



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Дијана Г. Лаловић

**Испитивање ефеката употребе минералне  
воде са изворишта "Снежник-1/79" на  
поремећаје различитих органских система  
код пацова**

докторска дисертација

Крагујевац, 2021. године



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU  
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Dijana G. Lalović

**Ispitivanje efekata upotrebe mineralne vode sa  
izvorišta "Snežnik-1/79" na poremećaje  
različitih organskih sistema kod pacova**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2021.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Dijana G. Lalovic

**Estimation of the effects of mineral water from  
the spring "Snežnik-1/79" on disorders of  
various organ systems in rats**

doctoral dissertation

Kragujevac, 2021.

## ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>Аутор</i>
Име и презиме: Дијана Лаловић
Датум и место рођења: 05.04.1983. године, Подгорица, Република Црна Гора
Садашње запослење: Наставник здравствене неге у Медицинској школи „Надежда Петровић“, Земун
<i>Докторска дисертација</i>
Наслов: Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на поремећаје различитих органских система код пацова
Број страница: 112
Број слика: 10 слика, 6 табела, 56 графика
Број библиографских података: 227
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац
Научна област (УДК): медицина; превентивна медицина
Ментор: Доц. др Тамара Николић Турнић
<i>Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 05.03.2020.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: бр. IV-03-708/11 од 08.10.2020.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;</li><li>2. Доц. др Марија Секулић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена и екологија, члан;</li><li>3. Проф. др Ненад Стојиљковић, ванредни 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.</li><li>2.</li><li>3.</li></ol>
Датум одбране дисертације:

## IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

<i>Autor</i>
Ime i prezime: Dijana Lalović
Datum i mesto rođenja: 05.04.1983. godine, Podgorica, Republika Crna Gora
Sadašnje zaposlenje: Nastavnik zdravstvene nege u Medicinskoj školi „Nadežda Petrović“, Zemun
<i>Doktorska disertacija</i>
Naslov: Ispitivanje efekata upotrebe mineralne vode sa izvorišta "Snežnik-1/79" na poremećaje različitih organskih sistema kod pacova
Broj stranica: 112
Broj slika: 10 slika, 6 tabela, 56 grafika
Broj bibliografskih podataka: 227
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac
Naučna oblast (UDK): medicina; preventivna medicina
Mentor: Doc. dr Tamara Nikolić Turnić
<i>Ocena i odbrana</i>
Datum prijave teme: 05.03.2020.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: br. IV-03-708/11 od 08.10.2020.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Prof. dr Vladimir Živković, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;</li><li>2. Doc. dr Marija Sekulić, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Higijena i ekologija, član;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljković, vanredni 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.</li><li>2.</li><li>3.</li></ol>
Datum odbrane disertacije:

## DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

<i>Author</i>
Name and surname: Dijana Lalovic
Date and place of birth: 05.04.1983., Podgorica, Republic of Montenegro
Current employment: Teacher of health care at the Medical School "Nadezda Petrovic", Zemun
<i>Doctoral Dissertation</i>
Title: Estimation of the effects of mineral water from the spring "Snežnik-1/79" on disorders of various organ systems in rats
No. of pages: 112
No. of images: 10 images, 6 tables, 56 graphs
No. of bibliographic data: 229
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine; preventive medicine
Mentor: Assist. prof. Tamara Nikolic Turnic
<i>Grade and Dissertation Defense</i>
Topic Application Date: 05.03.2020.
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic : no IV-03-708/11 from 08.10.2020.
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, Associate professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;</li><li>2. Prof. dr Marija Sekulic, Assistant Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Hygiene and ecology, member;</li><li>3. Prof. dr Nenad Stojiljkovic, Associate 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.</li><li>2.</li><li>3.</li></ol>
Date of Dissertation Defense:

## **Сажетак**

**Увод:** Коришћење минералних вода у лековите сврхе је већим делом засновано на теоријским претпоставкама (које узимају у обзир однос њиховог минералног састава и патофизиолошког субстрата у оквиру неке болести) а много мање на релевантним подацима базичних и клиничких истраживања. Већина података који указују да одређени типови ових вода могу ублажити прогресију различитих болести па чак бити повезане и са потпуном ремисијом тегоба долазе из неакадемских и научно неутемељених извора. Осим тога, механизми путем којих се остварују ова позитивна дејства су готово непознати.

**Циљ:** Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на морфолошке и функционалне промене кардиоваскуларног, гастроинтестиналног, хепатобилијарног и уринарног система код пацова користећи одговарајуће моделе болести ових органских система.

**Метод:** Истраживање је обухватило 112 пацова мушког пола (Wistar albino сој, телесне масе  $250 \pm 20$  g, старости 8 недеља) који су били сврстани у групе према типу патофизиолошког поремећаја одређеног органског система (дијабетес мелитус тип 2, гастритис, улцерозни колитис, алкохолни хепатитис и панкреатитис, и гломерулонефритис). У оквиру сваког од ових стања пацови су третирани обичном или Снежник водом током четири недеље. Након експерименталног периода и жртвовања животиња одређивани су параметри срчане функције, биомаркери оксидационог стреса и спроведене су патохистолошке анализе испитиваних органа.

**Резултати:** Добијени резултати показују да су једини манифестни протективни ефекти Снежник воде евидентирани у моделу експерименталног дијабетеса и то како на хипергликемију, тако и на оксидациони стрес (као софистицирани маркер потенцијалног оштећења) и на функцију миокарда пацова. У осталим моделима болести ефекти ове воде нису били статистички потврђени. У том смислу, сматрамо да би дужа експозиција овој минералној води након индукције свих патофизиолошких стања показала значајније ефекте, што може бити предмет даљих истраживања.

**Кључне речи:** Снежник, минерална вода, оксидациони стрес, пацов

## **Abstract**

**Introduction:** The use of mineral waters for medical purposes is largely based on theoretical assumptions (which take into account the relationship between their mineral composition and pathophysiological substrate within a disease) and much less on relevant data from basic and clinical research. Most of the data that indicate that certain types of these waters can alleviate the progression of various diseases and even be associated with complete remission come from non-academic and scientifically unfounded sources. In addition, the mechanisms by which these positive effects are realized are almost unknown.

**Objective:** Investigation of the effects of mineral water from the spring "Snežnik-1/79" on morphological and functional changes of the cardiovascular, gastrointestinal, hepatobiliary and urinary system in rats by using appropriate models of diseases of these organ systems.

**Methods:** The study included 112 male rats (Wistar albino strain, body weight  $250 \pm 20$  g, age 8 weeks) who were classified into groups according to the type of pathophysiological disorder of a particular organ system (diabetes mellitus type 2, gastritis, ulcerative colitis, alcoholic hepatitis and pancreatitis, and glomerulonephritis). Within each of these conditions, rats were treated with plain or Snežnik water for four weeks. After the experimental period and sacrificing of animals, the parameters of cardiac function, biomarkers of oxidative stress were determined and pathohistological analyzes of the examined organs were performed.

**Results:** The obtained results show that the only manifest protective effects of Snežnik water were recorded in the model of experimental diabetes, both on hyperglycemia and oxidative stress (as a sophisticated marker of potential damage) and on rat myocardial function. In other disease models, the effects of this water were not statistically confirmed. In that sense, we believe that longer exposure to this mineral water after induction of all pathophysiological conditions would show more significant effects, which may be the subject of further research.

**Key words:** Snežnik, mineral water, oxidative stress, rat



## САДРЖАЈ

I	УВОД.....	11
1.	Улога воде у одржавању хомеостазе организма.....	12
2.1.	Важност хидратације у људском организму – дехидрација и рехидрација.....	16
2.	Значај минералних вода у очувању здравља.....	17
2.1.	Геолошки настанак и поделе минералних вода.....	18
2.2.	Нормативи, стандарди, састав и законска регулатива за квалитет природно минералних вода.....	23
3.	Природне минералне воде-општи здравствени значај (превентивна и терапијска својства).....	27
4.	Место минералних вода у терапијском алгоритму дијабетес мелитуса.....	31
5.	Место минералних вода у терапијском алгоритму запаљенских процеса гастроинтестиналног тракта.....	32
6.	Место минералних вода у терапијском алгоритму кардиоваскуларних обољења.....	33
7.	Место минералних вода у терапијском алгоритму реуматских обољења.....	35
8.	Опште одлике и терапијски потенцијал са изворишта „Снежник-1/79“.....	35
8.1.	Опште карактеристике и терапијски потенцијал лековитих вода Врњачке бање.....	35
8.2.	Извор Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања).....	37
8.2.1.	Физичко – хемијске особине воде са извора Снежник.....	37
8.2.2.	Бактериолошка анализа воде са извора Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања).....	39
8.2.3.	Терапијски потенцијал минералних вода са изворишта Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања).....	39
II	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	41
2.1.	Циљеви истраживања.....	42
2.2.	Хипотезе истраживања.....	43
III	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	44
3.1.	Врста студије.....	45
3.2.	Популација која се истражује.....	45
3.3.	Узорковање.....	45
3.4.	Експериментални протоколи.....	48
3.5.	Снага студије и величина узорка.....	49
3.6.	Статистичка анализа резултата.....	49

IV	РЕЗУЛТАТИ .....	53
4.1.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на функцију миокарда и оксидациони стрес пацова са изазваним дијабетес мелитусом типа 2 .....	54
4.2.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене желуца пацова .....	66
4.3.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене колона пацова .....	71
4.4.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене јетре пацова .....	76
4.5.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене бубрега пацова .....	82
4.6.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене панкреаса пацова .....	87
V	ДИСКУСИЈА .....	93
5.1.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на функцију миокарда и оксидациони стрес пацова са изазваним дијабетес мелитусом типа 2 .....	95
5.2.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене желуца пацова .....	98
5.3.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене колона пацова .....	99
5.4.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене јетре пацова .....	100
5.5.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене бубрега пацова .....	102
5.6.	Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене панкреаса пацова .....	103
VI	ЗАКЉУЧАК .....	106
VII	ЛИТЕРАТУРА .....	108

# I УВОД

## УВОД

*„Вода је основни принцип и узор свега што постоји, из које је све настало и у коју се све враћа. Она је бесконачна, вечна материја која се креће, згушњава и разређује и тако настају све појаве. Где нема воде - ту нема живота. То је прва потреба човека, коју он мора трајно да обезбеди, пре него што почне да гради своје станиште.“*

*Талес из Милета, грчки математичар и филозоф*

Вода представља најважнију природну вредност и ничим замењив ресурс који је неопходан за формирање и одржање живота на планети Земљи. Чини отприлике 60 - 70% масе људског тела и есенцијални је медијум за одвијање свих биохемијских и физиолошких процеса који су од виталног значаја за функционисање ћелија, ткива, органа и организма у целини (1). Телесна вода је од суштинског значаја за варење, апсорпцију, транспорт и излучивање биомолекула, као и за регулацију телесне температуре. Редукција садржаја телесне воде је у зависности од њеног степена повезана са различитим поремећајима који могу захватити скоро све органске системе док озбиљна дехидрација уколико се не третира неизоставно води у смрт (1-3).

## 1. УЛОГА ВОДЕ У ОДРЖАВАЊУ ХОМЕОСТАЗЕ ОРГАНИЗМА

Вода је једна од најзаступљенијих супстанци у живом свету. Она је основ живота и средина у којој почиње живот, са великим значајем за људски организам, екосистем и планету као целину. Функционисање организма зависе од квалитета, количине и стања воде у организму. Вода у организму човека односно телесна течност се може поделити на два функционална дела: интрацелуларну тј. унутарћелијску и екстрацелуларну тј. ванћелијску течност. Екстрацелуларна течност даље се дели на интерстицијумску течност и крвну плазму. Такође, постоји још један веома мали одељак течности (1-2 l) који обухвата цереброспиналну течност и течност у перитонеалном, перикардном, синовијалном, интраокуларном простору и назива се трансцелуларна течност. Представља специјализовани тип екстрацелуларне течности, чији се састав може знатно разликовати од састава интерстицијумске течности и крвне плазме (4).

Екстрацелуларна течност чини приближно 1/3 укупне запремине воде у организму, тј 20 % телесне масе. Интерстицијумска течност чини око три четвртине екстрацелуларне течности тј. 15% телесне масе, док плазма једну четвртину екстрацелуларне течности тј. 5% телесне масе (1). Екстрацелуларна течност се константно креће по телу и транспортује кроз све делове организма у две фазе, при чему прва фаза обухвата кретање крви кроз тело у крвним судовима, док друга кретање течности између крвних капиlara и ћелија. Задужена је за снабдевање ћелије хранљивим и осталим супстанцама потребним за правилно функционисање ћелије. При протоку крви кроз капиларе непрестано се врши размена екстрацелуларне течности између интерстицијумске течности која испуњава интрацелуларне просторе и крвне плазме, кроз поре на капиларној мембрани. Поре су пропустљиве за скоре све растворене супстанце екстрацелуларне течности, сем за протеине, тиме

интерстицијумска течност и плазма имају готово исти састав изузев протеина, чија је концентрација у плазми већа. Такође, екстрацелуларна течност поседује велике количине јона натријума, бикарбоната, хлорида, хранљивих материја (кисеоник, глукоза, масне киселине, аминокиселине), угљен – диоксид (транспортује се од ћелија до плућа), као и друге ћелијске отпадне производе који се до бубрега транспортују и излучују путем мокраће (4).

За разлику од екстрацелуларне течности, удео воде која се налази у интрацелуларном простору људског организма износи приближно три четвртине тј. 40% телесне масе (1). По саставу, интрацелуларна течност се знатно разликује од екстрацелуларне течности. Поседује веома малу количину натријумових и хлоридних јона, док јона калцијума скоро и да не поседује. Наспрам наведеног, интрацелуларна течност садржи велику количину калијумових и фосфатних јона и умерену количину сулфатних и магнезијумових јона. Такође, ћелије поседују и велике количине протеина, чија је концентрација четири пута већа за разлику од плазме (4) (Слика 1).

### Екстрацелуларна течност

**20 % телесне масе**

**14.0 l**



Порекло хранљивих супстанци у екстрацелуларној течности потиче из респираторног, гастроинтестиналног тракта, јетре и других органа који поседују могућност примарног обављања метаболичких функција и мишићно-скелетног система. Велики део крви који пролази кроз тело, такође пролази и кроз плућа, преузимајући кисеоник из алвеола и на тај начин обезбеђујући кисеоник неопходан ћелијама организма. Са друге стране велики део крви пролази и кроз зидове гастроинтестиналног тракта, абсорбујући различите састојке унете путем хране, (угљене хидрате, аминокиселине и масне киселине) у екстрацелуларну течност крви (4) (Табела 1).

**Табела 1.** Важни елементи и физичка својства екстрацелуларне течности, физиолошких и граничних распона вредности (4).

	<b>Физиолошке вредности</b>	<b>Физиолошки опсег</b>	<b>Граничне вредности</b>	<b>Јединице</b>
Натријум	142	138-146	115-175	mmol/L
Калцијум	1.2	1.0-1.4	0.5-2.0	mmol/L
Калијум	4.2	3.8-5.0	1.5-9.0	mmol/L
Бикарбонати	28	24-32	8-45	mmol/L
Хлориди	108	103-112	70-130	mmol/L
Кисеоник	40	35-45	10-1000	mmHg
Угљен-диоксид	40	35-45	5-80	mmHg
Глукоза	4.73	4.16-5.27	1.11-83.33	mmol/L
Ацидо-базна равнотежа	7.40	7.3-7.5	6.9-8.0	pH
Температура тела	98.4 (37.0)	98-98.8 (37.0)	65-110 (18.3-43.3)	°F (C°)

Вода сачињава највећи део телесне масе сваког, па и човечијег организма, и све живе ћелије испуњене су воденим растворима и потопљене у водене растворе. Исхрана ни једног живог бића немогућа је без воде, као ни сам живот. Молекул воде чини идеалан растварач за омогућавање физиолошких реакција људског организма. Овај молекул показује биполарно својство, јер кисеоник незнатно више привлачи електроне, удаљавајући их од атома водоника, што доприноси поларности молекула воде. Ово својство воде омогућава да се у њој растварају различити атоми и молекули са наелектрисањем и могућност да молекул воде међусобно реагују преко водоничних веза (5).

Тако створена мрежа водоничних веза даје води неколико кључних, физиолошки важних физичких особина:

- вода поседује високу специфичну топлоту и спроводи топлоту много лакше од било које друге течности.
- без примеса поседује неутралну рН вредност
- представља једино хемијско једињење које се природно може наћи у сва три агрегатна стања
- сматра се универзалним растварачем, због способности да раствори велики број различитих једињења
- поседује јак површински напон и тиме потпомаже капиларну акцију уз помоћ које се вода креће кроз ситне крвне судове у организму
- поседује високу диелектричну константу.

Из свега наведеног, може се доћи до закључка да је вода одличан биолошки флуид као растварач, који омогућава оптималан топлотни трансфер и могућност електричне проводљивости (1).

Укупни дневни унос воде износи око 2.300 ml/дневно. Постоје два кључна начина уноса воде у организам: у облику напитка или воде у храни (2.100 ml/дневно) и као резултат оксидације угљених хидрата (200 ml/дневно). Према литературним подацима показано је да уколико човек нормално уноси воду, без уноса хране, може да преживи од 20 до 50 дана, али зато без уноса воде може најдуже да издржи 7 дана (6).

За разлику од укупног дневног уноса воде, дневни губитак телесне воде може бити:

- неосетан губитак телесних течности
- губитак телесних течности знојењем
- губитак телесних течности фецесом
- губитак телесних течности бубрезима

Неосетни губитак течности представља континуирани губитак воде дифузијом кроз кожу (300 - 400 ml/дневно) и испаравањем из респираторног тракта (300 - 400 ml/дневно). На овај начин се у физиолошким условима губи око 700 ml течности дневно.

Код стања губитка течности путем знојења, битно је да се нагласи да је количина течности која се губи знојењем променљива и да зависи од спољашње температуре и физичке активности организма. У физиолошким условима, нормалана количина излученог зноја износи око 100 ml/дневно, међутим услед тешког физичког рада или при веома високим температурама спољашње средине, губитак воде знојењем може се повећати и на 1-2 L/час. Ово може довести до наглог смањења телесне течности, међутим захваљујући активацији механизма жеђи, унос воде у организам се надоваљује.

Губитак телесних течности путем фецеса је веома мала и при физиолошким условима износи око 100 ml/дневно. Ова наведена количина течности може се знатно повећати и на неколико литра током дана код људи са интестивном дијарејом, која би била и опасна по живот пацијента, ако се не санира у временском интервалу од неколико дана.

Највећи губитак телесних течности излучује се путем бубрега (урином), око 1 - 2 l/дневно, али може бити и мања или већа што зависи од дневног уноса течности или физичких активности током дана. Главна улога и задатак бубрега јесте оптимизовати брзину излучивања воде и електролита како би прецизно одговарала њиховом уносу, као и надокнади прекомерног губитка електролита и воде који се јављају за време неких патолошких стања организма (4, 7).

Према Америчкој Националној Академији Наука утврђено је да је одговарајући дневни унос воде 3.7 l код мушког пола и 2.7 l код женског пола. Међутим, дневни унос воде може да варира како међу особама индивидуално, тако и између група (7). *McCane* и сарадници су показали да је укупан дневни унос воде код особа мушког пола, тежине око 70 kg износио 2.400 – 3.200 ml, од тога путем напитака у организам се уноси воде од 1.400 – 1.800 ml/дневно, путем хране 700 – 1.000 ml/дневно и путем оксидације од 300 – 400 ml/дневно. За разлику од укупног дневног уноса воде у организам, укупан дневни губитак воде из организма износи од 2.400 – 3.200 ml/дневно, од тога 1.400 – 1.800 ml/дневно се излучи путем урина, 300 – 400 ml/дневно путем фецеса и 600 – 800 ml/дневно путем коже (8).

Као што је већ наведено, код одрасле особе, телесне масе око 70 kg, укупна телесна течност чини око 60% телесне масе тј. 42 литра. Међутим, ова количина воде је варијабилна и зависи од старости, пола и степена ухрањености. Са старењем, проценат укупне телесне течности постепено се смањује. Ово смањење представља резултат повећања масног ткива, а смањења мишићне масе и смањења способности регулисања физиолошке равнотеже биомолекула у организму. Посматрано са клиничког аспекта, нормална редукција укупне количине телесне течности код старијих особа је од веома битне значајности, јер утицаји стресних фактора, као што су грозница, дехидратација из било ког разлога, могу бити опасни чак и по живот у екстремним ситуацијама. Како особе женског пола поседују више масног ткива и мање мишићне масе у односу на мушки пол, такође с обзиром на функцију хормона естрогена, имају незнатно мању количину воде у организму у поређењу са особама мушког пола. Међутим, код новорођенчета телесна течност заузима око 65% укупне телесне масе, губећи 5% воде у моменту рађања, као последице прилагођавања новој средини. Такође, укупне телесне течности су подложне значајним променама, као последица брзог метаболизма. Касније, током пубертета проценат укупне воде у телу се уравнотежава са вредностима код одраслих особа (6) (Табела 2).

**Табела 2.** Процентуални садржај телесне воде у односу на телесну масу према полу и старости (6).

Старост	Новорођенче	1-9	10-16	17-39	40-59	60+
Мушки пол (%)	70	67	64	66	60	57
Женски пол (%)	70	67	60	56	52	51

Такође, у организму проценат воде је различит у различитим ткивима. Према литературним подацима показано је, да мождано ткиво садржи 76-80% воде, крв 82-85%, плућно крило 90%, мишићно ткиво 75-78%, коштано ткиво 25%, масно ткиво 10-15%, док глеђни део зубног ткива 2% воде (9).

## 2.1. Важност хидратације у људском организму – дехидрација и рехидрација

Хомеостаза воде у организму контролише се механизмима који су сензитивни на промене запремине интраваскуларне течности и осмолалности крвне плазме (10). Равнотежа воде у телу је регулисана хармонизацијом неуронских, хормоналних и бубрежних функција. Такође, равнотежа воде на дневном нивоу се одлично регулише као резултат жеђи и глади. Услед већих губитака течности и дехидратација удружена са већим излагањем топлоте и/или физичким напором, неопходно је доста времена за рехидратацију и надокнаду одговарајућих електролита како би се повратио баланс течности у организму (11). На основу претходно наведеног исказа, ако би тело дехидрирало више од 4% укупне телесне масе, неопходно ће бити више од 24 сата да се тело у потпуности рехидрира, уз одговарајућу надокнаду воде и електролита (12-14).



Вода и електролити значајни су у обављању комплетног низа како физиолошких тако и физичких функција људског организма:

- хомеостаза метаболичких и ензимских функција
- регулација телесне температуре механизмом знојења
- очување запремине крви и осмоларности који су потребни за ефикасан транспорт кисеоника и регулацију крвног притиска
- елиминација токсина и продуката разградње из организма
- за обнављање енергетских депоа током рехабилитације организма
- поседовање бројних апсорпционих и лубрикативних својства.

**Дехидрација** је стање које представља недостатак, тј. смањену количину воде и електролита у организму, при чему постоје три облика дехидратације (15):

- Изонатремијска (изотона, изоосмоларна)
- Хипонатремијска (хипотона, хипоосмоларна) и
- Хипернатремијска (хипертона, хиперосмоларна) дехидратација.

**Изонатремијска дехидрација** подразумева пропорционални губитак воде и натријума, при чему је концентрација Na у плазми 130-150 mmol/l. Количина екстраћелијске течности је смањена, заступљена је хиповолемија, смањена је гломерулска филтрација, при чему расте ниво урее у плазми. Свест је измењена у виду ступора и летаргије и присутна је смањена еластичност коже (16, 17).

**Хипонатремијска дехидрација** настаје када је губитак натријума већи од губитка воде, са концентрацијом Na у плазми испод 130-150 mmol/l. У наведеном стању редукује се волумен плазме, и може доћи до појаве шока чак и након краткотрајне дијареје. Помућење сензоријума је знатно, понекад може довести и до натанка коме (16, 17).

**Хипернатремијска дехидрација** настаје када је губитак воде већи од губитка натријума, при чему је дистрибуција воде у организму поремећена са концентрацијом Na у плазми изнад 130-150 mmol/l. Висока осмоларност плазме извлачи воду из ћелија доводећи до интраћелијске дехидратације и смањења волумена ћелија. Најчешћи узроци овог облика дехидратације леже у великом уносу соли путем хране, ексцесно јаком знојењу и хиперпнеји током високофебрилних дијареја праћених метаболичком ацидозом (16, 17).

**Рехидрација** представља поступак надокнаде изгубљене течности, воде и електролита (Na, K, Mg, Cl) у метаболизму након стања дехидратације. Сматра се да је најбоље рехидратацију успоставити неким од изотоничних напитака или специфичним растворима који садрже адекватну концентрацију неопходних електролита. Рехидратација се може применити оралним или парентералним путем.

Орална рехидрација се примењује код присутности благог степена дехидратације и може се спровести у кућним условима оралним давањем течности у облику воде или чаја са глукозом и електролитима. При дозирању течности треба имати у виду чињеницу да се мора надокнадити постојећи дефицит течности, али уз осигуравање и течности задржававање дневних физиолошких потреба (18).

Парентерална рехидрација примењује се када постоји умерен или тежак степен дехидратације, при чему се рехидратација мора извршити применом континуиране интравенске инфузије, што по правилу захтева хоспитализацију (18, 19).

## 2. ЗНАЧАЈ МИНЕРАЛНИХ ВОДА У ОЧУВАЊУ ЗДРАВЉА

*Минералне воде* или лековите воде су природне воде пореклом из већих дубина унутрашњости Земље, које у једном литру садрже више од 1-ог грама растворених минералних материја. Такође, у лековите минералне воде спадају воде које у једном литру садрже мање од 1-ог грама растворених минералних материја. Уколико овакве воде карактерише повећан садржај гасова, називају се гасним водама и најчешће подлежу методи флаширања (20-22).

Кроз историју, минералне воде су вековима привлачиле пажњу човека и испољавале жељу за њиховим испитивањем и експлатисањем чињеница да термоминералне воде поседују лековито својство на људски организам, као што су консолидација поремећених размена материја у интрацелуларном и екстрацелуларном простору, локалне промене на ефекторним органима, сложене реакције прилагођавања на нивоу кортико-хипоталамо – хипофизно – адренкортикалне осовине, процеси стабилизације хемијске и физичке терморегулације, као и модулација целуларног и хуморалног имунског одговора (23-25). Још од давнина, људи су емпиријски испитивали исцељитељску моћ лековитих извора, при чему су их уређивали и ограђивали и у њиховој близини подизали скромне грађевине тј. претече данашњих бањских лечилишта. Посматрано кроз историју, бање су заузимале битно место у лечењу од многих болести, а и данас заузимају веома значајно место у савременом друштву (26). Како савремени начин и веома брз темпо живота данашњице значајно угрожавају психофизичко здравље човека, процентуално све већи број људске популације враћа се старим и провереним тј. природним модалитетима лечења и природним лечилиштима (27).

На територији Србије се могу наћи природно минералне воде које се разликују од обичне воде за пиће са чесме, и то по саставу минералних материја, хемијских елемената у траговима као и могућност поседовања одређених лековитих дејства. У састав минералних материја улазе макроелементи као што су натријум, калијум, магнезијум, калцијум, итд. и микроелементи као што су гвожђе, кобалт, бакар, манган, никл, цинк, селен, итд. Физиолошки значај воде зависи од врсте и количине макро и микроелемената као и њихових једињења бикарбоната, сулфата и хлорида. Поред тога природне минералне воде могу бити са угљен- диоксидом, природним или накнадно додатим тј. газираним водама или без њега тј. негазиране воде (27).

### 2.1. Геолошки настанак и поделе минералних вода

Минерални извори у одређеној области не настају случајно, већ настају у одређеним геолошким приликама. Ове прилике представљају последицу геолошких догађаја који су се дешавали у даљој или ближој геолошкој прошлости. Геолошка грађа Србије је врло сложена и разноврсана. На територији наше земље сустичу се различити планински системи, различите геолошко-тектонске јединице, од којих свака поседује одређено специјално обележје по структури, саставу и геолошкој историји. Овакве одлике су имале утицај на настанак великог броја минералних извора у нашој земљи, при чему сваки минерални извор поседује своје специфичне особине и свој механизам подземног кретања (27).

