степен физичке неактивности млађих популација. Стога би се могло очекивати да ће ускоро довести до озбиљних измена статистичких података у овом домену, али с обзиром да се животни век продужио и да је просечна старост популације у развијеним друштвима све већа та промена може бити мање статистички уочљива. Такође, сходно томе да се код старијих припадника популације дијагноза дијабетес мелитуса све касније успоставља може се рећи да у тренутку открића већина њих већ има развијену неки вид компликације дијабетеса. Наведено потврђују и подаци да скоро половина пацијената од укупног броја оболели заправо нема дијагностикован дијабетес мелитус и не примењује ниједан вид препорука нити терапије.

Када су у питању родне разлике на то велики утицај имају различито понашање мушкараца и жена, различити стилови живота, различито психолошко управљање стресом, специфичност утицаја околине и разлике у разумевању, прихватању и имплементацији препорука за здравији начин живота.

**3. Гестацијски дијабетес** се дефинише као било који вид поремећене толеранције на глукозу настао у току трудноће. У току трудноће се повећавају потребе за инсулином услед повећаног калоријског уноса мајке, повећане телесне масе мајке и под дејством хормона плацентне на шта панкреас реагује повећањем масе  $\beta$ -Лангерхансових ћелија панкреаса. Неуспех у успостављању равнотеже између повећања масе  $\beta$ -Лангерхансових ћелија и количине секретованог инсулина води у настанак гестацијског дијабетеса. Фактори ризика за његов настанак су позитивни хередитет, гојазност, лоше навике у исхрани и већа старост трудница.

**4. Специфичне форме дијабетеса** обухватају оне облике дијабетес мелитуса који настати као последица болести егзокриног панкреаса (панкреатитис, хемохроматоза, траума), ендокриних болести (Кушингов синдром, хипертиреоза, акромегалија), инфекција, као и примене лекова попут тиреоидних хормона, глукокортикоида,  $\beta$ -адренергичких агониста и других.

### **1.7.1. Постављање дијагнозе дијабетес мелитуса тип 2**

С обзиром на поменути чињеницу да већина особа са дијабетес мелитусом типа 2 живи асимптоматски велика је вероватноћа да ће до успостављања дијагнозе доћи тек у тренутку испољавања неке од микро- или макроваскуларних компликација или значајно изражених симптома попут полифагије, полидипсије, полиурије, опште слабости, поремећаја вида или склоности ка инфекцијама. Како бисмо наведено предупредили потребно је спроводити скрининг на дијабетес који би обухватао преглед и лабораторијско тестирање особа са гликемијом наше 5,6-6,9 mmol/l, гликемијом у 120. минути након теста оптерећења глукозом 7,8-11 mmol/l и особа са нивоом HbA1c 5,7-6,4% (87, 89, 96). Према званичним ставовима како светских тако и наших стручњака и даље нам је за постављање дијагнозе дијабетес мелитуса потребна комбинација анамнезе, клиничке слике и лабораторијских анализа, које подразумевају одређивање нивоа глукозе у периферној венској крви и одређивање гликозилираног хемоглобина. Уколико након наведених поступака постоји неусаглашеност добијених резултата приступа се додатним лабораторијским анализама које подразумевају спровођење теста оптерећења глукозо (ОГТТ- *Oral Glucose Tolerance Test*) (89, 101).

Примарне лабораторијске анализе подразумевају одређивање нивоа гликемије наше и два сата некон јела као стандардни метод за успостављање дијагнозе дијабетеса. Да би се на адекватан начин тумачили добијени резултати потребно је нагласити да су нормалне вредности нивоа гликемије у распону 3,2-6,1 mmol/l. Особа се за одређивање нивоа гликемије наше мора припремити претходним осмочасовним гладовањем. Уколико се у два дана узаступно измери гликемија наше која износи  $\geq 7$  mmol/l, или се независно од унетих оброка у било ком моменту измери ниво гликемије  $\geq 11$  mmol/l уз присуство клиничких симптома, сме се без додатних испитивања поставити дијагноза дијабетеса.

Уколико симптоми нису присутни потребно је измерите нивое гликемије најмање два пута, у два различита дана или једанпут уз измерену вредност гликозилираног хемоглобина која износи  $\geq 6,5\%$  (89, 101).

Мерење нивоа гликозилираног хемоглобина, који представља показатељ просечног нивоа шећера у крви у последња два до три месеца и довољно сензитиван параметар да би се на основу његове вредности  $\geq 6,5\%$  поставила дијагноза дијабетеса. Референтне вредности за здраве особе износе испод  $5,7\%$ , док за особе са преддијабетесом износе испод  $6,4\%$  (89, 101). Од успостављања дијагнозе потребно је праћење нивоа гликозилираног хемоглобина два пута годишње, у циљу контроле терапијских ефеката.

Тест оптерећења глукозом (ОГТТ тест) се изводи, као што је поменуто, у случају неконзистентности, као и недовољно јасних претходно одрађеним лабораторијских анализа. Сходно томе, уколико је ниво гликемије након теста оптерећења глукозом након два сата (тј. 120 минута) већи од  $11,1 \text{ mmol/L}$  поставља се дијагноза шећерне болести. Уколико је ниво гликемије након два сата мањи од  $7,8 \text{ mmol/L}$ , то подразумева нормалну толеранцију на уношење глукозе (89, 101).

### **1.7.2. Терапија дијабетес мелитуса тип 2**

Како је у претходним одељцима наглашено, дијабетес мелитус представља комплексно, хронично, незаразно, прогресивно, мултиорганско обољење које са собом носи велики ризик за настанак многих микро- и макроваскуларних компликација. Како би се настанак наведених компликација предупредио, а квалитет живота одржао или побољшао, потребно је редовно контролисати ниво гликемије, ниво гликозилираног хемоглобина, као и посећивати лекаре одређених специјалности попут нефролога, неуролога, офталмолога и стоматолога, у циљу одржавања здравственог статуса у целости на одговарајућем нивоу (86, 87, 102). По постављању дијагнозе, пацијентима са дијабетес мелитусом тип 2 се првенствено у терапију уводи орални хипогликемик, док жељени циљеви уведене терапије зависе од година пацијента, очекиваног трајња живота, присуства коморбидитета, трајања болести, психосоцијалног и културног статуса особе. Уколико се наведеном терапијом не постигне потребна контрола гликемије врши се увођење комбинације хипогликемика (два или три у складу са потребама). Код напредовања болести, односно лоше контроле гликемије у терапију се уводе инсулински препарати (89, 95, 101, ).

Пацијент мора бити довољно едукован како би благовремено препознао знаке хипогликемије и хипергликемије и на одговарајући начин одреаговао. Едукација пацијента је неопходна и у домену примене нефармаколошких мера које обухватају примену принципа правилне исхране, прилагођавање потребног нивоа физичке активности, остављање пушења и престанак конзумације алкохола, а најбитније од свега прилагођавање стила живота индивидуалним потребама и тиме смањења укупног стреса, којем је особа изложена на дневном нивоу (86, 87, 89, 97). У Републици Србији су наведене препоруке адекватно представљене у склопу Националног водича добре клиничке праксе, а у систему здравствене заштите су на целој територији државе на примарном нивоу обезбеђени лекари опште праксе који пружају саветовање у вези наведених питања.

Осим тога, у апотекама, од стране фармацеута, пацијенти могу добити све потребне савете, па се самим тим може закључити да је за успех у терапији и постизање добре адхеренце потребна и добра информисаност пацијената о томе коме се могу обратити.

### 1.7.2.1 . Медикаментозна терапија дијабетес мелитуса типа 2

У великој већини пацијентима са дијагностикованим дијабетес мелитусом се прописује фармаколошка терапија за постизање адекватне регулације нивоа гликемије. Фармаколошка терапија обухвата примену оралних препарата, препарата за супкутану примену или примену препарата инсулина, при чему треба континуираним контролама нивоа гликозилираног хемоглобина и применом препорука за нефармаколошки третман одложити или искључити могућности укључивања инсулинских препарата у процес лечења (89). На нашем тржишту постоји седам група лекова и то (89, 102, 103):

- бигванидини (метформин);
- деривати сулфониуреје (гликлазид, глимепирид, глибенкламид);
- меглитиниди (репаглинид);
- тиазолидиндиони (пиоглитазон);
- инхибитори дипептидил-пептидазе-4 (саксаглиптин, ситаглиптин, алоглиптин, вилдаглиптин);
- инхибитори натријум-глукоза котранспортера 2 (дапаглифлозин, емпаглифлозин);
- агонисти глукагон сличног пептида- 1 (ексенатид, лираглутид, ликсисенатид) - примењују се субкутано, за разлику од осталих поменутих група и могу се прописати уколико претходна терапија није дала резултате.

Највећи део поменуте терапије је потпуно или делимично финансиран од стране Републичког фонда за здравствено осигурање, односно лекови се налазе на листи А и А1. Такође, постоји велики број формулација оралних хипогликемика који се уопште не налазе на листи Републичког фонда за здравствено осигурање. С обзиром да се Листе лекова у одређеним временским интервалима мењају, у циљу добре и континуиране информисаности, потребно је редовно пратити наведене промене (89).

Бигванидини чији је главни представник метформин је први фармакотерапијски избор код особа са дијабетес мелитусом типа 2 више од шест деценија. Уводи се у терапију код одраслих и деце старије од 10 година уколико хигијенско-дијететски режим није дао резултате, а његова примена се наставља и уколико касније дође до увођења других медикамената. С обзиром да су капацитети  $\beta$ -ћелија већ исцрпљени када дође до манифестације дијабетеса, примена метформина има за циљ да потенцира ефекат оне количине инсулина чија се секреција постиже, као и да утиче на процес глуконеогенезе у јетри (89, 103-105). Сходно томе да утиче на потенцирање ефеката инсулина лек је првог избора и у случају синдрома полицистичних јајника где ће утицати на регулацију дисгликемије, смањење телесне масе и хиперандрогенизам, док се данас његова примена испитује и у склопу других индикација попут превенција настанка дијабетеса, као и постизање антиканцерогеног, кардиопротективног и неуропротективног дејства (104-106). Ограничење за његову примену постоји уколико особа има оштећење бубрежне функције, на шта треба посебно обратити пажњу и пре његовог увођења, као и накнадно услед хроничног карактера његове примене и у ситуацијама када је бубрежна функција угрожена из неког другог разлога (103).

Добро се подноси, најчешћа нежељена дејства су везана за тегобе на нивоу дигестивног тракта и пролазног су карактера, међутим, њихово јављање ремети адхеренцу, па наведеном аспекту његове примене здравствени радници треба да посвете посебну пажњу. Одабир адекватне фармацеутске формулације која би омогућила боље подношење метформина, као и једноставнију једнократну примену на дневном нивоу је један од предлога за решење наведеног проблема са адхеренцом (89, 104, 105).

Деривати сулфонилуреје друге генерације се данас користе у третману дијабетес мелитуса типа 2 најчешће у комбинацији са метформином и за разлику од њега, који стимулише ефекте већ излученог инсулина, деривати сулфонилуреје стимулишу  $\beta$ -ћелије панкреаса да секретују инсулин утицајем на АТФ-зависне калијумове канале. Поред наведеног дејства, деривати сулфонилуреје имају и хемоваскуларне особине у том домену да смањују настанак микротромбоза помоћу утицаја на парцијалну инхибицију агрегације и адхезије тромбоцита и дејством на фибринолитичку активност васкуларног ендотела (89, 107-109). Иако се не убрајају у лекове са много нежељених ефеката опрез је потребан код њихове примене услед могућег настанка хипогликемије и повећања телесне масе. Хипогликемија може бити изражена и са продуженим трајањем, а код старијих особа често може остати и непрепозната (109).

Меглитиниди се прописују код особа са дијабетес мелитусом типа 2 код којих се хипергликемија није могла задовољавајуће контролисати самосталном применом метформина, дијетом, физичком активношћу и редукцијом телесне масе. Репаглинид се примењује препрандијално и доза се индивидуално титрира у циљу постизања оптималне контроле гликемије, а његова примена је контраиндикована код особа са тешким оштећењем функције јетре (89, 110, 111). Не сме се комбиновати примена репаглинида са дериватима сулфонилуреје због идентичног ефекта на стимулацију секреције инсулина, док је лек избора код пацијената са оштећеном бубрежном функцијом (110, 111). Репаглинид показује боље кардиопротективне ефекте од метформина, али мање од деривата сулфонилуреје (110).

Тиазолидиндиони су показали ефикасност код пацијената са дијабетес мелитусом који имају инсулинску резистенцију повећавајући осетљивост на инсулин у скелетним мишићима, јетри и масном ткиву, а смањујући производњу глукозе у јетри. Контраиндиковани су код особа са срчаном инсуфицијенцијом и особа са оштећеном функцијом јетре. Такође, примена пиоглитазона је у пракси лимитирана услед његових нежељених ефеката попут повећања ризика од прелома код жена након вишегодишње терапије, повећање телесне масе и задржавање течности могу умањити корекцијом дозирања (89, 112, 113). Поред наведеног, великим рандомизованим клиничким студијама је доказано да се применом пиоглитазона може постићи успоравање процеса атеросклерозе и смањење кардиоваскуларних нежељених догађаја (113).

Инхибитори дипептидил-пептидазе-4 су значајни код пацијената са већом телесном масом и пацијената склоних настанку хипогликемије, док код пацијената који имају инсулинску резистенцију њихова примена има мањи значај. Инхибирају разградњу ендогених хормона глукагону сличног пептида-1 и глукозно-зависног инсулинотропног полипептида, чиме стимулишу секрецију инсулина и снижавају концентрацију глукагона (89, 114, 115).

Данас је клиничким испитивањима проналази њихова улога у третману системске склерозе, инфламаторних болести црева, реуматоидног артритиса и других аутоимунских болести (114). Такође, потребно је водити рачуна о настанку нежељених ефеката на нивоу дигестивног тракта и настанку чешћих инфекција горњих делова респираторног система. Могу се примењивати као монотерапија или у комбинацији са другим хипогликемцима (89, 114, 115).

Инхибитори натријум-глукоза котранспортера-2 (SGLT-2 инхибитори) представљају групу антихипергликемика који постижу смањење бубрежног прага за излучивање глукозе и последично регулишу ниво гликемије њеним повећаним излучивањем, које зависи од њене концентрације и брзине гломеруларне филтрације. Сходно наведеном јасно се декларише контраиндикација за њихову примену, а то су особе са оштећеном бубрежном функцијом (89, 116-118). Могу се примењивати као монотерапија или у комбинацији са другим хипогликемцима, при чему је њихова предност у утицају на препрандијални и постпрандијални ниво глукозе, а као споредни ефекат повећаног излучивања глукозе добијамо утицај на систолни и дијастолни притисак, односно позитиван ефекат на регулацију хипертензије услед утицаја на ресорпцију натријума, хлорида и воде, постизање неуропротективног дејства, као и смањење телесне масе (116-119). Бенефити на нивоу кардиоваскуларног система у домену ефекта на срчану инсуфицијенцију се постижу услед повољног ефекта на побољшање срчаног метаболизма, побољшањем услова вентрикуларног оптерећења, утицајем на инхибицију миокардне  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  размене, смањење некрозе и срчане фиброзе и променама у адипокинима, производњи цитокина и маси епикардијалног масног ткива (118). Треба обратити пажњу на њихову комбинацију са диуретицима услед могућег хипотензивног ефекта, као и на њихов потенцијал да изазову дијабетичну кетоацидозу и учестале уринарне инфекције (89, 116-119).

Терапија агонистима глукагону сличног пептида-1 (GLP-1 агонисти) се препоручује као трећа терапијска линија особама са повишеном телесном масом, услед њихове тенденције да утичу на смањење исте или особама са ниским индексом телесне масе, који не могу да примењују инсулин. Постижу повећање секреције инсулина, смањење секреције глукагона при хипер- или еугликемији, успоравају пражњење желуца тиме спречавајући велике порасте гликемије после оброка (89, 120). Постижу потребно смањење гликозилираног хемоглобина и немају ризик за настанак хипогликемијских епизода. Могу интераговати са другим лековима јер остварују утицај на брзину пражњења желуца, а од нежељених дејстава се могу издвојити она на нивоу дигестивног тракта и потенцијал настанка акутног панкреатитиса, на шта треба посебно обратити пажњу уколико се јави абдоминални бол и мучнина (89, 120-122). Такође, клиничке студије су показале да агонисти глукагону сличног пептида могу ефикасно спречити настанак кардиоваскуларних нежељених догађаја попут акутног инфаркта миокарда и možданог удара (120, 121).

Применом свих претходно поменутих савета и принципа лечења има се за циљ одлагање примене или потпуно избегавање примене инсулинских препарата. Уколико особа и упркос оралној фармаколошкој терапији има изражене симптоме и високе вредности гликозилираног хемоглобина, врши се увођење инсулинске терапије као самосталне или у комбинацији са оралним хипогликемцима. Инсулински препарати се

деле на: брзоделујуће, средње-дугоделујуће, дугоделујуће и ултра-дугоделујуће инсулине, чије се дозирање прилагођава потребама и стању пацијента (89). Данас су новија истраживања показала да се ранијим увођењем инсулинске терапије као основу лечења дијабетес мелитуса типа 2 бележи боља очуваност  $\beta$ -ћелија панкреаса, побољшава инсулинска осетљивост и повољно делује на прогресију болести. Ова сазнања су унела велику дилему у научне кругове (123).

## 1.8. Дисбиоза и дијабетес мелитус типа 2

Сложена заједница микроорганизама, коју чине хиљаде бактерија, вируса и неких еукариота, који настањују дигестивни систем, чини микробиоту црева. Микробиота црева се развија још пре рођења и њена функција у нашем организму је вишеструка. Колонизацијом мукозних површина и секрецијом различитих антимикробних супстанци појачавају заштиту од патогених микроорганизама, јачају имуни систем, учествују у продукцији витамина, имају круцијалну улогу у процесу варења, контролишу пролиферацију епителних ћелија црева и њихову дифенцијацију, а утичући на комуникацију између централног нервног система и црева остварују ефекат и на менталне и неуролошке функције. Доказан је утицај цревне микробиоте и на инсулинску резистенцију, што последично утиче и на његову секрецију. На основу изложеног је јасно да одржавање равнотежног састава цревне микробиоте има круцијални значај за очување здравља, као и да се поремећај у саставу микробиоте може повезати са настанком и компликацијама обољења попут инфламаторних болести црева, дијабетеса, обољења бубрега, кардиоваскуларних и аутоимунских обољења (124-129).

Нумерички и садржајно се разликује микробиота дуж дигестивног система, при чему највећи број микроорганизама насељава колон (125, 126). Истраживањима је показано да су најзаступљенији типови бактерија *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Verrucomicrobia*, док се у најприсутније гљивице убрајају *Candida*, *Saccharomyces*, *Malassezia* и *Cladosporium*. Поред наведеног у састав цревне микробиоте људи спадају и вируси (124-127).

Поремећај цревне микробиоте се повезује са утицајем на настанак дијабетес мелитуса типа 2, али исто тако поремећај цревне микробиоте може настати и као последица постојања дијабетес мелитуса типа 2 (124, 127). Наравно, постоји разлика у саставу цревне микробиоте здравих особа и особа са дијабетес мелитусом тип 2. Код особа са дијабетес мелитусом тип 2 је утврђено значајно смањење релативног присуства бактерија из родова *Firmicutes* у односу на здраве особе, док је однос бактерија из родова *Bacteroidetes* и *Proteobacteria* нешто већи. Код поменутих Грам негативних бактеријских врста главну компоненту ћелијског зида чини липополисахарид, који као моћни стимулатор инфламације, услед повећане пропустљивости цревне баријере, може развити инфламаторни одговор, који би имао улогу у развоју дијабетеса (128). Насупрот наведеном, потврђено је да бактерије из родова *Lactobacillus fermentum*, *plantarum* и *casei*, *Roseburia intestinalis*, *Akkermansia muciniphila* и *Bacteroides fragile* остварују добар ефекат у домену одржавања интегритета цревне баријере, побољшање метаболизма глукозе и смањења продукције проинфламаторних цитокина, што резултује смањеним ризиком за развој дијабетес мелитуса тип 2 (129).



Битно је напоменути да метформин, као један од најчешће коришћених фармаколошких лекова у третману дијабетес мелитуса типа 2, интерагује са цревном микробиотом повећавајући присуство рода *Akkermansia*, захваљујући утицају на одвијање процеса инфламације, метаболизам глукозе, пропустљивост црвене слузнице и продукцију кратколанчаних масних киселина попут бутирата и пропионата (129).

Клиничким испитивањима је утврђена повезаност поремећаја састава црвене микробиоте са настанком компликација попут нефропатија, неуропатија, ретинопатија, цереброваскуларних и кардиоваскуларних болести код оболелих од дијабетес мелитуса тип 2. Настанак нефропатија се повезује са смањеним присуством родова *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Ruminococcaceae*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, а повећаним присуством *Parabacteroides*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* и *Klebsiella* (129, 130). Код пацијената са дијагностикованом дијабетесном ретинопатијом забележен је пад присуства родова *Bacteroidetes* и *Actinobacteria*, а пораст *Acidaminococcus*, *Escherichia* и *Enterobacter* (129, 131). Особе са присуством дијабетесне неуропатије имају повећано присуство *Firmicutes* и *Actinobacteria*, као и смањење присуства рода *Bacteroidetes*. Код пацијената са дијабетесом који су доживели акутни исхемијски мождани удар је утврђена повећана заступљеност рода *Lactobacillus ruminis* и смањено присуство рода *Lactobacillus sakei*. Такође, утврђено је да код особа које имају већи ризик за настанак можданог удара постоји смањено присуство бактерија, које повећавају производњу бутирата *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, што би последично значило да је дисбиоза сама по себи фактор ризика за настанак можданог удара (129, 132-134).

Може се закључити да модулацијом црвене микробиоте применом пребиотика, пробиотика и симбиотика, односно повећавањем присуства родова *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophiles*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus bulgaricus* у одређеним временским интервалима, може се остварити позитиван утицај у погледу побољшања регулације гликемије, позитивног утицаја на дислипидемију, смањење степена оштећења након насталог можданог удара, као и утицаја на настанак и одвијање инфламаторног процеса у зиду црева. Све наведено доприноси третману дијабетеса и насталих дијабетесних компликација или њиховој превенцији, а последично и повећању квалитета живота пацијената (129).

## 1.9. Потенцијална улога минералних вода у терапији дијабетес мелитуса типа 2

У претходним деловима ове дисертације су представљене карактеристике дијабетес мелитуса, модалитети његовог фармаколошког третмана и нефармаколошке мере, којих би се оболели требало придржавати, па ће сходно томе сада циљ бити да се представи улога примене минералних вода у превенцији и третману оболелих од дијабетес мелитуса типа 2 и његових компликација.

Потврђено је да повећан унос воде смањује ризик од настанка хипергликемије, што оправдава тежње научне заједнице да се спровођењем клиничких испитивања карактеристике минералних вода попут њихове температуре, рН вредности, садржаја угљен-диоксида и минералног састава искористе за доказивање потенцијала да постигну фармаколошко и физиолошко дејство. У складу са наведеним, минерална вода са високим садржајем бикарбоната утицајем на рН вредност плазме, односно корекцијом благе ацидозе, последично утиче и на смањење серумског нивоа глукозе, гликозилираног

хемоглобина и инсулинске резистенције, као и на повећање серумске концентрације инсулина (135). Такође, након двонедељне примене воде богате бикарбонатима и калцијумом биохемијским анализама је утврђено смањење и нивоа серумских гликоалбумина. Како се не сме занемарити значај утицаја минералних вода на цревну микробиоту, битно је напоменути да је у наведеном испитивању доказано и да примена воде богате бикарбонатима повећава присуство бактерија из родова *Christensenellaceae* и *Dehalobacteriaceae*, тиме утичући на настанак ефекта губитка телесне масе и последично бољу регулацију метаболичких параметара (136).