На територији Србије среће се више хидрогеолошких рејона у којима су у мањем или већем броју пронађена налазишта природних минералних извора (Табела 3) (28):

- рејон Дакијског басена
- рејон Карпато-балканида
- рејон Српског кристаластог језгра
- рејон Шумадијско-копаоничко-косовске области
- рејон Динарида западне Србије и
- рејон Панонског басена.

### ***Рејон Дакијског басена***

Према доступним подацима у рејону Дакијског басена, до данас нису регистрована налазишта природних минералних извора, термалних и термоминералних вода. Међутим, *Леко и сарадници* су у свом научном истраживању спомињали постојање извора минералне воде који је поседовао 9,408 g/l сувог остатка и који је изградњом Хидроелектране „Ђердап“ потопљен (29) (Табела 3).

### ***Рејон Карпато - балканида***

Минералне воде рејона Карпато-балканида представљају термалне воде, температуре 20-34 °С, минерализације до 1 g/l, рН вредности 6,5 – 8,4. Минералне воде овог рејона углавном припадају хидрокарбонатној класи и калцијумско – магнезијумске или само калцијумске поткласе (28, 30) (Табела 3).

### ***Рејон Српског кристаластог басена***

Минералне воде рејона Српског кристалног басена представљају хладне и термалне воде, минерализације преко 5 g/l, температуре од 10,5 до 95 °С, рН вредности од 3,5 (Пролом бања, Ђавоља варош) до 9 (Кулинска и Рибарска бања). Минералне воде овог рејона у највећем броју припадају хидрокарбонатно – сулфатној класи и калцијумско – магнезијумској или натријумској поткласи (28, 30) (Табела 3).

### ***Рејон Шумадијско – копаоничко - косовске области***

Минералне воде рејона Шумадијско – копаоничко - косовске области могу бити хладне воде са поседовањем три различите вредности температуре (воде које поседују температуру до 20 °С, воде које поседују температуру 20 – 35 °С и воде које поседују температуру већу од 35 °С). Воде овог рејона поседују различите вредности минерализације: > 2 g/l, 2-3 g/l, 3-5 g/l и < 5 g/l. Такође, поседују и различите вредности рН: > 5,5; 5,5-6,8 (благо киселе); 6,8 – 7,2 (неутралне); > 8,5 (алкалне). Нарочито се истичу кисељаци хидрокарбонатно – калцијумско - магнезијумског, карбонатно – натријумског и хидрокарбонатно - магнезијумског типа. Доминантно место заузима класа хидрокарбонатних вода, у оквиру које је поткласа натријумских вода, поткласа натријумско - калцијумских, магнезијумско – натријумских, магнезијумско-калцијумских и калцијумских вода (28, 30) (Табела 3).

### ***Рејон Динарида западне Србије***

Минералне воде рејона Динарида западне Србије могу поседовати температуру до 15 °С и температуру већу од 35 °С. У зависности од локалитета воде овог рејона поседују различите вредности минерализације, мање од 1 g/l и веће од 5 g/l. Према рН вредности могу бити лако киселе и благо алкалне. Према макросаставу, воде највише припадају хидрокарбонатној класи са доминантном натријумском и калцијумско – магнезијумском поткласом (28, 30) (Табела 3).

### Рејон Панонског басена

Минералне воде Панонског басена карактеришу се температурама у опсегу од 20–100 °С, повишене рН вредности, минерализације веће од 5 g/l. Ове воде спадају у хидрокарбонатне и хлоридне класе са одговарајућим поткласама, с натријумском поткласом, натријумско-калцијумском и амонијум-натријумском поткласом. Такође, посматрано са балнеолошког аспекта, најбитније компоненте минералних вода Панонског басена чине литијум, јод, силицијум, бром, стронцијум, флуор, бор и органске материје. Ове воде изузетно су цењене у свету и већина европских бања успешно их користе (27, 28, 30) (Табела 3).

**Табела 3.** Банеолошка и генетска класификација минералних вода Србије (28).

Рејон	Локалитет	Т (°С)	Класа	Поткласа	Специфичне компоненте
<b>Карпато-балканида</b>	Брестовачка бања	17-41	SO <sub>4</sub> – HCO <sub>3</sub>	Ca-Na	<i>Mn, Zn, SiO<sub>2</sub>, Sr;</i>
	Сокобања	43	HCO <sub>3</sub>	Ca-Mg	<i>SiO<sub>2</sub>, Sr, Rn, Ra;</i>
	Нишка бања	19.5-39.1	HCO <sub>3</sub>	Ca	<i>SiO<sub>2</sub>, Sr, Rn, Ra;</i>
<b>Српско кристаласки басен</b>	Рибарсака бања	38-56	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>F, SiO<sub>2</sub></i>
	Пролом бања	26.4	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>Rn, SiO<sub>2</sub></i>
	Сијеринска бања	16-75	HCO <sub>3</sub> -SO <sub>4</sub>	Na	<i>F, Fe, Sr, Li, Rb, Mn, Ra</i>
	Врањска бања	63-100	HCO <sub>3</sub> -SO <sub>4</sub>	Na	<i>F, H<sub>2</sub>S, Al, Sr, Li, Mn, SiO<sub>2</sub></i>
	Бујановачка бања	24.5-43	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>F, Li, Sr, Rb, Cu, SiO<sub>2</sub></i>
<b>Шумадијско-копаоничко - косовска област</b>	Бања Селтерс	31-57	HCO <sub>3</sub> Cl	Na	<i>F, Br, Li, Sr, Rb, Ba, Ra, HBO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub></i>
	Буковачка бања	14-31	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>Ra, F, Li, Sr, Rb, Ba, Rn, SiO<sub>2</sub></i>
	Љиг бања	30-33	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>F, Li, Sr, Mn, Zn, SiO<sub>2</sub></i>

**Наставак Табеле 3.**

	Горња Трешча	31	HCO <sub>3</sub>	Mg-Ca	<i>Cs, Sr, SiO<sub>2</sub></i>
	Матарушка бања	21-42.8	HCO <sub>3</sub>	Na-Mg	<i>H<sub>2</sub>S, F, Cs, Sr, Li, Rb, Mn, SiO<sub>2</sub></i>
	Богутовачка бања	19-25	HCO <sub>3</sub>	Mg-Ca-Na	<i>H<sub>2</sub>S, Ra, F, Sr, SiO<sub>2</sub></i>
<b>Шумадијско-копаоничко - косовска област</b>	Врњачка бања	36	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>Sr, Li, Rb, Ba, CsF, SiO<sub>2</sub></i>
	Јошаничка бања	22-78.5	HCO <sub>3</sub>	Na-Mg-Ca	<i>H<sub>2</sub>S, F, SiO<sub>2</sub></i>
	Луковска Бања	24-61	HCO <sub>3</sub>	Na-Mg-Ca	<i>H<sub>2</sub>S, F, Li, Sr, HBO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub></i>
	Куршумлијска бања	37-68	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>H<sub>2</sub>S, F, Li, Sr, HBO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub></i>
	Новопазарска бања	30-54	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>H<sub>2</sub>S, Ra, F, Li, Sr, Rb, Cs, SiO<sub>2</sub></i>
	Бањска	31.5-54	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>H<sub>2</sub>S, F, Li, Ba, Sr, SiO<sub>2</sub></i>
		Бања Врдник	33	HCO <sub>3</sub>	Mg-Na-Ca
<b>Динарид западне Србије</b>	Бања Ковиљача	15-30	HCO <sub>3</sub> -Cl	Na-Ca-Mg	<i>H<sub>2</sub>S, Sr, Li, Ra</i>
	Радаљска бања	14.5-30	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>H<sub>2</sub>S, F, Li, Ra, SiO<sub>2</sub></i>
	Овчар бања	35-38	HCO <sub>3</sub>	Ca-Mg	<i>H<sub>2</sub>S, Sr, SiO<sub>2</sub></i>
	Прибојска бања	36.5	HCO <sub>3</sub>	Ca-Mg	<i>SiO<sub>2</sub>, Ra</i>

<b>Панонски басен</b>	Бања Меленци	92	Cl	Na	<i>F, Br, J, Fe, Ra, Sr, Ba, HPO<sub>4</sub></i>
	Бања Кањижа	27.5-63	HCO <sub>3</sub>	Na	<i>F, Sr, Ba, HBO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub></i>
	Јунковић бања	25-25.9	Cl- HCO <sub>3</sub>	Na	<i>HBO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Sr, Ba</i>

Према пореклу, природне минералне воде деле се на (21):

- Јувенилне (дубинске, вулканске)
- Вадозне (површинске) и
- Фосилне

**Јувенилне** тј. дубоке природне минералне воде потичу из већих дубина, из којих се појављују на површини земље. Настају као последица завршних фаза вулканизма. Богате су многим раствореним минералима и гасовима који се налазе у геолошким структурама кроз које пролазе. Њихове карактеристике огледају се у константној температури, обично топлије, стабилнијег хемијског састава од вадозних природно минералних вода и најчешће се појављују у непосредној близини површинских токова.

**Вадозне** тј. површинске природно минералне воде потичу из падавина, које на геолошко прикладним теренима, продиру кроз порозне слојеве и пукотине, у велике дубине до непропустљивог слоја, при чему на том путу растварају гасове и минералне материје и кроз одговарајућу пукотину поново се појављују на површину земље у облику извора. Ове воде не показују стабилност у погледу састава, температуре, количине, али због поседовања великог броја лековитих компоненти веома су интересантне у балнеолошком погледу.

**Фосилне** природно минералне воде представљају вадозне воде којима је због геолошких настанка циркулација била прекинута, тако да су оне остале заробљене у шљунковитим и пешчаним слојевима које су прекривале непропустљиве наслаге. То су некада били веома велики резервоари воде, које је најчешће тек људска рука ослобађала бушењем, најчешће као последица тражења нафте. Карактеристика ових вода се одликује тиме што је њихов живот ограничен и када истекну, врело увек пресуши.

## 2.2. Нормативи, стандарди, састав и законска регулатива за квалитет природно минералних вода

У Србији постоје на снази два правилника која се односе на воду намењену људској употреби (30, 31): 1) Правилник о хигијенској исправности воде за пиће (Сл. лист СРЈ бр. 42/98 и 44/99) и 2) Правилник о квалитету и другим захтевима за природну минералну воду, природну изворску воду и стону воду (Сл. лист СЦГ бр. 53/05).

У Правилнику о хигијенској исправности воде за пиће, флаширане воде обухватају олигоминералне и минералне воде са електропроводљивошћу  $E_p < 500 \mu\text{S}/\text{cm}$ , које се пакују у пластичне, стаклене или друге амбалаже и шаљу се у слободну продају. Ако би смо упоредили директиву ЕУ (32–34) и стандард СЗО (35) са Правилницима који се користе у нашој земљи (30, 31) дошли бисмо до закључка о неусклађености са прописаним максимално дозвољеним концентрацијама за низ параметара. Такође, правилник о хигијенској исправности воде за пиће, осим квалитета воде за јавно водоснабдевање дефинише максимално дозвољене концентрације „флаширане воде“, дефинисане ниским садржајем Al, Ba, Ca, Cl, CN, Cu, F, Fe, Hg, Ng, Mn, Na, Ni, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub> и Zn, при чему је  $E_p < 500 \mu\text{S}/\text{cm}$  (36) (Табела 4).

Правилник о квалитету природне минералне воде, природне изворске и стоне воде поседује улогу да дефинише, номенклатуру минералних вода, максимално дозвољене концентрације одређених параметра који могу бити ризик за људско здравље и индикаторске параметре квалитета. Такође, овај правилник се односи и на све подземне воде, без обзира на њихову свеукупну минерализацију и има својство да дефинише ограничени број дозвољених поступака и третмана воде на извору који обухватају издвајање нестабилних елемената и једињења (гвожђа, мангана, сумпора и арсена) поступцима оксидације, филтрирања и декантовања, све док такав поступак не мења састав воде у погледу основних састојака и под условом да је такав поступак пријављен и посебно контролисан од стране надлежних органа и овлашћене институције.

**Табела 4.** Максимално допуштене вредности параметара воде прописане правилником о квалитету воде за пиће Републике Србије. Поређење Правилника Републике Србије са стандардом СЗО и Директивама Европске уније.

П*	Ј**	МКУФВ***		МДК ПОВ ****	ПКП МИ СВ#	EU Directive			
		Мин.	Макс.			1998/83/EC Drinking water	2003/40/EC Mineral water	2009/54/EC Natural mineral water	WHO
рН		5.6	7.5	6.8-8.5	/	≥6.5-≤9.5	/	/	/
ЕС 20°C	$\mu\text{S}/\text{cm}$	340	4560	<500	2500	2500 п.в.	/	/	/
Ag	$\mu\text{g}/\text{l}$	<0.001	0.00357	10	/	/	/	/	/
Al	$\mu\text{g}/\text{l}$	<0.001	8.38	50	200	200 п.в.	/	/	200
As	$\mu\text{g}/\text{l}$	0.085	6.26	50	10	10	10	/	10

**Насагавак Табеле 4.**

B	µg/l	22.3	5660	1000	1000	1000	/	/	500
Ba	µg/l	<0.01	0.607	0.1	/	/	1	/	0.7
Be	µg/l	<0.001	0.512	0.2	/	/	/	/	/
Br	µg/l	/	/	/	/	/	/	/	/
Ca	µg/l	22.2	241	100	150	/	/	<150	/
Cl	mg/l	1.35	287	25	250	250 п.в.	/	<200	300
CN <sup>-</sup>	µg/l	/	/	/	50-70	50	70	/	/
Cr	µg/l	0.09	2.4	50	50	50	50	/	50
Cs	µg/l	0.0425	84.7	/	/	/	/	/	/
Cu	µg/l	0.113	2.48	100	2000	2000	1000	/	2000
F	mg/l	<0.002	2.39	1	1.5	1.5	5(1.5:label)	<1	1.5
Fe	µg/l	0.13	101	50	200	200 п.в.	/	/	300
Fe <sup>2+</sup>	mg/l	/	/	/	1	/	/	>1	/
Ge	µg/l	0.0053	17.8	/	/	/	/	/	/
HC O <sub>3</sub>	mg/l	200	3290	/	600	/	/	<600	/
Hg	µg/l	<5	<5	1	1	1	1	/	6
I	µg/l	1.68	686	/	/	/	/	/	/
K	mg/l	0.8	52	/	/	/	/	/	/
Li	µg/l	0.762	985	10	/	/	/	/	/
Mg	mg/l	12.08	324	/	50	/	/	<50	50
Mn	µg/l	<1	465	30	50	50 п.в.	500	/	400
Mo	µg/l	0.131	0.537	20	/	/	/	/	70
Na	mg/l	1.8	1216	/	200	200 п.в.	/	<200	200
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/l	<0.005	4.4	20	0.5	0.5 п.в.	/	/	/
Ni	µg/l	0.0246	9.12	/	20	20 п.в.	20	/	70
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/l	<0.005	0.144	10	0.1	0.5 п.в.	0.1	/	3
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/l	<0.01	9.25	/	50	50 п.в.	50	/	50
Pb	µg/l	0.0030	0.0855	5	10	10	10	/	10
Rd	µg/l	0.338	205	/	/	/	/	/	/
Si	mg/l	2.24	41.5	/	/	/	/	/	/
Sb	µg/l	0.161	2.93	10	5	5	5	/	20
Sc	µg/l	0.0194	0.348	/	/	/	/	/	/
Se	µg/l	<0.01	0.149	10	10	10	/	/	10
SO <sub>4</sub>	mg/l	0.02	173	25	250	250 п.в.	/	<200	250
Sr	mg/l	0.05	1.49	/	/	/	/	/	/
Tl	µg/l	0.0044	1.11	/	/	/	/	/	/
U	µg/l	0.0017	1.83	50	/	/	/	/	15
V	µg/l	0.037	4.45	1	/	/	/	/	/
W	µg/l	0.0182	11	/	/	/	/	/	/
Zn	µg/l	0.0609	3.27	100	/	/	/	/	3000

П\* - параметри; Ј\*\* - јединице; МКУФВ\*\*\* - Мерење концентрације у узорцима флашираних вода; МДКПОФВ# - Максимално дозвољене концентрације за параметре у олигоминералној флашира-ној води; ПКПМИСВ - Правилник о квалитету за природну минералну, изворску и стону воду



Као што је поменуто, природне минералне воде представљају подземне воде намењене за људску употребу, и поседују могућност флаширања само ако су микробиолошки и хемијски исправне за пиће, ако им је квалитет стабилан, формиран у природним условима и испуњавају следеће услове (37):

- да поседују свој извор из лежишта изданских вода, заштићен од било какве могућности контаминације и да вода долази на површину земље природним истицањем на једном или више извора, или по могућству преко бушених бунара;
- да поседује специфичне карактеристике по којима се разликује од обичне воде за пиће (по садржају минералних материја, хемијских елемената у траговима и могућност постојања одређеног фармаколошког дејства);
- да поседује исти квалитет као на извору.

Карактеристике које природној минералној води могу дати особине повољне по људско здравље неопходно је да се процене са следећих аспеката (23, 38, 39):

- Физичког, хемијског и физичко-хемијског;
- Микробиолошког;
- Геолошког и хидрогеолошког;
- клиничког, фармаколошког или физиолошког аспекта (у случајевима када је присутна индикација).

**Основни физички параметри** који дефинишу квалитет воде за пиће говоре о њеној питкости и употребљивости и дефинишу се као физички преглед воде за пиће. То представља основни део свих прегледа воде за пиће и може се обавити на самом воденом предмету и делом у лабораторији. У физичке параметре спадају: температура воде, боја, мирис, укус, мутноћа, тврдоћа и рН. С обзиром на рН, минералне воде класификују се као киселе воде ( $\text{pH} < 7$ ) или алкалне воде ( $\text{pH} > 7$ ). По температури, минералне воде могу бити хладне ( $< 20^\circ \text{C}$  на извору), хипотермалне ( $20\text{-}30^\circ \text{C}$  на извору), мезотермалне ( $30 - 40^\circ \text{C}$  на извору) и хипертермалне воде ( $> 40^\circ \text{C}$  на извору). Тврдоћа указује на присуство земноалкалних метала, тако да минералне воде могу бити врло мекане ( $0\text{-}100 \text{ mg/L CaCO}_3$ ), мекане ( $100\text{-}200 \text{ mg/L CaCO}_3$ ), тврде ( $200\text{-}300 \text{ mg/L CaCO}_3$ ) или врло тврде ( $> 300 \text{ mg/L CaCO}_3$ ) (40).

**Хемијски параметри** квалитета воде за пиће дефинишу се на основу заступљених хемијских супстанци у њој. У води за пиће може се наћи преко 1000 неорганских и органских једињења, при чему се неорганске материје у води за пиће обично јављају као растворене соли у облику карбоната и хлорида везаних за суспендоване честице или као комплекси са органским једињењима која се природно јављају у води. Присуство ових једињења могу бити последица природног поступка из минералних слојева у изворишта воде, хемијске индустрије, пољопривреде, металургије, термоенергетике, саобраћаја као и депонија индустријског и комуналног отпада. Када говоримо о органским супстанцама, обично су заступљене у води за пиће у веома малим концентрацијама и могу се најчешће јављати као последица антропогених активности.

Деле се у две групе: нуспроизводи дезинфекције и остала органска једињења, при чему нуспроизводи дезинфекције настају у реакцијама дезинфекционих средстава.

Ту спадају хуминске и фулвинске киселине које настају распадањем биљних и животињских остатака у земљишту, при чему се од свих нуспроизвода дезинфекције у највећој концентрацији стварају трихалометани. Такође, повишене концентрације коагулационих и флокулационих средстава у води за пиће, а ту спадају као коагуланти соли алуминијума и гвожђа и органски полимери као флокуланти, имају значајан здравствени ризик. Према претходно наведеним чињеницама, за оцену хигијенске исправности воде за пиће велику значајност има њен хемијски квалитет, јер било која супстанца може неповољно да утиче на здравље људи у зависности од њених концентрација, здравственог стања особе и временског периода конзумирања (21, 38, 39).

Светска здравствена организација је на основу епидемиолошких и експерименталних истраживања, препоручила граничне вредности за сваку супстанцу која се може наћи или се налази у води за пиће, испод које се неће испољити негативан ефекат по здравље организма уносећи је преко воде за пиће (Табела 4). Поједине хемијске супстанце, иако су заступљене у веома малим концентрацијама, могу последицом сумарног ефекта допринети укупном утицају одређене хемикалије на људско здравље. У поређењу са физичким показатељима квалитета воде, хемијски показатељи су специфичнији и значајнији за процену квалитета воде за пиће (30-35).

**Са микробиолошког аспекта**, вода за пиће не сме садржати патогене микроорганизме тј. бактерије (индикатори фекалног загађења), вирусе и паразите. Процесом пречишћавања воде, број микроорганизама се поставља на ниво за који се сматра да неће угрозити здравље људи, што је законски регулисано. Да би се омогућило праћење стања микроорганизама у води за пиће неопходна је редовна, рутинска бактериолошка контрола којом ће се испитивати стање укупних фекалних колиформних бактерија (*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*), фекалних стрептокока, *Pseudomonas aeruginosa*, аеробних мезофилних бактерија, итд.

Прегледи који се користе како би се испитали физички, хемијски и микробиолошки параметри су основни, проширени, периодични, прегледи код нових водозахвата и прегледи који се изводе на основу епидемиолошко-хигијенских индикација, законски регулисани. Прегледи који се најчешће користе су *основни прегледи*. Овај вид прегледа указује на прве показатеље неисправности воде за пиће. Под основним прегледом се подразумевају физички прегледи (температура, мирис, боја, укус, мутноћа), физичкохемијски (електрична проводљивост и рН вредност), хемијски (утрошак  $\text{KMnO}_4$ , количина сувог остатака, резидуална средства дезинфекције, остатак испаравања, концентрације (амонијака, хлора, нитрита, флора) и микробиолошки прегледи.

*Проширени прегледи* подразумевају анализу параметара основног прегледа и додатно утврђивање концентрација гвожђа, нитрита и мангана.

*Периодични прегледи* поред параметара основне и проширене анализе, најчешће обухватају и анализу тј. испитивање концентрације сулфата, фенола, олова, флуорида и детергента. За разлику од наведених прегледа, код локалитети који представљају потенцијална изворишта за водоснабдевање, изводе се детаљније анализе законски регулисана (30-35).

Природне минералне воде се према укупном садржају растворених минералних материја могу се поделити на (21, 31):

- природне врло слабо минералне воде, код које садржај минералних соли (рачунат као суви остатак на  $180\text{ }^\circ\text{C}$ ) није већи од  $50\text{ mg/l}$ ,

- природне слабоминералне воде, код којих садржај минералних соли износи до 500 mg/l,
- природне минералне воде, код којих је садржај минералних соли већи од 500 – 1500 mg/l,
- природне минералне воде богате минералним солима, код којих садржај минералних соли износи више од 1 500 mg/l.

У зависности од хемијског састава, природне минералне воде могу бити класификоване на (21, 31):

- Бикарбонатне, које садрже више од 600 mg/l бикарбоната;
- Сулфатне, које садрже више од 200 mg/l сулфата;
- Хлоридне, које садрже више од 200 mg/l хлорида;
- Калцијумове, које садрже више од 150 mg/l калцијума ( $\text{Ca}^{2+}$ );
- Магнезијумове, које садрже више од 50 mg/l магнезијума ( $\text{Mg}^{2+}$ );
- Флуоридне, које садрже више од 1,0 mg/l флуорида;
- Гвожђевита, која садржи више од 1 mg/l гвожђа ( $\text{Fe}^{2+}$ );
- Натријумова, која садржи више од 200 mg/l натријума ( $\text{Na}^+$ );
- Угљено кисела, која садржи више од 250 mg/l слободног угљен-диоксида;
- Воде са ниским садржајем натријума - који садржи до 20 mg/l натријума ( $\text{Na}^+$ );

Према количини угљен-диоксида, природне минералне воде се уводе у промет као (21, 31):

- Природно газирани минерална вода у којој је садржај угљен-диоксида на извору и у оригиналном паковању исти или већи од 250 mg/l;
- Газирани природно минералне воде у којима је додат угљен-диоксид у концентрацији већој од природних вредности на извору;
- Негазиране воде са садржајем угљен-диоксида мањим од 250 mg/l.

### **3. ПРИРОДНЕ МИНЕРАЛНЕ ВОДЕ – ОПШТИ ЗДРАВСТВЕНИ ЗНАЧАЈ (ПРЕВЕНТИВНА И ТЕРАПИЈСКА СВОЈСТВА)**

Индикације за терапијску и превентивну примену природних вода су:

- болести гастроинтестиналног тракта (41)
- обољења хепатобилијарног тракта (42- 45)
- болести метаболизма (42)
- болести урогениталног тракта (42, 46)
- кардиоваскуларне болести (43)
- болести хематопоезног система (42)
- реуматолошка обољења (48, 49)
- посттрауматска и постоперативна стања (50)
- гинеколошка обољења (51, 52)
- лечење и рехабилитација деце (53, 54)

У контраиндикације за лечење одраслих пацијената и деце спадају: инфективне болести, туберкулоза плућа, акутна обољења, малигне неоплазме, малигне хемопатије, паразитарна обољења, обилна и честа крварења било ког порекла, психозе, епилепсија, хроничне болести у стадијуму погоршања и компликација, кахексија и венеричне болести (55, 56).

Класификација природних минералних вода на основу хемијског састава минерала је од велике значајности за утврђивање терапијских својстава сваког типа воде појединачно.

### ***Бикарбонатне минералне воде***

Природне минералне бикарбонатне воде представљају хладне и алкалне минералне воде са ниским садржајем минерала и диуретичким својствима. Према литературним подацима показан је позитиван ефекат минерала бикарбоната воде на дигестиван тракт. Истраживања која су се бавила балнеотерапијом (57) на пацијентима са функционалном диспепсијом показују да минералне бикарбонатне воде поседују могућност неутралисања лучења киселине, повећања ниво рН у лумену желуца, убрзавања желудачног пражњења и подстицања ослобађања дигестивних хормона, за које је познато да поседују кључну улогу у регулацији функције желуца (58). Такође, неколико студија је истраживало терапијско својство минералне воде богате бикарбонатом на смањење ресорпције костију. Студије су показале да овај тип воде ствара алкално окружење и на тај начин смањује ресорпцију костију (59,60).

Многа истраживања показују здравствене ефекте бикарбонатне минералне воде на биомаркере кардиометаболичког ризика, то се посебно односи на смањење укупног холестерола, глукозе и ЛДЛ-холестерола) и у превенцији кардиоваскуларних болести (56). Конкретно, натријум- бикарбонатне воде имају својство да значајно смањују укупни холестерол у серуму и ЛДЛ-холестерол, повећавају ХДЛ-холестерол (61, 62). Такође, у поређењу са ниско минералним водама, натријум-бикарбонатне воде поседују улогу у смањивању нивоа липемије и алдостерона након obroка (63-65).

### ***Сулфатне минералне воде***

Минералне сулфатне воде карактерише присуство сулфатних аниона, са различитим катјонима (66). Присуство специфичних катјона у комбинацији са сулфатом побољшавају својства овог типа воде, па тако магнезијум - сулфатне и натријум- сулфатне воде показале су се изузетно ефикасне код пацијената који имају проблема са варењем и констипацијом (67-70). Употребом минералних вода богатих магнезијум- сулфатом и натријум-сулфатом утичу на правилно варење, у смислу побољшања и елиминације симптома констипације, побољшавања укупног рада црева и конзистенције столице (71). Сложенији минерални систем, као што су сулфатно-бикарбонатно-калцијум- магнезијум минералне воде поседују терапеутску активност код функционалног поремећаја билијарног тракта (72).

Такође, сулфат представља обавезну хранљиву материју за бројне метаболичке и ћелијске процесе, посебно у расту и развоју фетуса (73).

### ***Хлоридне минералне воде***

Хлоридне минералне воде представљају воде са претежно хлоридним елементима са најзаступљенијим катјонима као што су натријум, калцијум и магнезијум. Иако су студије о њиховим терапијским ефектима на здравље људи оскудне, ипак постоје подаци да хлоридне минералне воде могу испољити своја терапијска својства на цревну функцију организма, тј. могу стимулисати перисталтику црева и цревно лучење воде и електролита (20). Такође, имају улогу у повећању жучне секреције и прилива жучи у дуоденум (67) и на интердигестивну цикличну моторичку активност гастро-дуоденалног тракта (74). Њихова употреба је нарочито индукована за хидропинску терапију болести гастроинтестиналног система (74). Воде со-бром-јод карактеришу комбинацију воде хлорида и натријума са јодом и бромом. Изузетно су познате по својој антиинфламаторној активности и користе се у разним патолошким стањима, попут болести гастроинтестиналног тракта (75, 76).