Осим наведеног, истраживањима спроведеним на животињама, воде богате бикарбонатима остварују ефекат и на регулацију дислипидемије на моделу изазваног метаболичког синдрома, па ће додатна испитивања бити потребна да се наведени ефекти испитају и на људској популацији (137). Повољне ефекте на секрецију инсулина остварују, поред бикарбонатних вода и термалне сулфатне и сулфитне воде, што је доказано у случају њихове и краткотрајне и дуготрајне примене (138). Позитиван утицај минералних вода са високим садржајем бикарбоната, хлорида, калцијума и магнезијума на ниво глукозе, липида и оксидациони стрес представља превенцију настанка кардиоваскуларних компликација и олакшава постизање циљних вредности гликорегулације (139).

У сваком случају, сви наведени докази о бенефитима примене минералних вода код особа оболелих од дијабетес мелитуса типа 2 говоре у прилог њихове примене у комбинацији са већ ординираним фармаколошком терапијом и прописаним нефармаколошким мерама, а све са циљем лакшег и ефикаснијег успостављања дугорочне гликорегулације и спречавања настанка дијабетесних компликација.

# **II**

## **ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА**

## 2.1 Циљеви истраживања

### Генерални циљ

Генерални циљ овог истраживања је испитивање утицаја минералне, слабо киселе воде са извора „Снежник-1/79“ на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 (Т2ДМ).

### Секундарни циљеви

1. Испитивање утицаја примене минералне воде са извора „Снежник-1/79“ на редокс равнотежу код пацијената са Т2ДМ.
2. Испитивање утицаја примене минералне воде са извора „Снежник-1/79“ на микробиту пацијената са Т2ДМ.
3. Испитивање утицаја примене минералне воде са извора „Снежник-1/79“ на антропометријске параметре испитаника: телесна тежина и висина, телесни састав (процент масти, мишића и воде) и ВМІ индекс.
4. Испитивање ефеката минералне воде на вредности артеријског крвног притиска, квалитативне параметре пулса, ултразвук срца и ЕКГ.
5. Испитивање утицаја примене минералне воде на вредности биохемијских маркера крви (комплетна крвна слика, SE, CRP, фибриноген, уреа, креатинин, липидограм, хепатограм, јонограм).

## 2.2 Хипотезе истраживања

1. Очекује се да примена минералне воде са извора „Снежник-1/79“ може да утиче позитивно на редокс равнотежу код пацијената са Т2ДМ.
2. Очекује се да примена минералне воде са извора „Снежник-1/79“ може да утиче позитивно на микробиоту код пацијената са Т2ДМ.
3. Очекује се да примена минералне воде са извора „Снежник-1/79“ може да утиче позитивно на антропометријске и показатеље кардиоваскуларне функције код пацијената са Т2ДМ.
4. Очекује се да примена минералне воде са извора „Снежник-1/79“ може да утиче позитивно на биохемијске показатеље код пацијената са Т2ДМ.

# **III**

## **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ**

### 3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Студија припада експерименталним, проспективним клиничким истраживањима. Све студијске експерименталне процедуре су спроведене у Специјалној болници за лечење и рехабилитацију Меркур, Врњачка Бања и у Центру изузетних вредности за изучавање редокс равнотеже у кардиоваскуларним и метаболичким болестима, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

### 3.2. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Истраживање је спроведено на кохорти од 60 испитаника, пацијената оболелих од Т2ДМ (оба пола, старости од 30 – 60 година) који су лечени у Специјалној болници за лечење и рехабилитацију Меркур, Врњачка Бања.

Студија је пре отпочињања одобрена од стране Етичког одбора Специјалне болнице за лечење и рехабилитацију Меркур (број: 01-2446/1). Осим тога, за сваког испитаника обезбеђен је писани пристанак. Све процедуре у оквиру истраживања спроведене су у складу са принципима добре клиничке праксе и принципима етичности које дефинише Хелсиншка декларација из 2013. године.

### 3.3. УЗОРКОВАЊЕ

Студијски узорак је чинило 60 пацијената оболелих од Т2ДМ који су упућени на лечење у Специјалну болницу за лечење и рехабилитацију Меркур у Врњачкој Бањи. По пријему у болницу испитаници су методом случајног узорка били сврстани у 2 једнаке групе:

1. група: испитаници који ће уз одговарајућу терапију узимати и прописану количину минералне воде са извора „Снежник-1/79“ у трајању од 3 недеље (n=30);
2. група: испитаници који ће уз одговарајућу терапију узимати и прописану количину обичне воде за пиће из водоводног система у трајању од 3 недеље (n=30).

*Критеријуми за укључење у студију:*

- 1) старосна доб (30 – 60 година);
- 2) дијагностикован дијабетес мелутус тип 2 према критеријумима Националног водича добре клиничке праксе за дијабетес мелутус ( $HbA1C \geq 6.5\%$  или, гликемија наше  $\geq 7,0 \text{ mmol/L}$  или, гликемија у току ОГТТ-а са 75 g глукозе у 120. минути  $\geq 11,1 \text{ mmol/L}$  или, гликемија у било ком случајном узорку крви (без обзира на оброк)  $\geq 11,1 \text{ mmol/L}$  уз присуство типичних дијабетесних симптома (полиурија, полидипсија, губитак у телесној тежини);
- 3) одсуство компликација шећерне болести које могу да угрозе учествовање у студији (дијабетесно стопало, ретинопатија, хемодијализа).

Пацијенти укључени у студију нису били на терапији лековима из групе диуретика за које се сматра да би могли да ометају потенцијалне закључке добијене овом студијом.

Након узимања анамнезе и историје болести примећено је да су пацијенти били на хроничној терапији лековима из групе: антидијабетика, антихипертензива, антилипемика, антиаритмика и других за које се сматра да не утичу на резултате ове студије. Према стадијуму болести и општем стању пацијената количина воде је индивидуално дозирана од стране ординирајућег лекара Специјалне болнице ”Меркур”. Просечни дневни волумен конзумиране воде је износио  $2,25 \pm 0,85$  литара.

### 3.4. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

У студији су одређивани следећи параметри од интереса:

1. антропометријски параметри (телесна тежина и висина, обим струка, дебљина кожног набора, ВМІ);
2. процена телесног састава (биелектрична импеданца (ВІА) – укупна количина воде (ТВW), безмасна маса (LBM), телесна маст (FM), екстрацелуларна маса (ECM), индекс (ECM / ВМС) и ћелијска фракција (%));
3. дневник дневних obroка;
4. дневник праћења цревног пражњења;
5. микробиотска анализа столице – GI Effects тест свеобухватног профила столице
6. вредности гликемије и инсулинемије наше и гликолизираног хемоглобина (HbA1C);
7. вредности артеријског крвног притиска (сistolног, дијастолног, средњег артеријског притиска) и квалитативни параметри пулса (фреквенца, ритам, величина, тврдоћа, брзина);
8. параметри бубрежне функције (уреа, креатинин, мокраћна киселина);
9. ЕКГ параметри (синусна тахикардија и брадикардија, атријална тахикардија/флатер/фибрилација, вентрикуларне аритмије, патолошки Q зубци, ST елевација, хипертрофија леве коморе, AV блок);
10. вредности биохемијских маркера крви: (седиментација, уреа, липидограм, јонограм и хепатограм);
11. маркери оксидационог стреса (индекс липидне пероксидације-ТВARS, нитрити- $\text{NO}_2^-$ , супероксид анјон радикал- $\text{O}_2^-$  и водоник пероксид- $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и ензими антиоксидационе заштите (супероксид димутаза-SOD, каталаза-CAT и редуковани глутатион-GSH).

Наведени параметри су одређивани 1. на почетку, при пријему у Специјалну болницу ”Меркур” и 2. након 21 дана употребе минералне воде, односно након отпуста из специјалне болнице Меркур, Врњачка Бања.

**Дневник пражњења**

Име и презиме \_\_\_\_\_ Датум почетка \_\_\_\_\_

Инструкције: Након пражњења, попуните број која одговара ономе што се догодило у одговарајући дан и време. Ако одређеног дана изостане пражњење не уписивати ништа.  
 0 = Нормално пражњење  
 1 = Напрезање без изласка столице или уз излазак мале количине столице  
 2 = Прсти потребни за избацивање столице  
 3 = Друго (објаснити лекару)

време/дан	понедељак	уторак	среда	четвртак	петак	субота	недеља
06:00							
07:00							
08:00							
09:00							
10:00							
11:00							
12:00							
13:00							
14:00							
15:00							
16:00							
17:00							
18:00							
19:00							
20:00							
21:00							
22:00							
23:00							
24:00							
01:00							
02:00							
03:00							
04:00							
05:00							

Слика 1. Дневник праћења цревног пражњења.

Испитаници су попуњавали овај дневник 3 недеље пре почетка експерименталног протокола како би се утврдило да ли постоји констипација. Као критеријум за констипацију је сматрано мање од 3 пражњења седмично уз суву, трду столицу мале количине. Дневник пражњења је потом вођен и наредне 3 недеље колико је износио период конзумирања минералне воде са изворишта „Снежник-1/79“.



### 3.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Калкулација величине студијског узорка базиран је на налазима раније објављеног истраживања у коме је испитиван ефекат минералних вода на липидни профил постменопаузалних жена (140). Број потребних испитаника прорачунат је на основу алфа грешке ( $\alpha$ ) од 0,05 и снаге студије од 0,8 (бета грешка 0,2) за Студентов  $t$  тест (два независна узорка) коришћењем специјализованог софтвера *G\*Power 3* (141). Сагледавајући резултате поменутог истраживања и полазећи од претпоставке која потребује максимални узорак, тј. претпостављене минималне варијације у мереним варијаблама између група, одређен је финални број од 60 испитаника.

### 3.6. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА

За статистичку анализу резултата коришћен је професионални статистички програм SPSS 22.0 за Windows. Параметри од значаја су се у зависности од њихове природе изражавали као: средња вредност, медијана, проценти, стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења. Вредности параметара су представљени као средња вредност ( $X$ )  $\pm$  стандардна девијација (SD), при чему је статистичка значајност подразумевала да је  $p < 0,05$ . Ради процене нормалности расподеле употребљавани су Kolmogorov Smirnov и Sharir Wilk тестови. За анализирање разлика између варијабли, у зависности од њихове врсте, коришћен је Студентов  $t$ -тест и Mann-Whitney тест.

# **IV**

# **РЕЗУЛТАТИ**

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. Параметри телесне композиције

Поред телесне тежине, у Табели бр. 8 представљени су следећи параметри телесне композиције испитаника који су били од значаја за исходе саме студије: индекс телесне масе (BMI - body mass index), укупна телесна вода (TBW - total body water), и телесна маст (FM - fat mass). Статистичком анализом је обухваћено поређење параметара пре конзумирања "Снежник-1/79" воде односно на почетку студије и након тронедељне конзумације воде (на крају студије).

Добијени резултати су показали следеће: 1. Није било статистички значајне разлике у телесној тежини испитаника на почетку и на крају студије односно просечна телесна тежина испитаника је била готово истоветна (Табела 8). 2. Индекс телесне масе испитаника се такође није статистички значајно мењао на крају студије у односу на иницијално мерење тј. након уноса "Снежник-1/79" воде (Табела 8). 3. Укупна телесна вода је била нижа на другом мерењу, али без статистичке значајности (Табела 8). 4. Укупна количина телесне масти се није статистички битније мењала пре и након употребе "Снежник-1/79" воде (Табела 8).

Табела 8. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности параметара телесне композиције испитаника. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка.

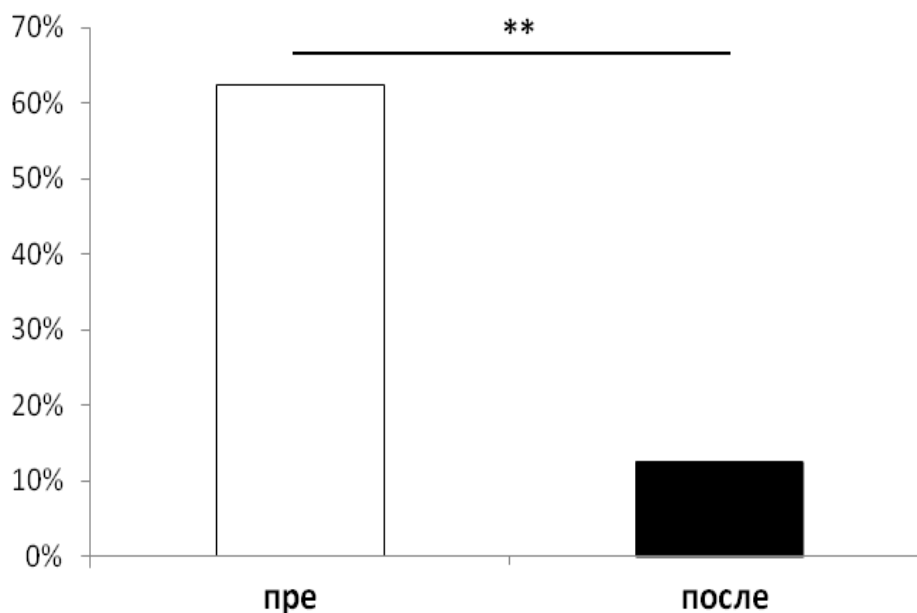
Параметар	Пре уноса "Снежник" воде	После уноса "Снежник" воде
Телесна тежина (kg)	88,7 $\pm$ 15,0	88,5 $\pm$ 14,6
BMI	30,16 $\pm$ 4,61	30,0 $\pm$ 4,56
TBW	45,31 $\pm$ 9,66	43,3 $\pm$ 7,51
FM	28,69 $\pm$ 10,44	29,1 $\pm$ 9,8

### 4.2. Дневник пражњења

Пацијентима је на основу BMI на пријему од стране ординирајућег лекара установљен калоријски дневни унос, као и сви дневни оброци током тронедељног боравка у специјалној болници "Меркур". На пријему је установљено да је 62,55 % пацијената имало констипацију, која је била очекивана услед њихове примарне болести. Осим столице чија је учесталост била ређа од 3 пута недељно, конзистенција столице је била тврда и сува, а количина врло мала. Након почетка примене „Снежник-1/79“ воде, по праћеном дневнику пражњења установљено је побољшање перисталтике црева.

Након три недеље код већине пацијената са констипацијом примећено је побољшање, односно већина поменутих пацијената је успоставила редовно, дневно пражњење црева. Процент пацијената који су се и даље жалили на констипацију је на крају студије износио 12,45%.

График 2. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на присуство констипације. Резултати су изражени кроз проценте. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Статистичком анализом забележена је сигнификантна разлика између процента пацијената који су имали констипацију пре (62,55%) и процента пацијената који су се жалили на ове тегобе после употребе воде са изворишта "Снежник-1/79" (12,45%).

### 4.3. Микробиотска анализа столице – GI Effects тест свеобухватног профила столице

GI Effects тест свеобухватног профила столице између осталог пружа прецизне и детаљне информације о цревним микробиотама са квантитативног и квалитативног аспекта. Тест се заснива на напредним лабораторијским техникама које обухватају PCR, култивацију и методе микроскопирања. Осим података о концентрацији и врсти микробиота, тестом се идентификују и гљивице, паразити као и маркери варења, апсорпције и инфламације. Анализирањем столице пре и након употребе воде са изворишта "Снежник-1/79" испитивани су потенцијални ефекти ове воде на неравнотежу цревне флоре.

Резултати анализе столице на микробиоте приказани су у Табели 9, а сви параметри од интереса су анализирани пре конзумирања "Снежник" воде односно на почетку студије и након употребе воде (на крају студије).

Добијени резултати су показали следеће:

1. Мишићна влакна су пре конзумирања "Снежник" воде пронађена у столици 80 % пацијената, односно 70 % пацијената након конзумирања "Снежник" воде. Ови резултати имплицирају да је тронедељна конзумација "Снежник" воде утицала да се код 10 % пацијената уклони појава мишићних влакана у столици (Табела 9).
2. Тронедељна конзумација "Снежник" воде није утицала на појаву масних капи у столици пацијената (код 15 % пацијената примећене су масне капи у столици пре, као и након конзумације "Снежник" воде) (Табела 9).
3. Тронедељна конзумација "Снежник" воде није утицала на појаву скроба у столици пацијената (код 10 % пацијената примећен је скроб у столици пре, као и након конзумације "Снежник" воде) (Табела 9).
4. Култивацијом узрака пре и након конзумације "Снежник" воде нису изоловане бактерије рода *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Klebsiella sp.*, као ни гљивице (Табела 9).
5. Тронедељна конзумација "Снежник" воде уклонила је појаву дисбиозе код 50 % пацијената, што се индиректно може видети и на основу изоловања *Enterococcus sp.* Наиме, пре конзумације "Снежник" воде код 50 % пацијената *Enterococcus sp.* је био присутан 100 %, код 10 % пацијента *Enterococcus sp.* је био присутан 90 %, код 20 % пацијента *Enterococcus sp.* је био присутан 80 %, код 10 % пацијента *Enterococcus sp.* је био присутан 70 %, док је код 10 % пацијента примећена редукована цревна флора.

Са друге стране након тронедељне конзумације "Снежник" воде само код 10 % пацијената *Enterococcus sp.* је био присутан 100 %, код 10 % пацијента *Enterococcus sp.* је био присутан 80 %, а код 20 % пацијента *Enterococcus sp.* је био присутан 70 % (Табела 9).

Табела 9. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на анализу копрокултуре пацијената са дијабетес мелитусом тип 2. Резултати су изражени кроз проценте.

Параметар	Пре уноса "Снежник" воде	После уноса "Снежник" воде
Мишићна влакна	Налаз позитиван код <b>80 %</b> пацијената	Налаз позитиван код <b>70 %</b> пацијената
Масне капи	Налаз позитиван код <b>15 %</b> пацијената	Налаз позитиван код <b>15 %</b> пацијената
Скроб	Налаз позитиван код <b>10 %</b> пацијената	Налаз позитиван код <b>10 %</b> пацијената
Бактерије	Нису изоловане	Нису изоловане
Гљивице	Нису изоловане	Нису изоловане
<i>Enterococcus sp.</i>	<b>100 %</b> код <b>50 %</b> пацијената <b>90 %</b> код <b>10 %</b> пацијента <b>80 %</b> код <b>20 %</b> пацијената <b>70 %</b> код <b>10 %</b> пацијента Редукована цревна флора код <b>10 %</b> пацијента	<b>100 %</b> код <b>10 %</b> пацијената <b>80 %</b> код <b>10 %</b> пацијената <b>70 %</b> код <b>20 %</b> пацијента
Дисбиоза	Код <b>100 %</b> пацијената резултат указује на дисбиозу	Код <b>50 %</b> пацијената резултат указује на дисбиозу

#### 4.4. Параметри оксидационог статуса

Испитивањем параметара оксидационог статуса из крви испитаника пре и након употребе воде са изворишта "Снежник-1/79" желели смо да утврдимо да ли конзумирање ове воде може да буде повезано са променама редокс равнотеже која на субцелуларном нивоу изазива морфолошка и функционална оштећења ћелија и може бити укључен у један од протективних механизма ефеката "Снежник-1/79" воде.

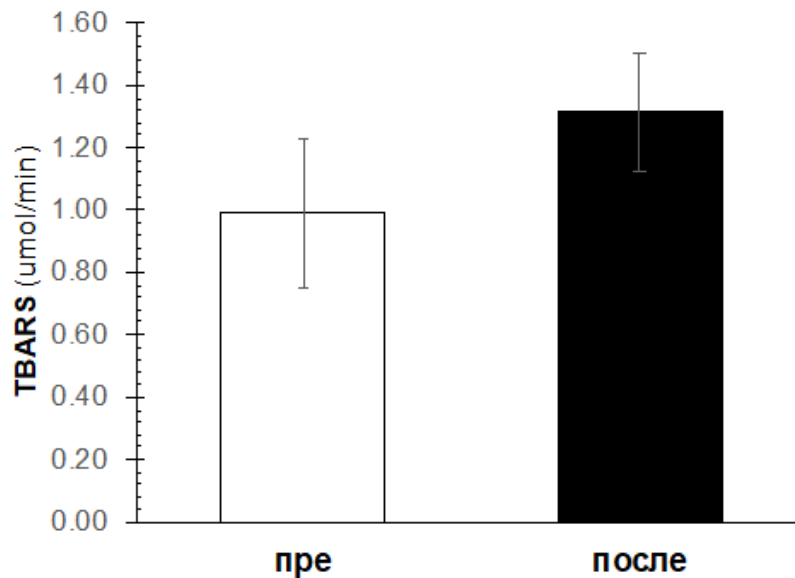
Резултати параметара оксидационог статуса су приказани на Графицима 1 - 7. Статистичком анализом обухваћено је поређење параметара пре конзумирања "Снежник" воде односно на почетку студије и након употребе воде (на крају студије).

Добијени резултати су показали следеће:

1. Вредности индекса липидне пероксидације нису се статистички значајно разликовале пре и након конзумирања испитиване воде (График 2).
2. Концентрација нитрита преко којих је индиректно одређивана количина ослобођеног азот монооксида (NO) је била сигнификантно виша на крају студије односно након конзумирања "Снежник" воде (График 3).

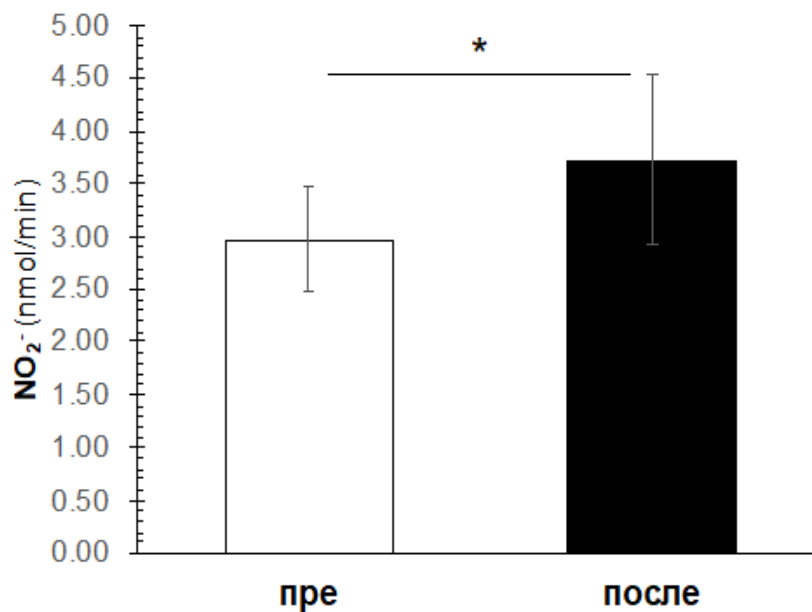
3. Са друге стране, вредности супероксид анјон радикала су биле статистички значајно ниже на крају периода праћења односно након конзумирања воде "Снежник" (График 4).
4. Вредности водоник пероксида су биле такође ниже након употребе испитиване воде, али без статистичке потврде (График 5).
5. Активност супероксид дизмутазе се високо статистички значајно повећала након тронедељног коришћења "Снежник" воде (График 6).
6. Исти тренд је постојао и у случају редукованог глутатиона (График 7), док је активност каталазе била такође побољшана, али без статистичке верификације (График 8).

График 2. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности индекса липидне пероксидације. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Иако се на Графику 2 могу запазити више вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) у групи која је конзумирала "Снежник" воду, измерене концентрације нису се статистички значајно разликовале пре и након конзумирања испитиване воде.