### ***Калцијумове минералне воде***

Калцијум је главни минерал калцијумових минералних вода. Познато је да је унос калцијума важан за здравље коштаног ткива и да може бити користан и за неколико некоштаних система у организму, као што су нервни, мишићи и крвни систем (77, 78). Калцијум је катјон који може бити повезан са различитим ањонима, што даје калцијумовим минералним водама специфична својства. У главне ањоне спадају бикарбонати и сулфати. Према литературним подацима постије студије које су се бавиле истраживањем потенцијалне улоге воде богате калцијум - бикарбонатом у одржавање алкалног окружења и побољшања киселинско-базне равнотежа у телу (79-81). Студију коју су спровели *Wynn* и сарадници на европским и Северноамеричким комерцијалним водама открили су да калцијум-бикарбонатне минералне вода поседују алкализујућу моћ и могу повећати вредности серума и рН урина, стварајући оптимално окружење за минерализацију коштаног ткива (80). Француска студија је показала да се код жена са малим уносом калцијума у пост-менопаузи, а са конзумацијом минералне воде са високим садржајем калцијума, смањује индекс ремоделације костију (82).

Систематски прегледи студија показали су да је биорасположивост калцијума у минералним водама боља него код млечних производа или фармацеутских препарата (83), јер минералне воде са високим садржајем калцијума представљају важан извор калцијума у исхрани и треба га препознати као добр нискокалорични додаток исхрани (84). Благотворни ефекти минералне воде богате калцијумом на минерализацију костију је широко демонстриран. Студија коју је спровео *Costi* и сарадници на 255 испитаника женског пола, показује да редовно коришћење воде богате калцијумом побољшава просечну минералну густину коштаног ткива кичменог стуба (85). Сличане резултате су показали *Aptel* и сарадници у својој студији, која је обухватила 4 434 испитаника женског пола, страости преко 75 година, где је повећање калцијума за 100 mg / дан у води за пиће повезано је са повећањем густине коштаног ткива бутне кости за 0,5% (86).

### **Магнезијум минералне воде**

Магнезијум минералне воде карактерише присутност магнезијума као суштинска компонента. Ова врста минералне воде може бити корисна код гинеколошких обољења као што су пред-менструални синдром, климактеријум и постменопаузална остеопороза (20). Магнезијум се може комбиновати са другим минералима, па тако магнезијум-сулфатне минералне воде побољшавају функцију црева, у смислу смањења констипације и побољшавање укупног рада црева (71). *In vitro* студије су показале да магнезијум - сулфатне минералне воде могу деловати катарзично повећавањем нивоа експресије аквапорина 3 (AQP3) и променом осмотског притисак у дебелом цреву (87). Такође, сулфатно-бикарбонатно-калцијум-магнезијумске минералне воде показале су да поседују терапијску активност код функционалних поремећаја билијарног тракта. Висок садржај магнезијума омогућава проток жучи, побољшавајући активност жучних канала (72).

Резултати студија показали су да код европског становништва, посебно код становника скандинавских земаља, висок ниво магнезијума у води за пиће може смањити ризик од смртности коронарне болести срца (88).

### **Флуорисане минералне воде**

Минералне воде са флуором могу бити индиковане за децу, јер могу смањити учесталост пропадања и поспешити минерализацију костију. Међутим, потрошња минералне воде у облику флуората мора се одржавати на ниском нивоу (89). Висок унос флуорида повезан је са њиховим могућим канцерогеним дејством, међутим резултати појединих епидемиолошких и експерименталних студија показују да флуорисане минералне воде нису директно повезана са ризиком од канцера (90, 91).

Учестало коришћење минералних вода са флуором може поседовати токсичне ефекте као што су дентална и скелетна флуороза, под условом да се у организам уноси изнад 10 mg/l (92). Из тог разлога, Европска Агенција за безбедност (EFSA) утврдила је горњу границу употребе флуора - до 1,5 mg/l (87), чију вредност такође потврђује и Светска здравствена организација (93). Такође, флуорисане воде за пиће имају веома битну улогу у превенцији настанка каријесних обољења зуба (94).

### **Минералне воде богате гвожђем**

Минералне воде богате гвожђем и бикарбонатима, рН вредности око 6, поседују веома важна хемопоемска својства (40). Индуковане су код анемије са недостатком гвожђа и такође се препоручују код трудница у лечењу анемије (95). Такође, студијама је показано да поседују корисни терапеутски ефекти код хроничних инфекција горњих дисајних путева (96).

### **Натријум богате минералне воде**

Минералне воде богате натријумом карактерише присуство натријума као главног катјона, који може бити повезан са различитим анјонима. Негативно својство ове врсте минералне воде је могућност везивања натријума за хлорид, што може утицати на појаву хипертензије, тако ад се ова вода не препоручује код особа које болују од кардиоваскуларних болести (67, 97). Међутим, иако је врло мало студија које су се бавиле истраживањем натријум-бикарбонатних минералних вода, поједине студије супаказале њихова веома добра терапијска својстава. *Schoppen* и сарадници су

показали да код испитаника женског пола у менопаузи, бикарбонати смањују постпрандијалну липемију код здравих жена у постменопаузи (63) и поседују својство да могу повећати осетљивост на инсулин (98).

Такође, експерименталне студије које су истраживале потенцијалну терапијску утицај натријум-природно газираних минералних вода на метаболички синдром показале су да поседују позитиван терапеутски ефекат (99).

#### **4. МЕСТО МИНЕРАЛНИХ ВОДА У ТЕРАПИЈСКОМ АЛГОРИТМУ ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСА**

*Diabetes mellitus* (шећерна болест) представља метаболички поремећај којег карактерише хронична хипергликемија тј. трајно повишен ниво глукозе у крви. У основне специфичности ове болести спадају смањена осетљивост или неосетљивост инсулинских рецептора (инсулинска резистенција), повишена ендогена производња глукозе у јетри, промењен режим рада  $\beta$  ћелија Лангерхансових острваца панкреаса са последично неправилном синтезом и секрецијом хормона инсулина и промењен метаболички пут масти (100-103). Сматра се хроничном, незаразном болешћу растуће инциденце и преваленце.

Посматрано епидемиолошки, шећерна болест се категорише као четврти водећи узрок морталитета како у Европи, тако и у Србији, представљајући веома озбиљан јавно-здравствени проблем. На основу литературних података, утврђено је да је појава дијабетеса на нивоу свих старосних група износила 2.8% 2000. године, а сматра се да ће се вредност ових бројки 2030. године повећати и на 4.4%, при чему ће пораст оболелих бити посебно изражена код неевропске популације, које су у стадијуму интензивне промене друштва и усвајања културолошких норми западних земаља (105, 105). На територији Србије, према подацима из 2011. године, присутно је око 630 000 људи оболело од шећерне болести, а сматра се да ће се овај број 2030. године повећати на 730 000 (106). Сходно томе, хроничне компликације дијабетеса захтевају изузетно висок ниво финансијских средстава и представљају највећи изазов у лечењу ове врсте болести. На основу студија, које су се бавиле испитивањем трошкова лечења дијабетеса мелитуса тип 2, дошли су до података да се за овај вид болести издваја чак и до 90% финансијских средстава (107).

Према терапијским модалитетима, први корак у отпочињању лечења дијабетеса подразумева промене у начину живота, које првенствено подразумевају кориговање нездравих навика у исхрани, повећање физичке активности на дневном нивоу, као и редовну контролу телесне масе (108). Наредни корак у терапијском модалитету шећерне болести јесте примена медикаметозне терапије, која обухвата секвенцијалну и индивидуалну примену фармаколошких агенаса (108, 109).

Први корак у нефармаколошком лечењу дијабетеса укључује промене животних навика које се делом односе на прелазак са заслађених пића као што су безалкохолна, воћна и енергетска пића на коришћење воде (110, 111). Примена минералних вода у превенцији и као терапијском нефармаколошком модалитету лечења шећерне болести је данас од изузетно велике значајности. Познато је да је да је довољан унос воде повезан са мањим ризиком од настанка хипергликемије и поседује могућност превенције и смањује ризик од настанка шећерне болести (112, 113). Такође, коришћење минералних вода могле би имати још бољи терапијски ефекат у поређењу са водом из славине код пацијената оболелих од шећерне болести (114, 115).

Минералне воде поседују минерале који имају потенцијални фармаколошки, физиолошки и клинички ефекат на организам (115). Код дијабетеса типа 2 коришћење минералних вода врло је корисно, тиме што побољшавају метаболизам угљених хидрата, стимулишу инсулинске рецепторе појачавајући учинак ензима одговорних за испоруку глукозе у ткивима. Такође, стална употреба минералних вода код ове болести, нормализује радну способност јетре и помаже у успостављању равнотеже воде у организму, због чега долази до престанка осећаја жеђи код пацијената (112, 113)

Штавише, посебно минералне хранљиве материје као што су бикарбонати (116) и магнезијум (117-119) утичу на метаболизам глукозе. Према литературним подацима, бројне студије су указале да бикарбонатне воде поседују могућност смањења нивоа холестерола и глукозе у организму и имају значајну улогу у превенцији кардиоваскуларних болести. Унос хидрокарбонатних минералних вода за дијабетес типа 2 омогућава неутрализацију акумулације киселих производа, побољшање производње инсулина и смањење глукозе у крви. Такве воде имају антиоксидативно деловање, штитећи од уништења бета ћелија панкреаса (116-119).

Такође, доказано је и да унос природно минералне воде киселог карактера, натријум-бикарбонатне воде богате калијумом, калцијумом и магнезијумом, могу побољшати метаболичко и редокс здравље код пацова са метаболички синдром (120). Поред тога, постоје извештаји који указују да је коришћење природне минералне воде богате сумпором, као облик адјувантне терапије, ефикасна у снижавању маркера оксидативног стреса код пацијената оболелих од дијабетес мелитуса тип 2, уз примену одговарајућих хипогликемијских лекова (121).

## **5. МЕСТО МИНЕРАЛНИХ ВОДА У ТЕРАПИЈСКОМ АЛГОРИТМУ ЗАПАЉЕНСКИХ ПРОЦЕСА ГАСТРОИНТЕСТИНАЛНОГ ТРАКТА**

Минералне воде се препоручују како у превентиве тако и терапијске сврхе код обољења органа за варење, као што су хронични гастритис, дуоденитис, ентеритис, улкусна болест желуца и дуоденума, стање после ресекције желуца због улкусне болести, хронични хепатитиси и почетна цироза јетре, билијарна дискинезија, констипација, стања после хируршког одстрањења камена из жучне кесе, хронични панкреатитиси и други (122).

**Гастритис и минералне воде.** Гастритис представља запаљење или оштећење желудачне слузнице. Посматрано са клиничког аспекта постоје два облика гастритиса, акутни и хронични. Једна од веома битних компоненти дијето-терапијских модалитета гастритиса у комбинацији са одговарајућом исхраном и физиотерапеутским процедурама, јесте и употреба минералних вода које помажу да се смањи упала слузнице желуца, нормализује функцију гастроинтестиналног тракта и метаболизма.

Код гастритиса са високом киселошћу, познато је да хлороводонична киселина разлаже храну која је апликована у желудац и иритира желудачну слузокожу изазивајући упалу и бол. У оваквом стању алкалне минералне воде ће помоћи да се санира негативно деловање хлороводоничне киселине. У најчешће коришћене минералне воде код овог облика гастритиса користе се сулфидне минералне воде и алкалне воде бикарбонатно натријумског порекла. Посматрано према температури користе се топле минералне воде, сат времена пре оброка како би се минерална вода већ излучила у црева и тиме апсорбовала вишак хлороводоничне киселине.

Код гастритиса са ниском киселошћу примењују се хладне натријум-хлоридне воде 15-20 минута пре оброка. Према литературним подацима у нефармаколошкој



терапији хроничног гстритиса препоручује се примена карбонатних магнезијум-калцијумових минералних вода (123-125).

**Панкреатитис и минералне воде.** Панкреатитис представља тешко абдоминално обољење које настаје као последица инфекције гуштераче што је праћено ослобађањем ензима гуштераче и њиховим продирањем у околно ткиво. Терапија панкреатитиса подразумева примену првенствено одговарајуће медикаментозне терапије, као основни вид лечења али и примену одговарајућих врста минералних вода, тј. адјувантни вид терапије који помаже у побољшавању варења, неутралисању хлороводоничне киселине, побољшавању одлива панкреасног сока.

Употреба минералне воде у терапији панкреатитиса је изузетно значајна. Међутим, од изузетно велике значајности је битно у ком периоду болести је најефикаснији применити употребу минералних вода. Тако, у акутној фази панкреатитиса не препоручује се примена минералних вода јер стимулишу прекомерну производњу ензима панкреаса, што може довести до погоршавања инфламације панкреаса. Али са превентивним и куративним циљем у хроничној форми болести у фази трајне ремисије, њихова примена ће бити врло корисна. Препоручени врсте минералне воде у терапији панкреатитиса су натријум-бикарбонатне, хидрокарбонатно-хлоридне и сулфатно-хидрокарбонатне воде (126-128).

**Обољења хепатобилијарног тракта и минералне воде.** Улога минералних вода у лечењу болести хепатобилијарног тракта као облик адјувантне терапије, огледа се у побољшавању антитоксичне функције јетре, интензивирању базалног метаболизма, смањењу инфламаторних процеса јетре, нормализацији активности ензима јетре и стимулације протеинско-синтетичке функције јетре. Врсте минералних вода које поседују терапијски ефекат код обољења урогениталног тракта су натријум-хлоридне и бикарбонатне минералне воде (129, 130).

## **6. МЕСТО МИНЕРАЛНИХ ВОДА У ТЕРАПИЈСКОМ АЛГОРИТМУ КАРДИОВАСКУЛАРНИХ ОБОЉЕЊА**

Кардиоваскуларна обољења која се у ширем смислу дефинишу као низ болести срца и крвних судова, представљају један од највећих узрок смрти широм света, међутим у току последње две деценије, стопе кардиоваскуларног морталитета процентуално су се смањиле у многим развијеним земљама, док су се повећале у земљама са ниским и средњим нивоом прихода. Процентуално смртност од кардиоваскуларних обољења износи 31% широм света, при чему је задњих година ризик од појаве кардиоваскуларних обољења порастао код жена (131). У главне факторе ризика за настанак и развој кардиоваскуларних обољења спадају хипертензија, повишен ниво холестерола у крви, старење, дијабетес, генетска предиспозиција и лоше навике као што су нездрава исхрана, конзумација цигарета, кафа, физичка неактивност, гојазност (132). Међутим, ризик од појаве кардиоваскуларних обољења може се драстично смањити редовном физичком активношћу, здравим стилем живота који подразумева елиминисање лоших навика и укључивање правилне и здраве дјете (133).

Минералне воде поседују како превентивно тако и терапијско дејство код кардиоваскуларних обољења као што су, артеријска хипертензија, коронарне артеријске болести, цереброваскуларни инсулт, артеријска хипертонија, рековалесценција реуматичног миокардитиса, итд.

### *Артеријска хипертензија и минералне воде*

Артеријска хипертензија представља главни независни фактор ризика за настанак кардиоваскуларних обољења и смрти. Такође, представља јавноздравствено питање и сматра се водећим узроком превременог морталитета и инвалидитета широм света (134, 135). Према смерницама Европског друштва за хипертензију и Европског удружења за кардиологију из 2007. године, хипертензија I стадијума дефинисана је вредностима крвног притиска 140-159 / 90-99. Терапија антихипертензивима код пацијената са хипертензијом I стадијума треба започети што је пре могуће. Циљ терапије је смањење крвни притисак на 140/90 mmHg.

Употреба термалних и минералних вода поседује веома добре како превентивне тако и терапијске мере код хипертензије. Претходне студије су показале да када је људско тело уроњено у термалну воду, због ефекта загревања, крвни судови се шире, отпор периферних крвних судова опада, ослобађање вазопресина у крв се смањује. Сви ови ефекти погодују смањењу крвног притисак (136, 137). Када је тело уроњено у воду, особа се налази у полу-плутајућем стању, што доводи до опуштања мишића и емоција, смањење кисеоника у миокарду, потрошње нивоа адреналних хормона, смањење активности ренин-ангиотензин система и смањења нивоа крвног притиска (138, 139). Кретање минералних честица у минералној води имају благо умирујући ефекат на периферне нервне завршетке, које стимулише вагусни нерв, што доводи до ширење периферних крвних судова и смањење крвног притиска. Претходне студије су показале да у минералне воде које поседују антихипертензивни ефекат спадају воде које садрже у себи радон (140), водоник-сулфид (141), или угљен-диоксид (142).

### *Коронарна артеријска болест и минералне воде*

Коронарна артеријска болест (исхемијска болест срца) представља болест срца која настаје као последица смањеног протока крви кроз срчане артерије, при чему се срчани мишић отежано снабдева кисеоником као последица болести. Најчешћи узрок овог облика кардиоваскуларног обољења је атеросклероза. Употреба минералних вода код овог облика болести, такође поседује профилактичка и терапијска својстава. Према литературним подацима, постоје студије које су се бавиле утицајем купки са угљен-диоксидом (које су се разликовале у укупним нивоима минерализације) на функционално стање кардиоваскуларног система пацијената тј. на клинички ток хипертензивне болести повезане са коронарном болести срца. Добијени подаци пружају увид у улогу концентрације соли (10 и 20 g/l) у води за купање са угљен-диоксидом (1,2 g/l) која се примењује код традиционалног третмана пацијената са хипертензијом и која је истовремено повезана са коронарном болешћу срца и патологијом мишићно-скелетног система. Резултати студије су показали да високо минерализована вода за купање има већи утицај на функционално стање кардиоваскуларног система узрокујући хипотензивни ефекат и израженији пад периферног васкуларног отпора. Купке са концентрацијом соли од 20 g/l значајно су смањиле бол и имале антиинфламаторни ефекат код пацијената са присутном патологијом потпорних и локомоторних органа (143).

Такође, постоје студије које су се бавиле утицајем минералних елемената и метала у траговима у минералним водама на патогенезу атеросклерозе, кардиоваскуларних болести и артеријске хипертензије. У подручјима са меком водом забележене су веће инциденце изненадне смрти, цереброваскуларних болести, артеријске хипертензије и коронарне болести.

Већи истраживачки напор посвећен је проблему у покушају проналажења заштитног фактора у тврдој води, или штетног фактора или елемента у мекој води. Показано је да се улоге калцијума, магнезијума, кобалта, литијума, ванадијума, силицијума, мангана и талијума сматрају потенцијално корисним, док улоге кадмијума, олова, сребра, цинка и антимона сматрају потенцијално штетним. Кобалту и цинку су приписане обе улоге (144).

## **7. МЕСТО МИНЕРАЛНИХ ВОДА У ТЕРАПИЈСКОМ АЛГОРИТМУ РЕУМАТСКИХ ОБОЉЕЊА**

Реуматске болести спадају групу системских хроничних запаљенских болести везивног ткива, које могу довести до инвалидности, и на тај начин битно утичу на квалитет живота, као и радну способност. Узрок и механизам настанка реуматских болести углавном није познат. У терапијске модалитете ових болести спада примена нестероидних антиинфламаторних лекова, чијим деловање се утиче на смањење отока и бола, али се не утиче значајно на ток болести. Такође, примена ових лекова поседује велики број нежељених ефеката. Међути, вековима коришћена, а у задње време све више примењивана и испитивана на научној основи, балнеотерапија је изборила своје место међу бројним мерама у лечењу и рехабилитацији болесника са реуматским болестима. Од минералних вода у терапијске сврхе овог обољења се примењују натријум-хлоридне, сулфидне и радонове воде, са трајањем терапијске процедуре 10-15 мин и температуром купке 36-37°C (145-147).

## **8. ОПШТЕ ОДЛИКЕ И ТЕРАПИЈСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ СА ИЗВОРИШТА „СНЕЖНИК-1/79“**

Србија поседује више од хиљаду извора минералних вода и више од четрдесет бања, од којих велики број датира још и далеког римског доба. Свака бања огледа се јединственошћу и поред лечења многобројних здравствених обољења, већина њих представља омиљене и популарне туристичке дестинације током целе године. У једене од најспецифичнијих бања наше земље и према лековитим дејствима њихових вода убрајају се Врњачка бања, Соко бања, Пролом бања, Бања Ждрело, Атомска бања, Куршумлијска бања, Јошаничка бања, Рибарска, Буковичка бања, Матарушка бања, Бања Врујци, Овчар бања, Нишка бања, бања Ковиљача, Бања Врдник, итд.

### **8.1. Опште карактеристике и терапијски потенцијал лековитих вода Врњачке бање**

Врњачка бања локализована је у централној Србији, припада Рашком округу, окружена шумовитим обронцима планине Гоч. Поседује лековита својстава минералних вода у терапијској примени код обољења као што су дијабетес, обољења дигестивног тракта, реуматских, кардиоваскуларних болести и обољења различитих облика кожних болести (148-153).

Познато је да Врњачка бања поседује 7 познатих извора минералних вода:

- Топли минерални извор
- Снежник
- Слатина
- Језеро
- Бели извор
- Борјак
- Врело

Од поменутих извора за балнеолошку терапију се користе четири и то Топла вода, Снежник, Слатина и Језеро док се две флаширају као стоне минералне воде (Вода Врњци са извора Топла вода и Врњацко Врело).

**Топли минерални извор (тзв. Топла вода)**, смештен у централном бањском језгру и представља најстарији и најпознатији извор минералне воде, који је судећи по археолошким налазима, био позната још у праисторији, а потом коришћен и у римском периоду од I до IV века наше ере. Вода спада у групу алкалних угљенокиселих хомеотерми (148). На основу особина боје, мутноће, минерализације, рН вредности, хемијског састава, садржаја угљен-диоксида и температуре, Топли минерални извор представља натријум хидрокарбонатну безбојну, прозачну, слабо минерализовану, слабо киселог рН, хомеотерму, температуре 36,6 °C (148).

**Слатина** се налази у зони Липовачке реке Врњачке бање, позната још од краја 19. века. Вода спада у групу алкалних-земноалкалних акротопега. На основу особина боје, мутноће, минерализације, рН вредности, хемијског састава, садржаја угљен-диоксида и температуре, вода са извора Слатина је жута, слабо мутна, натријум хидрокарбонатна, слабо минерализована, слабо киселог рН, угљенокисела, хладна, температуре 14 °C (148).

**Извор Језеро** смештен је у долини између "Снежника" и "Слатине, датира још од 1978. године, спада у групу алкалних-земноалкалних угљенокиселих хипотерми. Слабо жуте и прозачне боје, натријум хидрокарбонатна, слабо минерализована, слабо киселог рН, хипотерма, температуре 25.5 °C (148).

**Бели Извор** представља слабо жуту, прозачну, натријум-калцијум хидрокарбонатну, слабо минерализовану воду, слабог киселог рН, хипотерма, температуре 29.5 °C (148).

**Вода са извора Борјак** је слабо жута, слабо мутна, натријум-калијум хидрокарбонатна, слабо минерализована, слабо киселог рН, хладна, температуре 16.0 °C (148).

## 8.2. Извор Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања)

Извор Снежник је локализован у зони Врањске реке. Иако се за овај извор знало још крајем 19. века, он није коришћен све до 1916. године када се појавила заинтересованост аустроугарских официра за извориште. Завршетком Првог светског рата, извориште је почело да се употребљава у лековите сврхе. 1920. године извор Снежник је уређен и подигнута чесма поводом захвалности од изцелења учитељице Даринке Цавдаровић Телебаковић. Као последица повећане потребе за коришћење ове врсте воде и њеног лековитог потенцијала условило је да се ускоро изврши рекаптаж и моогућило да се користи као лечилиште, изазивајући интересовање и привлачећи велики број туриста (154).

### 8.2.1. Физичко – хемијске особине воде са извора Снежник

Ова врста минералне воде, ниског садржаја минерала, спада у групу алкалних-земноалкалних угљенокиселих акротопега. Слабо је жуте боје, без мириса, прозачна, укупне тврдоће 22.0°dH, сатурације кисеоника 32.0%, сувог остатка на 180°C = 10790.0 mg/L, натријум-калцијум-магнезијум хидрокарбонатна, слабо минерализована, слабо киселог рН (рН = 6.7), хипотерма, температуре 20.0 °C. Од доминантних макрокомпонената воде са извора Снежник спадају натријум, калијум, калцијум и магнезијум. Као што је поменуто укупна тврдоћа воде извора Снежник износи 22.0°dH, што говори да овај вид воде спада у категорију тврдих вода (148, 154) (Табела 5).

**Табела 5.** Физичко-хемијске особине и садржај микро – и макроелемената воде са извора Снежник.

Карактеристике за испитивање	Метода испитивања	Јединица мере	Резултат
Боја (степени Со-РТ SKALE)	метода ZZ 201	NTU	<5
Мутноћа	метода ZZ 204	mg/L	1.0
Потрошња KmnO <sub>4</sub>	метода III 7	mg/L	3.15
Амонијак (NH <sub>3</sub> )	метода ZZ 208	mg/L	0.046
Температура	SRPS H.Z 1 106:1970	°C	20.0
Трихалометани	метода ZZ 213	mg/L	<0.02
Бромдихлорметан	метода ZZ 213	mg/L	<0.001
Бромоформ	метода ZZ 213	mg/L	<0.002
Дибромхлорметан	метода ZZ 213	mg/L	<0.001
Алуминијум	метода ZZ 230	mg/L	<0.1
% Сатурације кисеоником	SRPS ISO 5813:1994	%	32.0
Тетрахлоретилен	метода ZZ 213 bb 216	mg/L	<0.005
Трихлоретен	метода ZZ 219	mg/L	<0.001
Хлороформ	метода II 5	mg/L	<0.01
Растворени кисеоник	метода ZZ 208	mgO <sub>2</sub> /L	2.9
Раствор ортофосфати	метода bb 216	mg/L	<0.10
Никал	метода ZZ 219	mg/L	<0.01
Мирис	метода II 5		без
Суви остатак	метода ZZ 208	mg/L	1079.0
Електропроводљивост	метода ZZ 202	µS/cm	1 690
рН	SRPS H.Z 1 111:1987		6.7
Натријум	метода ZZ 221b	mg/L	187.5

Калијум	метода ZZ 221b	mg/L	27.3
Калцијум	метода III 1	mg/L	80.1
Магнезијум	метода ZZ 221d	mg/L	34.9
Гвожђе	метода ZZ 222a	mg/L	0.42
Манган	метода ZZ 220	mg/L	0.095
Бакар	метода ZZ 220	mg/L	<0.01
Цинк	метода ZZ 221b	mg/L	<0.05
Арсен	метода ZZ 221b	mg/L	<0.01
Баријум	метода ZZ 221d	mg/L	<0.5
Кадмијум	метода ZZ 220	mg/L	<0.002
Олово	метода ZZ 220	mg/L	<0.01
Жива	метода ZZ 221d	mg/L	<0.001
Нитрати	метода ZZ 206	mg/L	<1.0
Нитрити	метода ZZ 207	mg/L	<0.005
Флуориди	метода ZZ 210	mg/L	1.09
Хлориди	SRPS ISO 9297:1997	mg/L	32.0
Сулфати	метода ZZ 245	mg/L	28.1
Сулфиди	метода ZZ 223	mg/L	<0.004
Цијаниди	метода ZZ 211	mg/L	<0.01
Бикарбонати	метода III16	mg/L	1.098.0
Растворени угљендиоксид	метода III14	mg/L	464.0
Феноли	метода ZZ 242	mg/L	<0.005
Детерџенти (анјонски) раств.	метода ZZ 209	mg/L	<0.08
Алдрин	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
Диелдрин	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
ДДТ	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
Хептахлор	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
Хептахлорепоксид	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
Линдан	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
Трифлуралин	метода ZZ 215	µg/L	<0.005
2, 3 Дихлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 4, 4' Трихлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 4, 5 Трихлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 2', 5, 5' Тетрахлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 2', 4, 5, 5' Пентахлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 2', 3, 4, 5, 5' Хексахлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 2', 4, 4', 5, 5' Хексахлоробифенил	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' Хептан	метода ZZ 215	mg/L	<0.0001
Арохлор 1254, 1260	метода ZZ 215	mg/L	<0.0005
Алкалитето, IM, HCl	метода III2	mg/L	180.0
Укупна тврдоћа	метода III15	°dH	22.0
Силикати (SiO <sub>2</sub> , SiO <sub>3</sub> )	метода ZZ 224	mg/L	59.4
Хром (укупни)	метода ZZ 220b	mg/L	<0.02
Метолахлор	метода ZZ 314	µg/L	<0.005

### 8.2.2. Бактериолошка анализа воде са извора Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања)

Бактериолошке анализе воде са изворишта Снежник могу се окарактерисати као бактериолошки исправне воде за конзумацију. Вредности бактериолошке анализе су једнаке или ниже од 1 (148) (Табела 6).

Појава мезофилних бактерија у води представља добар показатељ нефекалне контаминације воде и може се користити за дугорочну процену од здравственог ризика. С друге стране, сојеви *Clostridia-e* који редукују сулфите могу потицати са извора фекалних отпадних вода, тако да присуство ових бактерија у узорку воде може указивати на фекалну контаминацију.

**Табела 6.** Бактериолошке анализе минералне воде са извора Снежник (148)

Узорак воде	Број аеробних мезофилних бактерија на 22 °C* (CFU/mL)	Број аеробних мезофилних бактерија на 37 °C (CFU/mL)	Клостридија** (CFU/50 mL)
Извор Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања)	1	1	<1

\* Максимално дозвољене вредности: : 20 CFU/mL на 22 °C; тј. 5 CFU/mL на 37 °C.

\*\* Максимална дозвољена вредност: 0 CFU/50 mL.

### 8.2.3. Терапијски потенцијал минералних вода са изворишта Снежник Сж-1/79 (Врњачка Бања)

Познато је да третман минералним водама преузима примат у терапијском алгоритму нарочито у стањима када употреба конвенционалних фармаколошких агенаса није дала одговарајуће резултате (155-158).

Будући да су резултати независних анализа више Института за јавно здравље на територији Републике Србије показали да се у води из бунара Снежник, Сж-1/79 (Врњачка Бања) налазе физиолошки значајне концентрације натријума, магнезијума, хлорида, калцијума, калијума, бикарбоната, и флуорида, (чији је однос идеално избалансиран) претпоставља се да би свакодневни унос ове воде могао да буде од значаја за одржавање физиолошке функције гастроинтестиналног, хепатобилијарног и уринарног система, али и да оствари позитивне ефекте у различитим патофизиолошким стањима (гастроинтестиналне, хепатобилијарне болести, болести уринарног система, дијабетес мелитус исл.).

Према свим претходно наведеним чињеницама у индикације терапијског потенцијала минералних вода Врњачке бање као и терапијског потенцијала минералне воде ниског садржаја минерала са изворишта Снежник, код одраслих особа спадају:

- Обољења гастроинтестиналног тракта: акутно и хронично запаљење желуца и дванаестопалачног црева, акутно и хронично запаљење једњака, рефлуксана болест једњака, стања после ресекције желуца и дванаестопалачног црева, поремећаји варења, укусна болест желуца и дванаестопалачног црева без

компликација и запаљенске и функционалне болести танког и дебелог црева (улцерозни колитис, Кронува болест, ентеритиси, ентероколитиси, иритабилни колон, пострадијациони колитис).

- Болести бубрега и мокраћних путева: токсична оштећења бубрега и хронично запаљење простате, стања после хируршког одстрањења калкулуса и операције мокраћних путева, хронична запаљења мокраћних путева, микролитијаза, литијаза код постоји могућност спонтане елиминације калкулуса.
- Обољења хепатобилијарног тракта и панкреаса: почетни стадијуми хипертрофичне цирозе јетре, реконвалесценција после акутног инфективног и токсичног запаљења јетре, хронична запаљења јетре, хронично некалкулозно запаљење жучне кесе и жучних путева, хронично запаљење гуштераче без склоности ка честим погоршањима.
- Кардиоваскуларне болести: повишен крвни притисак (лакши облици у стабиллизованом стању) и хронична обољења периферног крвотока.
- Болести метаболизма: шећерне болести (лакши и средње тешки облици) и гојазност.
- Реуматолошка обољења: ванзглобни реуматизам, дегенеративни реуматизам и хронични запаљенски реуматизам у фази ремисије. Посттрауматска и постоперативна стања.
- Гинеколошка обољења: хронична запаљења унутрашњих гениталних органа у фази ремисије, функционални поремећаји и стања после хируршких интервенција.
- Болести хематопоезног система: сидеропенијске анемије и анемије услед хипохлорхидрије (148, 154, 159).

Коришћење минералних вода у ове сврхе је међутим већим делом засновано на теоријским претпоставкама (које узимају у обзир однос њиховог минералног састава и патофизиолошког субстрата у оквиру неке болести) а много мање на релевантним подацима базичних и клиничких истраживања. Већина података који указују да одређени типови ових вода могу ублажити прогресију различитих болести па чак бити повезане и са потпуном ремисијом тегоба долазе из неакадемских и научно неутемељених извора. Осим тога, механизми путем којих се остварују ова позитивна дејства су готово непознати.

На овим чињеницама се и заснива оправданост испитивања минералних вода најпре на анималним моделима како би се обезбедили адекватни подаци који би усмерили правце дизајнирања студија на људима.

На основу свега изнетог до сад нису постојала испитивања која су се бавила испитивањем ефеката употребе минералне воде "Снежник" на поремећаје различитих органских система, користећи анималне моделе болести код пацова.

Једна од ретких експерименталних студија из ове тематике се бавила проценом ефеката природно минералне воде ниског садржаја минерала са извора „Снежник-1/79“ на гликемију, као и функцију срца код пацова са дијабетес мелитусом типа 2 са посебним нагласком на улогу оксидационог стрес (159). Ова студија је показала да 4-недељно коришћење ниско-минералне воде са извора „Снежник-1/79“ има важну улогу у регулацији гликемије, мењајући редокс-стање у корист повишеног антиоксидативног капацитета без утицаја на рад срца (159). На основу наведених налаза може се закључити да ниско-минерална вода са извора „Снежник-1/79“ има потенцијал употребе у превентивном или у облику адјувантне терапијске стратегије у лечењу дијабетес мелитуса тип 2.



# **II**

## **ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА**

## 2.1 Циљеви истраживања

### Главни циљ

Испитати ефекте употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на морфолошке и функционалне промене кардиоваскуларног, гастроинтестиналног, хепатобилијарног и уринарног система код пацова користећи одговарајуће моделе болести ових органских система.

### Специфични циљеви

- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на функцију изолованог срца дијабетичних пацова.
- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на формирање запаљенских промена желуца пацова са хемијски индукованим гастритисом.
- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на настанак запаљенских промена колона пацова са хемијски изазваним улцерозним колитисом.
- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на формирање запаљенских промена јетре пацова са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом.
- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на настанак запаљенских промена гломеруло-тубулског система пацова са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом.
- Испитати утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на формирање запаљенских промена панкреаса пацова са индукованим панкреатитисом.
- Мерењем маркера оксидационог статуса утврдити улогу оксидационог стреса као потенцијалног механизма путем кога поменута вода остварује своје ефекте у свим наведеним патофизиолошким стањима.

## 2.2 Хипотезе истраживања

- Очекује се да употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" неће пореметити функцију изолованог срца дијабетичних пацова.
- Очекује се да ће употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезана са ублажавањем запаљенских промена желуца пацова са хемијски индукованим гастритисом.
- Очекује се да ће употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезана са ублажавањем запаљенских промена колона пацова са хемијски изазваним улцерозним колитисом.
- Очекује се да ће употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезана са ублажавањем запаљенских промена јетре пацова са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом.
- Очекује се да ће употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезана са ублажавањем запаљенских промена гломеруло-тубулског система пацова са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом.
- Очекује се да ће употреба минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезана са ублажавањем запаљенских промена панкреаса пацова са хемијски индукованим панкреатитисом.
- Претпоставља се да ће коришћење минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" бити повезано са променама оксидационог статуса пацова којима су индуковани наведени патофизиолошки поремећаји чиме ће се разјаснити један од механизма путем кога поменута вода утиче на испитивана стања.

# **III**

## **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ**

### 3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Истраживање је дизајнирано као експериментална студија на материјалу анималног порекла у *in vivo* и *ex vivo* условима. Све експерименталне процедуре су спроведене у лабораторији за кардиоваскуларну физиологију Института за Физиологију, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

### 3.2. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Истраживање је обухватило 112 пацова мушког пола (*Wistar albino* сој, телесне масе  $250 \pm 20$  g, старости 8 недеља). Експерименталне животиње су чуване у строго контролисаним условима виваријума (температура  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , циклус светлост:тама 12:12 часова), док су вода и храна били доступни у довољној количини како би их животиње узимале према потреби (*ad libitum*). Поступање са животињама као и све експерименталне процедуре су се одвијале у складу са прописаним актима (EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC) и принципима етике. Осим тога, истраживање је одобрено од стране Управе за ветерину Министарства за пољопривреду, шумарство и водопривреду (број 323-07-01398/2018-05) и Етичке комисије за заштиту добробити лабораторијских животиња Факултета медицинских наука (број 01-1099/1).

### 3.3. УЗОРКОВАЊЕ

Животиње су методом случајног узорка сврстане у укупно 14 експерименталних група (по 8 животиња у свакој групи). Разврставање у групе је спроведено у складу са типом патофизиолошког поремећаја односно органом који се испитује:

1. група: здрави, нормогликемични пацови, који су користили стандардну храну и воду (ознака: здрави + обична вода (ОВ))
2. група: здрави, нормогликемични пацови, који су користили воду "Снежник" уз стандардну храну (ознака: здрави + "Снежник" вода (СВ))
3. група: дијабетични, хипергликемични пацови, који су користили храну богату мастима и стандардну воду (ознака: DM + обична вода (ОВ))
4. група: дијабетични, хипергликемични пацови, који су користили храну богату мастима и воду "Снежник" (ознака: DM + "Снежник" вода (СВ))
5. група: пацови са хемијски индукованим гастритисом, који су користили стандардну воду за пиће (ознака: здрави + обична вода (ОВ))
6. група: пацови са хемијски индукованим гастритисом који су користили воду "Снежник" (ознака: гастритис + "Снежник" вода (СВ))
7. група: пацови са хемијски индукованим колитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: колитис + обична вода (ОВ))
8. група: пацови са хемијски индукованим колитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: колитис + "Снежник" вода (СВ))

9. група: пацови са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: хепатитис + обична вода (ОВ))
10. група: пацови са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: хепатитис + "Снежник" вода (СВ))
11. група: пацови са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: гломерулонефритис + обична вода (ОВ))
12. група: пацови са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом који су користили воду "Снежник" (ознака: гломерулонефритис + "Снежник" вода (СВ))
13. група: пацови са хемијски изазваним панкреатитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: панкреатитис + обична вода (ОВ))
14. група: пацови са хемијски изазваним панкреатитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: панкреатитис + "Снежник" вода (СВ))

Животиње из свих група би биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

### 3.4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОТОКОЛИ

#### 3.4.1. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на функцију миокарда и оксидациони стрес пацова са изазваним дијабетес мелитусом типа 2

На почетку експерименталног протокола је изазвано хипергликемијско стање које је по својим одликама било најсличније дијабетес мелитусу типа 2. Наиме, потребно је било сачувати бета ћелије панкреаса у одређеном проценту како би минерална вода имала субстрат на кога ће деловати. Протокол изазивања дијабетеса типа 2 је подразумевао комбиновани третман Стрептозотоцином (30mg/kg, *i.p.* једнократно) и специјалном масном храном која је била богата трансмасним киселинама (*high fat diet*, током четири недеље). Пре индукције дијабетеса пацови су гладовали током 12 часова. Стрептозотоцин је био растворен у 1 ml 0.05 M раствора цитратног пуфера рН 4.5 убрзо након вађења из фрижидера. На овај начин администрације се избегава утицај само раствора стрептозотоцина на потенцијалне ацидо-базне поремећаје, јер је раствор овог агенса изразито кисео. Овакав модел омогућава развој хипоинсулинемијског дијабетеса без кетозе и значајног електролитног дисбаланса (160).

Администрација је била спроведена једнократном интраперитонеалном инјекцијом Стрептозотоцина (30mg/kg) у дорзалном положају у каудални део абдоминалне шупљине након дезинфекције места убода повидон јодом. Гликемија преко 7 mmol/l 72 часа након терапије сматрала се доказом за постојање дијабетеса типа 2. Само животиње са овим вредностима гликемије биле су укључене у даљи ток експеримента. Гликемије су биле одређиване наташте (након дванаесточасовног гладовања) пункцијом репне вене употребом класичног апарата марке *Accu-Chek perform* (произвођач *Roche*, Швајцарска). Гликемија се пратила сваке недеље, у два мерења.

Након потврде хипергликемије, животињама је стандардна лабораторијска храна била замењена исхраном која је богата мастима (*high fat diet*: стандардна храна обогаћена са 20% сунцокретовог уља и 1,5% холестерола). Поред тога, експерименталним групама се уместо стандардне воде за пиће из водовода, давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79". Све животиње су на овај начин биле сврстане у 4 групе (n=32, по 8 животиња у групи):

1. група: здрави, нормогликемични пацови, који су користили стандардну храну и воду (ознака: здрави + обична вода (ОВ))
2. група: здрави, нормогликемични пацови, који су користили воду "Снежник" уз стандардну храну (ознака: здрави + "Снежник" вода (СВ))
3. група: дијабетични, хипергликемични пацови, који су користили храну богату мастима и стандардну воду (ознака: DM + обична вода (ОВ))
4. група: дијабетични, хипергликемични пацови, који су користили храну богату мастима и воду "Снежник" (ознака: DM + "Снежник" вода (СВ))

Животиње из свих група су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79". На дневном нивоу се пратио унос воде и хране, док се на недељном нивоу мерила гликемија и телесна тежина (у два мерења).

Након периода третмана и праћења, животиње су жртвоване ради узимања узорака крви (за одређивање параметара оксидационог стреса) и изоловања срца (ради испитивања његове функције). Непосредно пре експеримента, у циљу спречавања коагулације крви, животињама је био апликован хепарин (50 $\mu$ l/500U). По анестезирању (кетамин/ксилазин, 10mg/5mg/kg тт.) животиње су жртвоване декапитацијом на гиљотини. Овом приликом се сакупљала свежа, пуна крв у стандардне хепаринизирани епрувете. Потом се приступило ургентној торакотомији и изоловању срца. Након изоловања и препарисања, срце је било перфундовано према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по Langendorff-у. Након успостављања стабилног срчаног рада, пласирањем сензора (*transducer BS4 73-0184*, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary) у леву комору праћени су следећи функционални параметри леве коморе:

1. dp/dt max - максимална стопа промене притиска у левој комори,
2. dp/dt min - минимална стопа промене притиска у левој комори,
3. SLVP - систолни притисак леве коморе,
4. DLVP - дијастолни притисак леве коморе,
5. HR - срчана фреквенца

Коронарни проток (CF) се мерио флоуметријском методом.

Функција миокарда и коронарна ауторегулација се испитивала при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH<sub>2</sub>O, затим 80 cmH<sub>2</sub>O, 100 cmH<sub>2</sub>O, 120 cmH<sub>2</sub>O и на крају 40 cmH<sub>2</sub>O, док су се за сваку вредност перфузионог притиска регистровани параметри функције леве коморе и одређивао коронарни проток.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента, за сваку вредност перфузионог притиска, спектрофотометријским методама су се одређивали следећи биомаркери оксидационог стреса:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS (161)
2. азот моноксид у форми нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) (162)
3. супероксид анјон радикал ( $\text{O}_2^-$ ) (163)
4. водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (164)

Поред тога, у прикупљеним узорцима крви су одређивани параметри системског редокс статуса, путем мерења нивоа про-оксидационих параметара (TBARS-а,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и компоненти антиоксидационог система заштите: супероксид дисмутаза (SOD) (165), каталаза (CAT) (166) и редуковани глутатион (GSH) (167).

Сви поменути биомаркери су одређивани коришћењем спектрофотометријске методе на апарату марке Shimatzu UV-1800, Јапан.

#### **3.4.2. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене желуца пацова**

Задатак овог дела истраживања је био да се формирају гастричне упалне лезије желуца које су по свом патофизиолошком субстрату и клиничкој слици што је могуће компатибилније са хуманом популацијом. Овакав приступ је од велике важности због анализе резултата односно обезбеђивања клиничког значаја саме студије. У сврху изазивања оваквог типа гастритиса животињама је током 4 недеље *per os* апликован етанол растворен у води за пиће (80% (v/v) етанола у дози од 8 ml/kg), у складу са дизајном за кога је литературно доказано да индукује гастричне запаљенске лезије (168). Пре индукције гастритиса пацови су гладовали током 12 часова. Поред тога, одговарајућој групи (група 2) се уместо стандарне воде за пиће из водовода, током четири недеље давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79".

На овај начин све животиње су биле сврстане у 2 групе (n=16, по 8 животиња у групи):

1. група: пацови са хемијски индукованим гастритисом, који су користили стандардну воду за пиће (ознака: здрави + обична вода (ОВ))
2. група: пацови са хемијски индукованим гастритисом који су користили воду "Снежник" (ознака: гастритис + "Снежник" вода (СВ))

Животиње из обе групе су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

Након периода третмана и праћења, животиње су жртвоване ради узимања узорака крви (за одређивање параметара оксидационог стреса) и изоловања желуца (ради испитивања његове морфологије односно патохистолошких анализа). Непосредно пре експеримента, у циљу спречавања коагулације крви животињама је био апликован хепарин (50 $\mu$ l/500U). Након анестезирања (кетамин/ксилазин, 10mg/5mg/kg тт.) животиње су жртвоване декапитацијом којом приликом се сакупила свежа, пуна крв у стандардне хепаринизирани епрувете. Потом се приступило ургентној лапаратомији и изолацији желуца.



Изоловани желуци пацова прво су измерени а након тога је уследила обрада узетих органа по специјалним протоколима за хистолошку анализу. Узети органи прво су фиксирани у 4% неутралном параформалдехиду (PFA) на собној температури током 24h. По завршеној фиксацији, узорци ткива су дехидратисани провођењем кроз серију алкохола растуће концентрације (30%, 50%, 70%, 96% и 100%), просветљавани у ксилолу и калушљени у парафину. Попречни серијски пресеци, дебљине 5  $\mu$ m сечени су на ротационом микротому. Добијени пресеци сушили су се на собној температури неколико дана, након тога су депарафинисани у ксилолу и рехидрирани у опадајућим концентрацијама алкохола (100%, 96% и 70%), испирани у води, а потом бојени Наематохулин-ом по Мауер-у, и 2% раствором еозина. Ткивни пресеци су након бојења дехидратисани, просветљени у ксилолу и монтирани на плочице са Канада балзамом према стандардном протоколу (169). Пресеци ткива патохистолошки су анализирани на светлосном микроскопу на великом увећању.

У прикупљеним узорцима крви су одређивани следећи маркери за процену системског редокс статуса: концентрације про-оксидационих параметара (индекс липидне пероксидације (TBARS), азот моноксид у облику нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), супероксид анион радикал ( $\text{O}_2^-$ ), водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )) и активност компоненти антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH).

### **3.4.3. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене колона пацова**

Овај експериментални протокол је намењен за изазивање запаљенске лезије колона које су по свом патофизиолошком субстрату и клиничкој слици у задовољавајућој мери аналогне улцерозном колитису код људи. Ради индукције поменутог облика колитиса пацовима је током два дана са паузама од 24 сата између апликација трансректално администрирана сирћетна киселина (2 ml 4% раствора сирћетне киселине) у складу са претходним протоколом за кога је литературно доказано да индукује колитичне лезије по типу улцерозног колитиса (170). Пре самог започињања експеримента пацови су гладовали током 12 часова. Како би биле лишене стреса на самом почетку индукције животиње су биле подвргнуте општој анестезији (кетамин-ксилазин, 10mg/kg-5mg/kg, интраперитонеална ињекција једнократно), док је за апликацију коришћен мекани педијатријски катетер (пречника 2.7 mm).

Након апликације пацови су остављени 30 минута у лежећем положају како би се превенирало истицање примењеног агенса. Осим тога, одговарајућој групи (група 2) се уместо стандарне воде за пиће из водовода, током четири недеље давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79".

На овај начин све животиње су биле сврстане у 2 групе (n=16, по 8 животиња у групи):

1. група: пацови са хемијски индукованим колитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: колитис + обична вода (ОВ))
2. група: пацови са хемијски индукованим колитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: колитис + "Снежник" вода (СВ))

Животиње из обе групе су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

Након периода третмана и праћења, животиње су жртвоване ради узимања узорака крви (за одређивање параметара оксидационог стреса) и изоловања колона (ради патохистолошких анализа). Непосредно пре експеримената, у циљу спречавања коагулације крви животињама је био апликован хепарин (50 $\mu$ l/500U). Након анестезирања (кетамин/ксилазин, 10mg/5mg/kg тт.) животиње су жртвоване декапитацијом после чега је сакупљена свежа, пуна крв у стандардне хепаринизирани епрувете. Потом се приступило ургентној лапаратомији и изолацији колона. Изоловани колони пацова су измерени а након тога је уследила обрада узетих органа по претходно описаним протоколима за хистолошку анализу.

У прикупљеним узорцима крви су одређивани следећи маркери за процену системског редокс статуса: концентрације про-оксидационих параметара (индекс липидне пероксидације (TBARS), азот моноксид у облику нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), супероксид анион радикал (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), водоник пероксид (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) и активност компоненти антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH).

#### **3.4.4. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене јетре пацова**

У овом делу студије су изазване запаљенске лезије јетре које по свом патофизиолошком субстрату и клиничкој слици одговарају алкохолној болести јетре код људи. На овај начин се постиже задовољавајући степен аналогичности са хуманом популацијом код које је алкохолно запаљење јетре један од главних узрочника цирозе. У циљу изазивања поменутог облика хепатитиса пацовима је током четири недеље интрагастричном гаважом апликован етанол у дози од 0.6 ml (0.5 gm)/100 gr/дан. Примењени протокол је изабран на основу литературних података који су показали да се на овај начин изазивају очекиване односно тражене лезије јетре (171). Пре самог започињања експеримента пацови су гладовали током 12 часова.

Поред тога, одговарајућој групи (група 2) се уместо стандарне воде за пиће из водовода, током четири недеље давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79".

На овај начин све животиње су биле сврстане у 2 групе (n=16, по 8 животиња у групи):

1. група: пацови са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: хепатитис + обична вода (OB))
2. група: пацови са хемијски индукованим алкохолним хепатитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: хепатитис + "Снежник" вода (CB))

Животиње из обе групе су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

Након периода третмана и праћења, животиње су жртвоване ради узимања узорака крви (за одређивање параметара оксидационог стреса) и изоловања јетре (ради патохистолошких анализа). Непосредно пре експеримената, у циљу спречавања коагулације крви животињама је био апликован хепарин (50 $\mu$ l/500U). Након анестезирања (кетамин/ксилазин, 10mg/5mg/kg тт.) животиње су жртвоване

декапитацијом после чега се сакупљала свежа, пуна крв у стандардне хепаринизирани епрувете. Потом се приступило ургентној лапаратомији и изолацији јетре. Изоловане јетре пацова су измерене а након тога је уследила обрада узетих органа по претходно описаним протоколима за хистолошку анализу. У прикупљеним узорцима крви су одређивани сви претходно поменути биомаркери оксидационог статуса.

#### **3.4.5. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене бубрега пацова**

Задатак овог дела истраживања је био да се изазову упални процеси гломерула и тубулског система који су по свом патофизиолошком субстрату и клиничкој слици блиски гломерулонефритису код људи. На овај начин се обезбедио респектабилан ниво аналогије са хуманом популацијом и тиме пожељан клинички значај. У сврху индуковања поменутог облика гломерулонефритиса пацовима је током четири недеље интраперитонеално апликован говеђи серумски аблумин у дози од 2 mg/kg телесне тежине на дан. Примењени протокол је изабран на основу литературних података који су показали да се на овај начин изазивају тражене лезије гломерула и тубулског система (172).

Одговарајућој групи (група 2) се уместо стандарне воде за пиће из водовода, током четири недеље давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79".

На овај начин све животиње су биле сврстане у 2 групе (n=16, по 8 животиња у групи):

1. група: пацови са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: гломерулонефритис + обична вода (OB))
2. група: пацови са хемијски изазваним мембранозним гломерулонефритисом који су користили воду "Снежник" (ознака: гломерулонефритис + "Снежник" вода (CB))

Животиње из обе група су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

Изоловање и припрема ткива бубрега за патохистолошку анализу као и прикупљање крви за одређивање вредности параметара оксидационог стреса су изведени на претходно изложен начин.

#### **3.4.6. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене панкреаса пацова**

У овом делу студије су индуковане запаљенске лезије панкреаса које су по свом патофизиолошком субстрату и клиничкој слици блиске хроничним запаљенским променама панкреаса код људи. На овај начин се омогућио висок степен аналогије са хуманом популацијом код које је један од најчешћих запаљенских механизма овог органа управо коришћење масне хране и/или екстензивно конзумирање алкохола. У циљу изазивања поменутог облика панкреатитиса пацови су током четири недеље конзумирали храну са високим садржајем масти (комерцијална храна обогаћена са 25% липида: 25% липиди, 15% протеини, 51% скроб, 5% влакна) уз истовремену интрагастричну гаважу етанола у дози од 0.6 ml (0.5 gm)/100 gr/дан. Примењени

протокол је изабран на основу литературних података који су показали да се на овај начин изазивају очекиване лезије панкреаса. Пре самог започињања експеримента пацови су гладовали током 12 часова (173).

Одговарајућој групи (група 2) се уместо стандарне воде за пиће из водовода, током четири недеље давала минерална вода из изворишта "Снежник-1/79". На овај начин животиње су биле сврстане у 2 групе (n=16, по 8 животиња у групи):

1. група: пацови са хемијски изазваним панкреатитисом који су користили стандардну воду за пиће (ознака: панкреатитис + обична вода (ОВ))
2. група: пацови са хемијски изазваним панкреатитисом који су користили воду "Снежник" (ознака: панкреатитис + "Снежник" вода (СВ))

Животиње из обе групе су биле праћене током четири недеље колико је и трајао третман водом из изворишта "Снежник-1/79".

Изоловање и припрема ткива панкреаса за патохистолошку анализу као и прикупљање крви за одређивање вредности параметара оксидационог стреса су изведени на претходно изложен начин.

### **3.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА**

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно публиковане студије сличног дизајна (174). За прорачун је коришћен *t*-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (175). Узимајући у обзир резултате ове студије, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 84 (по 6 у свакој групи). Међутим, због могућности искључења експерименталних животиња из завршне анализе, укупни студијски узорак је утврђен на 112 експерименталне животиње (по 8 у свакој групи).

### **3.6. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА**

За статистичку обраду резултата је коришћен статистички програм *SPSS 20.0 for Windows*. Процена нормалности расподеле података извршена на основу *Shapiro-Wilk* теста. Од метода аналитичке статистике за поређење нумеричких обележја посматрања између група коришћен је *Mann-Whitney* тест. За поређење просечних вредности параметарских обележја користила се анализа варијансе (*ANOVA*) као и непараметријски *Kruskal-Wallis* тест, у зависности од расподеле података. Добијени резултати су приказани табеларни и графички. Вредност  $p < 0,05$  је означавала статистичку значајност, а вредност  $p < 0,01$  високу статистичку значајност.

# **IV**

# **РЕЗУЛТАТИ**

## 4.1. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на функцију миокарда и оксидациони стрес пацова са изазваним дијабетес мелитусом типа 2

### 4.1.1. Унос хране и воде

Резултати истраживања су показали да је унос воде код обе групе дијабетичних пацова био приближно исти до 15. дана праћења, да би потом до краја студије унос воде у групи која је конзумирала "Снежник" воду била нижа, са статистичком значајношћу почевши од 22. дана (График 1). Ови резултати индикују да настала редукција уноса воде у "Снежник" групи може бити последица смањења полиурије односно полидипсије тј. ублажавања симптома дијабетеса.