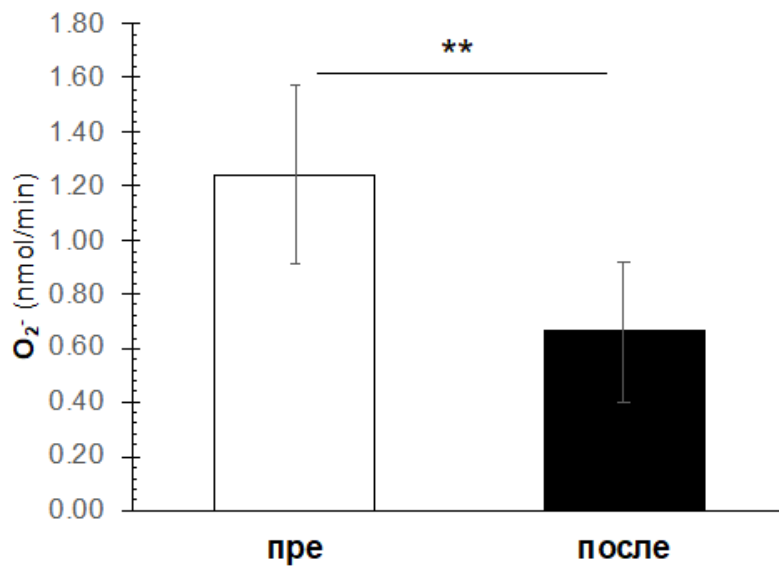
График 3. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности нитрита. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Ослобађање нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) у системској циркулацији је након конзумирања "Снежник" воде било статистички сигнификантно веће у односу на почетак студије (График 3).

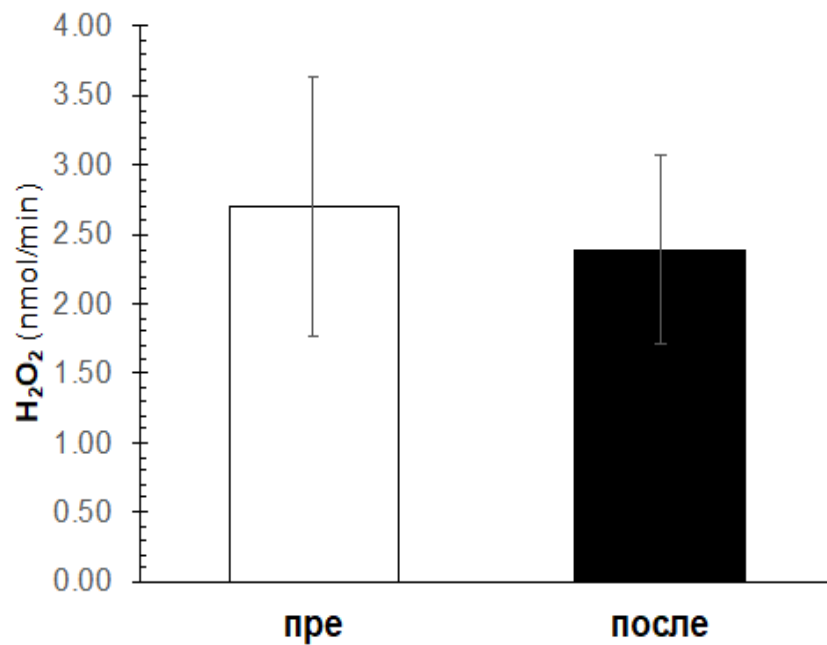


График 4. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности супероксид анјон радикала. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



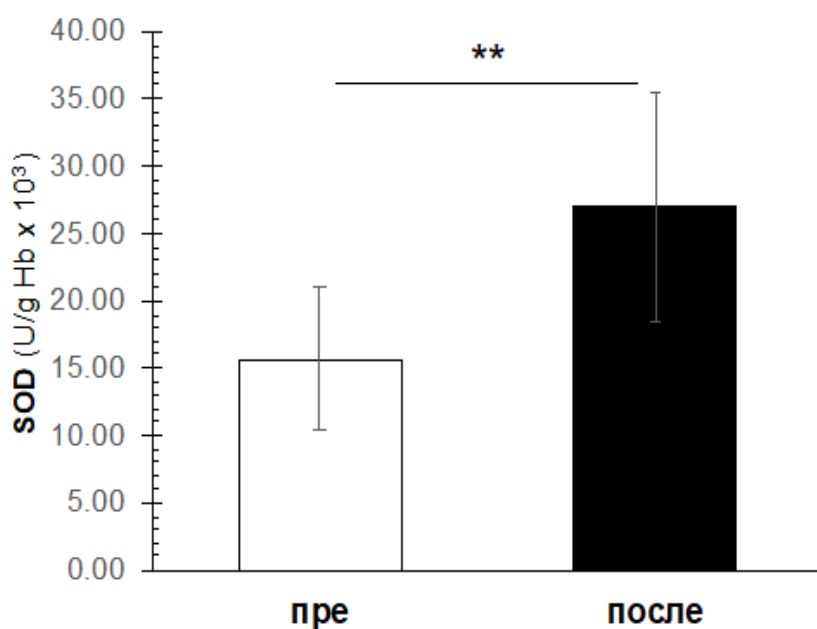
Концентрација најтоксичније реактивне кисеоничне врсте која је мерена у студији, супероксид анјон радикала ( $O_2^-$ ) је била статистички значајно нижа на крају периода праћења односно након конзумирања "Снежник" воде (График 4).

График 5. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности водоник пероксида. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



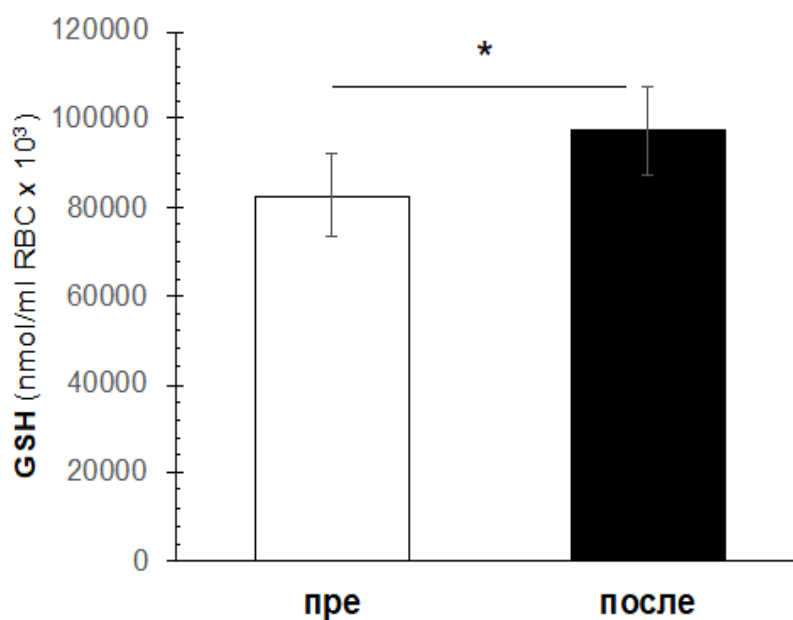
Мада је концентрација водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) била такође нижа након употребе испитиване воде, по извршеној статистичкој анализи није добијена статистичка сигнификантност (График 5).

График 6. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности супероксид дизмутазе. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



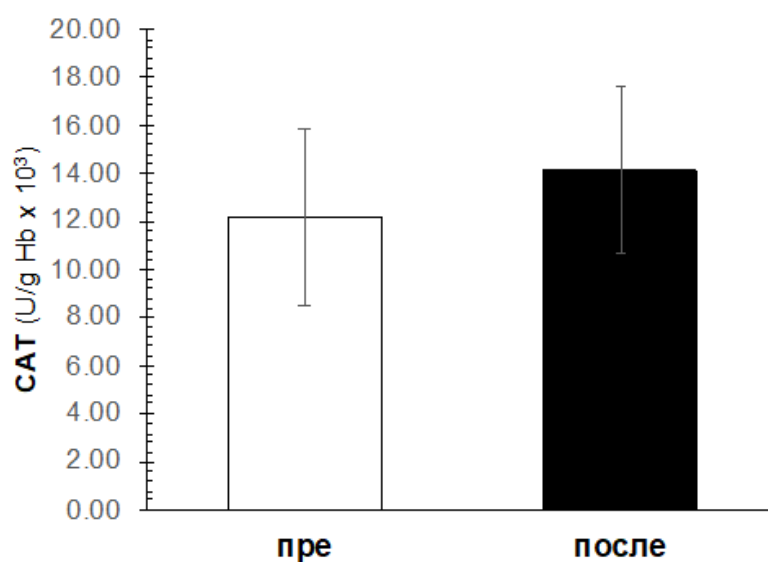
Активност првог мереног ензима антиоксидационе заштите, супероксид дизмутазе (SOD) је била статистички изразито виша (разлика  $p < 0.01$ ) на крају периода праћења односно након тронедељног коришћења "Снежник" воде (График 6).

График 7. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности каталазе. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Као и у претходном случају активности ензима глутатионског циклуса антиокадиационе заштите, редукованог глутатиона (GSH) је била статистички већа након конзумирања "Снежник" воде (График 7).

График 8. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности редукованог глутатиона. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Активност каталазе (CAT) је такође била унапређена у другој тачки мерења односно на крају истраживања, међутим статистичка верификација није добијена (График 8).

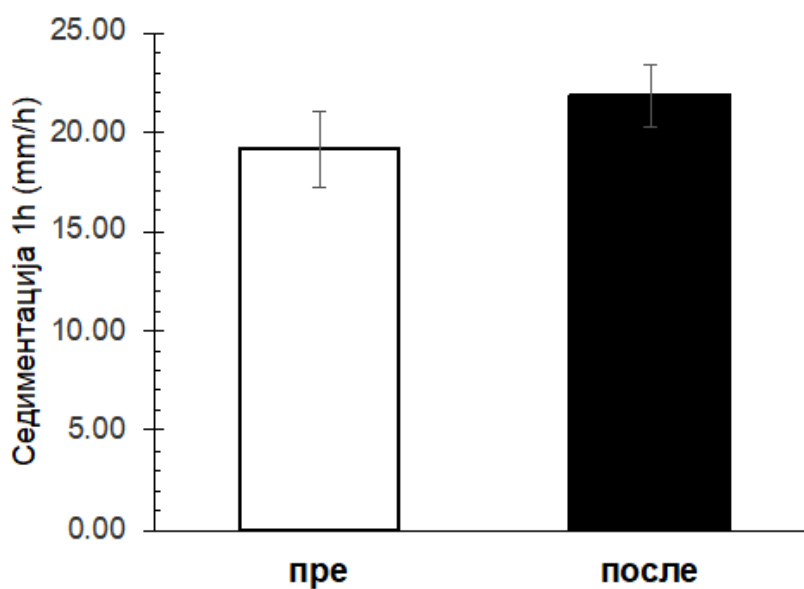
#### 4.5. Биохемијски параметри крви

Резултати одабраних биохемијских параметара крви су приказани на Графицима 9 - 17. Статистичком анализом је обухваћено поређење параметара пре конзумирања "Снежник" воде, односно на почетку студије и након употребе воде (на крају студије).

Добијени резултати су показали следеће:

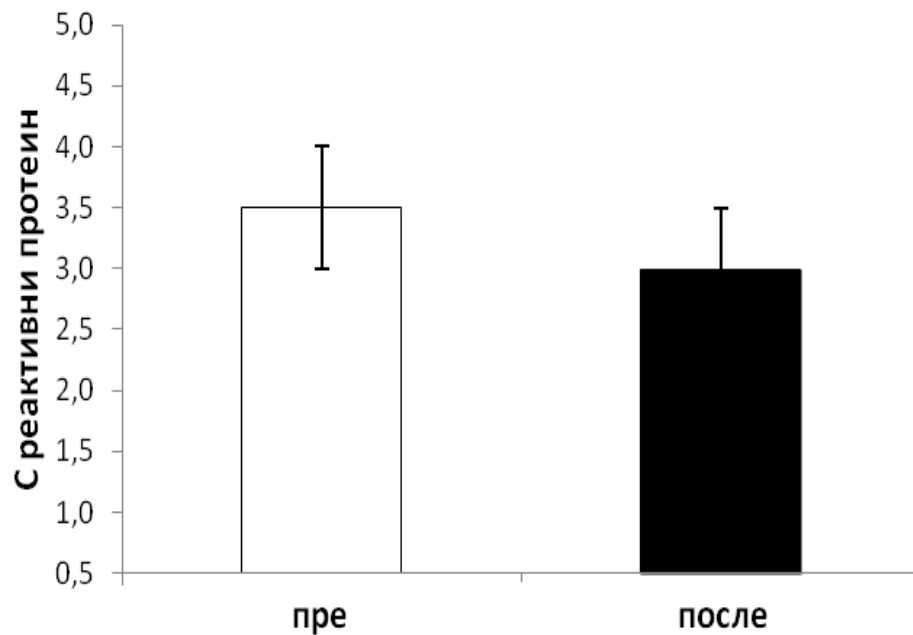
1. Вредности инфламатроних маркера седиментације крви и С реактивног протеина се нису статистички значајно разликовале између два времена мерења (Графици 9 и 10).
2. Метаболички показатељи дијабетес мелитуса– концентracија глукозе и инсулина наше као и вредности гликолизираног хемоглобина су такође биле врло сличне на почетку и на крају студије тако да ни у овом случају није било статистичке значајности (Графици 11-13).
3. Није постојала статистички сигнификантна разлика у средњим вредностима параметара бубрежне функције – урее, креатинина и мокраћне киселине у првом у односу на друго мерење (14-16)
4. Компоненте липидограма односно вредности триглицерида, LDL- и HDL-холестерола су биле ниже на крају периода праћења тј. након тронедељног уноса "Снежник" воде, али без статистичке верификације (Графици 17-19).
5. Просечне вредности укупног холестерола су биле статистички значајно ниже након конзумирања "Снежник" воде (График 20).
6. Просечне вредности најважнијих екстрацелуларних катјона (натријума и калијума) се нису статистички битније мењале пре и након употребе "Снежник" воде (Графици 21 и 22).
7. Није забележена статистички потврђена разлика у вредностима компоненти липидограма - AST (Аспартат трансaminaза), ALT (Аланин трансaminaза) и GGT (гама глутамил транспептидаза) пре и након конзумирања "Снежник" воде (Графици 23-25).

График 9. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности седиментације. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Вредности седиментације крви се нису статистички значајно мењале на крају периода праћења у односу на почетак студије "Снежник" воде (График 9).

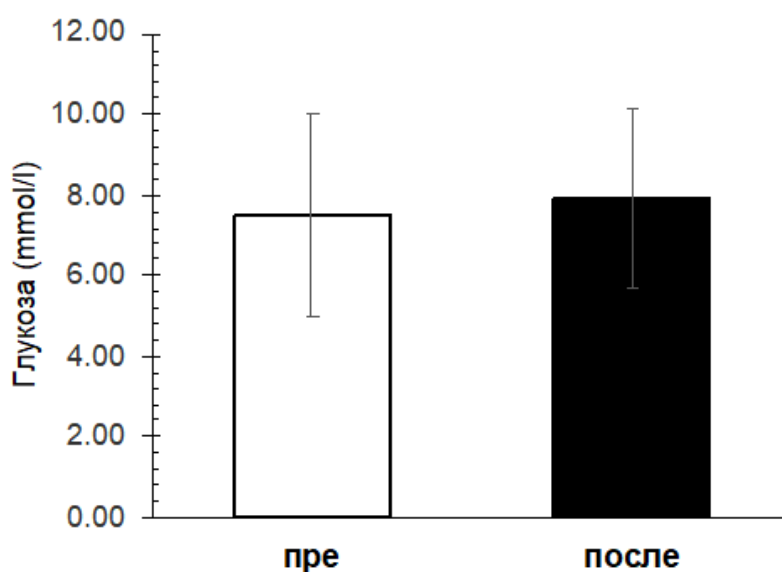
График 10. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности С реактивног протеина (CRP). Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Средње вредности С реактивног протеина (CRP) код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 се нису значајније промениле на крају студије у односу на почетак експерименталног периода праћења (График 10).

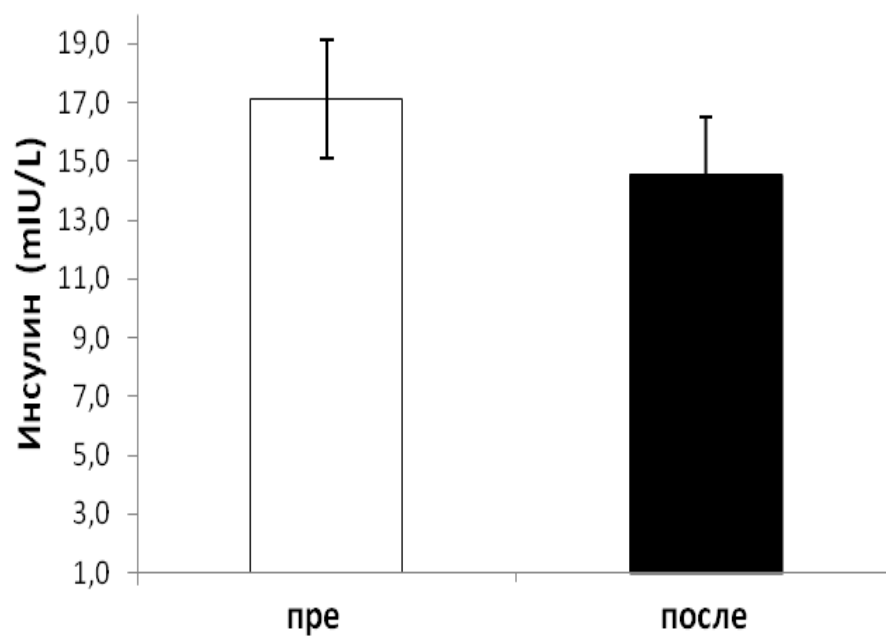


График 11. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности гликемије наше. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



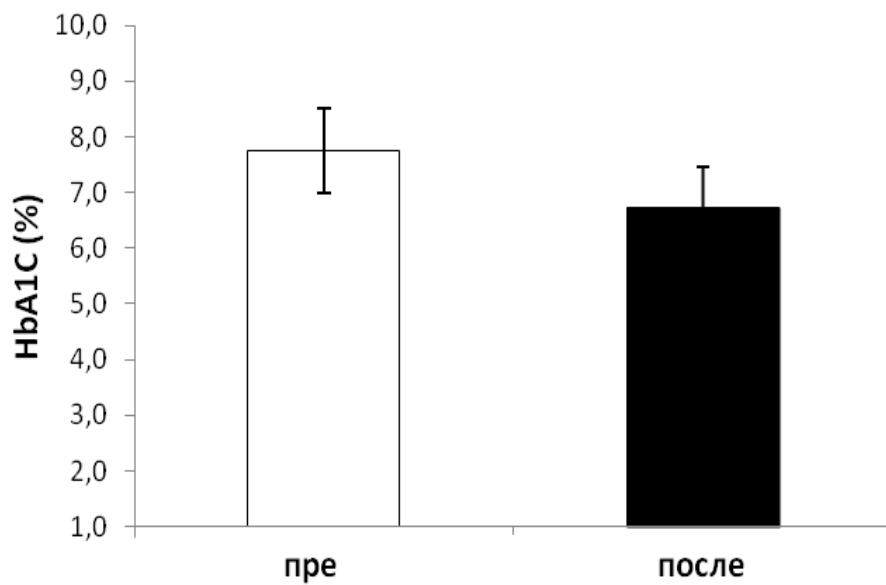
Концентрација глукозе у крви (гликемија наше) испитаника била је врло слична између два времена мерења, без статистичке значајности (График 11).

График 12. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности инсулинемије наше. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



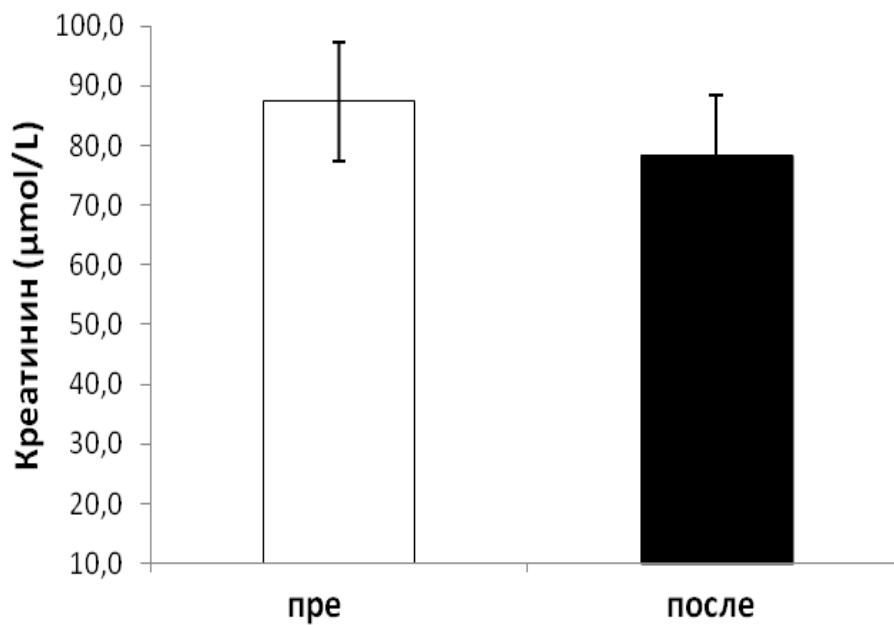
Концентрација инсулина у крви (инсулинемија наше) испитаника била је врло слична између два времена мерења, без статистичке значајности (График 12).

График 13. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности гликолизованог хемоглобина (HbA1C). Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



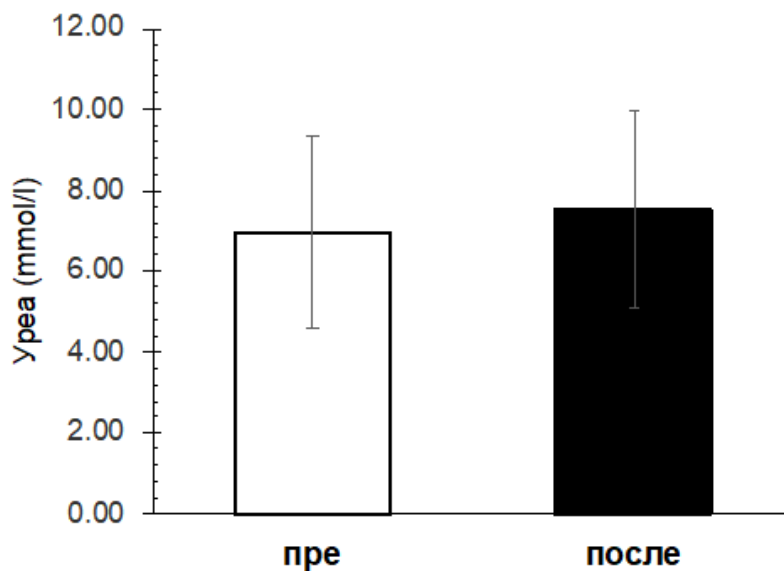
Просечне процентуалне вредности гликолизованог хемоглобина (HbA1C) испитаника су биле готово идентичне између два времена мерења, тако да је статистичка значајност изостала (График 13).