Унос хране се није разликовао између група дијабетичних пацова током периода праћења (График 2). Ипак, током последњих пет дана праћења у групи пацова која је конзумирала "Снежник" воду примећено је статистички несигнификантно смањење уноса хране, што такође може да укаже на бољу периферну сензибилност на глукозу и у корелацији је са претходним налазима.

График 1. Просечан унос воде током периода праћења (по пацову). DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

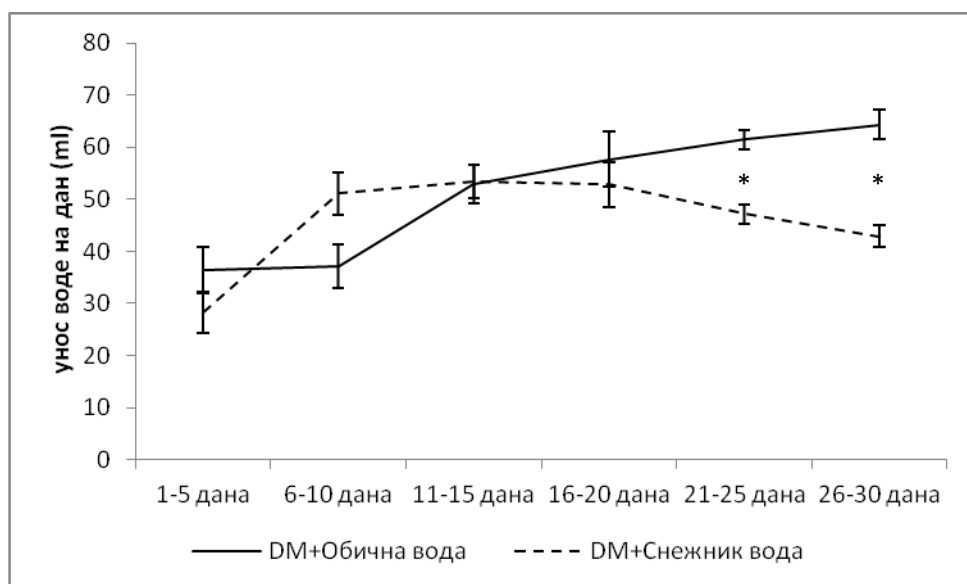
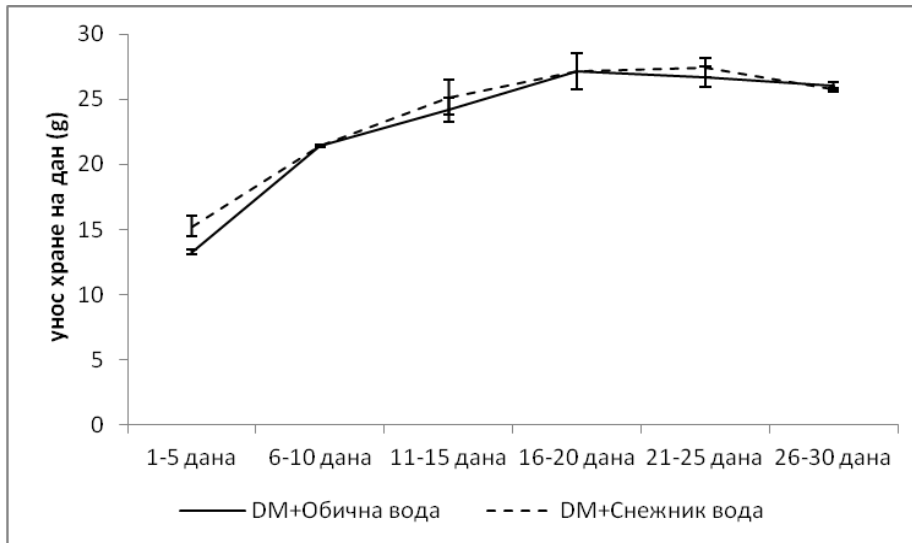


График 2. Просечан унос хране током периода праћења (по пацову). DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



#### 4.1.2. Телесна маса и гликемија

Након статистичке обраде резултата уочено је да није било разлике у прирасту телесне масе између група дијабетичних пацова (График 3). Међутим, након двадесетог дана праћења је забележено снижење телесне масе у групи пацова која је конзумирала "Снежник" воду које је било статистички незначајно. И поред тога, ова редукција у телесној маси може корелирати са поменути резултатима и сугерисати повољнији метаболички статус дијабетичних пацова.

Вредности гликемије наше код здравих пацова су износиле  $4,5 \pm 0,5$  mmol/l. Након индукције дијабетеса вредности гликемије наше у овим групама су износиле  $7,8 \pm 0,5$  mmol/l (DM + OB) односно  $8,1 \pm 0,7$  mmol/l (DM + CB). Просечне вредности гликемије наше између група дијабетичних пацова се нису разликовале до треће недеље праћења. На крају треће и почетком четврте недеље праћења је примећено снижење просечне вредности гликемије у групи пацова која је конзумирала "Снежник" воду, са статистиком значајношћу која је забележена на крају периода праћења (График 4).

Након четири недеље експерименталног протокола употреба "Снежник" воде је била повезана са враћањем гликемије наше на физиолошке вредности ( $5,8 \pm 0,6$  mmol/l) (График 4). Ово може бити један од најважнијих резултата експеримента, с обзиром да показује повољан терапеутски ефекат поменуте минералне воде на контролу хипергликемије односно успостављање нормогликемије код дијабетичних пацова.

График 3. Просечан прираст телесне масе током периода праћења (по пацову). DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

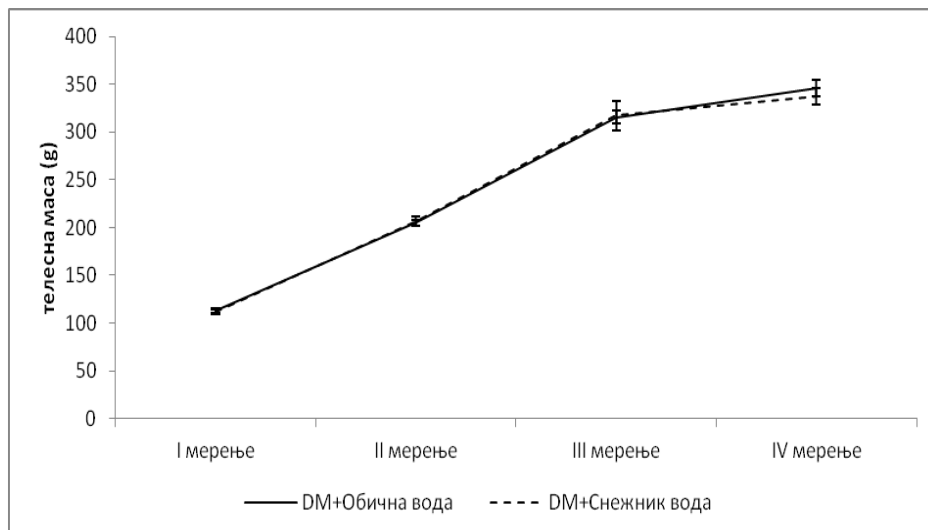
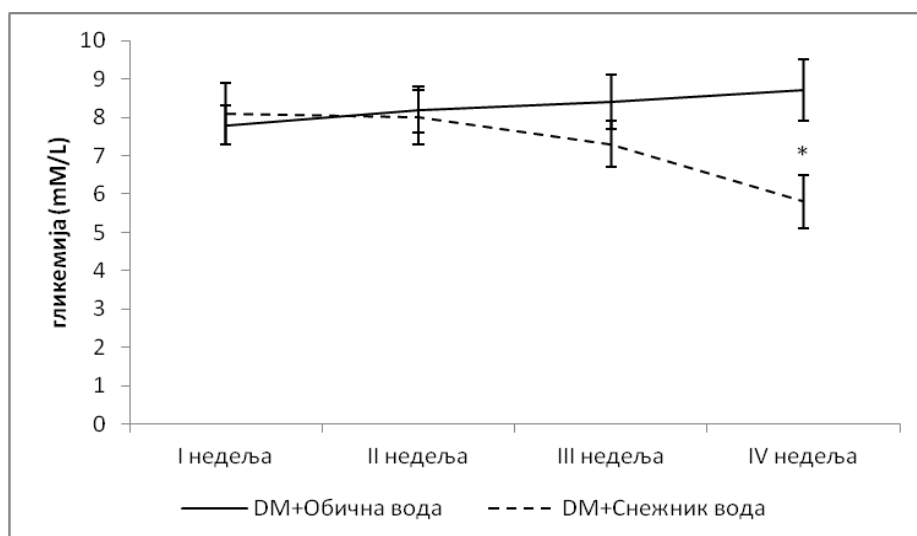


График 4. Просечна вредност гликемије током периода праћења (по пацову). DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .





### 4.1.3. Параметри срчаног рада

Није било статистичке значајности у погледу контрактилне и релаксантне силе леве коморе између групе која је конзумирала обичну воду и групе на третману "Снежник" водом (Графици 5 и 6). Такође, дијастолни и ситолни притисци у левој комори се нису разликовали између поменутих група, као ни коронарни проток (Графици 8 и 10). Са друге стране, срчана фреквенца је била сигнификантно виша у "Снежник" групи у односу на другу групу дијабетичних пацова (График 9). Ови налази указују да употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" не ремети функцију срца пацова у условима хипергликемије и може да делује позитивно хронотропно при чему се фреквенца срца одржава у физиолошким границама.

График 5. Просечне вредности  $dp/dt \max$  при промени CPP. DM Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

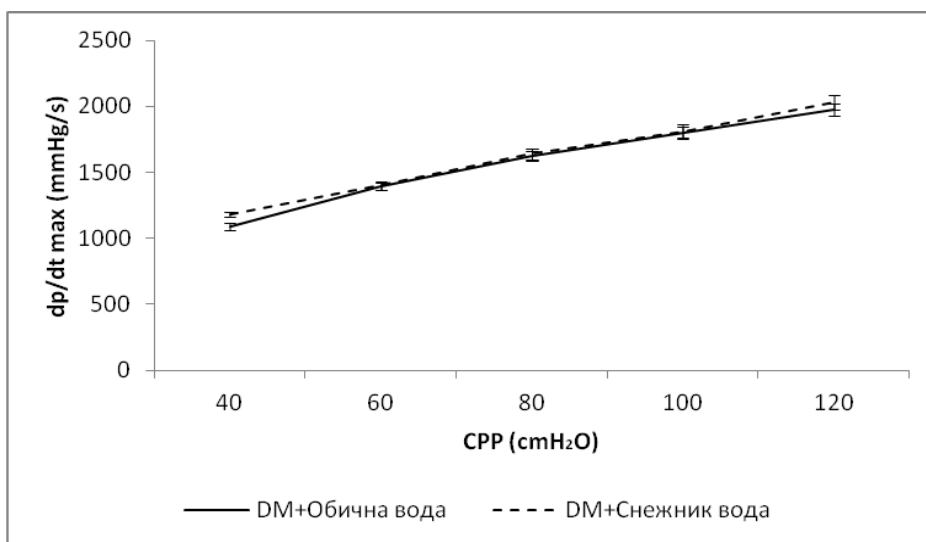


График 6. Просечне вредности  $dp/dt \min$  при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

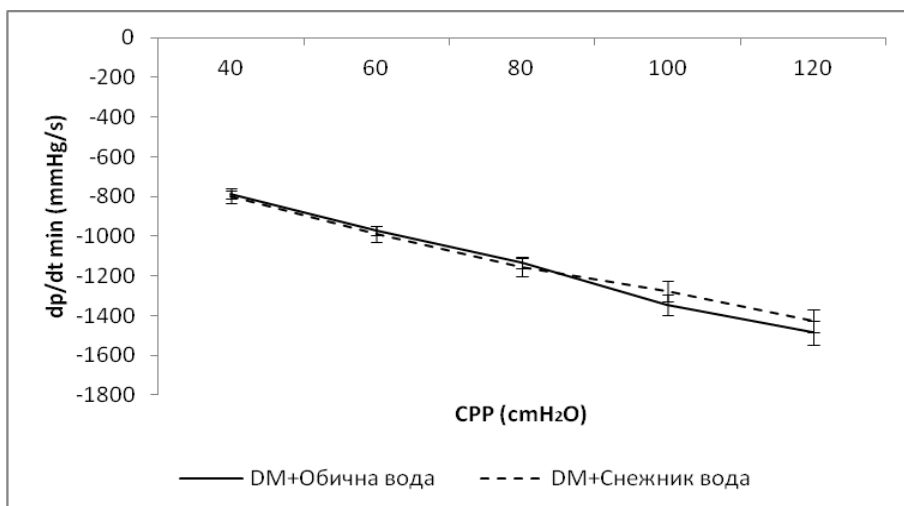


График 7. Просечне вредности SLVP при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

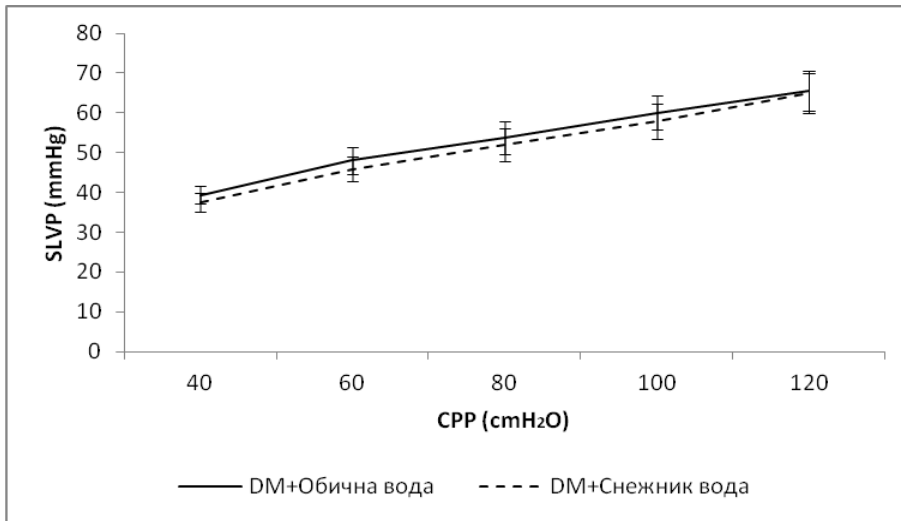


График 8. Просечне вредности DLVP при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

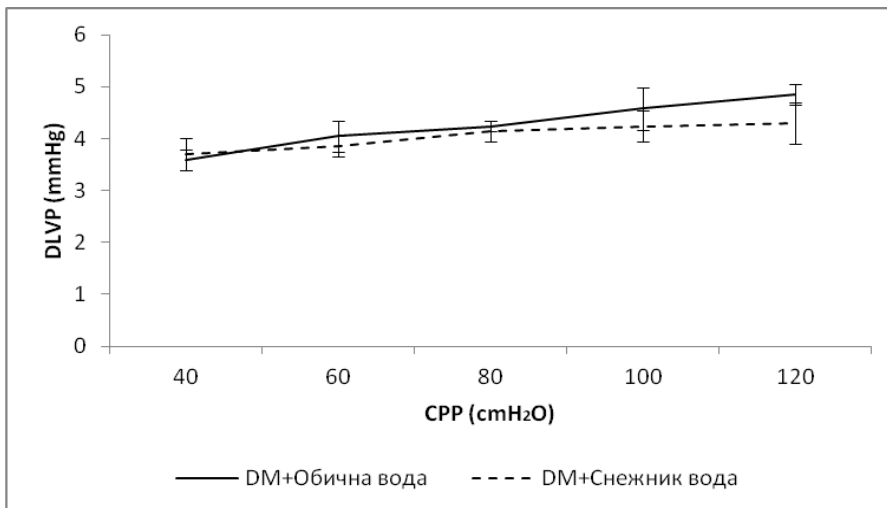


График 9. Просечне вредности HR при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

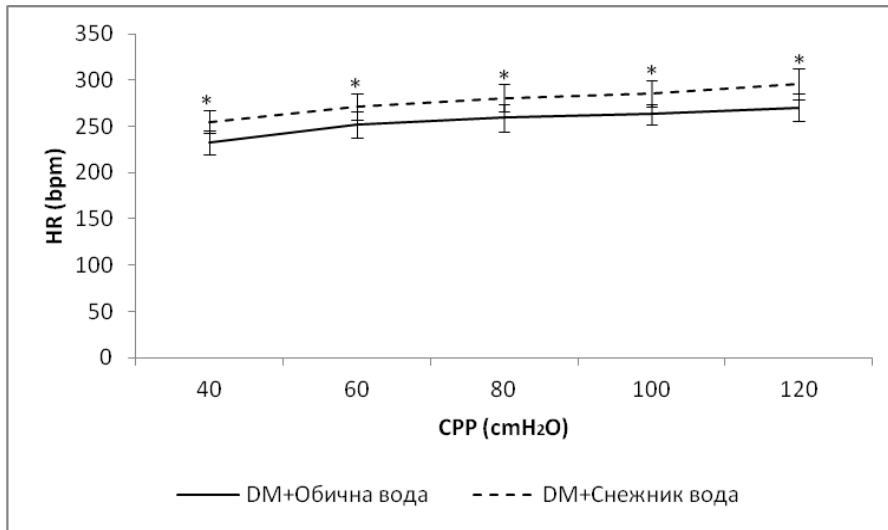
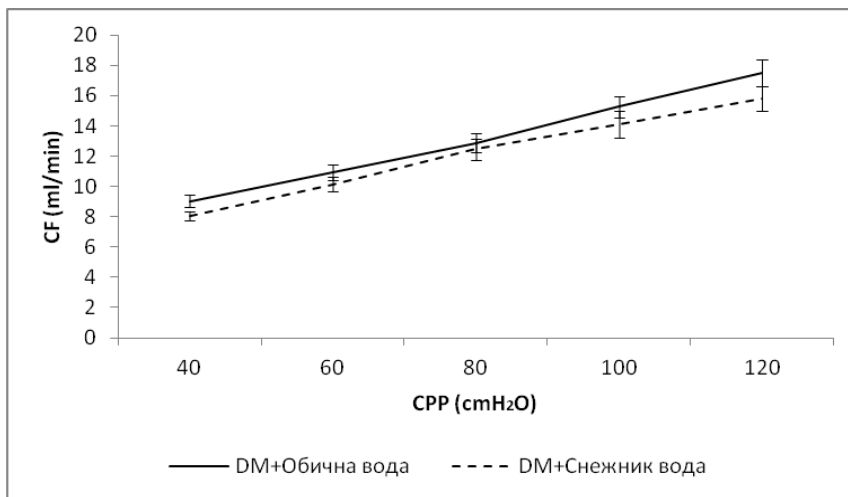


График 10. Просечне вредности CF при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



#### 4.1.4. Параметри срчаног оксидационог стреса

Вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{NO}_2^-$  се нису статистички значајно разликовале између групе дијабетичних пацова која је конзумирала обичну воду у односу на групу која је користила "Снежник" воду (Графици 11 и 12). Супротно томе, вредности TBARS и  $\text{O}_2^-$  су биле статистички значајно ниже у групи пацова која се појила "Снежник" водом при свим вредностима коронарног перфузионог притиска (Графици 13 и 14). Добијени резултати су у сагласности са маркерима оксидационог стреса из крви, где је такође уочен исти налаз TBARS и  $\text{O}_2^-$ . На основу ових резултата се уочава да је употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" била повезана са снижењем оксидационог стреса а тиме вероватно и оксидационих оштећења кардиомиоцита, те у том смислу има протективни ефекат.

График 11. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

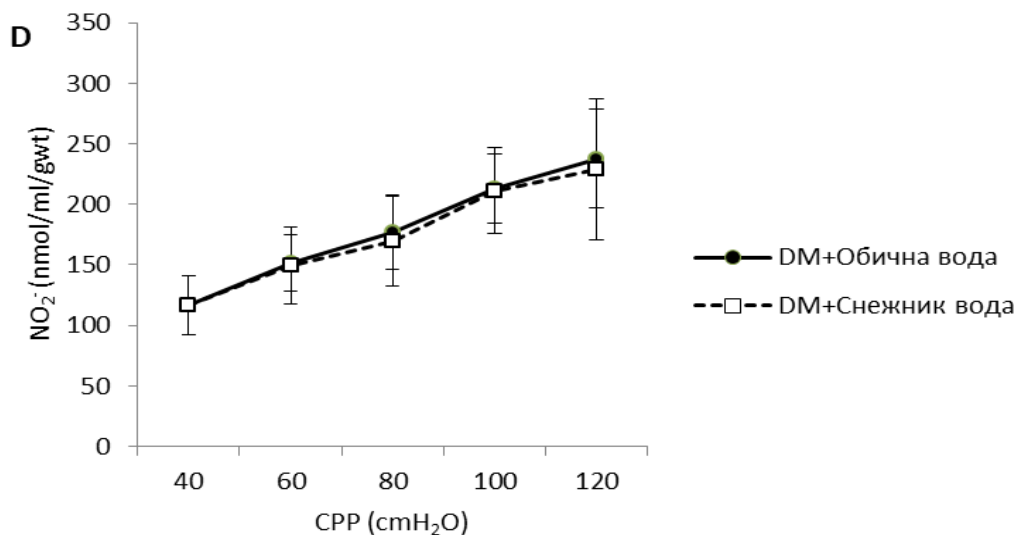


График 12. Просечне вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

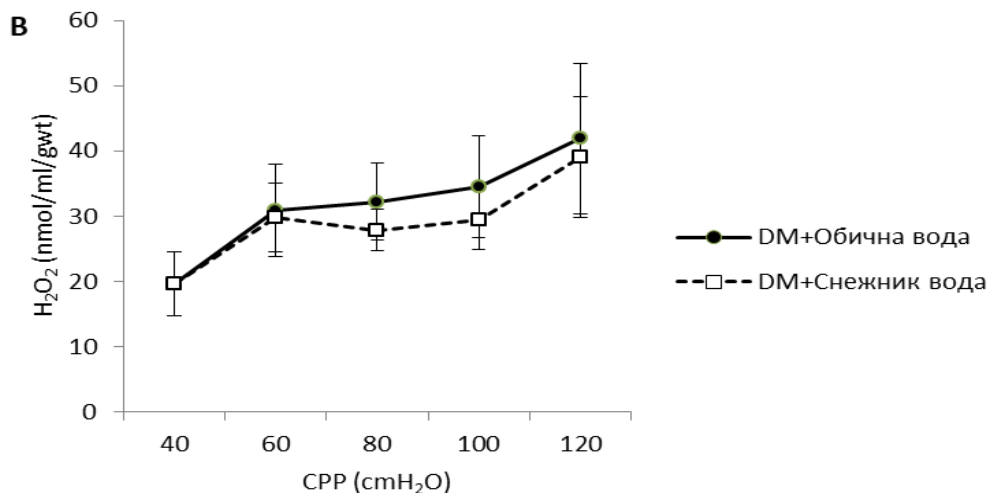


График 13. Просечне вредности TBARS при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

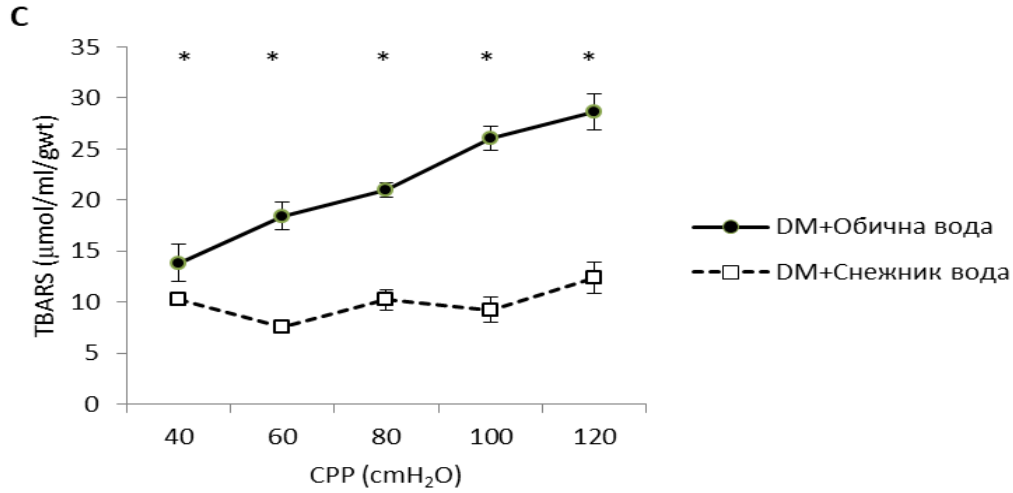
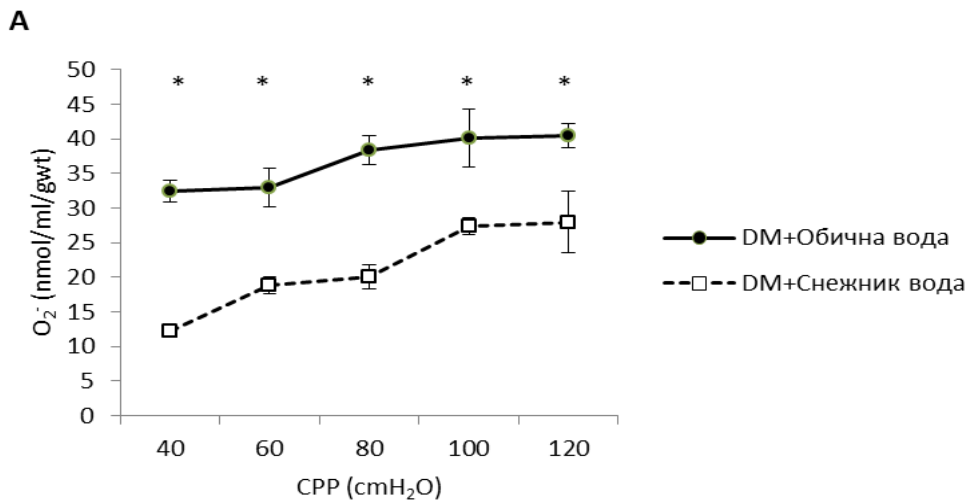


График 14. Просечне вредности O<sub>2</sub><sup>-</sup> при промени CPP. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



#### 4.1.5. Параметри системског оксидационог стреса

Као и у случају маркера оксидационог стреса из изолованог срца пацова, вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{NO}_2^-$  из плазме се нису статистички значајно разликовале између групе дијабетичних пацова која је конзумирала обичну воду у односу на групу која је користила "Снежник" воду (Графици 15 и 16). Такође, вредности TBARS и  $\text{O}_2^-$  у плазми су биле статистички значајно ниже у групи пацова која се појила "Снежник" водом (Графици 17 и 18). Резултати про-оксиданаса системског оксидационог стреса потпуно корелирају са истим маркерима пореклом из коронарног венског ефлуента и показују исти системски ефекат воде са изворишта "Снежник-1/79".

Са друге стране активност SOD и GSH су биле више у групи пацова третираних "Снежник" водом у односу на групу дијабетичних пацова који су конзумирали обичну воду (Графици 19 и 21). Није било разлике у активности CAT између поменутих група (График 20). Повећана активност SOD у групи која је појена "Снежник" водом корелира са сниженим вредностима  $\text{O}_2^-$ , док повишена активност GSH може објаснити снижење липидне пероксидације TBARS, будући да овај ензим реакцијом са пероксидима спречава оксидацију липида ћелијске мембране. Ови налази генерално показују да је употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" била повезана са појачаном активношћу највећег дела ензимске компоненте примарне антиоксидационе заштите.