График 14. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности креатинина. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



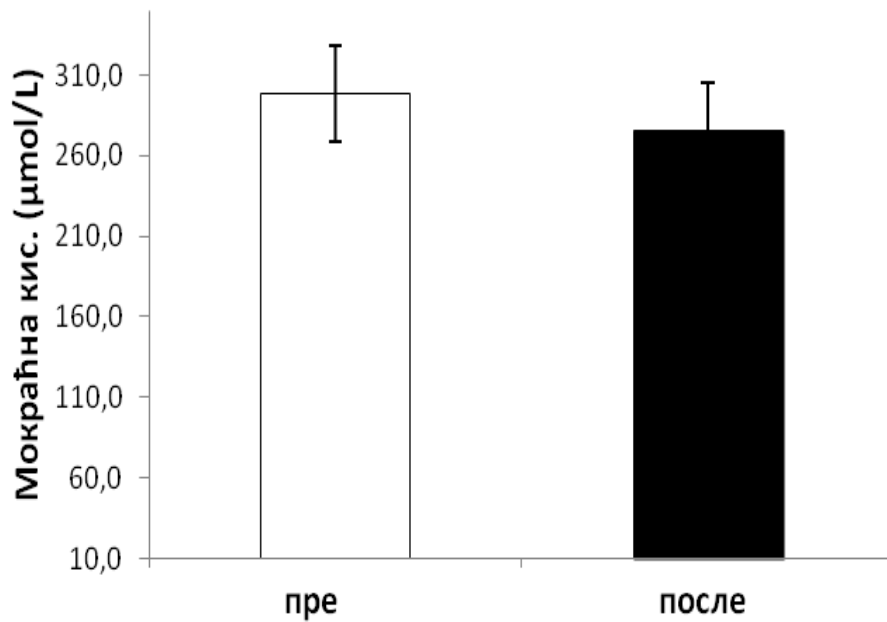
Вредности креатинина се нису значајније мењале на крају периода праћења у односу на почетак студије односно након конзумације "Снежник" воде (График 14).

График 15. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности урее. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



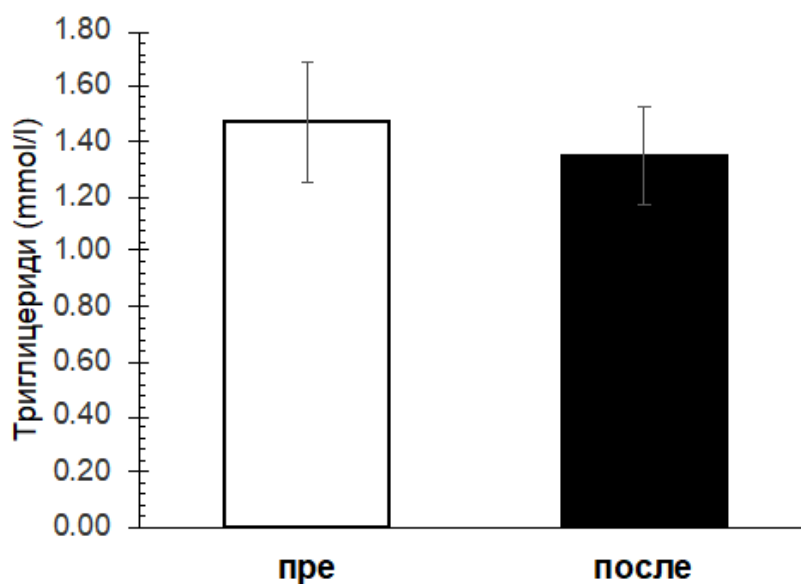
Вредности урее се нису значајније мењале на крају периода праћења у односу на почетак студије односно након конзумације "Снежник" воде (График 15).

График 16. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности мокраћне киселине. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



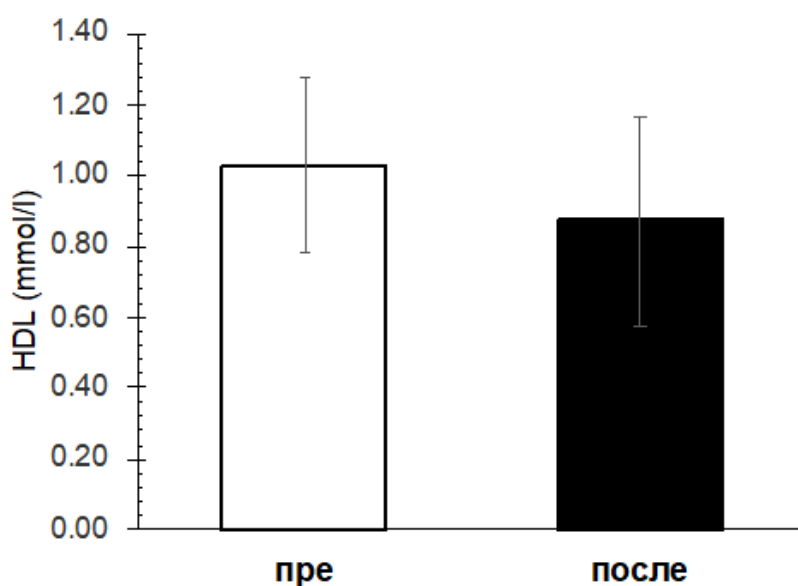
Просечне вредности мокраћне киселине се, као и у преходним случајевима нису сигнификантно разликовале на крају периода праћења у односу на почетак студије односно након конзумације "Снежник" воде (График 16).

График 17. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности триглицерида. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Иако је концентрација триглицерида била ниже на крају периода праћења односно након тронедељног "Снежник" воде, али статистичка потврда није добијена (График 17).

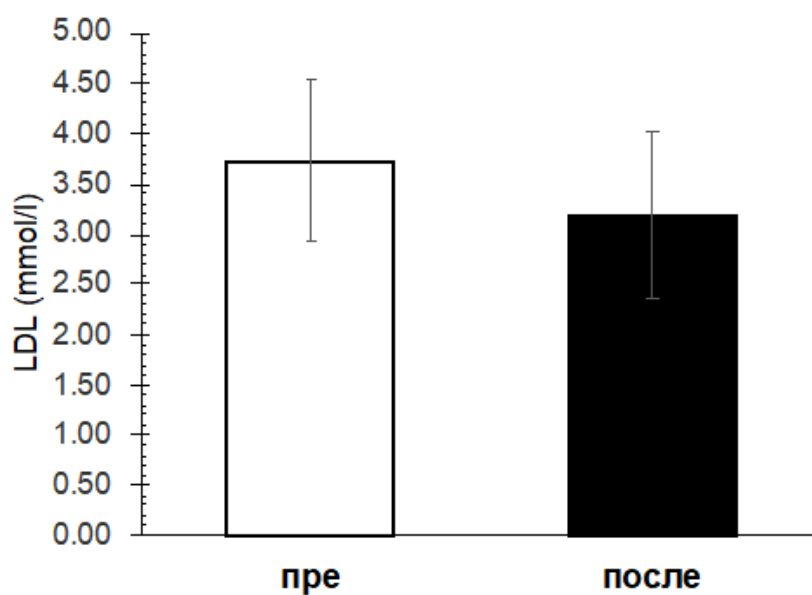
График 18. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности HDL-холестерола. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Вредности HDL-холестерола су такође биле ниже на крају периода праћења односно након конзумирања "Снежник" воде, међутим и у овом случају статистичка верификација је изостала (График 18).

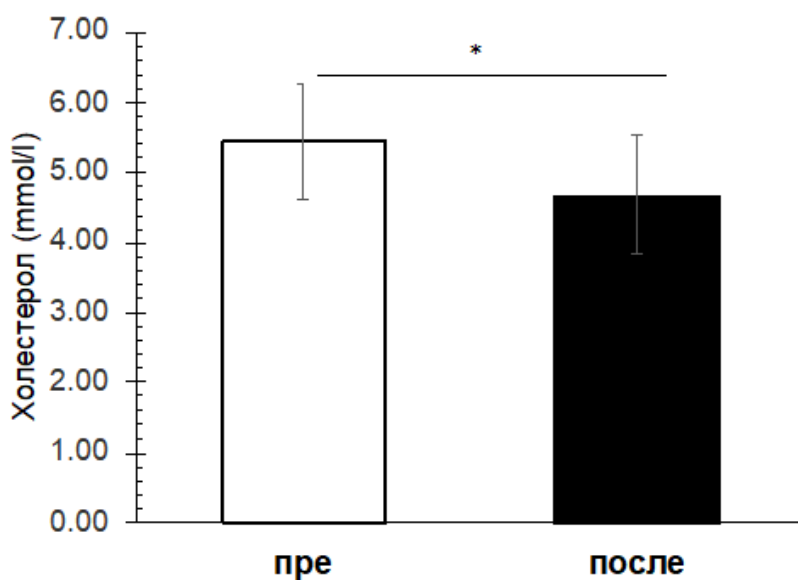


График 19. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности LDL-холестерола. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



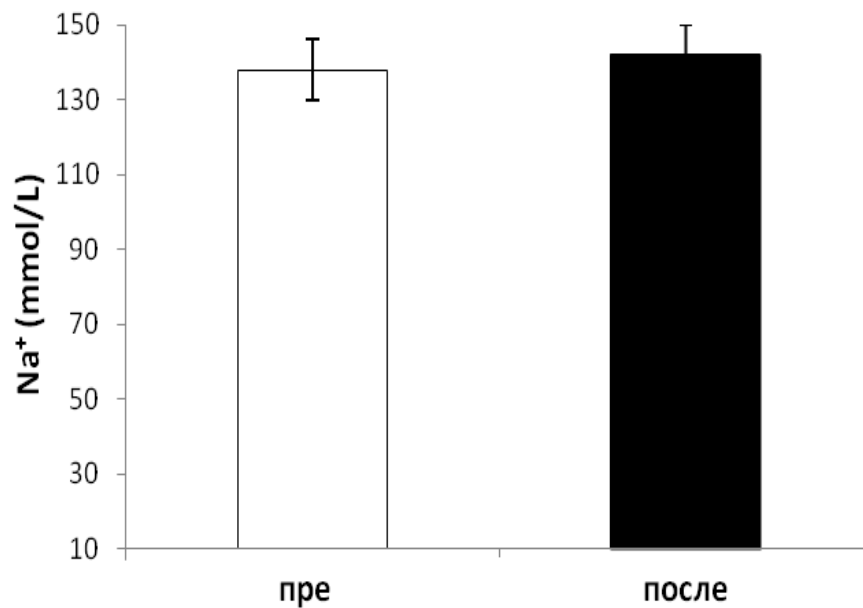
Као и у случају претходних липидних молекула, вредности LDL-холестерола су биле ниже на крају периода праћења, али без статистичке значајности (График 19).

График 20. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности укупног холестерола. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



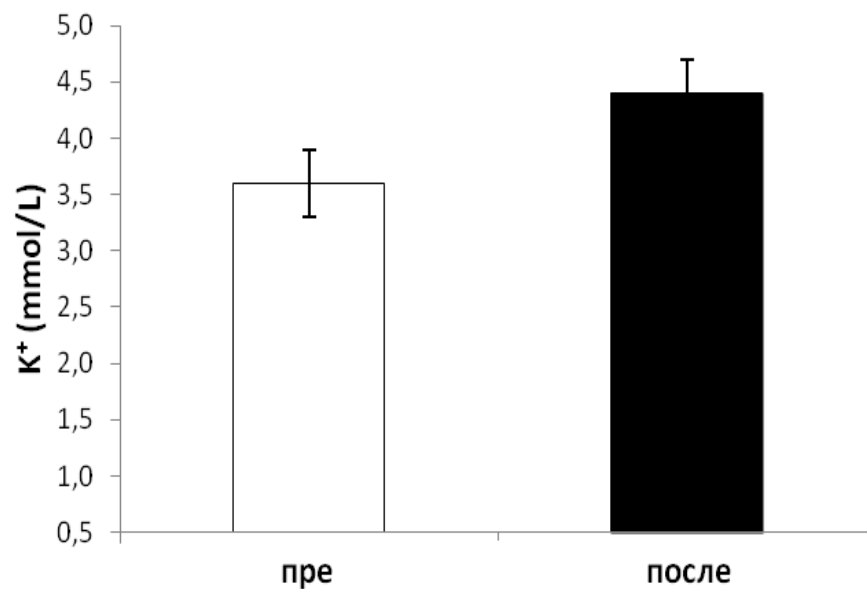
За разлику од горе поменутих компоненти липидограма, вредности укупног холестерола су биле статистички сигнификантно ниже после употребе "Снежник" воде (График 20).

График 21. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности натријума у плазми. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



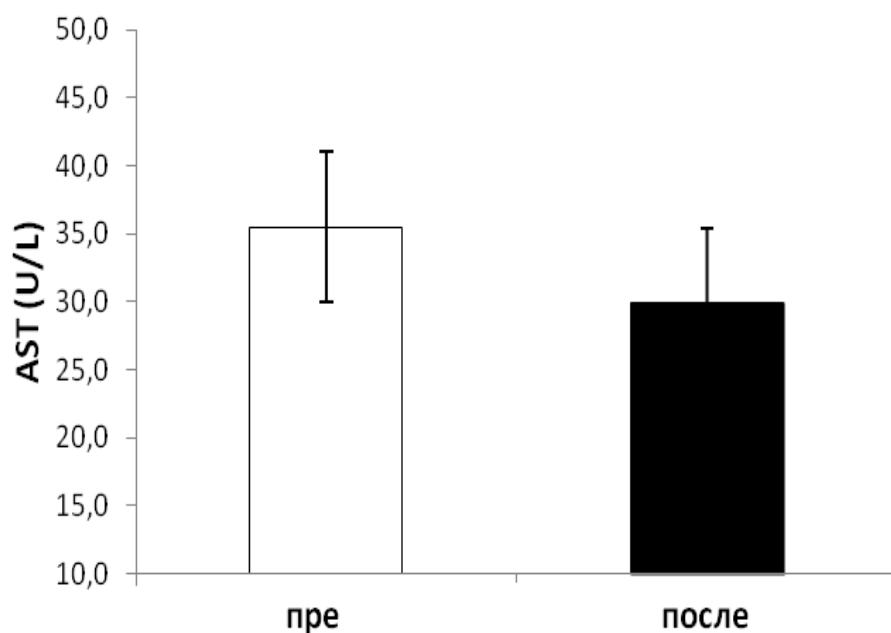
Средње вредности вредности натријума у плазми испитаника су износиле  $138 \pm 7$  mmol/L на почетку студије и  $142 \pm 8$  mmol/L на крају периода праћења. Статистичким упоређивањем добијених вредности у два интервала мерења уочено је да није постојала сигнификатна разлика између поменутих концентрација натријума пре и након употребе "Снежник" воде (График 21).

График 22. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности калијума у плазми. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



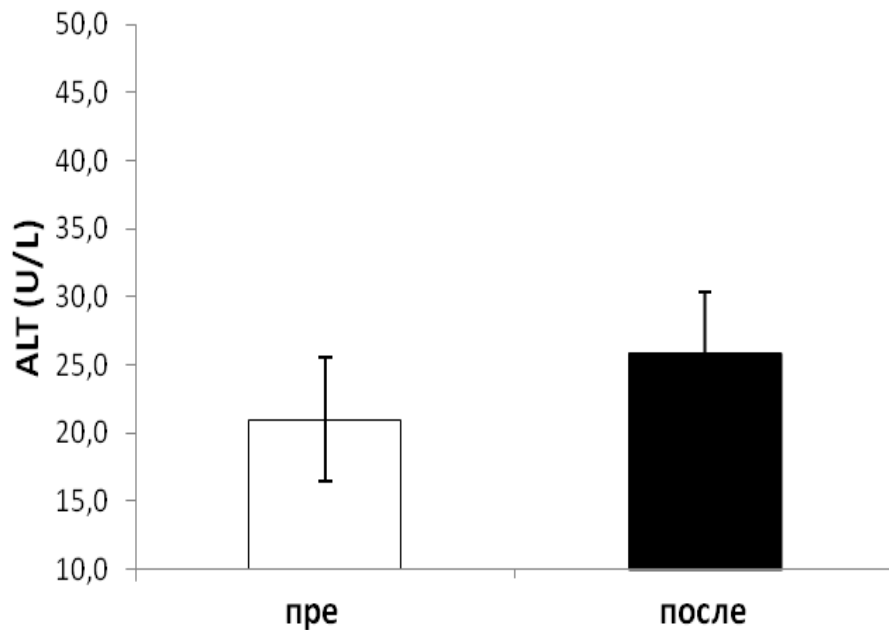
Средње вредности вредности калијума у плазми испитаника су износиле  $3,6 \pm 0,6$  mmol/L на почетку студије и  $4,4 \pm 0,8$  mmol/L на крају периода праћења. Статистичким упоређивањем добијених вредности у два интервала мерења уочено је такође одсуство сигнификатне разлике између поменутих концентрација калијума пре и након употребе "Снежник" воде (График 22).

График 23. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности AST (аспартат трансминаза) у плазми. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



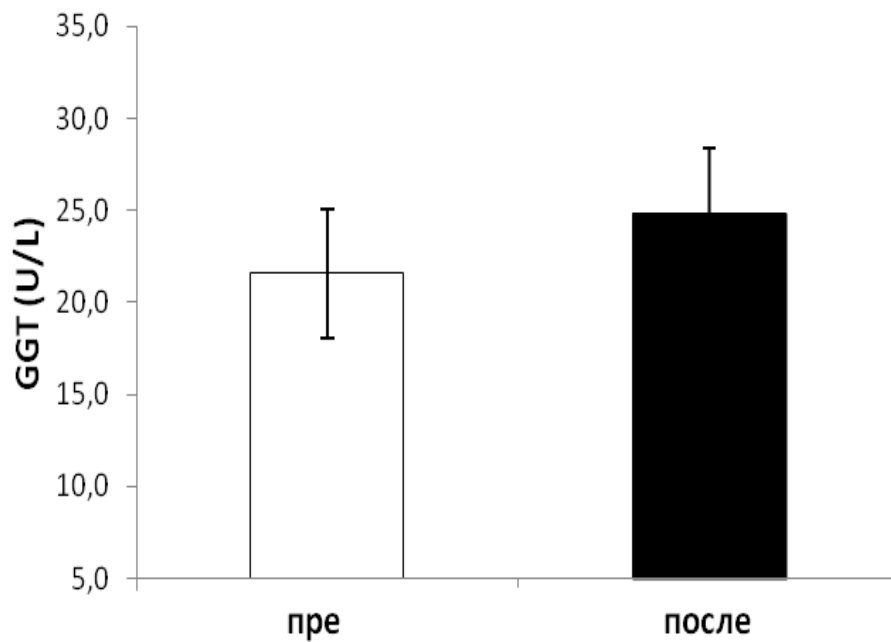
Статистичким упоређивањем добијених вредности AST-а (аспартат трансминазе) у два интервала мерења статистички сигнификантна разлика није забележена (График 23).

График 24. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности ALT (аланин трансаминаза) у плазми. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Статистичким упоређивањем добијених вредности ALT-а (аланин трансаминазе) у два интервала мерења такође није забележена статистички сигнификантна разлика (График 24).

График 25. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности GGT (гама глутамил трансептидаза) у плазми. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.



Као и у случају претходна две компоненте липидограма статистичким упоређивањем добијених вредности GGT-а (гама глутамил трансептидазе) у два интервала мерења није забележена статистички сигнификантна разлика (График 25).

Табела 10. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности систолног крвног притиска. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.

Параметар	Пре употребе "Снежник" воде	После употребе "Снежник" воде	Р вредност
Крвни притисак SP/DP (mmHg/s)	145 $\pm$ 10	139 $\pm$ 12	> 0.05

Мада су вредности систолног крвног притиска биле ниже након конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79", није било статистички значајне потврде.

Табела 11. Ефекти тронедељне конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" на вредности дијастолоног крвног притиска. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. \*статистички значајна разлика  $p < 0.05$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде; \*\*статистички значајна разлика  $p < 0.01$  између вредности, после тронедељног уноса "Снежник" воде.

Параметар	Пре употребе "Снежник" воде	После употребе "Снежник" воде	Р вредност
Крвни притисак SP/DP (mmHg/s)	93 $\pm$ 8	88 $\pm$ 9	> 0.05

Вредности дијастолоног крвног притиска биле су такође приближно исте пре и након конзумације воде са изворишта "Снежник-1/79" код пацијената са дијабетес мелитусом тип 2.



**V**  
**ДИСКУСИЈА**

## 5. ДИСКУСИЈА

*“Вода је први и најважнији лек на свету.”*

*Народна пословица*

Дијабетес мелитус (ДМ) представља метаболички поремећај који се карактерише хипергликемијом наше или након obroка, услед апсолутног или релативног дефицита у производњи или дејству инсулина (142). Према Међународној федерацији за дијабетес постоји 390 милиона пацијената оболелих од дијабетеса у свету, што указује на то да је он достигао размере глобалне епидемије. Дијабетес мелитус тип 2 (Т2ДМ) је најчешћи облик дијабетеса (90-95 % случајева) и развија се секундарно услед недостатка инсулина, док примарни поремећај подразумева инсулинску резистенцију (143).

Тачан узрок настанка Т2ДМ није довољно познат, а сматра се да важну улогу имају наследни фактори, стил живота и бројне придружене болести и стања (143, 144). Циљ лечења Т2ДМ је постизање и одржавање оптималног нивоа глукозе, липида и крвног притиска, као и спречавање или одлагање развоја хроничних компликација (144).

Први корак у лечењу Т2ДМ представља нефармаколошко лечење, односно промене у животним навикама, које подразумевају промене у начину исхране и повећање физичке активности самостално или у комбинацији са тренутно доступним оралним хипогликемијским лековима. Међутим, растућа инциденца Т2ДМ која је повезана са нежељеним ефектима и високим трошковима доступних лекова указује на потребу ефикасније едукације пацијената, али и откривања нових, мање штетних приступа у контроли глукозе и липида у крви (145).

Поред бројних дијета које се препоручују, последњих неколико година у фокусу научних истраживања налазе се и минералне, лековите воде које потенцијално могу да се користе у превенцији и терапији овог комплексног метаболичког поремећаја. Документовано је да је довољан унос воде повезан са нижим ризиком од хипергликемије и смањеним ризиком од настанка дијабетеса (146, 147). Конзумација природних минералних вода које потичу из природних извора или подземних резервоара може имати чак и бољу терапијску корист од воде из славине код пацијената са Т2ДМ (147, 148). Поред тога, минерали из ових вода поседују потенцијалне фармаколошке, физиолошке и клиничке ефекте на организам (148).

Забележене су бројне здравствене користи минералне воде, а многа истраживања показују да бикарбонати из минералних вода доводе до смањења нивоа холестерола и глукозе и да имају значајну улогу у превенцији кардиоваскуларних болести (149-151). Унос минералне воде киселог карактера и сиромашне калијумом, калцијумом и магнезијумом може побољшати и редокс статус код пацова са метаболичким синдромом. Осим тога, постоје извештаји који указују да је потрошња природне минералне воде ефикасна у снижавању маркера оксидационог стреса, али још увек нема довољно доказа код пацијената са Т2ДМ (151).

С обзиром на малу доступност података о утицају минералних вода на физиолошке параметре код пацијената са Т2ДМ, евидентно је да нема ни поузданих показатеља о снижавању гликемијског индекса након употребе минералних вода.

Међутим, пацијенти са Т2ДМ, као последицу своје болести имају и придружене компликације који подразумевају поремећај моторике црева. Овај поремећај иако се сврстава у блаже компликације болести, често директно утиче на квалитет живота пацијената. Узимајући у обзир да су минералне воде са извора „Снежник-1/79“ још од почетка 20. века препознате за лечење проблема гастроинтестиналног тракта (42, 81, 82), још један од циљева овог истраживања био је да се испита колико и помоћу којих молекулских механизма ова минерална вода може допринети у отклањању проблема констипације код пацијената са Т2ДМ.

Дисбиоза као један од фактора настанка хроничне констипације - опстипације, представља поремећај цревне микрофлоре у поређењу са здравом популацијом. Током последње деценије велики је број података који повезују развој метаболичког синдрома са дијабетесом и варијацијама цревне микробиоте као кључног регулатора у хомеостазу ГИТ-а (149-151). С обзиром на осетљивост микробиоте на промену састава нутритивне хране који се уносе, интересантно је испитати како ће промене у конзумирању воде утицати на дисбиозу код пацијената са Т2ДМ, као и да ли ће ове промене имати повољне ефекте и на контролу саме болести.

На основу свега изнетог, дизајнирајући ову студију сматрали смо да би било од интереса да се испита како ниско минерална, слабо кисела вода са извора „Снежник-1/79“ делује на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са Т2ДМ. Једна од наших примарних хипотеза била је да изоосмоларне концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  и хипоосмоларне концентрације других минерала у овој води могу потенцијално позитивно утицати на дисбиозу, глукорегулацију и редокс равнотежу код ових пацијената.

### **5.1. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на микробиоту, дисбиозу и динамику пражења пацијената са дијабетес мелитусом типа 2**

Микроорганизми који живе на и унутар људског тела формирају нашу микробиоту, а њихови гени су познати као микробиом. Приближно 10-100 трилиона микроорганизама живи у цревима одрасле особе. Њихова тежина се процењује на око 1,5 kg и броје око 1000 врста што за 100 превазилази људски геном. Огромна већина ових микроорганизама насељава дебело црево. Микробиоту чине углавном бактерије, а потом и вируси, гљивице итд. У најчешће врсте ових микроорганизама код људи се убрајају следеће врсте: *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Xylanibacter*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* и *Enterobacteriaceae* (152).

Микробиотски микроорганизми имају изузетно интензивне и значајне интеракције једни са другима као и са ћелијама домаћина. Микробиота је укључена у различите метаболичке функције као што су ферментација и апсорпција несварених угљених хидрата, апсорпција електролита и минерала, модулација покретљивости црева и синтеза неких микронутријената. Због своје улоге у обављању ових функција, промене у броју и функцију микробиоте могу бити потенцијални узрок гојазности. Осим ових својих метаболичких функција, микробиота је укључена и у интеракцију са имунолошким системом, обезбеђујући сигнале за промоцију зрелости имуних ћелија и нормално обављање њихових функција, као и уништавање токсина и канцерогена, спречавајући колонизацију патогеним бактеријама (153, 154).

Састав цревне микробиоте је индивидуалан и зависи од генетских фактора, старости, пола, географског подручја, етничке припадности, начина исхране, а може бити модулисана пребиотицима, пробиотицима, и антибиотицима. На рођењу се већ стиче почетна микробиота током самог порођаја, и пореклом је и из вагиналне флоре мајке или фекалне микрофлоре. Насупрот томе, бебе рођене царским резом имају микробиоту карактеристичну за кожу. Чини се да ове разлике по типу порођаја утичу на имунитет који се развија у првој години живота, што доводи до различитог састава цревне микробиоте (155, 156).

Протеобактерије и актинобактерије преовлађују у првих неколико дана након порођаја. Бактеријски састав почиње да се приближава профили микробиоте одрасле особе на крају прве године живота, како дете расте и почиње да узима храну. Разноликост микробиоте се повећава и потпуно је слична микробиоти одраслих са отприлике две и по године старости. Од ове фазе доминирају *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Током овог времена, имуни систем „учи“ да разликује комензалне и патогене бактерије (156).

Када микробиота достигне зрелост, већина остаје стабилна до старости. Конзорцијум ELDERMET проучавао је микробиоте код старијих људи и открио карактеристичан састав другачији од оног који се среће код младих одраслих особа, посебно у пропорцијама група *Bacteroides* и *Clostridium*. Последњих година постоји све већи интерес за микробиоту, што је резултирало експоненцијалним повећањем броја публикација на ову тему. Учињени су значајни покушаји да се разјасни однос микробиоте са развојем високо распрострањених болести као што су дијабетес и гојазност (157). Треба напоменути да микробиота није непроменљив ентитет, већ да може бити модулисана током времена променама у окружењу и различитим утицајима. Промене у екологији утицале су на састав микробиоте током људске еволуције, али је последњих деценија дошло до радикалне промене. Један од најзначајнијих налаза је да је у развијеним земљама дошло до губитка одређених врста које су колонизовале наша црева пре неколико деценија, са резултујућим губитком биодиверзитета наше микробиоте. Фактори који су утицали на ову промену у микробиоти су санитација воде, чешћа употреба антибиотика код превремено рођене деце, смањено дојење, нови модел малих породица, повећана хигијена, или широка употреба антибактеријских сапуна (155-157).

Један од најважнијих фактора који могу променити састав микробиоте је употреба антибиотика. Иако специфична микробиотска врста на коју утичу антибиотици варира у зависности од субјекта, неке врсте се не опорављају чак ни након вишемесечног третмана, а обично постоји дуготрајно смањење биодиверзитета бактерија након употребе антибиотика (158).

У вези са овим претпоставкама, истраживања на руралним популацијама су показала већи избор микроорганизама у поређењу са индустријализованим субјектима. Друге студије на људима у одређеним фазама, као што је трудноћа, идентификовале су промене у микробиоти мајке као механизам прилагођавања фетусу и различитом саставу тела (159).

Традиционално, проучавање микробиоте црева се углавном заснива на засејавању културе микроорганизама и њиховој идентификацији путем конвенционалних морфолошких, физиолошких и хемијских фенотипских тестова. Култура фекалне микробиоте у селективним, диференцијалним медијима изгледа као најједноставнији и најдиректнији метод, међутим слабо је поуздан јер се неке бактерије не могу узгајати. Деведесет девет процената инфекалног садржаја бактерија су строги анаероби, а многи од њих су изузетно осетљиви на кисеоник. Због тога су потребни строги услови редукције током обраде и културе (160).

Индиректне методе се у основи састоје од проучавања метаболизма бактерија. Принцип се заснива на процени микробиоте испитивањем и квантификацијом њихових метаболита или неких ензимских активности. Метаболити као што су испарљиве масне киселине или производи метаболизма жучне киселине могу се тестирати хроматографским техникама или се могу анализирати ензимске активности микробног порекла. Ове методе истраживања имају недостатак што многе активности ензима нису специфичне за одређени микроорганизам или бактеријску групу. Осим тога, неке врсте понекад имају велику метаболичку варијабилност или пластичност (160).

Као што смо раније поменули у последње време се због значајне метаболичке активности микробиота сматра одговорном за развој шећерне болести. Процедуре масивне пиросеквенције су омогућиле значајан напредак у карактеризацији људске микробиоте. У поређењу са испитаницима без дијабетеса, пацијенти са дијабетесом имали су мању концентрацију бактерија које производе бутират као што су *Roseburia intestinalis* и *F. prausnitzii*, и повећану концентрацију *Lactobacillus gasseri* и *Streptococcus mutans*. Забележен је већи удео протеобактерија и повећана експресија гена микробиота који су укључени у оксидациони стрес и запаљенска стања (161).

Утицај микробиоте на инсулинску резистенцију се може објаснити путем неколико најзначајнијих механизма. Дијабетес мелитус типа 2 је повезан са проинфламаторним стањем са умереним вишком производње цитокина као што су IL-6, IL-1 или фактор некрозе тумора алфа, који ометају интеракцију инсулина са његовим рецептором и доприносе инсулинској резистенцији и дијабетесу (162). Чини се да је повећање телесне тежине један од фактора који изазивају ову инфламацију ниског степена. Експерименти на животињама су показали да промене у микробиоти могу променити степен упале масног ткива. Липополисахариди су компоненте ћелијског зида грам-негативних бактерија. Повећани нивои липополисахарида у циркулацији су пронађени код субјеката са већим уносом масти (162).

Липополисахариде апсорбују ентероцити и преносе се у плазми углавном везани за хиломикроне. Показана је узрочна улога липополисахарида у инсулинској резистенцији, јер је администрација липополисахарида мишевима храњеним нормалном исхраном изазвала инсулинску резистенцију у јетри и повећану тежину масног ткива (162).

Липополисахариди се везују за CD14/TLR4 рецептор у макрофагима и индукује повећану производње проинфламаторних молекула. Када су ињекције липолисахарида давале мишевима са генетским одсуством CD14/TLR4 рецептора, мишеви нису развили ове метаболичке карактеристике и нису искусили гојазност дијабетеса типа 2, што показује значајну улогу механизма CD14/TLR4 рецептора (163). Осим тога, CD14/TLR4 нокаут мишеви су били још осетљивији на инсулин него контроле што сугерише да у одређеним ситуацијама долази до промене у односу грам-негативних бактерија у цревима, или да постоји промена у цревној пермеабилности тако да се концентрација липолисахарида повећава у серуму, а ово повећање је директно повезано са степеном инсулинске резистенције (163).

Други важан механизам путем кога микробиоте могу допринети развоју шећерне болести су промене у продукцији бутирата. Бутират је кратколанчана масна киселина коју заједно са пропионатом и ацетатом производе цревне бактерије варењем влакана. Кратколанчане масне киселине се апсорбују у цревима, где обезбеђују (посебно бутират) енергију епителним ћелијама дебелог црева, док остатак улази у портни венски систем и значајно доприносе смањењу пропусности црева (164). Подаци из студија на животињама сугеришу да пропионат утиче на липогенезу и глуконеогенезу у јетри, док је једина улога ацетата на периферном нивоу да делује као супстрат за синтезу холестерола. Занимљиво је да производња бутирата утиче на нивое серотонина на животињским моделима и директно утиче на тонус симпатикуса, време проласка кроз црева и физичку активност. Сада је познато да серотонин може да регулише цревну пермеабилност, осим тога што је важан неуротрансмитер у цревима и мозгу услед чега је укључен у регулацију телесне тежине и унос хране контролишући ситост (165).

Са друге стране, гојазност се карактерише смањењем термогене активности мрког масног ткива. Ово ткиво промовише витак, здрав фенотип и побољшава осетљивост на инсулин. Као одговор на хладноћу или вежбање, мрке масне ћелије настају и у белом масном ткиву, где су такође познате као беж масне ћелије (166). Развој беж масти у поткожном или висцералном адипозном ткиву постиже се на животињским моделима након третмана антибиотцима широког спектра који искорењује микробиоту. Ово доводи до побољшане толеранције на глукозу и осетљивости на инсулин, као и до смањења беле масти и величине адипоцита код мишева. Ови ефекти се поништавају реколонизацијом са микробама мишева третираних антибиотцима. Недавна студија је открила да микробиота црева омета појаву смеђих адипоцита, познатих као беж адипоцити који су укључени у бело масно ткиво кроз механизам који обухвата макрофаге и еозинофиле (167).

Следећи механизам путем кога микробиоте контрибуирају и развоју шећерне болести се заснива на утицају секундарних жучних киселина. Већина коњугованих примарних жучних киселина се реапсорбује кроз ентерохепатичну циркулацију, а само 5% избегне овај механизам и дође до дебелог црева, где се конвертују у секундарне жучне киселине дејством компоненти микробиота. Мањи број секундарних жучних киселина је примећен код субјеката са прекомерном тежином и дијабетесом типа 2 у поређењу са здравим субјектима. Чини се да је ово више повезано са поремећеним метаболизмом угљених хидрата него са гојазношћу (168).

Такође изгледа да секундарне жучне киселине имају улогу сензибилизације инсулина. Они делују као посреднички молекули преко нуклеарних рецептора као што су FXR и мембранског рецептора TGR5 који су експримирани у различитим ткивима, укључујући жучну кесу, илеум, дебело црево, бело масно ткиво (169). У белом масном ткиву и мишићима, повећава митохондријалну активност и фосфорилацију и доводи до инсулинске сензибилизације на моделима дијабетичких и гојазних мишева. На цревним Л-ћелијама, изгледа да побољшава гликемијски метаболизам, стимулишући производњу пептида као што је GLP-1 и подстичући лучење инсулина (170).

Процењује се да више од 80% пацијената са дијабетес мелитусом има прекомерну тежину, а повећана телесна тежина је, уз генетске факторе и стил живота, тренутно водећи фактор ризика за развоје ове болести. Бројне студије су се фокусирале на однос између гојазности и микробиоте, међутим, опсервационе студије које су се бавиле конекцијом између интолеранције на глукозу и инсулинске резистенције са једне и цревне микробиоте са друге стране, поседују извесне недостатке (171, 172). Пацијенти са метаболичким синдромом и дијабетесом показују знаке изражене ендотоксемије. Недавне студије су сугерисале да може бити липолисахариди могу имати једну од кључних улога у запаљенском механизму патогенезе шећерне болести (173, 174). Тако су Серино и сарадници забележили повећање пропустљивости црева и ендотоксемију уз промене специфичног микробиотног профила код мишева оболелих од дијабетеса (175). У складу са овим Амар и коаутори описали су концепт 'метаболичке инфекције' са намером да се дефинише допринос цревне микробиоте у запаљенским реакцијама повезаним са ендотоксемијом код дијабетес мелитуса типа 2 (176). Утврђено је да се нивои одређених бактеријских ДНК у крви (>85% пореклом од Протеобактерија) веома повећавају предијабетеса. У том смислу, ендотоксини добијени из микробиотских микроорганизама, би могли имати значајну улогу у инсулинској резистенцији повезаној са шећерном болести (177).

Кин и сарадници били су међу првим ауторима који су показали више него занимљиве корелације између клиничких података и микробног састава црева пацијената са дијабетесом типа 2 (178). Док је се број бактеријае које производе бутират (*Clostridiales sp. SS3/4*, *E. rectale*, *F. prausnitzii*, *Roseburia intestinalis*) повећао код здравих контролних испитаника, дијабетични пацијенти су имали измењени микробни профил црева, који се одликовао смањеним бројем бактерија које производе бутират као што су *R. intestinalis* и *F. prausnitzii*. Занимљиво је да је код пацијената са дијабетесом типа 2 микробни профил црева био колонизован опортунистичким патогенима као што су *Bacteroides caccae*, *Clostridiales*, *Escherichia coli* и *Desulfovibrio*. Функционални капацитет цревне микробиоте код ових пацијената је био повезан са повећаним бројем глукозних мембранских транспортера, оксидационим стресом, транспортом аминокиселина разгранатог ланца, редукција сулфата и мањом биосинтезом бутирата. Укупно се разликовало >3% гена цревних микроба између здравих испитаника и особа са дијабетесом типа 2 (178).

У студији, Карлсона и сарадника изучавана је су промене у композицији микробиоте код постменопаузних жена које болују од другог типа шећерне болести. Добијени подаци су поново открили велико смањење броја бактерија који су произвођачи у групи дијабетичних жена у поређењу са женама са које су имале поремећену толеранцију на глукозу. Обе групе су такође показале повећање броја Лактобацилус врста повезаних са дијабетесом типа 2 (179).

Као што је раније истакнуто, бутират игра важну улогу у одржавању интегритета епителних ћелија црева и превенцији стања познатог ако 'пропуштање црева' које је повезано са дијабетесом. Стога је улога масних киселина кратког ланца, посебно бутирата и бактерија које производе бутират, кључно за одржавање физиолошких функција и здравље код гојазних и особа са дијабетесом (179).

У условима очуване хомеостазе, микробиом је претежно сахаролитички, тј. анаеробна ферментација сложених угљених хидрата (посебно дијеталних влакана) производи метан, водоник, и масне киселине кратког ланца. Међутим, у одређеним хроничним болесним стањима постоји помак микробиома ка више протеолитичком деловању, што се може погоршати исхраном са мало влакана (180). Катаболизмом протеина производе се потенцијално токсични крајњи производи као што су амонијак, тиоли и индоли. На овај начин се могу акумулирати на пример уреа и други отпадни производи у крви у условима смањене функције бубрега. Ови отпадни производи дифундују у лумен црева и спроводе селектован притисак за протеолитичке бактерије, које генеришу прекурсоре за индоксил сулфат, триметиламин Н-оксид (ТМАО) и тако даље (181). Анализом узорака столице пацијената са завршном стадијумом болести бубрега, уочено је да је више од 200 бактеријских оперативних таксономских јединица из 23 породице бактерија било знатно другачије по броју у поређењу са контролним субјектима. Тако је забележен повећан број бактерија породица из *Micrococcaceae*, *Clostridiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae*, и *Verrucimicrobiaceae* док је број породица *Prevotellaceae*, *Lactobacillaceae* и *Alcaligenaceae* био знатно смањен (182).

Интегритет зида црева може бити угрожен као резултат локалне упале да би након тога, токсини пореклом из бактерија почели да се крећу и пролазе кроз „пропустљиви“ цревни ендотел што као резултанту доводи до стимулације системског запаљенског одговора и мултиорганске дисфункције. Промене у микробној разноликости црева су очигледно повезане са развојем гојазности која је једна од главних карактеристика дијабетес мелитуса. У мишијим моделима гојазности је забележена дисбиоза уз смањење односа одређених бактеријских врста (183). Штавише, germ-free мишеви не развијају гојазност када су изложени западњачком стилу исхране са високим садржајем масти. Фенотип гојазности се може пренети трансплантацијом фекалија. У једној од студија адултни мишеви су третирани ампицилином ради искорењивања цревне флоре. Код ових мишева је након третмана дошло до развоја метаболичких карактеристика гојазности укључујући хиперактивност бета ћелија панкреаса (183, 184). Са друге стране, истраживања на хуманој популацији су указала да клиничке карактеристике гојазности (адипозност, инсулинска резистенција, дислипидемија, системска инфламација ниског степена, итд.) могу бити повезани са микробном разновршношћу црева (185).

Код одраслих са дијабетесом мелитусом типа 2, смањена микробна разноликост црева може бити присутна у случају да постоји редукција сојева типа *Bifidobacterium*, *Firmicutes*, и *Clostridia*, и повећањем броја *Betaproteobacteria*. Предложено је да пролиферација грам-негативних бактерија може објаснити повећање серумских нивоа ендотоксина и ниског степена системске инфламације које се примећује и код гојазности и код типа 2 дијабетес мелитуса (185).



Овај патофизиолошки пут је додатно појачан када постоји истовремена болест бубрега. У студији на 14 пацијената са дијабетичном нефропатијом доказаном биопсијом, аутори су приметили повећану густину грам-негативна бактерија код пацијената са дијабетичном нефропатијом, у поређењу са дијабетичарима без болести бубрега. Као даље сведочанство о важности цревне микробиоте у дијабетичној болести бубрега, наводи се да честа употреба антибиотика (који нарушавају равнотежу нормалне цревне флоре) је може бити повезана са тежим обликом дијабетичне нефропатије код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2 (186).

У доступној литератури готово да нема истраживања која су се бавила терапијским ефектима минералних вода на цревну микробиоту код пацијената са дијабетесом типа 2, те се може уз извештај академске нескромности тврдити да је ово једна од ретких студија на интернационалном нивоу, а у националним оквирима пионирска студија засигурно. Због тога је и анализа добијених резултата са аспекта компарације са другим студијама умногоме отежана односно отежана. У вероватно јединој студији која је повезивала ове кључне речи и бавила се овом проблематиком испитиван је утицај вода са различитим рН вредностима на микробитски састав и развој односно ток дијабетеса мишева (187). У студији је уочено да на брзину прогресије болести у великој мери утиче рН воде за пиће, што такође утиче и на састав и разноликост цревне микробиоте. У закључку аутори сугеришу да рН воде за пиће утиче на састав цревне микрофлоре мишева, што доводи до измењеног аутоимуног одговора и инциденције оболевања од дијабетеса (187).

Наши резултати из овог дела студије су показали да конзумирање воде са извора "Снежник-1/79" није било повезано са променама испитиваних параметера телесне композиције, што указује да није дошло до метаболичких одступања испитаника током периода праћења. Такође, телесна висина и тежина били су непромењени након тронедељне конзумације воде са поменутог изворишта. У складу са овим, може се претпоставити да би дуже време експозиције води са поменутог извора изазвало проминентније промене за шта је потребно спровести нова и комплекснија истраживања.

У наставку анализе можемо сумарно уочити да је конзумирање испитиване воде било повезано са позитивним променама микробиоте ових пацијената које се огледају пре свега у мањој појави мишићних влакана у столицама и значајно бољим односом бактеријских врста нарочито редукцијом процентуалне затупљености *Enterococcus sp.*. Подједнако важан резултат је и изразито смањење процентуалног удела пацијената који су имали констипацију након третмана овом минералном водом. Овај налаз је апсолутно у корелацији са претходним и заправо се може сматрати последицом бољег микробиотског састава ових пацијената.

Као што је поменуто у претходном делу текста дисбиоза најстаје као последица различитих ентероинвазивних и ентеротоксогених патогена који ометају отпорност микробиоте и смањују количину заштитних врста бактерија (178). Управо због тога су резултати добијени анализом столице уједно и најзначајнији резултати ове студије јер све квантитативне и квалитативне поремећаји цревне микробиоте могу дефинисати и као дисбиоза, што заправо смањује заштиту цревне баријере и чини организам подложним различитим патогенима.

Код пацијената који имају изражени дисбиозу, цревна микрофлора губи заштитну улогу и постаје слаба карика која је један од најважнијих узорака за перзистентне инфекције (178).

Ови резултати имплицирају да се употреба "Снежник" воде јасно доводи у везу са побољшањем цревне дисбиозе, чиме се позитивно утиче на констипацију, као једну од интестиналних компликација дијабетес мелитуса типа 2. Као и у претходним случајевима, за потврду ове позитивне корелације односно потенцијално позитивних утицаја "Снежник" воде потребно је спровести нова и комплекснија истраживања која би између осталог обухватила дужу експозицију већег броја пацијената овој води.

## **5.2. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на биохемијске параметре из крви пацијената са дијабетес мелитусом типа 2**

У последње време је сви више доказа о постојању везе између већег уноса воде (различитих врста) и ризика од обољевања од Т2ДМ. Ови позитивни учинци вода су потврђени у недавној мета-анализи која користећи најсавременије епидемиолошке доказе, наводи да унос воде уместо заслађених и свих других пића може довести до 6% мање шанси за обољевање од Т2ДМ. Недавно је ревијски преглед 15 рандомизованих контролисаних студија са малим величинама студијских узорака истраживао ефекте појединих минералих вода као што су хидрогенкарбонатна и вода богата магнезијумом. Аутори су нотирали неуверљиве резултате. Наиме, упркос чињеници да је вода савршено пиће лишено калорија, које би као такво могло бити повољан медијум за смањени унос калорија и шећера, веће и боље дизајниране рандомизоване контролисане студије су ипак потребне да би се потврдило да вода за пиће или минерална вода могу побољшати гликемијски статус код дијабетичара (188).

Што се тиче здравствених предности обичне воде, постоји само неколико студија које су се бавиле утицајем обичне воде за пиће. Тако нека истраживања сугеришу да испијање 8 чаша воде дневно није имало користи код пацијената без нефролитијазе. Штавише, откривено је да вишак течности може повећати симптоме преактивне бешике (189). За разлику од ових резултата, један ревијски рад је показао да је унос воде је важан за смањење уноса енергије, а самим тим и гојазности (190). Најубедљивији доказ који подржава позитивну релацију уноса воде и оболевања и исхода у Т2ДМ било је истраживање спроведено наа 318 особа са прекомерном тежином где је уочено да је замена напитака заслађених шећером обичном водом довела до значајног смањења вредности гликемије наше и побољшање хидратације током 6 месеци (191). Осим тога, код учесника који су узимали воду за пиће, уочен је губитак тежине од 5% у поређењу са онима у контролној групи (192). Додатно, у неким студијама се може чак запазити да унос воде богате водоником може имати корисну улогу у превенцији Т2ДМ и инсулинској резистенцији (193).

Предности уноса воде углавном постају евидентни када се вода у користи у дужем временском интервалу као замена калоричних или дијеталних напитака (188), што је један од закључака и наше студије. Разлози неконзистентности резултата литературних податак могу бити повезани са разликама у бележењу уноса и израчунавању уноса воде.