График 15. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

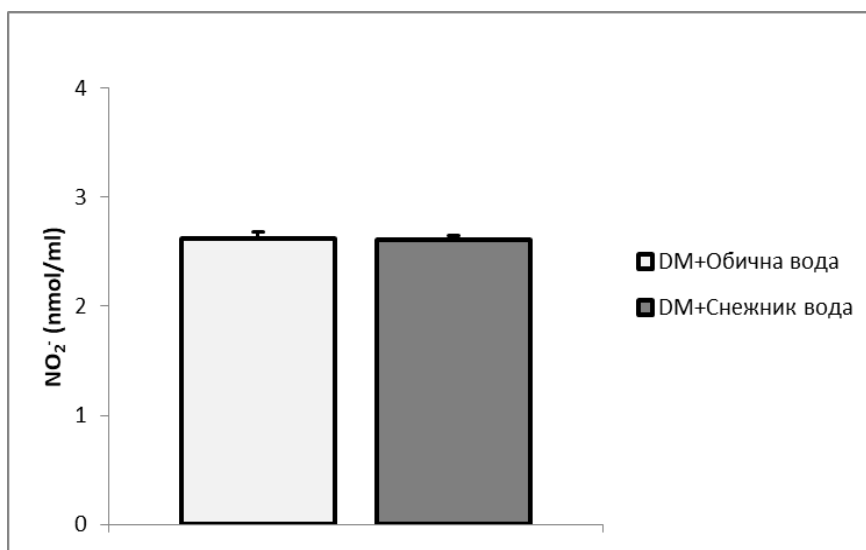


График 16. Просечне вредности  $H_2O_2$  у плазми пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

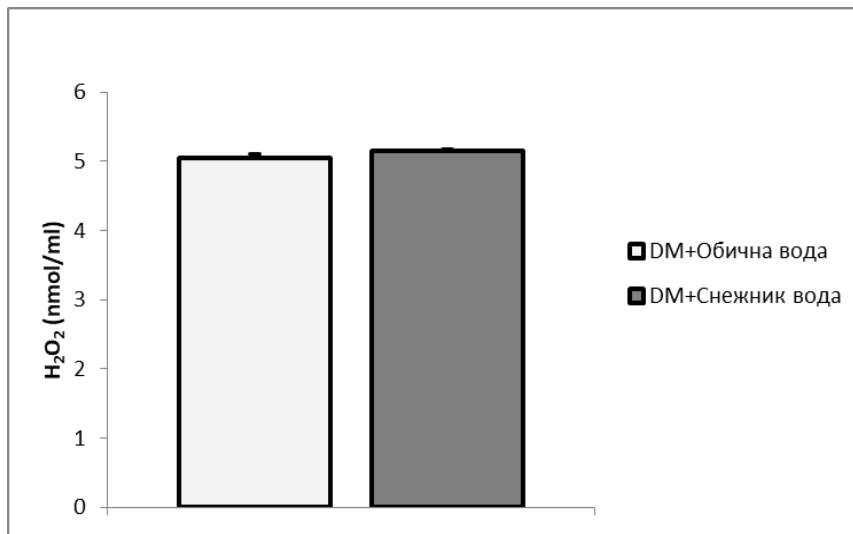


График 17. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

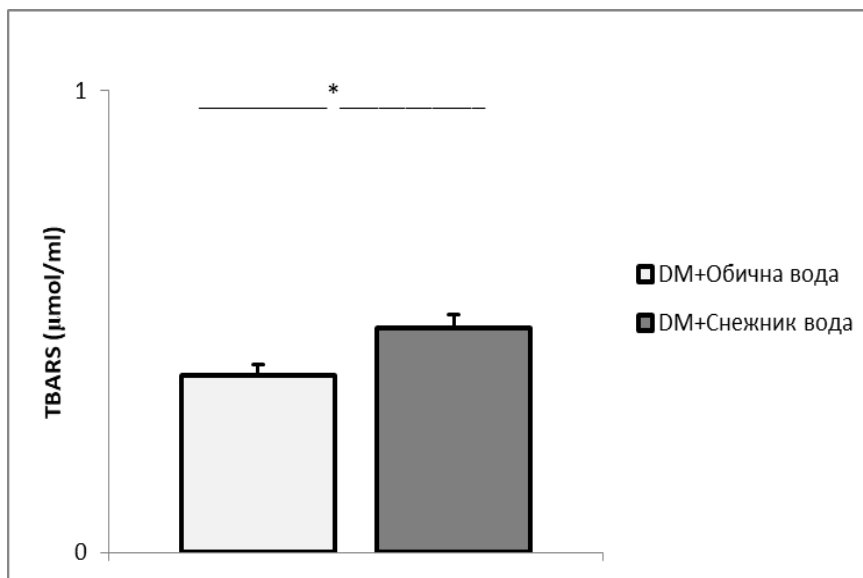


График 18. Просечне вредности  $O_2^-$  у плазми пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

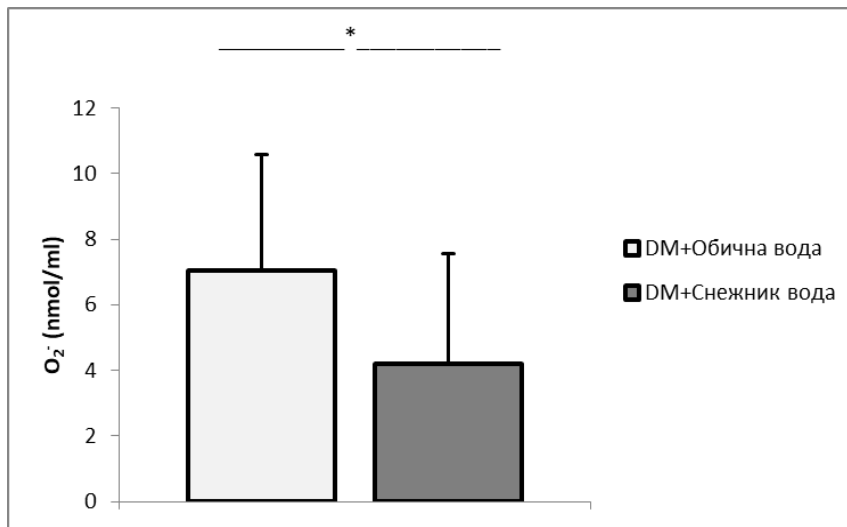


График 19. Просечне вредности активности SOD у еритроцитима пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

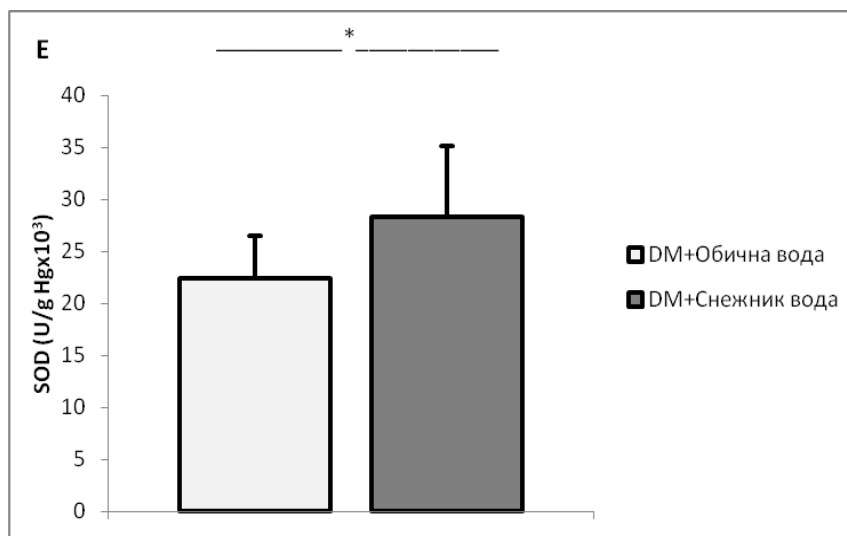




График 20. Просечне вредности активности САТ у еритроцитима пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

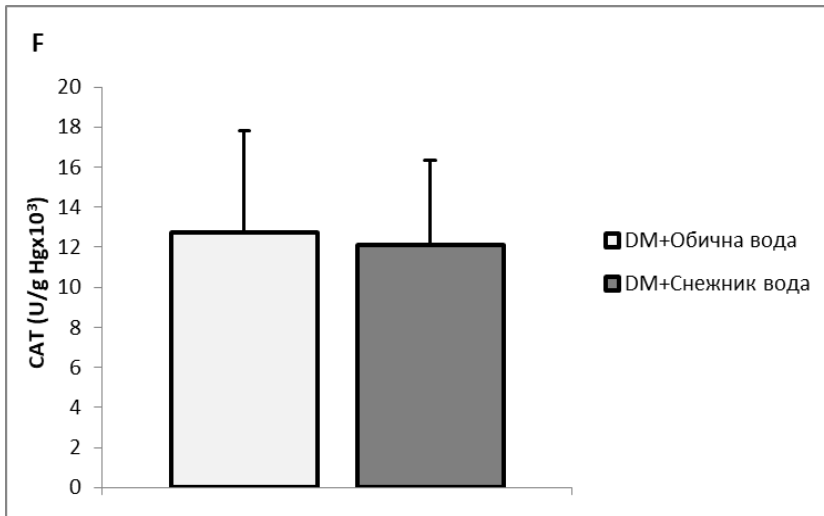
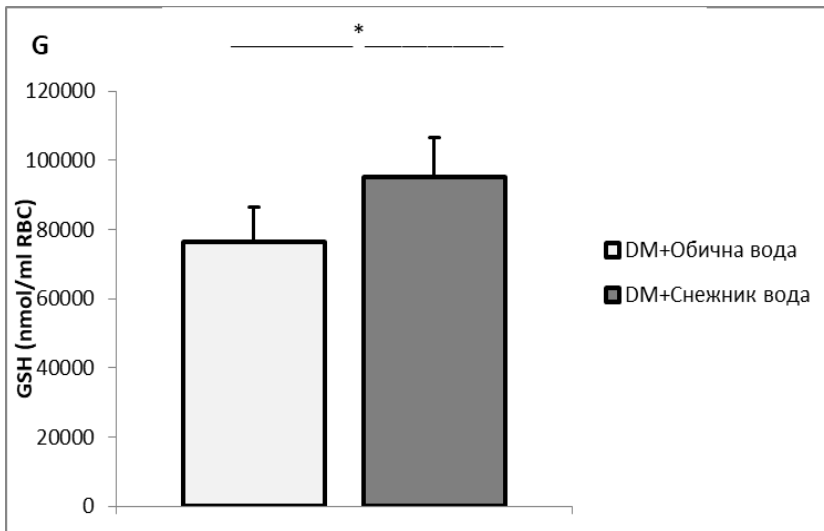


График 21. Просечне вредности активности GSH у еритроцитима пацова. DM+Обична вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали обичну воду; DM+Снежник вода – пацови са дијабетесом који су конзумирали "Снежник" воду. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



## 4.2. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене желуца пацова

### 4.2.1. Параметри системског оксидационог стреса

Вредности индекса липидне пероксидације - TBARS из плазме се нису статистички значајно разликовале између група (График 22). Концентрација ослобођених нитрита -  $\text{NO}_2^-$  су биле ниже у групи која је конзумирала "Снежник" воду, иако без статистичке значајности (График 23). Исти тренд је забележен и са вредностима  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$  где је такође забележен несигнификантно мање ослобађање у групи која је конзумирала "Снежник" воду (Графици 24 и 25).

Са друге стране активност све три компоненте антиоксидационе заштите SOD, CAT, GSH се нису статистички значајно разликовале између група, мада су нешто ниже вредности уочене у групама које су конзумирале "Снежник" воду (Графици 26-28). Уопштено посматрајући ови резултати сугеришу да код пацова са индукованим гастритисом, употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са већим ризиком за настанак оксидационог стреса у односу на контролну групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

График 22. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

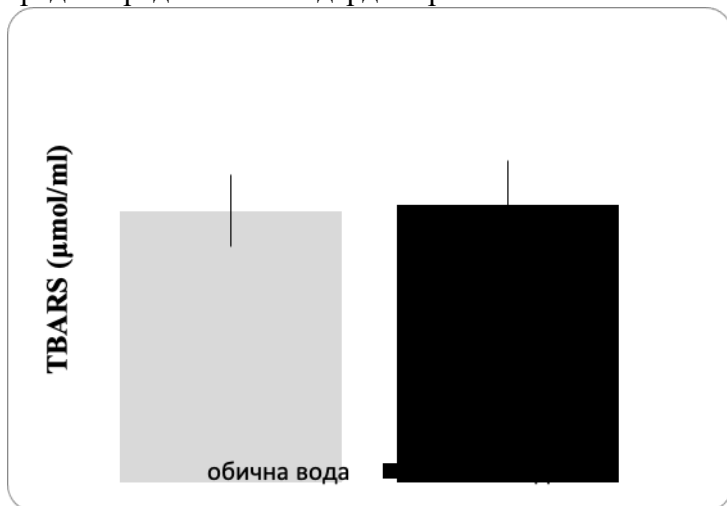


График 23. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

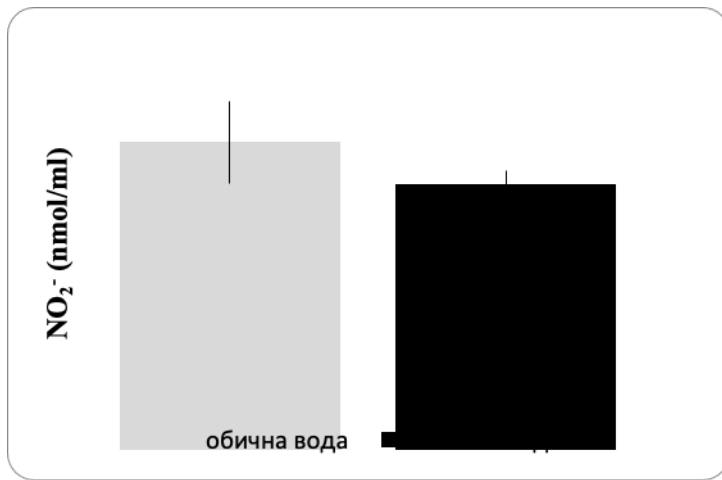


График 24. Просечне вредности  $\text{O}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

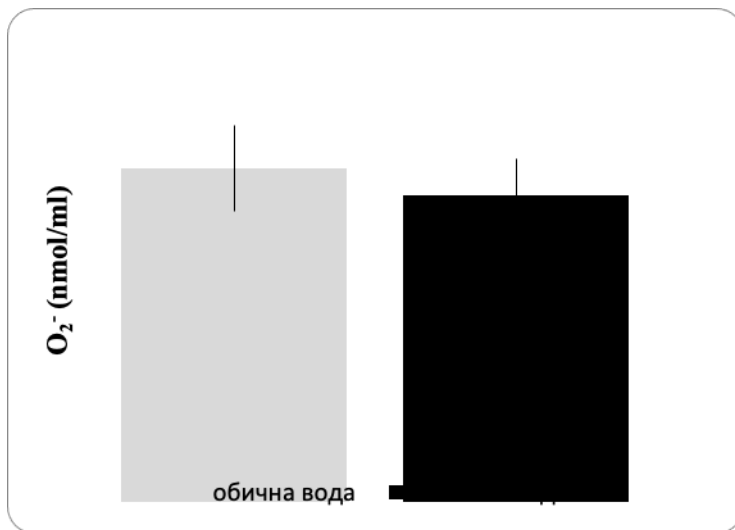


График 25. Просечне вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

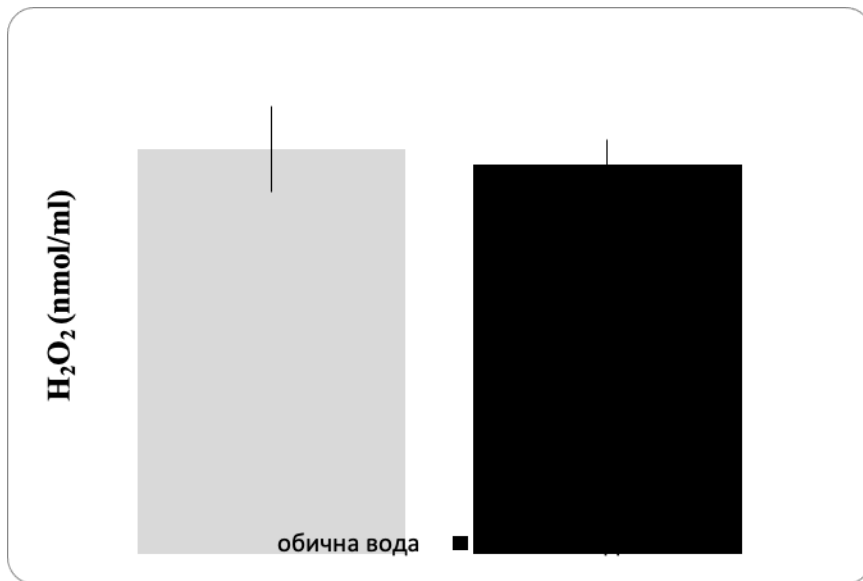


График 26. Просечне вредности SOD у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

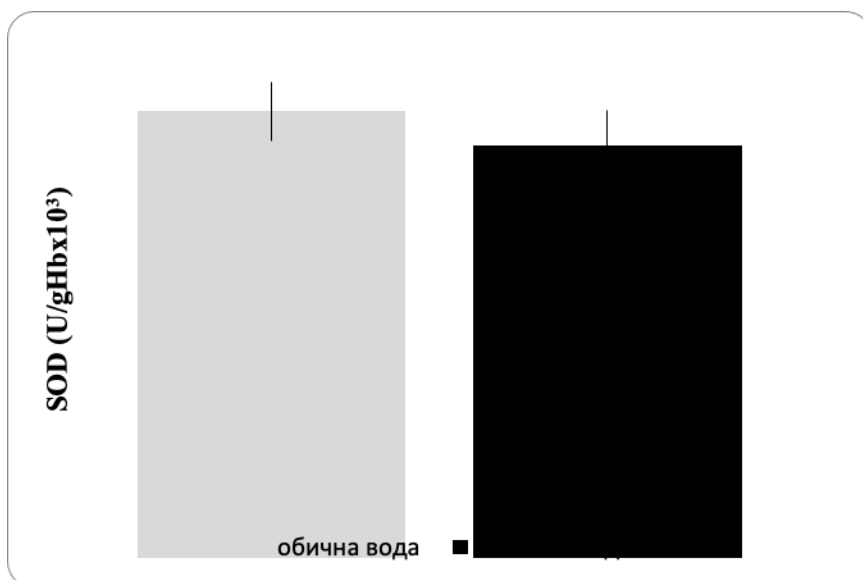


График 27. Просечне вредности CAT у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

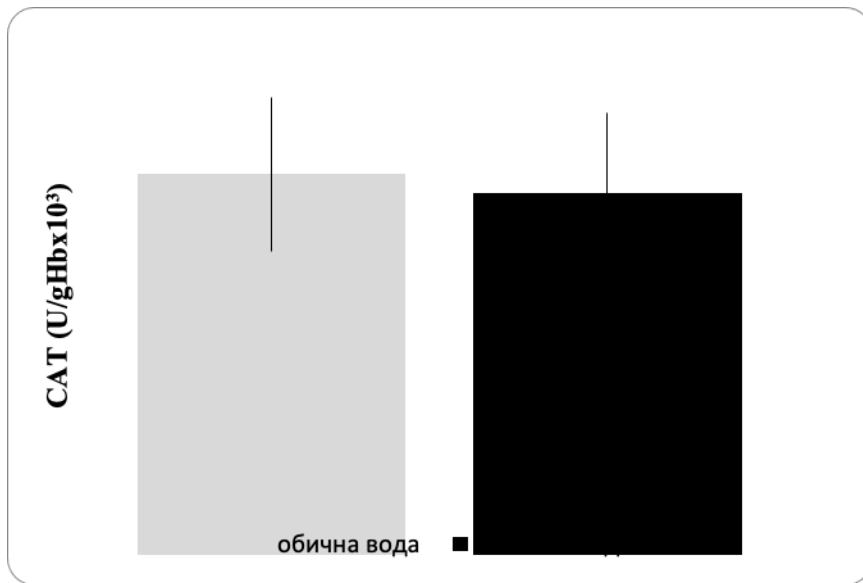
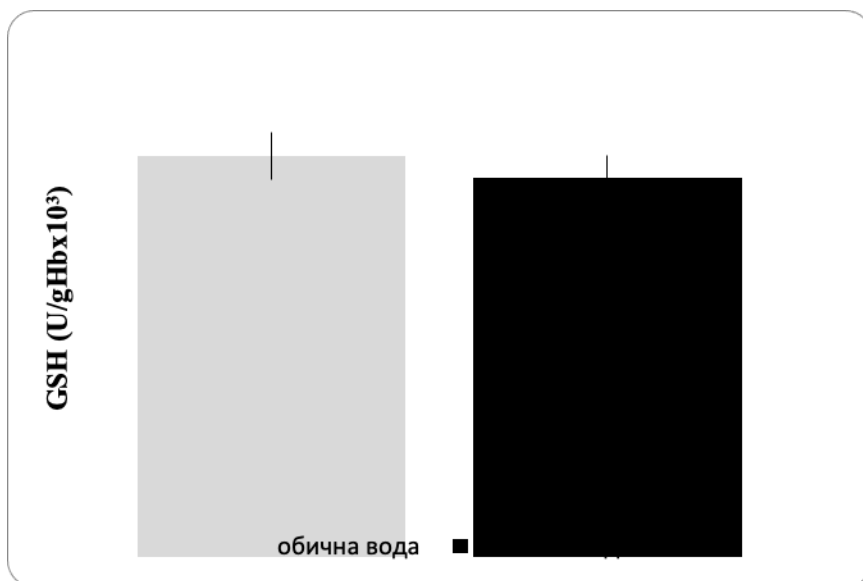


График 28. Просечне вредности GSH у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

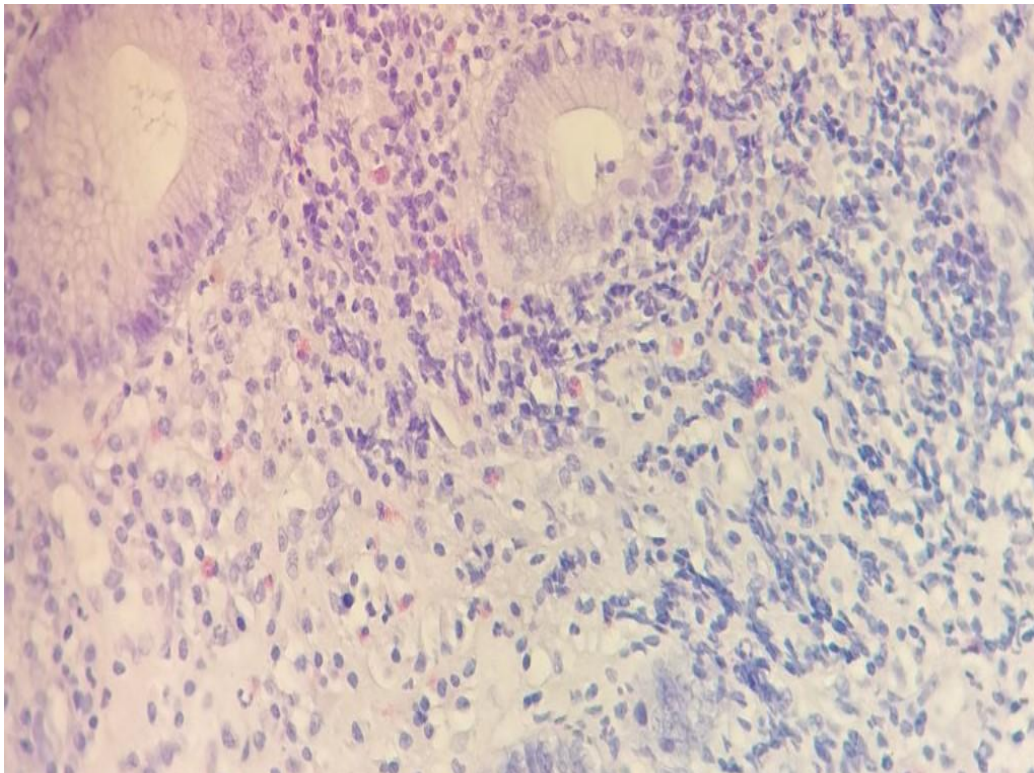


#### **4.2.2. Патохистолошка анализа ткивних пресека желуца**

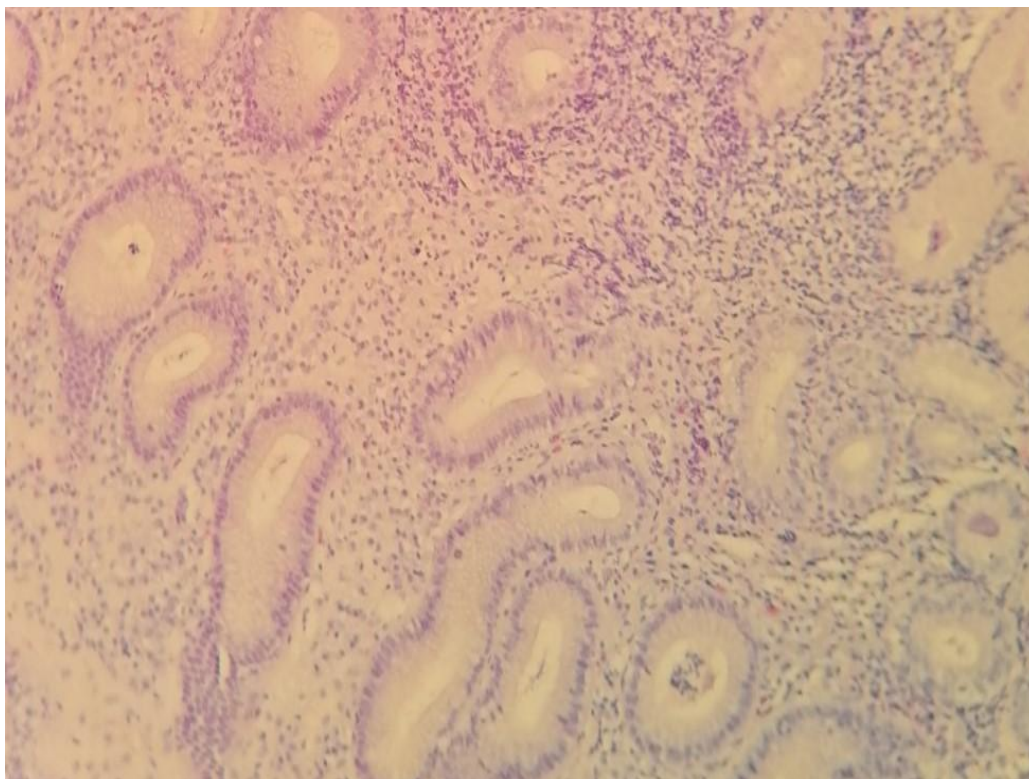
У обе испитиване групе пацова забележене су следеће патохистолошке одлике ткива желуца: покровни епител корпуса желуца је местимично денудиран, са присутним плићим ерозијама. Уочава се лакостепена атипична епитела гландуларног паренхима и атрофија. Запаљенски инфилтрат је мешовитог карактера, неравномерне дистрибуције, умереног интензитета и чине га лимфоцити, плазмоцити, еозинофилни и неутрофилни гранулоцити. Поједине фовеоле су продубљене, обложене хиперпластичним епителом секреторног типа (Слике 1 и 2).

Описане патохистолошке промене одговарају запаљенским променама желуца по типу хроничног парцијално ерозивног гастритиса. Ови резултати сугеришу да између група није било сигнификантне разлике у развоју запаљенских лезија желуца.

Слика 1. Репрезентативна фотографија гастритиса код групе пацова која је конзумирала обичну воду за пиће.



Слика 2. Репрезентативна фотографија гастритиса код групе пацова која је конзумирала воду из изворишта "Снежник-1/79".



**4.3. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене колона пацова**

#### **4.3.1. Параметри системског оксидационог стреса**

Концентрације индекса липидне пероксидације - TBARS из плазме се нису статистички значајно разликовале између група (График 29). Вредности ослобођених нитрита -  $\text{NO}_2^-$  су биле ниже у групи која је конзумирала "Снежник" воду, међутим није утврђена статистичка значајност (График 30). Вредности следећа два про-оксидациона маркера -  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$  су такође биле незнатно ниже у групи која је конзумирала "Снежник" воду али без статистичке валидације (Графици 31 и 32).