На пример, поједини аутори нису узимали у разматрање и рачунање унос воде из хране као и унос алкохола и стварање метаболичке воде (194). Штавише, интересантно је да већина студија није узимала у обзир различите изворе уноса воде укључујући воду за пиће, воду из чесме, флаширану или минералну воду, што је јако утицало на формирање и анализу резултата. Осим тога, у неким студијама тврдоћа воде уопште није испитивана. Показало се да вода богата минералима или тврда вода може бити корисна у превенцији од кардиоваскуларних болести или метаболичког синдрома (195).

Предложено је неколико механизма путем који се остварује благотворно дејство вода на ризик од дијабетеса типа 2. Прво, важна регулациона улога уноса воде код хипертензије променом запремине крви (188) доводи до лучења аргинина који је вазодилататор. Осим тога, раније студије су предложиле да се губитак тежине може постићи заменом високо енергетских напитака са обичном водом (196), што је повезано са смањењем адипозности као фактора ризика за настанак шећерне болести типа 2. Други предложени механизам се односи на измењени ћелијски метаболизам који може довести до инсулинске резистенције (197, 198). Такође као додатни механизам се истиче да се и гликемијско оптерећење хране може смањити уносом воде током оброка (199).

Занимљиво је поменути да се већина студија не бави полим разликама односно да истражује утицај воде за пиће у оба пола. У том смислу преовладава став да дискутована корелација постоји код оба пола (200). Истраживање спроведно на 18 здравих жена у постменопаузи показало је изразито смањење гликемије након употребе 1 литра воде богате бикарбонатима током два месеца у поређењу са узимањем исте количине ниско минералне воде (201). Остале студије нису пронашле значајну разлику у контроли гликемије између употребе воде богате бикарбонатима у поређењу са ниско минералном водом.

Једна од ових студија, са величином узорка од 18 здравих одраслих особа, открила је остевљиво снижене концентрације глукозе након осам недеља уноса 1 литра минералне воде богате бикарбонатом у поређењу са ниско минералном водом (202). Највећа студија ове проблематике је обухватила са 64 здраве одрасле особе и утврдила је евидентно смањење концентрације глукозе у поређењу са почетним вредностима након конзумације како минералне воде богате бикарбонатима тако и ниско минералне воде, без разлике између група (203). Резултати поменуте студије су такође показали значајно мањи унос калорија и поготово угљених хидрата у обе групе. У наредној студији на 16 здравих старијих одраслих особа (60–72 године) које су биле на дијети са ограниченим уносом соли, упоређивани су гликемијски ефекти различитих бикарбонатних вода са слабо минералном водом која је садржала већу количину натријума од бикарбоната. Аутори нису пронашли разлику у концентрацији глукозе, док је снижење нивоа инсулина у корист воде богата натријумом било премало да би достигло значајност (204). Налази наведене студије су у корелацији са мета-анализом која је обухватила 19 радномизираних контролисаних клиничких студија које су откриле веће концентрације инсулина наште уз смањење концентрације натријума (205).

Следеће истраживање је упоређивала унос 1,4 литра воде богате бикарбонатима са високим садржајем магнезијума и слабо минералне воде у трајању од четири недеље на параметре гликемијске контроле (206). Упркос малој величини узорка, испитивање је показало малу, али евидентну разлику у концентрацији фруктозамина у серуму у групи која је конзумирала воду богата бикарбонатима и магнезијумом у поређењу са слабо минералном водом. Штавише, тест толеранције на глукозу показао је бољи резултат у групи која је пила воду богату бикарбонатима, али није било значајне разлике у краткорочним гликемијским параметрима и инсулину наше. У другој студији (207) су истраживани гликемијски ефекти воде богату бикарбонатима са још већом концентрацијом магнезијума и такође је показан значајно бољи резултат у дугорочном гликемијском параметру - гликоалбумину у поређењу са слабо минералном водом.

Из претходна два истраживања постаје очигледно да позитивни гликемијски утицаји поменутих вода могу бити последица високог садржаја магнезијума. Међутим, такође је евидентно да су значајни позитивни резултати пронађени само код параметара дуготрајније регулације гликемије, што указује да ефекти воде, посебно воде богате бикарбонатима, могу бити премали да изазову снижење у концентрацији глукозе, инсулина наше и ХОМА скора (207).

Осим клиничких истраживања поменути проблематика је била проучавана у последње време и на анималним моделима. Тако је познато је да пацови који примају 10% фруктозу у својој води за пиће развијају симптоме метаболичког синдрома и да се ниво глукозе у плазми изразито повећава. Међутим, ако се фруктоза даје у минералној води, а не у води са чесме, концентрације глукозе, инсулина и триглицерида, се уопште не погоршавају или барем незнатно (208). Слично овоме, пацови који су добијали фруктозу у води са чесме показали су снажно повећање нивоа алдостерона, док су пацови који су добијали фруктозу у минералној води имали исти ниво као контролне животиње.

У једном ревијском раду (209) се описује однос између повишеног нивоа алдостерона и метаболичког синдрома и дијабетеса типа 2. Сиртуин 1 (SIRT1) и пероксизомским пролифератором-активиран рецептор-гама коактиватор ((PGC1- $\alpha$ ) су протеини који се супротстављају метаболичком синдрому и аберантном метаболизму глукозе. SIRT1 позитивно утиче на многобројне кораке у метаболизму глукозе у јетри, панкреасу, мишићима и масном ткиву. Де-ацетиловани PGC1- $\alpha$  је главни регулатор СИРТ1 пута (210, 211). Експресија и једног и другог протеина је била снажно виша у ткиву јетре пацова који су појени минералном водом у поређењу са пацовима којима је давана вода из чесме (212). Осим тога, концентрација фосфорилисаног супстрата инсулинског рецептора (IRS) (активног облика супстрата који прослеђује инсулински сигнал), била је повишена у ткиву јетре пацова који су појени минералном водом у поређењу са пацовима који су добијали воду са чесме (213), што може указат на повећану инсулинску осетљивост. Међутим, обе групе пацова који су добијале фруктозу имале су нижи ниво фосфорилисаног IRS-а у поређењу са контролним пацовима. Ово може бити због чињенице да је концентрација магнезијума у серуму пацова који су примали фруктозу била значајно снижена (213).

Јони магнезијума су неопходни за аутофосфорилацију инсулинских рецептора, будући да се два јона магнезијума везују за домен тирозин киназе. Поремећај фосфорилације инсулинских рецептора се тренутно разматра као главни механизам који доводи до инсулинске резистенције код ниске концентрације јона магнезијума (213). Укратко, већина експеримената на животињама сугеришу да је унос минералне воде користан у гликорегулацији код било ког метаболичког поремећаја - метаболички синдром, пред-дијабетес или дијабетес типа 2.

Када је реч о нашој земљи, према нама доступним сазнањима, наше истраживање је вероватно пионирског карактера будући да нисмо могли да пронађемо студије које су проучавале ефекте (слабо)минералних вода на параметре гликорегулације и уопште рутинске биомаркере крви код пацијената који болују од било ког типа шећерне болести. Резултати које смо добили показују да конзумирање "Снежник" воде није било повезано са променама у вредностима гликемије код испитаника са дијабетес мелитусом типа 2. Будући да је код вредности инсулинемије уочен евидентан тренд пада (иако статистички непотврђен), очигледно да јонски састав испитиване минералне воде може бити користан у ублажавању инсулинске резистенције. На основу ових налаза може се претпоставити да би дуже време експозиције води са поменутог извора изазвало проминентније промене за шта је потребно спровести нова и комплекснија истраживања.

Осим тога, динамика кретања компоненти липидограмског статуса јасно указује позитивне ефекте конзумирања "Снежник" воде, што у крајњем доводи до редукције проатерогеног потенцијала код ових особа са повећаним ризиком од кардиоваскуларних болести. Одсуство промена електролитног баланса односно одржавање јонске равнотеже се такође може тумачити као позитиван утицај испитиване воде.

### **5.3. Ефекти конзумације воде са извора „Снежник-1/79“ на биомаркере оксидационог стреса пацијената са дијабетес мелитусом типа 2**

Дијабетес мелитус типа 2 (Т2ДМ) је мултифакторско и комплексно метаболичко стање које карактерише висок ниво глукозе и липида у крви и неадекватна или оштећена производња инсулина од стране  $\beta$ -ћелија панкреаса (дисфункција  $\beta$ -ћелија). Неконтролисана хипергликемија у дужем временском периоду даље узрокује оштећење и дисфункцију различитих органа, што последично доводи до разних дијабетичких компликација. Преваленција дијабетеса се брзо повећава широм света, смањујући животни стандард и повећавајући економско оптерећење здравственог система. Формирање слободних радикала је физиолошки процес који је суштински важан за одржавање нормалне ћелијске хомеостазе. Међутим, неколико механизма доводи до прекомерне производње слободних радикала пре свега реактивних кисеоничних врста (ROS), који надјачавају антиоксидационе системе организма и промовишу патогенезу многобројних болести укључујући и дијабетес. У том смислу повећана продукција слободних радикала и последични оксидациони стрес се у последње време сматрају једним од кључних фактора који воде у развој инсулинске резистенције и дијабетес мелитуса било ког типа (214).

Недавне студије су показале да хипергликемија доприноси оксидационом стресу прекомерном производњом рекативних кисеоничних врста, што се постиже активацијом различитих молекуларних путева као што су појачана активација протеин киназе C (PKC), производња напредних крајњих производа гликације (енгл. advanced glycation end product, AGE), стимулација полиолског сигналног пута, аутооксидација глукозе и хиперактивација хексозаминског пута. (215). На овај начин, код особа са дијабетесом постоји стање повећаног оксидационог стреса које се одликује повишеном нивоом гликозилације и пероксидације, уз ослабљен антиоксидациони протективни систем (214, 215). Оксидациони стрес изазван хипергликемијом може пореметити сигнализацију инсулина, што резултује инсулнском резистенцијом и претпоставља се да је одговорно за настанак компликација повезаних са дијабетесом. Осим тога, рекативне кисеоничне врсте такође могу да оштете ћелије острваца панкреаса што доводи до смањеног лучења инсулина (215). Механизми путем којих повишена концентрација глукозе може да стимулише производњу слободних радикала и оксидациони су вишеструки, а ми ћемо у овом делу дискусије изнети оне најважније.

У нормогликемичним условима, централна улога глукозе је да производи енергију путем гликолизе и других путева. Насупрот томе, хипергликемијски услови стварају неравнотежу између путева гликолизе и гликогенезе и фаворизују накупљање сорбитола (216). Код Т2ДМ, висока концентрација глукозе последично индукује активацију сингалног пута полиола преко стимулације ензима алдозне редуктазе (AR), повећавајући производњу сорбитола. За функционисање овог ензима је неопходан кофактор NADPH. Прекомерном активацијом овог кофактора доводи од исцрпљења његове производње. Алдозна редуктаза генерално ограничава токсичне алдехиде у ћелији тако што их претвара у алкоhole, али у окружењу са високим садржајем глукозе, смањује биорасположивост глукозе претварајући је у сорбитол. Сумарно посматрано смањење нивоа NADPH (због његовог прекомерног коришћења од стране AR) последично смањује регенерацију редукованог глутатиона (GSH) из његовог оксидованог облика (GSSG). Будући да је глутатион ефикасан чистач слободних радикала односно моћан интрацелуларни антиоксидант, смањење његовог нивоа може подстаћи активацију слободних радикала и изазвати оксидациони стрес (216).

Осим поменутог, сорбитол дехидрогеназа оксидује сорбитол у фруктозу, чиме се побољшава однос  $\text{NADH:NAD}^+$  (217). Две значајне последице повећане продукције сорбитола су стимулације активације PKC и формирање слободних радикала индукујући продукцију напредних крајњих производа гликације (217). Штавише, акумулација сорбитола и фруктозе такође може довести до повећања осмотског притиска.

Други механизам преко којег хипергликемија промовише индукцију оксидационог стреса код Т2ДМ је повећано формирања напредних крајњих производа гликације (AGE). Ова једињења се формирају у реакцији гликације када се моносахариди или редукциони шећери неензимски додају слободним аминок групама у липидима или протеинима. Неколико услова, као што су степен хипергликемије и брзина производње протеина, детерминишу процес формирања AGE. У почетку, процес започиње развојем Шифове базе која се лако претвара у Амадори производа. Даља трансформација Амадори производа даје високо реактивне карбонил интермедијере као што је метилглиоксал (217).

Њихова акумулација и сложени прелази резултирају формирањем иреверзибилних или стабилних AGE структура (217, 218). AGE испољава свој ефекат везивањем за рецепторе на површини ћелије познате као RAGE, мењајући ћелијске функције активирањем различитих сигналних путева. Сходно томе, AGE-RAGE интеракција може индуковати производњу ROS директно или индиректно смањењем мобилности антиоксидационог система. Активација фактора транскрипције NF- $\kappa$ B, који стимулише активацију бројних гена, укључујући и RAGE ген, је још један резултат интеракције између AGE и RAGE (217, 218).

Хипергликемија такође промовише прекомерну производњу ROS или појачава оксидациони стрес активирањем протеин киназа C-диацилглицерол сигналног пута (PKC-DAG), који након тога модификује низ различитих метаболичких путева укључених у одговор на стрес. Протеин киназа C (PKC) је породица серин-треонин протеин киназа која активира вишеструке сигналне путеве са циљем да изазове различите биолошке функције (219), док је диацилглицерол (DAG) секундарни гласник, који има кључну улогу у активирању изоформи PKC. Повећани нивои интермедијера гликолизе, тј. дихидроксиацетон фосфата (DHAP), и његова накнадна редукција у глицерол-3-фосфат у хипергликемијском окружењу, појачавају *de novo* синтезу DAG-а, чиме се промовише активација PKC. Штавише, хипергликемија такође може да подстакне активацију PKC индиректно преко полиолног пута и преко AGE рецептора (217). Сходно томе, активација изоформи PKC, посебно PKC  $\alpha$  и  $\delta$ , повећава производњу слободних радикала промовишући активацију NADPH оксидазе (217-219). Уз то, хипергликемијом посредована PKC активација код дијабетеса је такође одговорна за ендотелну дисфункцију промовишући експресију васкуларног ендотелног фактора раста (VEGF), колагена типа IV и фибронектина (219).

Са друге стране, хексозамински метаболички пут као део гликолитичког пута, такође је укључен у стимулацију појаве оксидационог стреса. Прекомерни флуks глукозе промовише активацију овог пута при чему фруктозо-6-фосфат делује као супстрат за стварање N-ацетил глукозамин-6-фосфата путем активације ензима глутамин-фруктоза-6-фосфат аминотрансферазе. Након тога, он се трансформише у UDP-N-ацетилглукозамин, витални крајњи производ пута који служи као O-везани супстрат гликозилације (218-220). У нормалним физиолошким условима, веома мала количина фруктозо-6-фосфата се прикључује хексозаминском путу. За разлику од тога, у хипергликемијском миљеу, фруктозо-6-фосфат се прекомерно преусмерава на хексозамински пут (219, 220). Сматра се да хексозамински сигнални пут изазван хипергликемијом повећава генерисање реактивних кисеоничних врста и на тај начин доприноси развоју оксидационог стреса генерисањем водоник пероксида и смањењу лучења инсулина у  $\beta$ -ћелијама (220). Додатно, смањење експресије инсулинског гена, глукозног транспортера 2 и глукокиназе због хипергликемије, такође може бити одговорно за појачану производњу слободних радикала (219, 220).

У условима хроничне хипергликемије, глукоза стиче способност да се конвертује у енол што се назива аутооксидација глукозе. Сматра се значајним извором слободних радикала као што су водоник пероксид, супероксид анјон, итд. Производи аутооксидације могу изазвати оштећење протеина (220).

Све у свему, из претходно изнетог јасно је да постоји довољно доказа да хипергликемија индукује стварање слободних радикала и оксидационог стреса преко горе наведених путева. Сходно томе, реактивне кисеоничне врсте генерисане у условима хипергликемије може погоршати патогенезу дијабетеса кроз све наведене сигналне путеве, док оксидациони стрес може даље довести до појаве и напредовања компликација Т2ДМ.

Добро је позната чињеница да код дијабетеса типа 2 постоји инсулинска резистенција у многобројним ткивима као што су скелетни мишићи и јетра (221). Осим ових ткива,  $\beta$ -ћелије такође нису у стању да одговоре на повећану потражњу инсулина, што може бити последица било каквог оштећења ових ћелија или смањења њихове (219-221). До сада је откривено неколико фактора који се повезују са развојем инсулинске резистенције, укључујући генетику, гојазност, начин живота итд. (220, 221). Стога су се недавне студије више фокусирали на идентификацију молекуларних механизма одговорних за настанак неостљивости на инсулин. У нормалним физиолошким условима, ћелије реагују на инсулин тако што регулишу експресију глукозног транспортера типа 4 у плазма мембрани, чиме се повећава унос глукозе из екстраћелијске течности. Инсулин који луче  $\beta$ -ћелије везује се за инсулинске рецепторе изазивајући конформациону промену ових рецептора што промовише фосфорилацију остатка тирозина рецептора, чиме се индукује интеракција са фосфатидилинозитол-3-киназом (PI3K). Подјединица p85 PI3K која има SH2 домен је укључена у ову интеракцију и активира каталитичку подјединицу p110. Даље, PI3K последично активира Akt сигнални пут који може фосфорилсати друге молекуле и тако довести до метаболичких ефеката инсулина (221).

Оксидациони стрес се сматра једним од основних молекулских механизма одговорних за настанак инсулинске резистенције. Прекомерна производња реактивних кисеоничних врста изазвана хипергликемијом може довести до инсулинске резистенције кроз нарушавање процеса сигнализације инсулина. Иако није утврђен тачан механизам који може објаснити везу између инсулинске резистенције и оксидационог стреса, бројне студије су предложиле активацију различитих сигналних каскада. Међу овим сигналним путевима најзначајнији су JNK, MAPK и NF- $\kappa$ B, чијом активацијом се нарушава механизам инсулинске сигнализације и поспешује напредовање Т2ДМ (218, 220, 222). NF- $\kappa$ B пут је најчешће проучаван сигнални пут и сматра се да игра кључну улогу у инфламаторним и апоптоличким ћелијским одговорима. Ова сигнална каскада означава почетну тачку односно примарни догађај за активацију других путева као одговор на хипергликемијом изазвану прекомерну производњу реактивних кисеоничних врста. Активација серин киназе под оксидирајућим условима средине доводи до стимулације NF- $\kappa$ B пута путем фосфорилације I $\kappa$ B субјединице (222).

Код дијабетеса оксидациони стрес стимулише активацију неколико протеин киназа активираних митогеном као што су p38 MAPK, ERK и JNK [80]. Претпоставља се да киназе активирание стресом повећавају серинску фосфорилацију кључних састојака као што су ИРС или ИР у сигналном путу инсулина, што омета физиолошки пут сигнализације инсулина (214).

Студије су такође откриле да реактивне кисеоничне врсте ометају процес транслокације глукозног транспортера 4 (GLUT 4) у плазма мембрану адипоцита (214). Примећено је такође да реактивне кисеоничне врсте промовишу активацију казеин-киназе



2 (СК-2), која као одговор покреће транс-Голги мрежу преко ретромерне активације, чиме се стимулише транслокација GLUT 4 у лизозоме уместо у плазма мембрану. Ова нисходна регулација нивоа и расположивости GLUT 4 додатно погоршава хипергликемију и хиперинсулинемију у ткивима, што последично доводи до десензибилизације периферних ткива на инсулин (223). Штавише, оксидациони стрес такође индукује деактивацију PI3K пута стимулацијом различитих фосфатаза као што су тирозин-протеин фосфатаза (SHO2) која садржи SH2 домен и протеин-тирозин фосфатаза 1B (PTP1B), што сумарно резултира у колапсу инсулинске сигнализације (223).

Литературни подаци показују да поремећај у физиолошком функционисању  $\beta$ -ћелија током оксидационог стреса доводи до дефектне секреције инсулина и инсулинске резистенције, што је важан догађај у патогенези Т2ДМ.  $\beta$ -ћелије панкреаса су подложније оксидационом оштећењу изазваном реактивним кисеоничним врстама јер садрже мање количине антиоксидационих ензима као што су GPx, SOD и CAT (214, 223). Познато је да акумулација реактивних кисеоничних врста може да промени сингалне путеве критичне за преживљавање и функцију  $\beta$ -ћелија. Оксидационим стресом посредована активација каскадних сигнализација укључује различите типове киназа и у целини доприноси оштећеном лучењу и деловању инсулина. Повећана активација поменутих сигнализација повезаних са стресом у  $\beta$ -ћелијама може бити одговорно за апоптозу  $\beta$ -ћелија (214, 223).

Осим тога, примећено је да накнадно смањење односа АТР:АДР инхибира све друге сигналне каскаде зависне од АТР-а које покрећу производњу, секрецију и деловање инсулина (224). Штавише, оксидациони стрес може да промени експресију гена, трансдукцију рецепторских сигнала и промовише апоптозу  $\beta$ -ћелија. Оксидациони стрес изазван хипергликемијом делује на неке од кључних фактора који су укључени у развој и диференцијацију панкреаса и одржавање нормалних функција  $\beta$ -ћелија. JNK сигнални пут је такође повезан са настанком инсулинске резистенције, што указује на њен значај у развоју Т2ДМ. Стога, циљно деловање на овај механизам може бити терапијски приступ за лечење Т2ДМ. Генерално посматрано, може се увидети да је хипергликемијом изазвана хиперпродукција реактивних кисеоничних врста кључни фактор који доприноси дисфункцији  $\beta$ -ћелија и инсулинској резистенцији у Т2ДМ (224).

Неколико студија је истакло да реактивне кисеоничне врсте произведене током метаболизма глукозе, као што је водоник пероскид, функционишу као метаболички сигнални молекули у  $\beta$ -ћелијама панкреаса чиме се стимулише лучење инсулина. Вишеструки процеси, укључујући оксидациону фосфорилацију, активацију РКС, метаболизам хексозамина, гликацију, аутооксидацију глукозе и производњу метилглиоксала, могу произвести реактивне кисеоничне врсте у већини ћелија у присуству високих концентрација глукозе (225). Метаболизам глукозе, након почетне апсорпције и фосфорилације, обухвата или ћелијске или митохондријске активности и ствара сигнале који на крају доводе до ослобађања инсулина. Повећани гликолитички флуks, смањена концентрација АДР-а и повећана интрацелуларна концентрација  $Ca^{2+}$  су све догађаји који могу драстично повећати шансе за формирање слободних кисеоничних радикала у  $\beta$ -ћелијама током процеса ћелијског десања у митохондријама (225).

Поред пораста концентрације калцијума, глукоза индукује производњу реактивних кисеоничних врста у  $\beta$ -ћелијама преко бројних ћелијских механизма (225).

Хипергликемијом индукован оксидациони стрес, међутим некада снажно активира ендogene антиоксидационе системе што представља компензаторни одговор на накупљање слободних радикала (226). Транспортери глукозе, као што су GLUT2 (код глодара) и GLUT1 (код људи), омогућавају тренутну равнотежу концентрације глукозе у крви са цитосолном концентрацијом у  $\beta$ -ћелијама панкреаса. Одсуство функционалних киназа пируват дехидрогеназе (PDH) и лактат дехидрогеназе, као и специфичне изоформе хексокиназе, глукокиназе (GK), дозвољава да се целокупни гликолитички пут користи за оксидативну фосфорилацију и ефикасно стварање АТФ-а (226). Као последица тога, повећана концентрација глукозе у крви изазива повећану синтезу АТФ-а и производњу NADPH преко глукозо-6-фосфат дехидрогеназе и 6-фосфоглуконат дехидрогеназе на две различите локације. Ово подиже нивое NADPH у цитосолу, а самим тим и активност NADPH оксидазе 4 (225, 226). Повећана концентрација глукозе изазива тренутну редокс сигнализацију јер NADPH оксидаза 4, генерише водоник пероксид одмах након тога. Међутим, поремећај горе наведених механизма хомеостазе  $\beta$ -ћелијама због прекомерног накупљања слободних радикала доводи до дисфункције  $\beta$ -ћелија (226). Сумарно посматрано, може се рећи да је хипергликемијом индукована хиперпродукција слободних радикала кључни фактор који доприноси дисфункцији  $\beta$ -ћелија и инсулинској резистенцији и у T2DM.

Са друге стране, модалитети превенције и терапије оксидационих оштећења у дијабетесу се заснивају углавном на употреби различитих антиоксиданаса (214). Ипак, пажња научне јавности се последњих година умногоме померила ка природним изворима антиоксидационог дејства а међу њима и употреби различитих минералних вода које због свог састава и могу испољити одређена антиоксидациона својства. Доступни литературни извори који су проучавали антиоксидационе ефекте примене минералних вода код пацијената са дијабетесом су, међутим и даље веома оскудни и неусаглашени. Због тога, према нама познатим изворима постоји тек неколико студија са којима би наши резултати могли бити компарирани.

У најновијем истраживању је испитиван антиоксидациони потенцијал алкалне минералне воде богате магнезијумом на културу хуманих ћелија бубрега (227). Аутори су закључили да третман поменутом водом изазива супресију продукције реактивних кисеоничних врста са једне стране, док са друге стране доводи до снажног пораста активности антиоксидационих ензима каталазе и глутатион пероксидазе (227). Друга студија такође новијег датума публикације је била спроведена на људима и сличног је дизајна као наша. Наиме, у студију су били укључени пацијенти са гастроинтестиналним сметњама који су због своје болести били на бањском лечењу и који су током две недеље били на третману водом богатом сумпором. Итмеђу осталих параметара испитиван је утицај воде на рекативне кисеоничне метаболите и утврђено је да је продукција ових токсичних метаболита био снижен у групи пацијената на третману сумпорном водом (228).

Генерално анализирано, на основу резултата нашег истраживања можемо уочити да је конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" било повезано са упадљиво нижом продукцијом про-оксиданаса поготово најтоксичнијег слободног радикала – супероксид анјона.

У исто време активност свих мерених ензима антиоксидационог система заштите је значајно унапређена након тронедељног конзумирања испитиване воде, што са своје стране може објаснити нижу производњу наведених про-оксиданаса.

Заједно узевши, ови резултати индикују да се употреба "Снежник" воде јасно доводи у везу са побољшањем системског оксидационог статуса испитаника са дијабетес мелитусом типа 2, чиме се позитивно утиче на превенцију ћелијских оксидационих оштећења. Као и у претходним случајевима, за потврду ове позитивне корелације односно потенцијално антиоксидационих утицаја "Снежник" воде потребно је спровести нова и комплекснија истраживања која би између осталог обухватила дужу експозицију пацијената овој води.

# VI

## ЗАКЉУЧЦИ

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

Након спроведеног истраживања можемо донети следеће генералне закључке:

1. Конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" није било повезано са променама испитиваних параметера телесне композиције, што указује да није дошло до метаболичких одступања код пацијената током периода праћења. У складу са овим, може се претпоставити да би дуже време експозиције води са поменутог извора изазвало проминентније промене.
2. Конзумирање испитиване воде било повезано са позитивним променама микробиоте ових пацијената које се огледају пре свега у мањој појави мишићних влакана у столицама и значајно бољим односом бактеријских врста нарочито редукујући процентуалне затуљености *Enterococcus sp.*
3. Подједнако важан резултат је и изразито смањење процентуалног удела пацијената који су имали констипацију након третмана овом минералном водом. Овај налаз је апсолутно у корелацији са претходним и заправо се може сматрати последицом бољег микробиотског састава ових пацијената.
4. Ови резултати имплицирају да се употреба "Снежник" воде јасно доводи у везу са побољшањем цревне дисбиозе, чиме се позитивно утиче на констипацију, као једну од интестиналних компликација дијабетес мелитуса типа 2.
5. Конзумирање "Снежник" воде није било повезано са променама у вредностима гликемије код испитаника са дијабетес мелитусом типа 2. Будући да је код вредности инсулинемије уочен евидентан тренд пада (иако статистички непотврђен), очигледно да јонски састав испитиване минералне воде може бити користан у ублажавању инсулинске резистенције.
6. Динамика кретања компоненти липидограмског статуса јасно указује позитивне ефекте конзумирања "Снежник" воде, што у крајњем доводи до редукујења проатерогеног потенцијала код ових особа са повећаним ризиком од кардиоваскуларних болести. Одсуство промена електролитног баланса односно одржавање јонске равнотеже се такође може тумачити као позитиван утицај испитиване воде.
7. Употреба "Снежник" воде била је повезана са упадљиво нижом продукцијом прооксиданаса и истовремено повећаном мобилношћу свих мерених ензима антиоксидационог система заштите. Ови резултати индикују да се употреба "Снежник" воде јасно доводи у везу са побољшањем системског оксидационог статуса испитаника са дијабетес мелитусом типа 2, чиме се позитивно утиче на превенцију хелијских оксидационих оштећења.
8. Као и у претходним случајевима, за потврду ове позитивне корелације односно потенцијално антиоксидационих утицаја "Снежник" воде потребно је спровести нова и комплекснија истраживања која би између осталог обухватила дужу експозицију овој води већег броја пацијената.

# **VII**

# **ЛИТЕРАТУРА**

## 7. ЛИТЕРАТУРА

1. United Nations. 2022. The Water Convention: 30 Years of Impact and Achievements on the Ground, Geneva, Switzerland, p.16-19.
2. Petraccia L, Liberati G, Masciullo SG, Grassi M, Fraioli A. Water, mineral waters and health. *Clin Nutr.* 2006;25(3):377-85.
3. Ганонгов преглед медицинске физиологије. Прво издање на српском језику. Ganong William. Главни редактор Владимир Јаковљевић. Факултет медицинских наука, Крагујевац 2015.
4. Guyton A, Hall J. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Elsevier Inc; 2006.
5. Quattrini S, Pampaloni B, Brandi ML. Natural mineral waters: chemical characteristics and health effects. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2016;13(3):173-180.
6. Stevanović, Z. Menadžment podzemnih vodnih resursa. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Departman za hidrogeologiju. 2011
7. Prođović T. Klasifikacije i karakteristike mineralnih voda i mogućnost njihovog korišćenja u terapeutske svrhe. *PONS.* 2012;9(4):165-172.
8. Casado Á, Ramos P, Rodríguez J, Moreno N, Gil P. Types and characteristics of drinking water for hydration in the elderly. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015;55(12):1633-41.
9. Klimo A. Mineralne vode banjskih lečilišta Panonskog basena Srbije. *Srp Arh Celok Lek* 2011;139(3-4):203-8.
10. Протић Д. Минералне и термалне воде Србије. Геоинститут. Београд 1995
11. van der Aa NGFM. Classification of mineral water types and comparison with drinking water standards. *Environmental Geology.*2003;44:554-563.
12. Peale AC. The Classification of American Mineral Waters. *Trans Am Climatol Assoc Meet.* 1887;4:156-66.
13. Sl. list SCG br. 53/05, Sl. glasnik RS 43/13: Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za prirodnu mineralnu vodu, prirodnu izvorsku vodu i stonu vodu.
14. Dragišić V, Polomčić D. Hidrogeološki rečnik. Rudarskogeološki fakultet. Beograd. 2009
15. Trinchieri A, Boccafoschi C, Chisena S, De Angelis M, Seveso M. Study of the diuretic efficacy and tolerability of therapy with Rocchetta mineral water in patients with recurrent calcium kidney stones. *Arch Ital Urol Androl.* 1999;71(2):121-4.
16. Rodzil'skaia ON, Tondiš LD, Serdiuk AI, Borokhova OA. Substantiation and the results of balneotherapy with the use of Beryozovskaya mineral water in the patients presenting with chronic cardiac insufficiency. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2014;(3):3-8.
17. Pytel' IuA, Aliaev IuG, Rapoport LM, Rudenko VI. Mineral water Volzhanka from Undorovskij spring in combined therapy of patients with nephrolithiasis and chronic pyelonephritis. *Urologiia.* 1999;(5):12-4.
18. Zunnunov ZR. The effectiveness of the application of medicinal mineral water from the 'Omonkhona' source in the patients presenting with the diseases of the hepatobiliary system. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2019;96(1):22-29.
19. Fraioli A, Menunni G, Petraccia L, Fontana M, Nocchi S, Grassi M. Sulphate-bicarbonate mineral waters in the treatment of biliary and digestive tract diseases. *Clin Ter.* 2010;161(2):163-8.
20. Pachaly MA, Baena CP, Buiar AC, de Fraga FS, Carvalho M. Effects of non-pharmacological interventions on urinary citrate levels: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(8):1203-11.

21. Mousa HA. Health Effects of Alkaline Diet and Water, Reduction of Digestive-tract Bacterial Load, and Earthing. *Altern Ther Health Med.* 2016;22 Suppl 1:24-33.
22. Bastos P, Araújo JR, Azevedo I, Martins MJ, Ribeiro L. Effect of a natural mineral-rich water on catechol-O-methyltransferase function. *Magnes Res.* 2014;27(3):131-41.
23. Dupont C, Campagne A, Constant F. Efficacy and safety of a magnesium sulfate-rich natural mineral water for patients with functional constipation. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(8):1280-7.
24. Huang A, Seité S, Adar T. The use of balneotherapy in dermatology. *Clin Dermatol.* 2018;36(3):363-368.
25. Matz H, Orion E, Wolf R. Balneotherapy in dermatology. *Dermatol Ther.* 2003;16(2):132-40.
26. Nunes F, Rodrigues M, Ribeiro MP et al. Incorporation of Cró thermal water in a dermocosmetic formulation: cytotoxicity effects, characterization and stability studies and efficacy evaluation. *Int J Cosmet Sci.* 2019;41(6):604-612.
27. Cacciapuoti S, Luciano MA, Megna M et al. The Role of Thermal Water in Chronic Skin Diseases Management: A Review of the Literature. *J Clin Med.* 2020;9(9):3047.
28. Riyaz N, Arakkal FR. Spa therapy in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2011;77(2):128-34.
29. Bajgai J, Fadriqela A, Ara J et al. Balneotherapeutic effects of high mineral spring water on the atopic dermatitis-like inflammation in hairless mice via immunomodulation and redox balance. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17(1):481.
30. Miraglia Del Giudice M, Decimo F, Maiello N et al. Effectiveness of Ischia thermal water nasal aerosol in children with seasonal allergic rhinitis: a randomized and controlled study. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011;24(4):1103-9.
31. Matsumoto S. Evaluation of the Role of Balneotherapy in Rehabilitation Medicine. *J Nippon Med Sch.* 2018;85(4):196-203.
32. Habek D, Cerovac A, Kamerić L, Nevačinović E, Šerak A. Balneogynaecology in the 21st century: increasingly recommended primary and complementary treatment of chronic gynaecological diseases. *Med Glas (Zenica).* 2021;18(1):1-6.
33. Imperato E. Le cure idrominerali nelle malattie ginecologiche [Mineral water therapy of gynecological diseases]. *Rass Int Clin Ter* 1952; 32(13):421-6.
34. Verhagen AP, Bierma-Zeinstra SM, Boers M et al. Balneotherapy (or spa therapy) for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;2015(4):CD000518.
35. Fernandez-Gonzalez M, Fernandez-Lao C, Martin-Martin L et al. Therapeutic Benefits of Balneotherapy on Quality of Life of Patients with Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(24):13216.
36. Costantino M, Filippelli A, Quenau P, Nicolas JP, Coiro V. Rôle de l'eau minérale sulfurée dans la SPA thérapie de l'arthrose [Sulphur mineral water and SPA therapy in osteoarthritis]. *Thérapie.* 2012;67(1):43-8.
37. Ma T, Song X, Ma Y et al. The effect of thermal mineral waters on pain relief, physical function and quality of life in patients with osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2021;100(4):e24488.
38. Sl. list SRJ br. 42/98, 44/99, Sl. glasnik RS br. 28/2019. Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće.
39. World Health Organization, 2017: Guidelines for drinking-water quality. Forth Edition Incorporating The First Addendum, Geneva, Switzerland, p. 231.



40. WHO, 2006: Guidelines for drinking-water quality. First Addendum to Third Edition Vol. 1 Recommendation, Geneva, Switzerland, p.221.
41. Krunić O, Sorajić S. Balneološka klasifikacija mineralnih voda Srbije. *Srp Arh Celok Lek* 2013; 141(1-2):72-80.
42. Vujanović V, Teofilović M. Banjske i mineralne vode Srbije. Kulturni centar Gornji Milanovac. 1983
43. Klimo Atila. Prilog proučavanju uslova formiranja, rasprostranjenosti i korišćenja mineralnih voda Srbije. *MD-Medical Data* 2012;4(1): 075-082.
44. Leko M, Ščerbakov A, Joksimović H. Lekovite vode i klimatska mesta u Kraljevini Srba, Hrvata i Slovenaca sa balneološkom kartom. Beograd: Ministarstvo narodnog zdravlja; 1922.
45. Tanja M. Petrović 1, Milena Zlokolica Mandić et al. Makro- i mikroelementi u flaširanim vodama i vodama iz javnih vodovoda u Srbiji. *Hem. Ind.* 2012;66 (1) 107–122.
46. Filipović B. Mineralne, termalne i termomineralne vode Srbije. Beograd: Udruženje banjskih i klimatskih mesta Srbije, Vrnjačka Banja, Institut za hidrogeologiju Rudarsko-geološkog fakulteta u Beogradu; 2003.
47. Budinskaya K, Nádeniček J, Stračina T et al. Mineral water Vincentka and its influence on mucosal ulcers. *Physiol Res.* 2022;71(S2):S251-S257.
48. Trískala Z, Jandová D. *Medicína přírodních léčivých zdrojů*. 1. vydání. Grada Publishing, Praha, 2019, 208 p.
49. Grassi M, Fraioli A, Messina B. Valutazione dell'effetto di un'acqua minerale bicarbonato calcica sul pH esofageo e gastrico. *Clin Dietol* 1992;19:213–8.
50. Dumitrescu M, Iliescu MG, Mazilu L et al. Benefits of crenotherapy in digestive tract pathology (Review). *Exp Ther Med.* 2022;23(2):122.
51. Fraioli A, Menunni G, Petracchia L, Fontana M, Nocchi S, Grassi M. Sulphate-bicarbonate mineral waters in the treatment of biliary and digestive tract diseases. *Clin Ter.* 2010;161(2):163-8.
52. Mennuni G, Petracchia L, Fontana M et al. The therapeutic activity of sulphate-bicarbonate-calcium-magnesiatic mineral water in the functional disorders of the biliary tract. *Clin Ter.* 2014;165(5):e346-52.
53. Dupont C, Campagne A and Constant F: Efficacy and safety of a magnesium sulfate-rich natural mineral water for patients with functional constipation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 12: 1280-1287, 2014
54. Bothe G, Coh A and Auinger A: Efficacy and safety of a natural mineral water rich in magnesium and sulphate for bowel function: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Nutr* 56: 491-499, 2017.
55. Dragomiretska NV, Babov KD, Gushcha SG et al. Application of mineral waters in the complex treatment of patients with gastroesophageal reflux disease. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2020.66: 225-237.
56. Zunnunov ZR. Éffektivnost' primeneniia lechebnoï mineral'noï vody iz istochnika 'Omonkhona' u patsientov s zabolevaniami gepatobiliarnoï sistemy [The effectiveness of the application of medicinal mineral water from the 'Omonkhona' source in the patients presenting with the diseases of the hepatobiliary system]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2019;96(1):22-29.

57. Mishchuk VG. Effect of mineral water on the immunological reactivity of chronic pancreatitis patients. *Vrach Delo* 1983; (3):34-8.
58. Khodykin AV, Volosevich NV, Volosevich GA, Tin VP. The effect of mineral water from the Goriachii Kliuch health resort on the exocrine function of the pancreas in chronic pancreatitis patients. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 1972; 37(2):160-3.
59. Fernandez-Gonzalez M, Fernandez-Lao C, Martin-Martin L et al. Therapeutic Benefits of Balneotherapy on Quality of Life of Patients with Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(24):13216.
60. Santos I, Cantista P, Vasconcelos C. Balneotherapy in rheumatoid arthritis-a systematic review. *Int J Biometeorol*. 2016;60(8):1287-301.
61. Verhagen AP, Bierma-Zeinstra SM, Boers M et al. Balneotherapy (or spa therapy) for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2015(4):CD000518.
62. Santos, I.; Cantista, P.; Vasconcelos, C.; Amado, J. Balneotherapy and rheumatoid arthritis: A randomized control trial. *Isr. Med. Assoc. J*. 2016, 18, 474–478.
63. Sukenik, S.; Buskila, D.; Neumann, L.; Kleiner-Baumgarten, A.; Zimlichman, S.; Horowitz, J. Sulphur bath and mud pack treatment for rheumatoid arthritis at the Dead Sea area. *Ann. Rheum. Dis*. 1990, 49, 99–102
64. Morer C, Roques CF, Françon A, Forestier R, Maraver F. The role of mineral elements and other chemical compounds used in balneology: data from double-blind randomized clinical trials. *Int J Biometeorol*. 2017;61(12):2159-2173.
65. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2020;141(9):e139-e596.
66. Kazi DS, Bibbins-Domingo K. Accurately Predicting Cardiovascular Risk-and Acting on It. *Ann Intern Med*. 2020;172(1):61-62.
67. Tubek S. Role of trace elements in primary arterial hypertension: is mineral water style or prophylaxis? *Biol Trace Elem Res*. 2006 Winter;114(1-3):1-5.
68. Santos A, Martins MJ, Guimarães JT, Severo M, Azevedo I. Sodium-rich carbonated natural mineral water ingestion and blood pressure. *Rev Port Cardiol*. 2010;29(2):159-72.
69. Arazi H, Asadi R, Taati B. Exercise training in thermo-mineral spring water has beneficial effects on hemodynamic and health-related factors in young-older hypertensive women: A randomized control trial. *J Women Aging*. 2020;32(3):279-291.
70. Rylander R, Arnaud MJ. Mineral water intake reduces blood pressure among subjects with low urinary magnesium and calcium levels. *BMC Public Health*. 2004;4:56.
71. Smirnova IN, Titskaya EV, Tonkoshkurova AV et al. Comprehensive medical rehabilitation using therapeutic physical factors including hydrokinesiotherapy in a pool with mineral water and its effect on circadian rhythms of arterial pressure and autonomic regulation in patients with arterial hypertension and with chronic psychoemotional stress. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2022;99(1):5-12. Russian.
72. Erceg-Rukavina T, Stefanovski M. Effects of sulphate-sulphide mineral water "mlječnica" in patients with hypertension. *Mater Sociomed*. 2014;26(6):364-5.
73. Nikiforova TI, Kniazeva TA. [Artificial silicious-carbon dioxide baths for the rehabilitation and secondary prophylaxis in the patients presenting with arterial hypertension associated with coronary heart disease]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2012;(5):11-5.

74. Costa-Vieira D, Monteiro R, Martins MJ. Metabolic Syndrome Features: Is There a Modulation Role by Mineral Water Consumption? A Review. *Nutrients*. 2019;11(5):1141.
75. Cribier B. Eaux thermales et thermalisme en dermatologie au XIX<sup>e</sup> siècle: Thermal water and hydrotherapy in XIX<sup>th</sup> century dermatology. *Ann Dermatol Venereol*. 2020;147(1S):1S5-1S13.
76. Khalilzadeh S, Shirbeigi L, Naghizadeh A, Mehriardestani M, Shamohammadi S, Tabarraei M. Use of mineral waters in the treatment of psoriasis: Perspectives of Persian and conventional medicine. *Dermatol Ther*. 2019;32(4):e12969.
77. Huang A, Seité S, Adar T. The use of balneotherapy in dermatology. *Clin Dermatol*. 2018;36(3):363-368.
78. Carbajo JM, Maraver F. Sulphurous Mineral Waters: New Applications for Health. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:8034084.
79. Ninković-Baroš Đuka, Gajanin Vesna S., Gajanin Radoslav B.a, Zrnić Bogdab. Komparativna analiza uspeha lečenja psorijaze standardnim terapijskim modalitetima i balneoterapijom. *Medicinski pregled*. 2014, vol. 67, br. 5-6, str. 154-160.
80. 6th Congress of Physiatrists in Serbia and Monte Negro with international participation held at the Zvezda Congressional Center in Vrnjacka Banja. *Med Pregl* 2006; 59 Suppl 1:2-77.
81. Pantelić NĐ, Jaćimović S, Štrbački J, Milovanović DB, Dojčinović BP, Kostić AŽ. Assessment of spa mineral water quality from Vrnjacka Banja, Serbia: geochemical, bacteriological, and health risk aspects. *Environ Monit Assess*. 2019;191(11):648.
82. Štrbački, J., Živanović, V., Ćuk Đurović, M. *et al.* Origin, diversity and geothermal potentiality of thermal and mineral waters in Vrnjacka Banja, Serbia. *Environ Earth Sci* 2020.79, 309.
83. Godić V, Radic M. Effect of mineral waters of Vrnjacka Banja on choleresis. *Srp Arh Celok Lek* 1957; 85(5):552-8.
84. Gasparov A. Analysis of 1700 histories of gastroduodenal ulcer; data of the military hospital in Vrnjacka Banja. *Vojnosanit Pregl* 1958;15(5):347-56.
85. Radić M, Godić V, Davidović L. Neposredni uticaj kupanja u ugljeno-kiseloj homeotermi Vrnjacke Banje na aciditet i kolicinu zeludacnog soka [The immediate effects of the carbon dioxide containing homeothermal baths of Vrnjacka Banja on the acidity and quantity of gastric juice]. *Med Arh*. 1966;20(1):21-9.
86. Petersmann A, Müller-Wieland D, Müller UA et al. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(S 01):S1-S7.
87. Sen S, Chakraborty R. Treatment and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Its Complication: Advanced Approaches. *Mini Rev Med Chem*. 2015;15(14):1132-3.
88. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR et al. on behalf of the American Diabetes Association. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*. 2023;46(Suppl 1):S140-S157.
89. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse – Dijabetes Melitus. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013.
90. Acharjee S, Ghosh B, Al-Dhubiab BE, Nair AB. Understanding type 1 diabetes: etiology and models. *Can J Diabetes*. 2013;37(4):269-276.

91. Varela-Calvino R, Sgarbi G, Arif S, Peakman M. T-Cell reactivity to the P2C nonstructural protein of a diabetogenic strain of coxsackievirus B4. *Virology*. 2000;274(1):56-64.
92. Desai S, Deshmukh A. Mapping of Type 1 Diabetes Mellitus. *Curr Diabetes Rev*. 2020;16(5):438-441.
93. Brunton S. Pathophysiology of Type 2 Diabetes: The Evolution of Our Understanding. *J Fam Pract*. 2016 Apr;65(4 Suppl):supp\_az\_0416.
94. Fletcher B, Gulanick M, Lamendola C. Risk factors for type 2 diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs*. 2002;16(2):17-23.
95. Javeed N, Matveyenko AV. Circadian Etiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiology (Bethesda)*. 2018;33(2):138-150.
96. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278-316.
97. Johns EC, Denison FC, Norman JE, Reynolds RM. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(11):743-754.
98. Vallon V, Verma S. Effects of SGLT2 Inhibitors on Kidney and Cardiovascular Function. *Annu Rev Physiol*. 2021;83:503-528.
99. Brown E, Heerspink HJL, Cuthbertson DJ, Wilding JPH. SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists: established and emerging indications. *Lancet*. 2021;398(10296):262-276.
100. Lende M, Rijhsinghani A. Gestational Diabetes: Overview with Emphasis on Medical Management. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(24):9573.
101. Incidencija i mortalitet od dijabetesa u Srbiji, 2016. Registar za dijabetes u Srbiji. Izveštaj br. 11. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut”; 2016.
102. Landgraf R, Aberle J, Birkenfeld AL et al. Therapy of Type 2 Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(S 01):S73-S92.
103. da Rocha RB, Silva CS, Cardoso VS. Self-Care in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev*. 2020;16(6):598-607.
104. Hostalek U, Campbell I. Metformin for diabetes prevention: update of the evidence base. *Curr Med Res Opin*. 2021;37(10):1705-1717.
105. Corcoran C, Jacobs TF. Metformin. 2022 May 2. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–.
106. Wang YW, He SJ, Feng X et al. Metformin: a review of its potential indications. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:2421-2429.
107. Lv W, Wang X, Xu Q, Lu W. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides. *Curr Top Med Chem*. 2020;20(1):37-56.
108. Fernandez CJ, Raveendran AV, Htwe N. Efficacy and Cardiovascular Safety of Sulfonylureas. *Curr Drug Saf*. 2021;16(2):142-153.
109. Deacon CF, Lebovitz HE. Comparative review of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and sulphonylureas. *Diabetes Obes Metab*. 2016;18(4):333-47.
110. Milner Z, Akhondi H. Repaglinide. 2022 Jul 4. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–.

111. Johansen OE, Birkeland KI. Defining the role of repaglinide in the management of type 2 diabetes mellitus: a review. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2007;7(5):319-35.
112. Karásek D. Pioglitazone. *Vnitr Lek*. 2020 Spring;66(2):121-125.
113. DeFronzo RA, Inzucchi S, Abdul-Ghani M, Nissen SE. Pioglitazone: The forgotten, cost-effective cardioprotective drug for type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2019;16(2):133-143.
114. Huang J, Liu X, Wei Y et al. Emerging Role of Dipeptidyl Peptidase-4 in Autoimmune Disease. *Front Immunol*. 2022;13:830863.
115. Yang Q, Fu B, Luo D et al. The Multiple Biological Functions of Dipeptidyl Peptidase-4 in Bone Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:856954.
116. Vallon V, Verma S. Effects of SGLT2 Inhibitors on Kidney and Cardiovascular Function. *Annu Rev Physiol*. 2021;83:503-528.
117. Pawlos A, Broncel M, Woźniak E, Gorzelak-Pabiś P. Neuroprotective Effect of SGLT2 Inhibitors. *Molecules*. 2021;26(23):7213.
118. Verma S, McMurray JJV. SGLT2 inhibitors and mechanisms of cardiovascular benefit: a state-of-the-art review. *Diabetologia*. 2018;61(10):2108-2117.
119. Toyama T, Neuen BL, Jun M et al. Effect of SGLT2 inhibitors on cardiovascular, renal and safety outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(5):1237-1250.
120. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes - state-of-the-art. *Mol Metab*. 2021;46:101102.
121. Li S, Vandvik PO, Lytvyn L et al. SGLT-2 inhibitors or GLP-1 receptor agonists for adults with type 2 diabetes: a clinical practice guideline. *BMJ*. 2021;373:n1091.
122. Baggio LL, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptor co-agonists for treating metabolic disease. *Mol Metab*. 2021;46:101090.
123. Rachdaoui N. Insulin: The Friend and the Foe in the Development of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2020;21(5):1770.
124. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2020;113(12):2019-2040.
125. Hou K, Wu ZX, Chen XY et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):135.
126. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017;474(11):1823-1836.
127. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:625913.
128. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010;5(2):e9085.
129. Iatcu CO, Steen A, Covasa M. Gut Microbiota and Complications of Type-2 Diabetes. *Nutrients*. 2021 Dec 30;14(1):166.
130. Mahmoodpoor, F.; Rahbar Saadat, Y.; Barzegari, A.; Ardalan, M.; Zununi Vahed, S. The impact of gut microbiota on kidney function and pathogenesis. *Biomed. Pharm*. 2017, 93, 412–419.
131. Das, T.; Jayasudha, R.; Chakravarthy, S et al. Alterations in the gut bacterial microbiome in people with type 2 diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *Sci. Rep*. 2021, 11, 2738.

132. Zeng, X.; Gao, X.; Peng, Y et al. Higher Risk of Stroke Is Correlated with Increased Opportunistic Pathogen Load and Reduced Levels of Butyrate-Producing Bacteria in the Gut. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019, 9, 4.
133. Yamashiro, K.; Tanaka, R.; Urabe, T.; Ueno, Y.; Yamashiro, Y.; Nomoto, K.; Takahashi, T.; Tsuji, H.; Asahara, T.; Hattori, N. Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke. *PLoS ONE* 2017, 12, e0171521.
134. Li, N.; Wang, X.; Sun, C et al. Change of intestinal microbiota in cerebral ischemic stroke patients. *BMC Microbiol.* 2019, 19, 191.
135. Naumann J, Biehler D, Lüty T, Sadaghiani C. Prevention and Therapy of Type 2 Diabetes-What Is the Potential of Daily Water Intake and Its Mineral Nutrients? *Nutrients.* 2017;9(8):914.
136. Murakami S, Goto Y, Ito K et al. The Consumption of Bicarbonate-Rich Mineral Water Improves Glycemic Control. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:824395.
137. Narciso L, Martinelli A, Torriani F et al. Natural Mineral Waters and Metabolic Syndrome: Insights From Obese Male and Female C57BL/6 Mice on Caloric Restriction. *Front Nutr.* 2022;9:886078.
138. Y. Ohtsuka, J. Nakaya, K. Nishikawa, N. Takahashi. Effect of hot spring water drinking on glucose metabolism. *The Journal of the Japanese Society of Balneology, Climatology and Physical Medicine.* 2003;66(4):227–230.
139. Toxqui L, Vaquero MP. An Intervention with Mineral Water Decreases Cardiometabolic Risk Biomarkers. A Crossover, Randomised, Controlled Trial with Two Mineral Waters in Moderately Hypercholesterolaemic Adults. *Nutrients.* 2016;8(7):400.
140. Schoppen S, Pérez-Granados AM, Carbajal A, Sarriá B, Sánchez-Muniz FJ, Gómez-Gerique JA, Pilar Vaquero M. Sodium bicarbonated mineral water decreases postprandial lipaemia in postmenopausal women compared to a low mineral water. *Br J Nutr* 2005; 94: 582-587.
141. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* 2007; 39:175-191.
142. Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management. *Nurs Stand.* 2022;37(1):61-66.
143. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, Ostolaza H, Martín C. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6275.
144. Chamberlain JJ, Doyle-Delgado K, Peterson L, Skolnik N. Diabetes Technology: Review of the 2019 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. *Ann Intern Med.* 2019; 171(6):415-420.
145. da Rocha RB, Silva CS, Cardoso VS. Self-Care in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev.* 2020;16(6):598-607.
146. Janbozorgi N, Allipour R, Djafarian K, Shab-Bidar S, Badeli M, Safabakhsh M. Water intake and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Diabetes Metab Syndr.* 2021;15(4):102156.

147. Zheng M, Yu H, Xue Y, Yang T, Tu Q, Xiong K, Deng D, Lu L, Huang N. The protective effect of hydrogen-rich water on rats with type 2 diabetes mellitus. *Mol Cell Biochem.* 2021 Aug;476(8):3089-3097.
148. Barnich N, Rodrigues M, Sauvanet P, Chevarin C, Denis S, Le Goff O, Faure-Imbert D, Hanh T, Roques CF, Chassaing B, Alric M. Beneficial Effects of Natural Mineral Waters on Intestinal Inflammation and the Mucosa-Associated Microbiota. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4336.
149. Ziemska J, Szynal T, Mazańska M, Solecka J. Natural medicinal resources and their therapeutic applications. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2019;70(4):407-413.
150. Yuan D, Yu ZX, Wang W, Chen Y. Head-out immersion in natural thermal mineral water for the management of hypertension: a review of randomized controlled trials. *Int J Biometeorol.* 2019; 63(12): 1707-1718.
151. Costantino M, Giampaolo C, Filippelli A. Effects of drinking spa therapy on oxidative stress. *Clin Ter* 2012; 163: e13-17.
152. Muñoz-Garach A, Diaz-Perdigones C, Tinahones FJ. Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr.* 2016 Dec;63(10):560-568.
153. Rodriguez-Valera F, Martin-Cuadrado AB, Rodriguez-Brito B, Pasic L, Thingstad TF, Rohwer F, et al. Explaining microbial population genomics through phage predation. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:828-36.
154. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science.* 2006;312:1355-9.
155. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:11070-5.
156. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell.* 2006;124:837-48.
157. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:11971-5.
158. Jeffery IB, Lynch DB, O'Toole PW. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons. *ISME J.* 2016;10:170-82.
159. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444:1022-3.
160. Emerson D, Wilson W. Giving microbial diversity a home. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:758.
161. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiota and metabolic changes during pregnancy. *Cell.* 2012;150:470-80.
162. Banks WA. A vagina monologue: mom's stress, bugs, and baby's brain. *Endocrinology.* 2015;156:3066-8.
163. Palau-Rodriguez M, Tulipani S, Queipo-Ortuno MI, Urpi-Sarda M, Tinahones FJ, Andres-Lacueva C. Metabolomic insight into the intricate gut microbial host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes. *Front Microbiol.* 2015;6:1151.
164. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut.* 2014;63:1513-21.

165. Serino M, Fernández-Real JM, García-Fuentes E, Queipo-Ortuno M, Moreno-Navarrete JM, Sánchez A, et al. The gut microbiota profile is associated with insulin action in humans. *Acta Diabetol.* 2013;50:753-61.
166. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher FM, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E740-7.
167. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:1286-92.
168. Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des.* 2009;15:1546-58.
169. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomma V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care.* 2011;34:392-7.
170. Zhu H, Huang Q, Xu H, Niu L, Zhou J-N. Antidepressant-like effects of sodium butyrate in combination with estrogen in rat forced swimming test: Involvement of 5-HT(1A) receptors. *Behav Brain Res.* 2009;196:200-6.
171. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J.* 2016 May;92(1087):286-300.
172. Johnson AM, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell* 2013;152:673–84.
173. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, et al. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:392–7.
174. Lassenius MI, Pietiläinen KH, Kaartinen K, et al. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes Care* 2011;34:1809–15.
175. Serino M, Luche E, Gres S, et al. Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota. *Gut* 2012;61:543–53.
176. Amar J, Chabo C, Waget A, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med* 2011;3:559–72.
177. Amar J, Serino M, Lange C, et al. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia* 2011;54:3055–61.
178. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490:55–60.
179. Karlsson CL, Onnerfält J, Xu J, et al. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:2257–61.
180. Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The gut as a source of inflammation in chronic kidney disease. *Nephron.* 2015;130:92-8.
181. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, Desantis TZ, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int.* 2013;83:308-15.
182. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415-45.
183. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:11070-5.



184. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germfree mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:979-84.
185. Ellekilde M, Selfjord E, Larsen CS, Jakesevic M, Rune I, Tranberg B, et al. Transfer of gut microbiota from lean and obese mice to antibiotic-treated mice. *Sci Rep*. 2014;4:5922.
186. Lau WL, Tran T, Rhee CM, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. Diabetes and the Gut Microbiome. *Semin Nephrol*. 2021 Mar;41(2):104-113.
187. Sofi MH, Gudi R, Karumuthil-Meলেখil S, Perez N, Johnson BM, Vasu C. pH of drinking water influences the composition of gut microbiome and type 1 diabetes incidence. *Diabetes*. 2014 Feb;63(2):632-44.
188. Janbozorgi N, Allipour R, Djafarian K, Shab-Bidar S, Badeli M, Safabakhsh M. Water intake and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Diabetes Metab Syndr*. 2021 Jul-Aug;15(4):102156.
189. Wood LN, Markowitz MA, Parameshwar PS, Hannemann AJ, Ogawa SL, Anger JT, et al. Is It Safe to Reduce Water Intake in the Overactive Bladder Population? A Systematic Review. *The Journal of urology*. 2018.
190. Daniels MC, Popkin BM. Impact of water intake on energy intake and weight status: a systematic review. *Nutrition reviews*. 2010;68(9):505-21.
191. Tate DF, Turner-McGrievy G, Lyons E, Stevens J, Erickson K, Polzien K, Diamond M, Wang X, Popkin B. Replacing caloric beverages with water or diet beverages for weight loss in adults: main results of the Choose Healthy Options Consciously Everyday (CHOICE) randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2012 Mar;95(3):555-63.
192. Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, Kitawaki J, Imai S, Nakano K, Ohta M, Adachi T, Obayashi H, Yoshikawa T. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutr Res*. 2008 Mar;28(3):137-43.
193. Jang S, Cheon C, Jang BH, Park S, Oh SM, Shin YC, Ko SG. Relationship Between Water Intake and Metabolic/Heart Diseases: Based on Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Osong Public Health Res Perspect*. 2016 Oct;7(5):289-295.
194. Rasic-Milutinovic Z, Perunicic-Pekovic G, Jovanovic D, Gluvic Z, Cankovic-Kadijevic M. Association of blood pressure and metabolic syndrome components with magnesium levels in drinking water in some Serbian municipalities. *Journal of water and health*. 2012;10(1):161-9.
195. Gianfredi V, Bragazzi NL, Nucci D, Villarini M, Moretti M. Cardiovascular diseases and hard drinking waters: implications from a systematic review with meta-analysis of case-control studies. *J Water Health*. 2017 Feb;15(1):31-40.
196. Nettleton JA, Lutsey PL, Wang Y, Lima JA, Michos ED, Jacobs DR Jr. Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care*. 2009 Apr;32(4):688-94.
197. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*. 2007;116(5):480-8.

198. Tsai C-J, Leitzmann MF, Willett WC, Giovannucci EL. Glycemic load, glycemic index, and carbohydrate intake in relation to risk of cholecystectomy in women. *Gastroenterology*. 2005;129(1):105-12.
199. Uribarri J, Stirban A, Sander D, Cai W, Negrean M, Buenting CE, et al. Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes care*. 2007;30(10):2579-82.
200. Carroll HA, Davis MG, Papadaki A. Higher plain water intake is associated with lower type 2 diabetes risk: a cross-sectional study in humans. *Nutr Res*. 2015 Oct;35(10):865-872.
201. Schoppen S, Pérez-Granados AM, Carbajal A, Oubiña P, Sánchez-Muniz FJ, Gómez-Gerique JA, Vaquero MP. A sodium-rich carbonated mineral water reduces cardiovascular risk in postmenopausal women. *J Nutr*. 2004 May;134(5):1058-63.
202. Toxqui L, Vaquero MP. An Intervention with Mineral Water Decreases Cardiometabolic Risk Biomarkers. A Crossover, Randomised, Controlled Trial with Two Mineral Waters in Moderately Hypercholesterolaemic Adults. *Nutrients*. 2016 Jun 28;8(7):400.
203. Pérez-Granados AM, Navas-Carretero S, Schoppen S, Vaquero MP. Reduction in cardiovascular risk by sodium-bicarbonated mineral water in moderately hypercholesterolemic young adults. *J Nutr Biochem*. 2010 Oct;21(10):948-53.
204. Schorr U, Distler A, Sharma AM. Effect of sodium chloride- and sodium bicarbonate-rich mineral water on blood pressure and metabolic parameters in elderly normotensive individuals: A randomized double-blind crossover trial. *J Hypertens*. 1996, 14, 131–135.
205. Patel SM, Cobb P, Saydah S, Zhang X, de Jesus JM, Cogswell ME. Dietary sodium reduction does not affect circulating glucose concentrations in fasting children or adults: findings from a systematic review and meta-analysis. *J Nutr*. 2015 Mar;145(3):505-13.
206. Murakami S, Goto Y, Ito K, Hayasaka S, Kurihara S, Soga T, Tomita M, Fukuda S. The Consumption of Bicarbonate-Rich Mineral Water Improves Glycemic Control. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:824395.
207. Naumann J, Biehler D, Lüty T, Sadaghiani C. Prevention and Therapy of Type 2 Diabetes-What Is the Potential of Daily Water Intake and Its Mineral Nutrients? *Nutrients*. 2017 Aug 22;9(8):914.
208. Pereira CD, Severo M, Araújo JR, Guimarães JT, Pestana D, Santos A, Ferreira R, Ascensão A, Magalhães J, Azevedo I, Monteiro R, Martins MJ. Relevance of a Hypersaline Sodium-Rich Naturally Sparkling Mineral Water to the Protection against Metabolic Syndrome Induction in Fructose-Fed Sprague-Dawley Rats: A Biochemical, Metabolic, and Redox Approach. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:384583.
209. Das UN. Renin-angiotensin-aldosterone system in insulin resistance and metabolic syndrome. *J. Transl. Intern. Med*. 2016, 4, 66–72.
210. Guclu A, Erdur FM, Turkmen K. The emerging role of sirtuin 1 in cellular metabolism, diabetes mellitus, diabetic kidney disease and hypertension. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 2016, 124, 131–139.
211. Rodgers JT, Lerin C, Haas W, Gygi SP, Spiegelman BM, Puigserver P. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature*. 2005 Mar 3;434(7029):113-8.

212. Pereira CD, Severo M, Neves D, Ascensão A, Magalhães J, Guimarães JT, Monteiro R, Martins MJ. Natural mineral-rich water ingestion improves hepatic and fat glucocorticoid-signaling and increases sirtuin 1 in an animal model of metabolic syndrome. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015 Feb;21(2):149-57.
213. Pereira CD, Passos E, Severo M, Vitó I, Wen X, Carneiro F, Gomes P, Monteiro R, Martins MJ. Ingestion of a natural mineral-rich water in an animal model of metabolic syndrome: effects in insulin signalling and endoplasmic reticulum stress. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016 May 1;26(2):135-50.
214. Bhatti JS, Sehrawat A, Mishra J, Sidhu IS, Navik U, Khullar N, Kumar S, Bhatti GK, Reddy PH. Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radic Biol Med.* 2022 May 1;184:114-134.
215. Papachristoforou E, Lambadiari V, Maratou E, Makrilakis K. Association of Glycemic Indices (Hyperglycemia, Glucose Variability, and Hypoglycemia) with Oxidative Stress and Diabetic Complications. *J Diabetes Res.* 2020 Oct 12;2020:7489795.
216. Liu WY, Tzeng TF, Liu IM. Zerumbone, a Bioactive Sesquiterpene, Ameliorates Diabetes-Induced Retinal Microvascular Damage through Inhibition of Phospho-p38 Mitogen-Activated Protein Kinase and Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathways. *Molecules.* 2016 Dec 11;21(12):1708.
217. Yan LJ. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: Role of the polyol pathway. *Animal Model Exp Med.* 2018 Mar;1(1):7-13.
218. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation.* 2006 Aug 8;114(6):597-605.
219. Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res.* 2010 Apr 30;106(8):1319-31.
220. Schleicher ED, Weigert C. Role of the hexosamine biosynthetic pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl.* 2000 Sep;77:S13-8.
221. Weir GC, Laybutt DR, Kaneto H, Bonner-Weir S, Sharma A. Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes. *Diabetes.* 2001 Feb;50 Suppl 1:S154-9.
222. Stuart CA, Howell ME, Cartwright BM, McCurry MP, Lee ML, Ramsey MW, Stone MH. Insulin resistance and muscle insulin receptor substrate-1 serine hyperphosphorylation. *Physiol Rep.* 2014 Dec 3;2(12):e12236.
223. Ma J, Nakagawa Y, Kojima I, Shibata H. Prolonged insulin stimulation down-regulates GLUT4 through oxidative stress-mediated retromer inhibition by a protein kinase CK2-dependent mechanism in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 2014 Jan 3;289(1):133-42.
224. Holley CT, Duffy CM, Butterick TA, Long EK, Lindsey ME, Cabrera JA, Ward HB, McFalls EO, Kelly RF. Expression of uncoupling protein-2 remains increased within hibernating myocardium despite successful coronary artery bypass grafting at 4 wk post-revascularization. *J Surg Res.* 2015 Jan;193(1):15-21.
225. Komatsu M, Takei M, Ishii H, Sato Y. Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. *J Diabetes Investig.* 2013 Nov 27;4(6):511-6.

226. Pi J, Zhang Q, Fu J, Woods CG, Hou Y, Corkey BE, Collins S, Andersen ME. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010 Apr 1;244(1):77-83.
227. Sharma S, Bajgai J, Antonio JM, Fadriquela A, Trinh TT, Rahman MH, Vira K, Sofian A-N, Kim C-S, Lee K-J. Anti-Hyperglycemic Effect of Magnesium-Enhanced Alkaline-Reduced Water on High Glucose-Induced Oxidative Stress in Renal Tubular Epithelial Cells. *Processes.* 2022; 10(5):919.
228. Costantino M, Conti V, Corbi G, Filippelli A. Hydropinotherapy with Sulphurous Mineral Water as Complementary Treatment to Improve Glucose Metabolism, Oxidative Status, and Quality of Life. *Antioxidants (Basel).* 2021 Nov 5;10(11):1773.

## БИОГРАФИЈА

Никола Јовичић, магистар медицинских наука, рођен је у Београду 07.12.1977. Основну и средњу школу завршио је у Крагујевцу и за обе је носилац Вукове дипломе.

Медицински факултет у Крагујевцу уписао је школске 1996/97., а студије завршио 2003. године. На другој години је био демонстратор на предмету Медицинска физиологија и добио похвалницу као успешан студент. Просечна оцена била је 8,66.

По завршетку студија одслужио је војни рок 2004. године у ШРО санитарска служба. Радио је у Гарнизонској амбуланти у Крагујевцу три године као лекар опште праксе са чином поручника.

Последипломске магистарске студије уписао је школске 2003/04. године на смеру за Клиничку и експерименталну фармакологију, Медицинског факултета у Крагујевцу. Магистарски рад одбранио је 2007. са темом „Фармакоекономски аспекти употребе латанопроста у поређењу са тимололом у лечењу примарног глаукома отвореног угла“.

Специјализирао је Интерну медицину на Војномедицинској академији у Београду.

Сада ради на Институту за ваздухопловну медицину (ВМИ) на Војномедицинској академији на месту начелника Кабинета за унутрашње болести.

## БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Nikola Riznić**, Dragan R. Milovanović, Slavica Djukić Dejanović, Slobodan M. Janković, Dragan Ravanić, Dragana Ignjatović Ristić, Dušan Petrović, Mirjana Jovanović, Violeta Mladenović, Dejana Ružić Zečević, Vladimir Janjić. Effects of antidepressants on serum concentrations of bone metabolism markers and major electrolytes in patients from routine psychiatric practice. *Vojnosanit Pregl* 2017; 74(7): 615–624.
2. Petrovic NM, Milovanovic DR, Ignjatovic Ristic D, **Riznic N**, Ristic B, Stepanovic Z. Factors associated with severe postoperative pain in patients with total hip arthroplasty. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2014;48(6):615-22.
3. **Jovicic N**, Andjic M, Novakovic J, Jeremic N, Zivkovic V, Srejovic I, Stanojevic D, Ristic P, Bolevich S, Jakovljevic V. The effects of low mineral content water on microbiota, metabolic, and oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. *Heliyon.* 2023 Jul 26;9(8):e18725.

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Утицај минералне воде Снежник на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 01.09.2023. године,

  
\_\_\_\_\_  
потпис аутора

**Образац 2**

***ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ***

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Утицај минералне воде Снежник на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2

истоветне.

У Крагујевцу, 01.09.2023. године,



\_\_\_\_\_  
потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Никола Јовичић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Утицај минералне воде Снежник на микробиоту, метаболичке, биохемијске и антропометријске параметре код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.



припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>

У Крагујевцу, 01.09.2023. године

  
\_\_\_\_\_

потпис аутора

---

<sup>2</sup> Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>