Активност ензимских компонената антиоксидационе заштите SOD, CAT, GSH је била готово истоветна између група, што је потврђено одсуством било какве статистичке значајности (Графици 33-35). Сумарно анализирано ови налази индикују да код пацова са хроничним запаљенским лезијама колона, конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" није изазвало повећану продукцију слободних радикала односно слабију активност ензимског система антиоксидационе заштите у односу на контролну групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

График 29. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

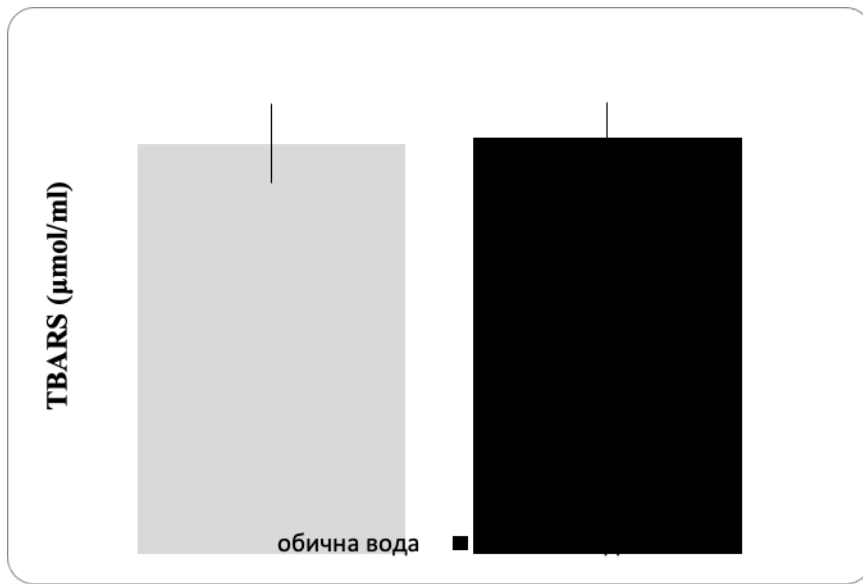


График 30. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

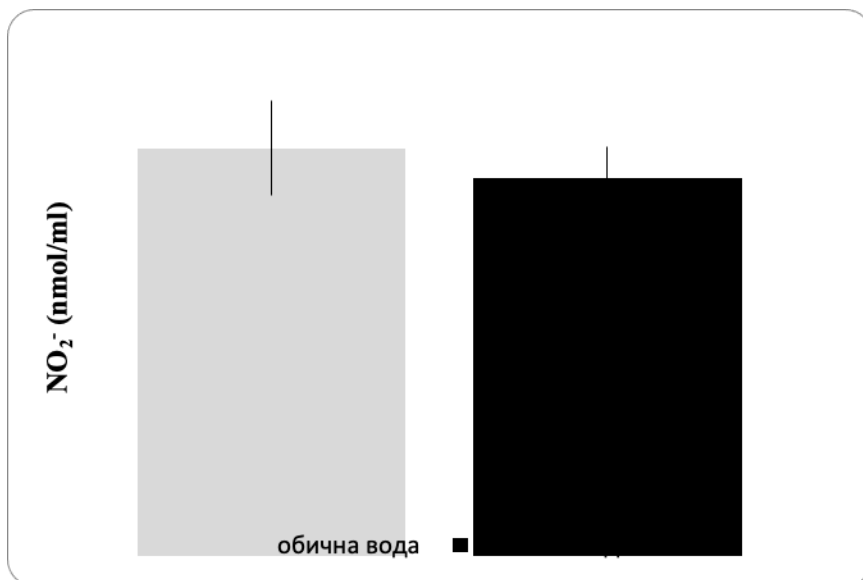




График 31. Просечне вредности  $O_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

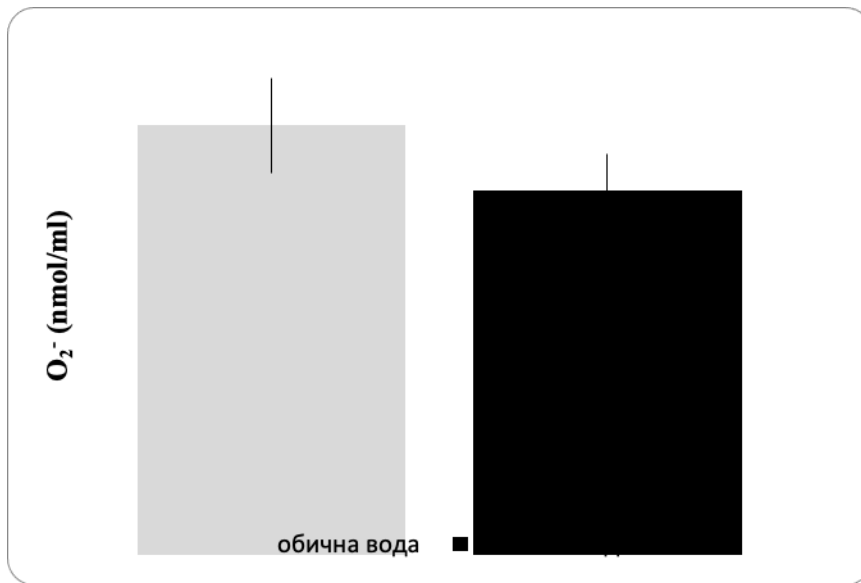


График 32. Просечне вредности  $H_2O_2$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

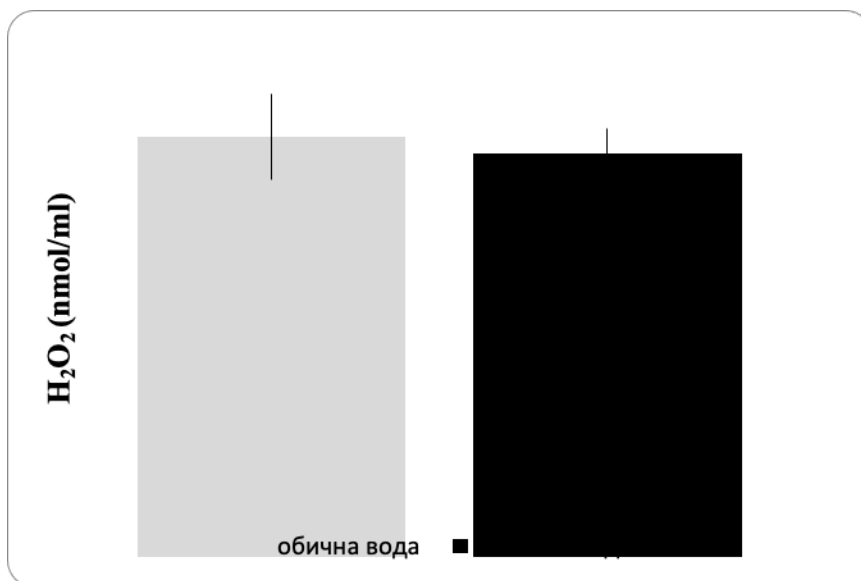


График 33. Просечне вредности SOD у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

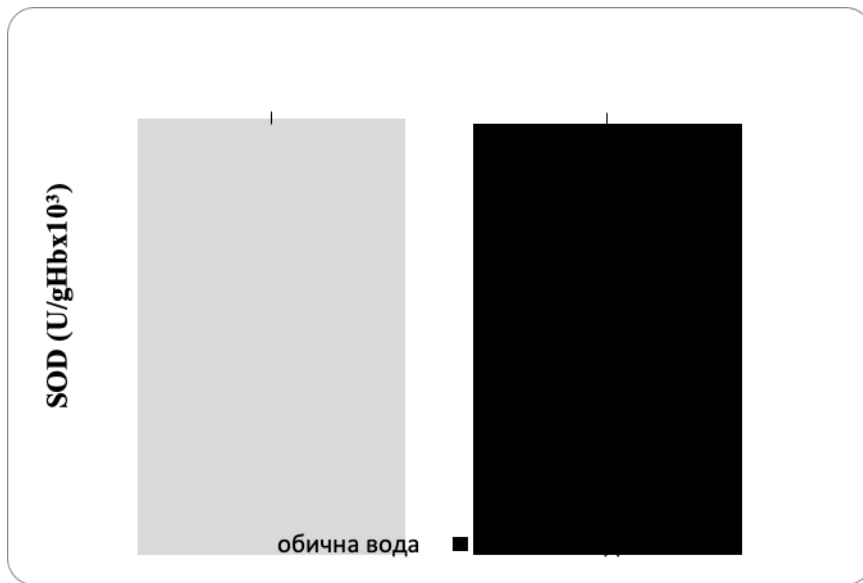


График 34. Просечне вредности CAT у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

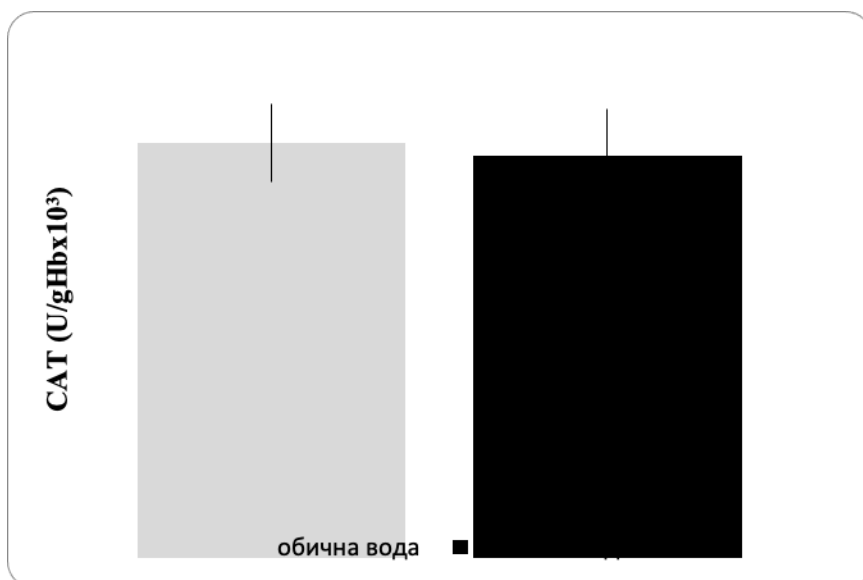
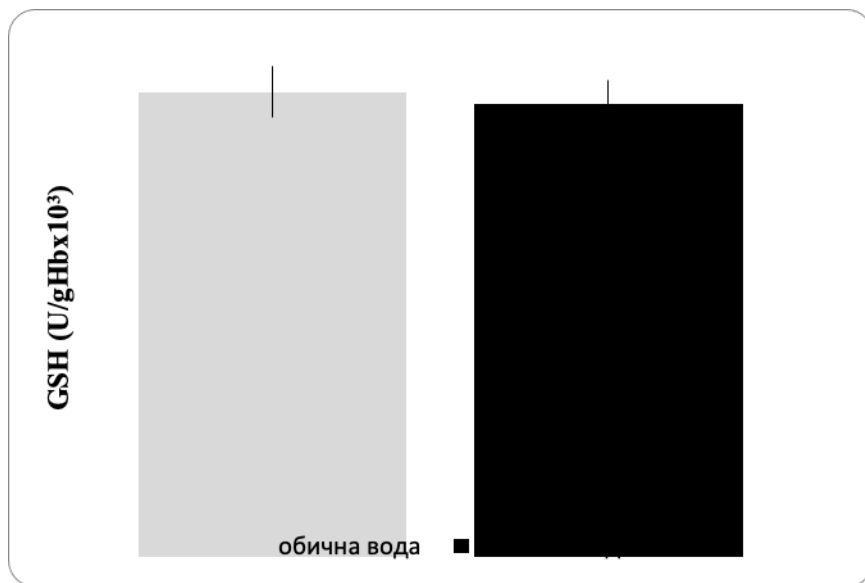


График 35. Просечне вредности GSH у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



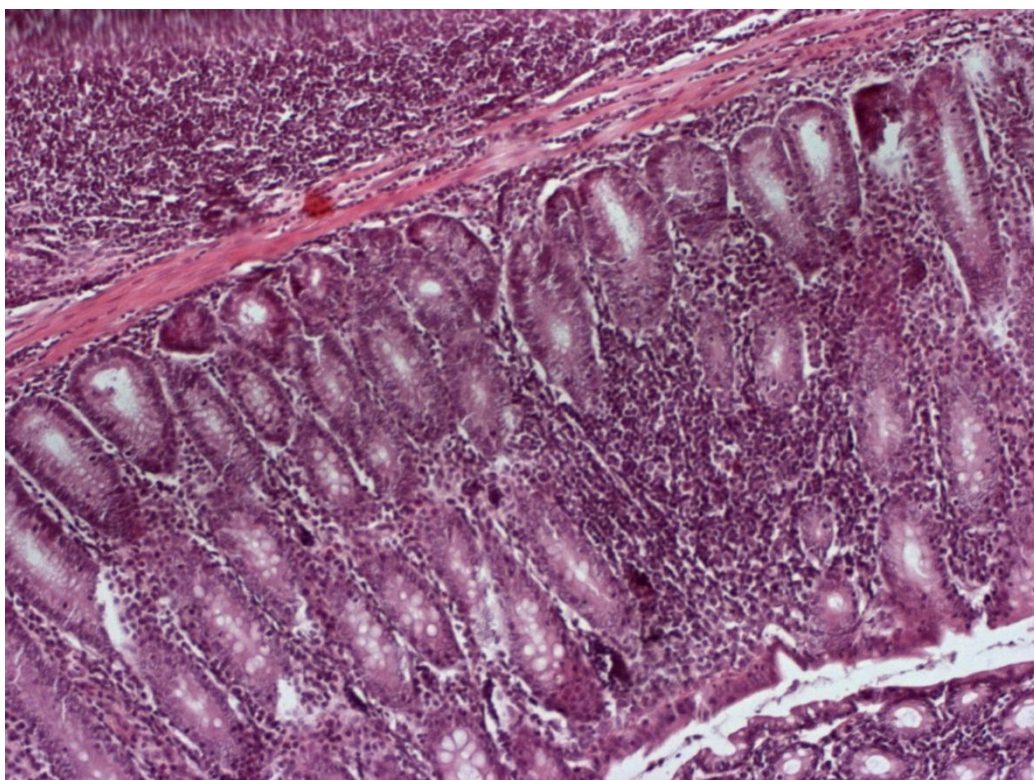
#### 4.3.2. Патохистолошка анализа ткивних пресека колона

На Н/Е обојеним пресецима микроскопски су анализирани завршни део танког црева и сви сегменти колона укључујући и ректум. Посматране су патохистолошке промене релевантне за постављање дијагнозе колитиса: а) едем, б) оштећење епитела, в) поремећај криптне архитектуре, г) интерстицијална запаљенска инфилтрација, д) активност запаљења.

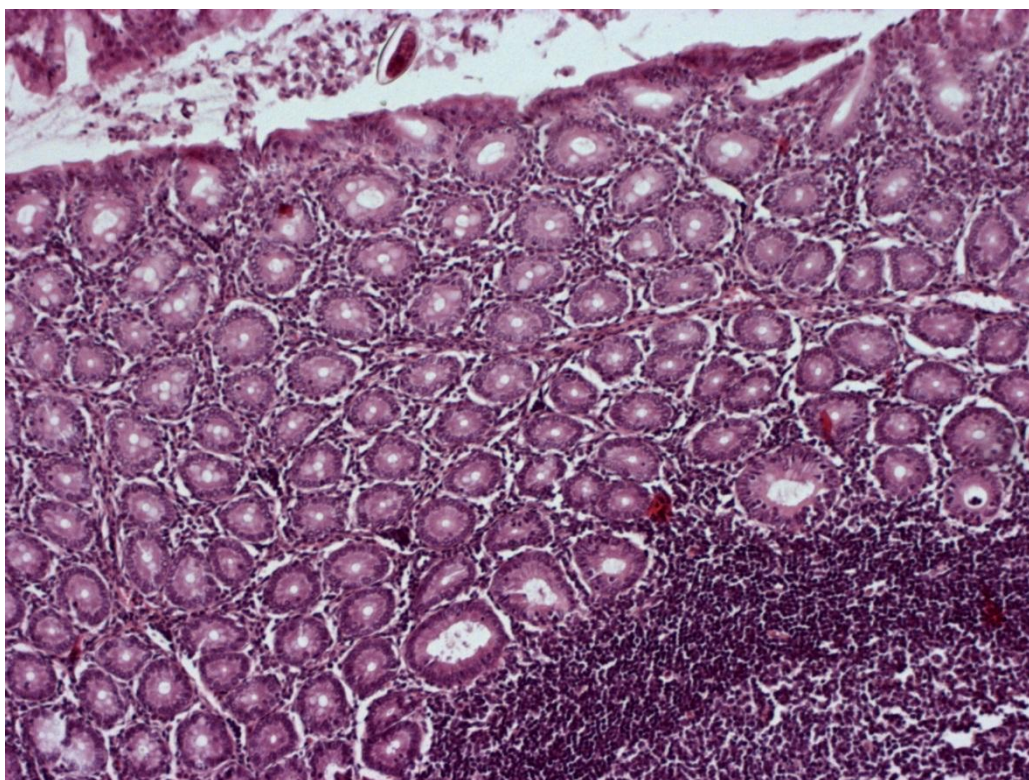
Патохистолошком анализом је уочено да су клинички односно патохистолошки знаци колитиса били присутни у свим узорцима обе испитиване групе. Патохистолошке промене релевантне за постављање дијагнозе оцењиване су степеном од 0-3. Добијене вредности за сваки од 5 параметара су сабиране у коначни скор (распон 0-15).

Између две анализиране групе није утврђено постојање статистички значајне разлике у интензитету запаљенске реакције (Слике 3 и 4).

Слика 3. Репрезентативна фотографија улцерозног колитиса код групе пацова која је конзумирала обичну воду за пиће.



Слика 4. Репрезентативна фотографија улцерозног колитиса код групе пацова која је конзумирала воду из изворишта "Снежник-1/79".



#### 4.4. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене јетре пацова

##### 4.4.1. Параметри системског оксидационог стреса

Вредности маркера липидног оштећења ћелијске мембране - индекса липидне пероксидације (TBARS) се нису сигнификантно разликовале између група (График 36). Иако су концентрације нитрита -  $\text{NO}_2^-$  биле ниже у групи која је конзумирала "Снежник" воду између група није забележена статистичка значајност (График 37). У вредностима водоник пероксида и супероксид анион радикала ( $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ ) није било статистичке значајности између група (Графици 38 и 39).

Активност мерених ензима антиоксидационе заштите (SOD, CAT, GSH) је била нижа у групи која је конзумирала воду са изворишта "Снежник-1/79", међутим није утврђена статистичка значајност између група (Графици 40-42). У целини узевши, на основу поменутих резултата се може запазити да код пацова са запаљенским променама јетре, употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са појачаном производњом слободних радикала и смањеном активношћу ензимских антиоксиданаса у односу на групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

График 36. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

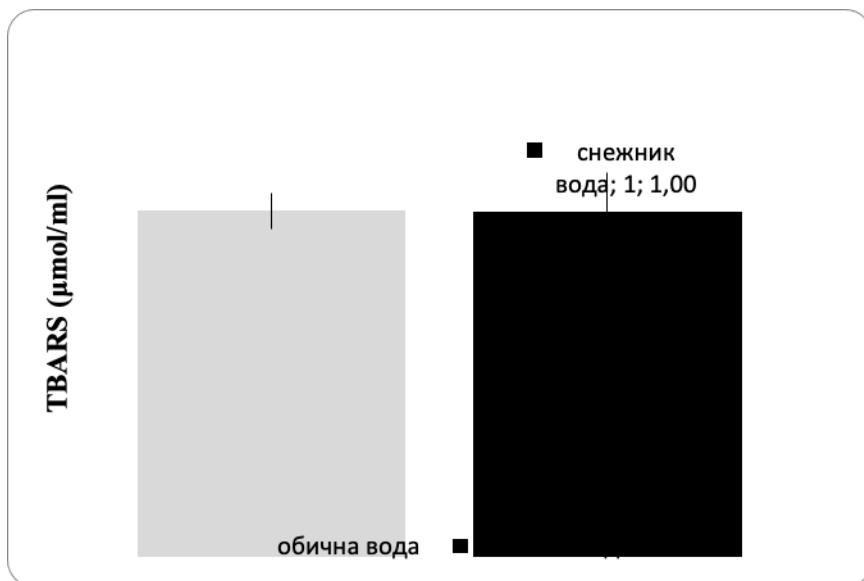


График 37. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

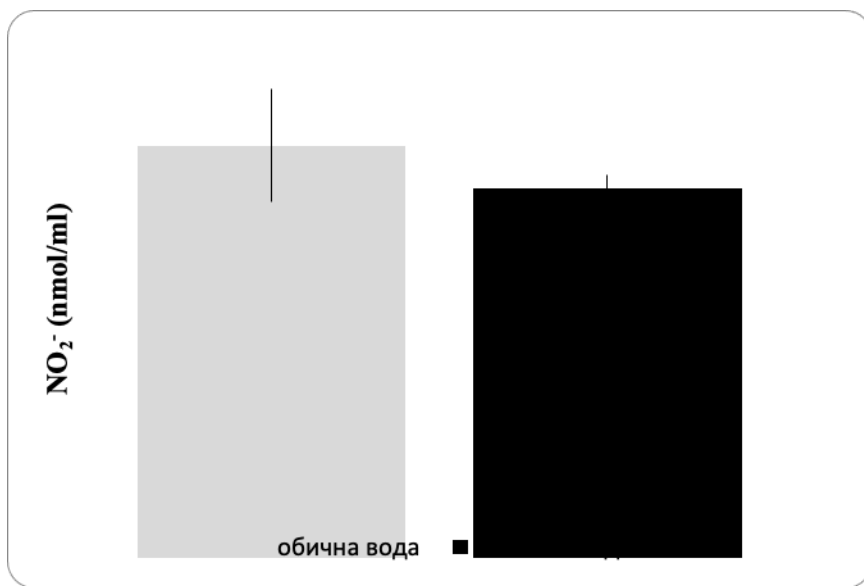


График 38. Просечне вредности  $\text{O}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

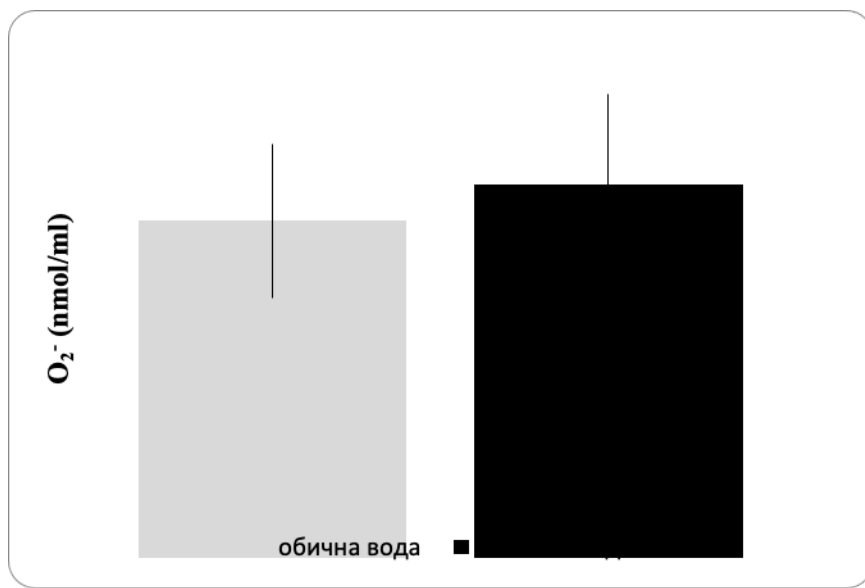


График 39. Просечне вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

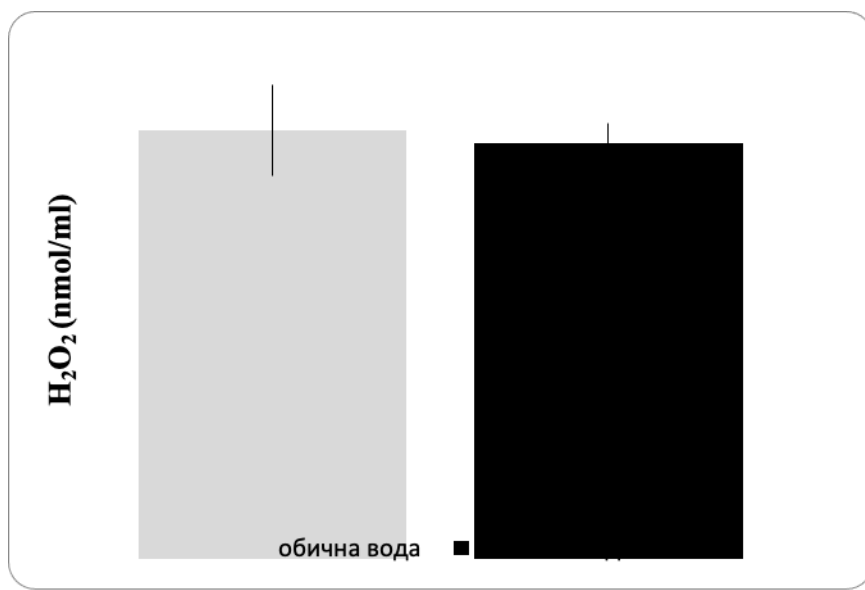


График 40. Просечне вредности SOD у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

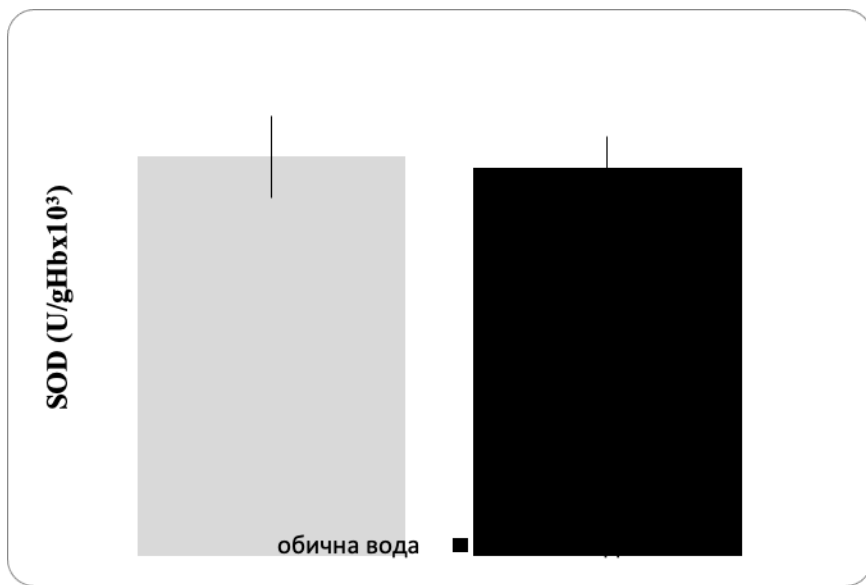


График 41. Просечне вредности CAT у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

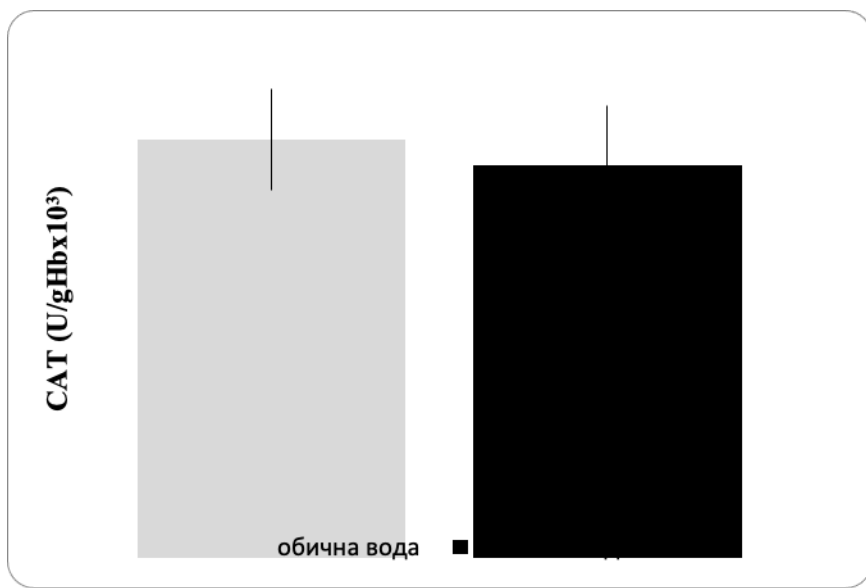
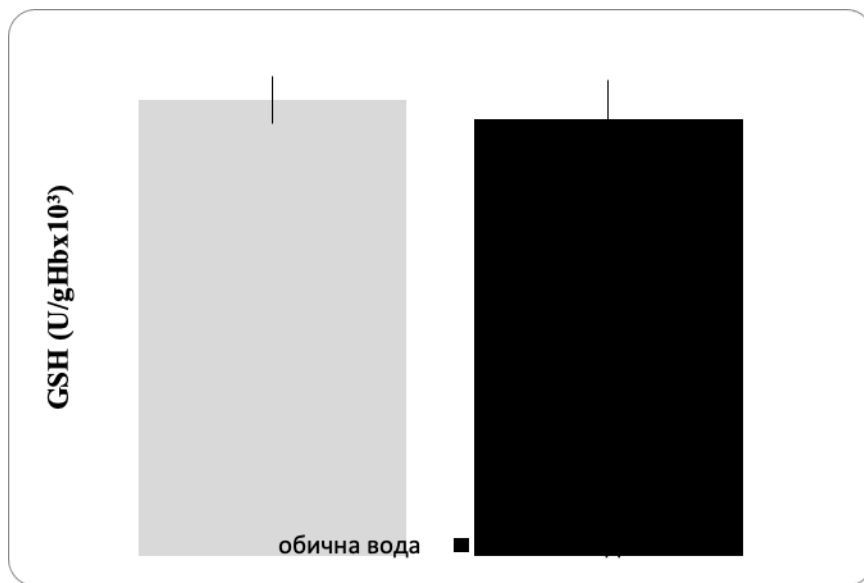


График 42. Просечне вредности GSH у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .





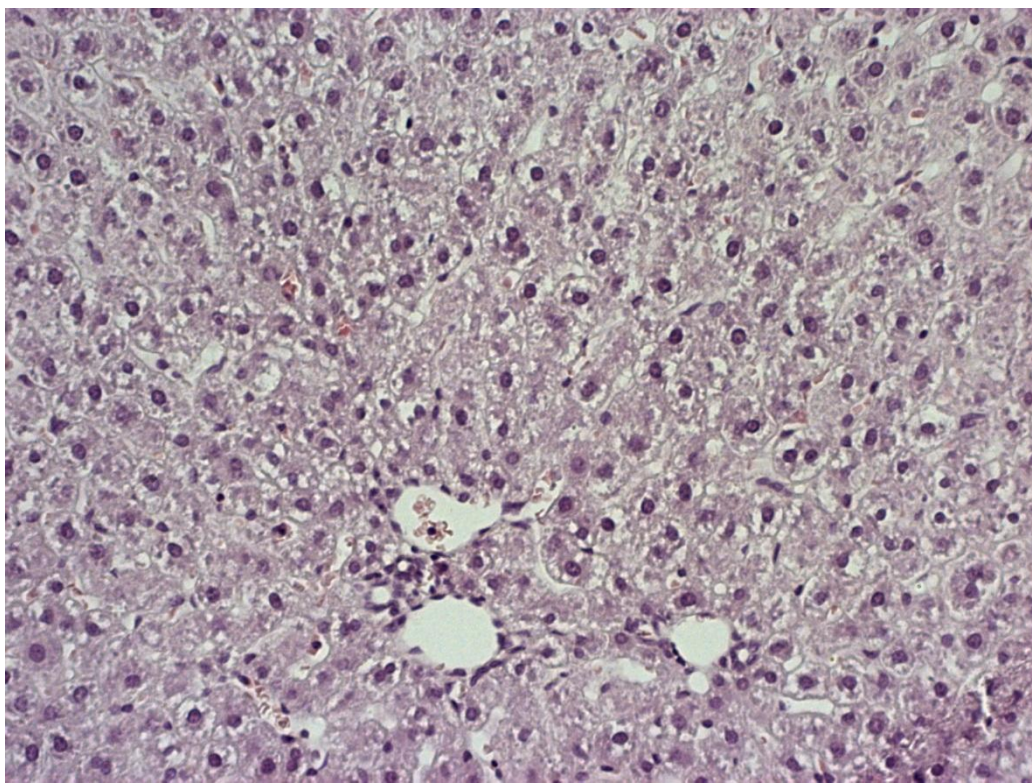
#### 4.4.2. Патохистопатолошка анализа ткивних пресека јетре

На Н/Е обојеним пресецима максималне површине органа, микроскопски је анализирано ткиво јетре, у целини укалупљено у 1 парафински блок. Анализиране су и квантификоване следеће патохистолошке промене релевантне за постављање дијагнозе хепатитиса: а) едем, б) некроза, в) масна промена, г) запаљенска инфилтрација, д) параметри холестазае.

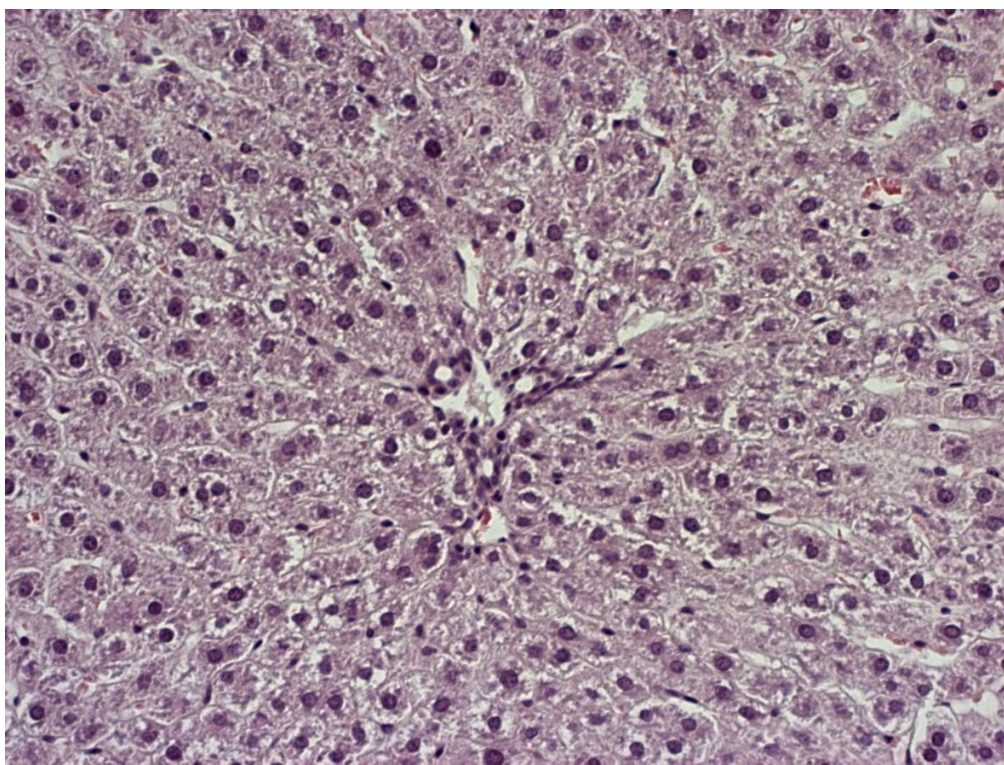
Патохистолошком анализом је уочено да присутне морфолошке промене одговарају алкохолном хепатитису. Квалификоване су према постојећим стандардима. Присутне су у свим узорцима јетре, у обе анализиране групе.

Између две анализиране групе није утврђено постојање статистички значајне разлике у степену оштећења ткива јетре (Слике 4 и 5).

Слика 4. Репрезентативна фотографија хепатитиса код групе пацова која је конзумирала обичну воду за пиће.



Слика 5. Репрезентативна фотографија хепатитиса код групе пацова која је конзумирала воду из изворишта "Снежник-1/79".



**4.5. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене бубрега пацова**

#### 4.5.1. Параметри системског оксидационог стреса

За разлику од претходних подфаза истраживања, у овом делу студије су вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) биле више у групи које је конзумирала воду са изворишта "Снежник-1/79", али и даље без статистичке потврде (График 43). Слично томе, концентрације нитрита -  $\text{NO}_2^-$  су такође биле несигнификантно више у истој групи (График 44), док су вредности водоник пероксида и супероксид анион радикала ( $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ ) биле готово истоветне између група (Графици 45 и 46).

Приликом анализе активности ензима антиоксидационе заштите (SOD, CAT, GSH) смо запазили разлику у резултатима између параметара међутим без статистичке значајности између група (Графици 47-49). Тако су вредности CAT и SOD биле несигнификантно ниже а GSH несигнификантно више више у групи које је конзумирала воду са изворишта "Снежник-1/79". Сумарно посматрано, можемо уочити да конзумирање воде са поменутог изворишта код пацова са мембранозним гломерулонефритисом, није узроковало битније разлике у динамици ослобађања мерених биомаркера редокс стања у односу на групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

График 43. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

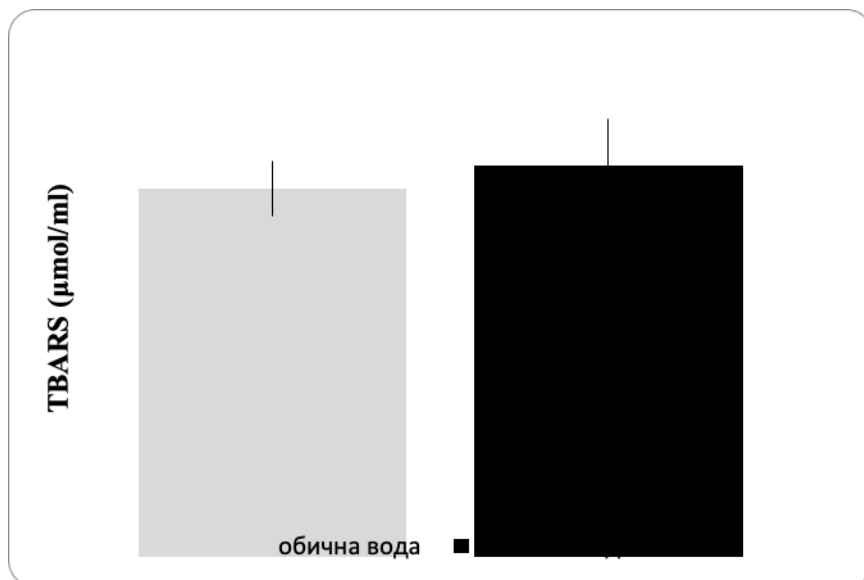


График 44. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

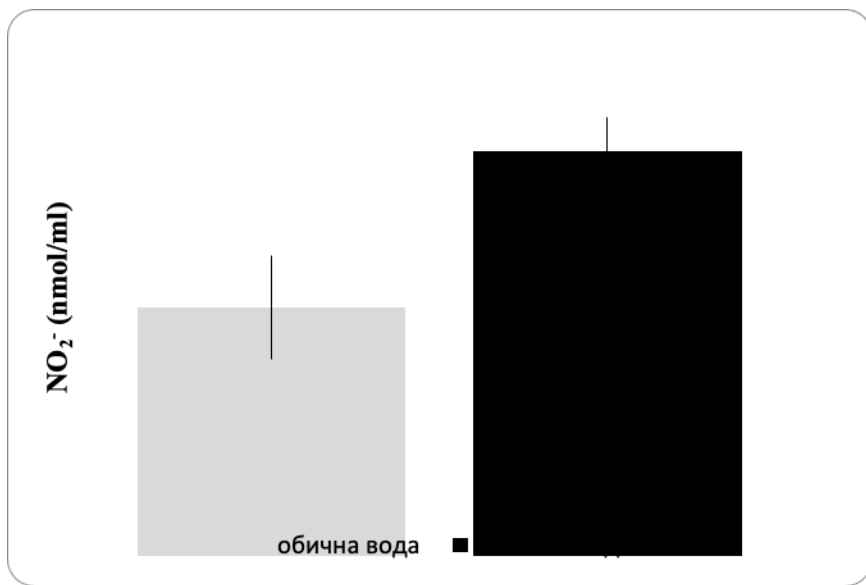


График 45. Просечне вредности  $\text{O}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

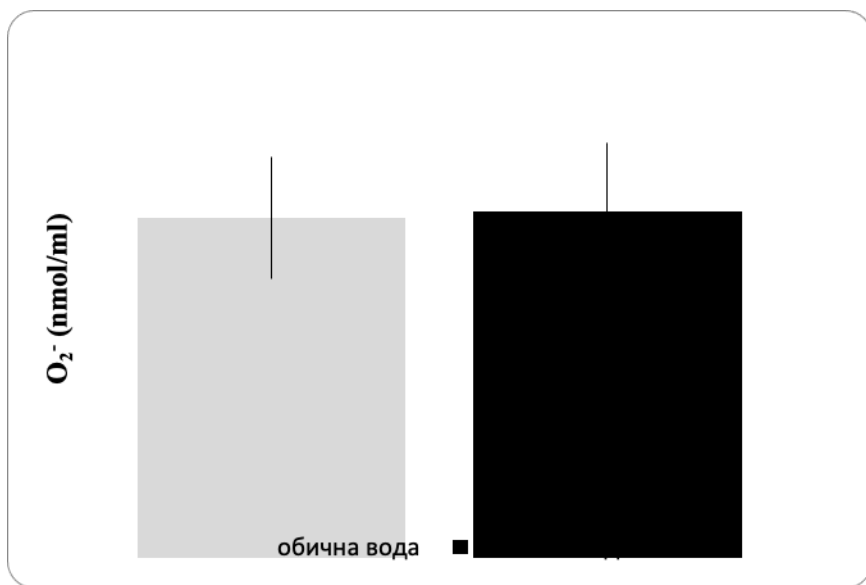


График 46. Просечне вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

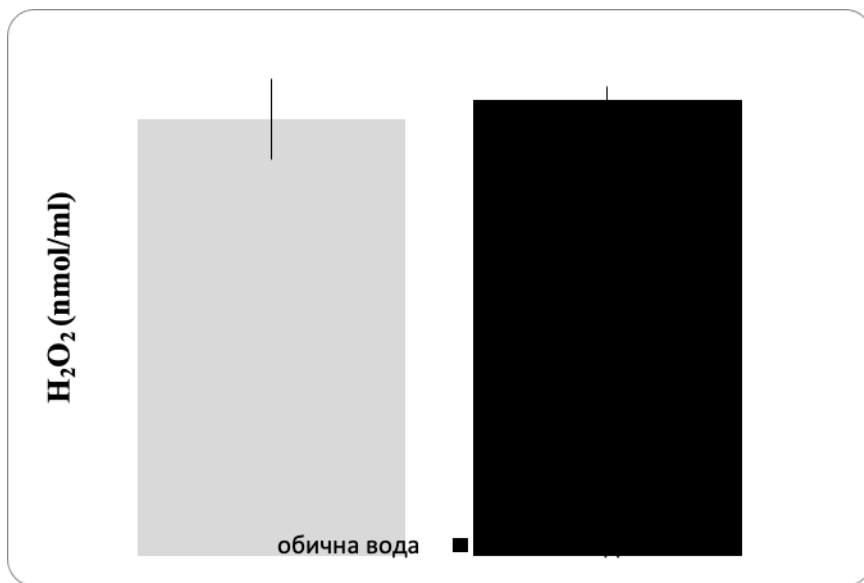


График 47. Просечне вредности SOD у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

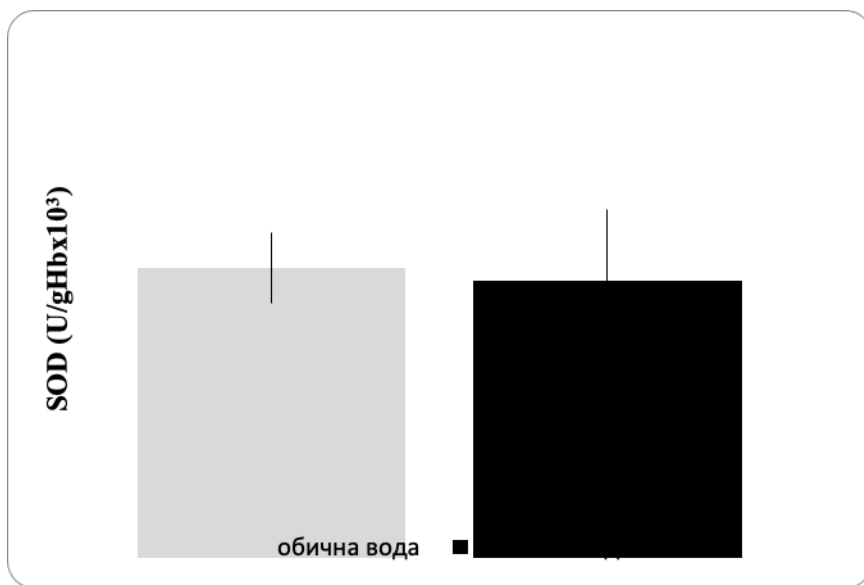


График 48. Просечне вредности САТ у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

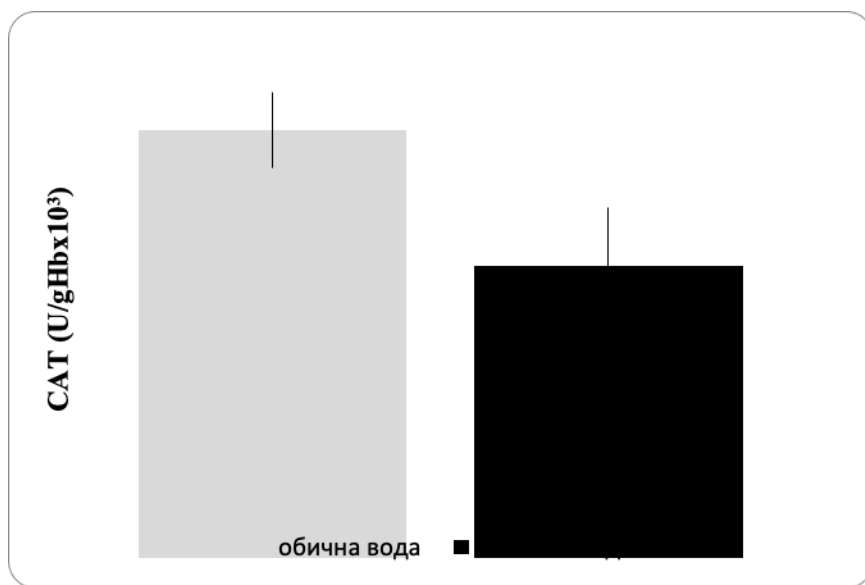
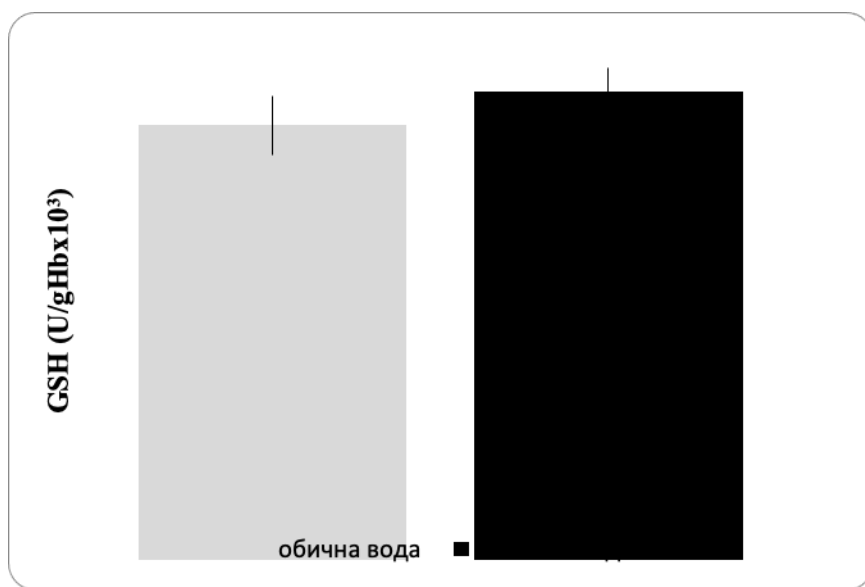


График 49. Просечне вредности GSH у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .



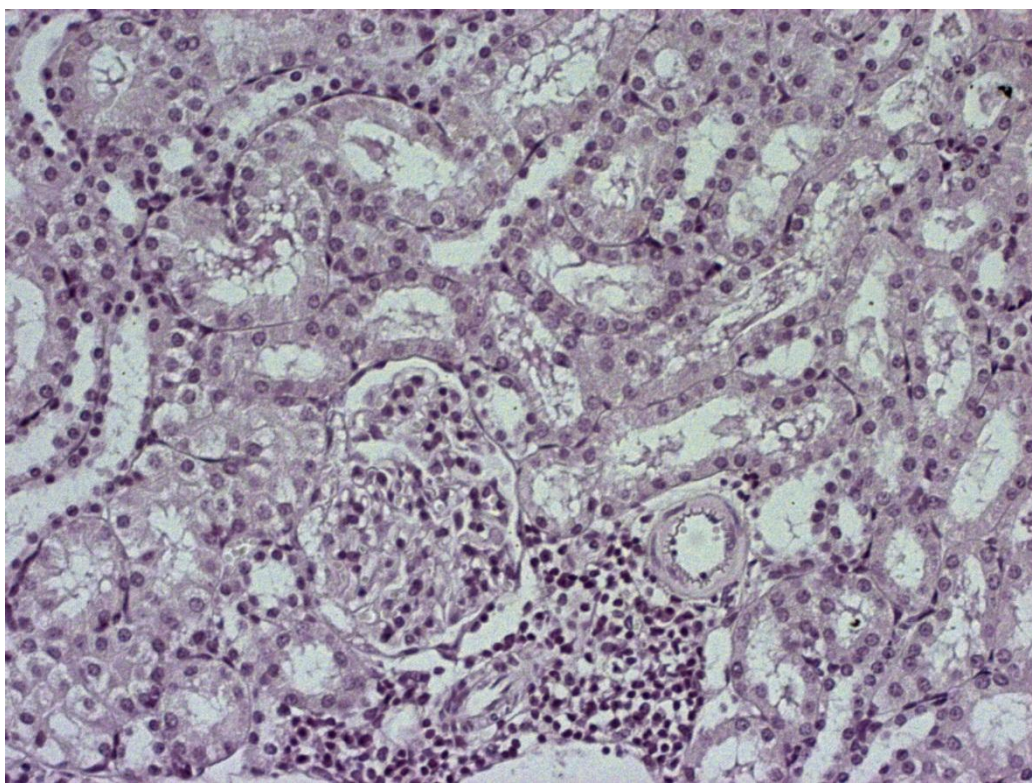
#### 4.5.2. Патохистолошка анализа ткивних пресека бубрега

На Н/Е обојеним пресецима микроскопски су анализирани коронарни пресеци бубрега. Посматране су патохистолошке промене на гломерулима, интерстицијуму, крвним судовима и тубуларном апарату.

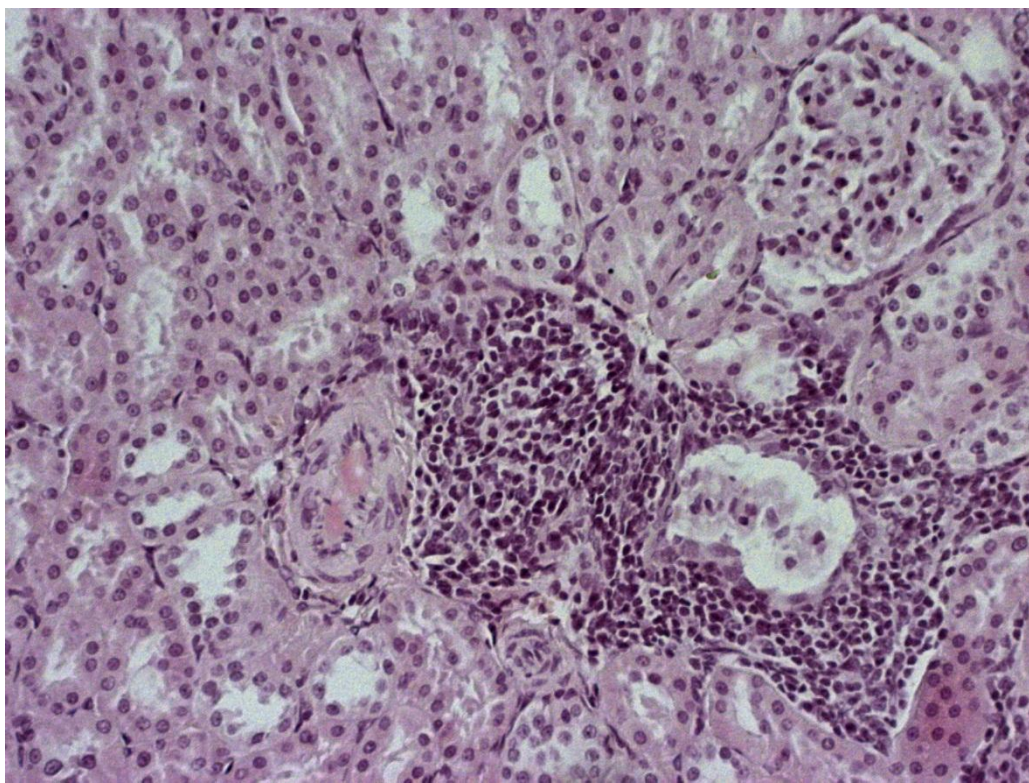
Анализиране морфолошке промене одговарају гломерулонефритису са секундарним оштећењем тубуларног апарата. Квантификоване су према већ постојећим скалама и скоровима. Присутне су у свим узорцима бубрега, у обе анализиране групе.

Између анализираних група нема статистички значајне разлике у степену оштећења гломерула, крвних судова и тубуларног апарата (Слике 6 и 7).

Слика 6. Репрезентативна фотографија гломерулонефритиса код групе пацова која је конзумирала обичну воду за пиће.



Слика 7. Репрезентативна фотографија гломерулонефритиса код групе пацова која је конзумирала воду из изворишта "Снежник-1/79".



#### **4.6. Испитивање utицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене панкреаса пацова**

##### ***4.6.1. Параметри системског оксидационог стреса***

Вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) су биле готово истоветне између групе која је конзумирала воду са изворишта "Снежник-1/79" и групе која је конзумирала стандардну воду за пиће (График 50). Вредности ослобођених нитрита -  $\text{NO}_2^-$  су биле више у групи која је пила "Снежник" воду, али без статистичке потврде (График 51). Са друге стране, као и у претходним случајевима није било разлике у вредностима водоник пероксида и супероксид анион радикала ( $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ ) између група (Графици 52 и 53).

Активност свих мерених ензимских компоненти антиоксидационе заштите (SOD, CAT, GSH) су биле ниже у групи која је конзумирала "Снежник" воду (Графици 54-56), међутим без статистичке потврде. У целини узевши, можемо запазити да код пацова са панкреатитисом, конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" није било повезано са већим ризиком од настанка оксидационог стреса у односу на групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

График 50. Просечне вредности TBARS у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



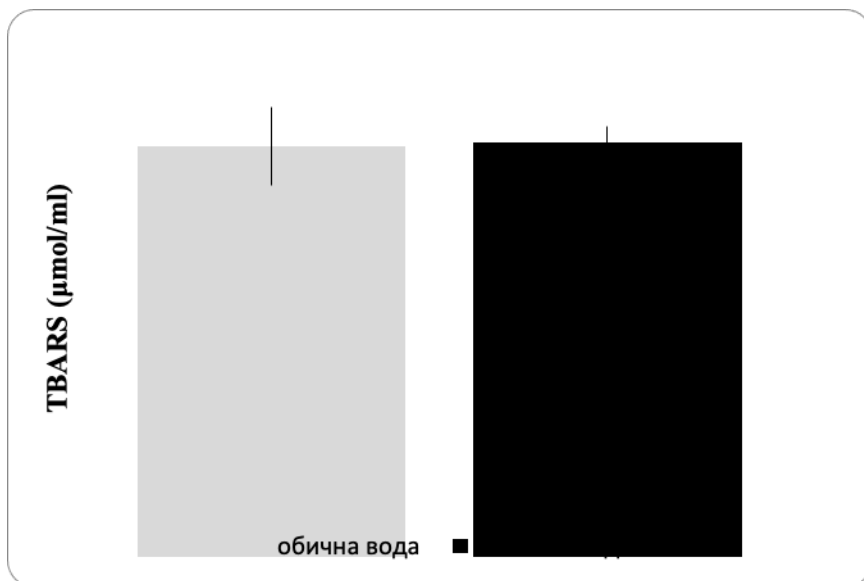


График 51. Просечне вредности  $\text{NO}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

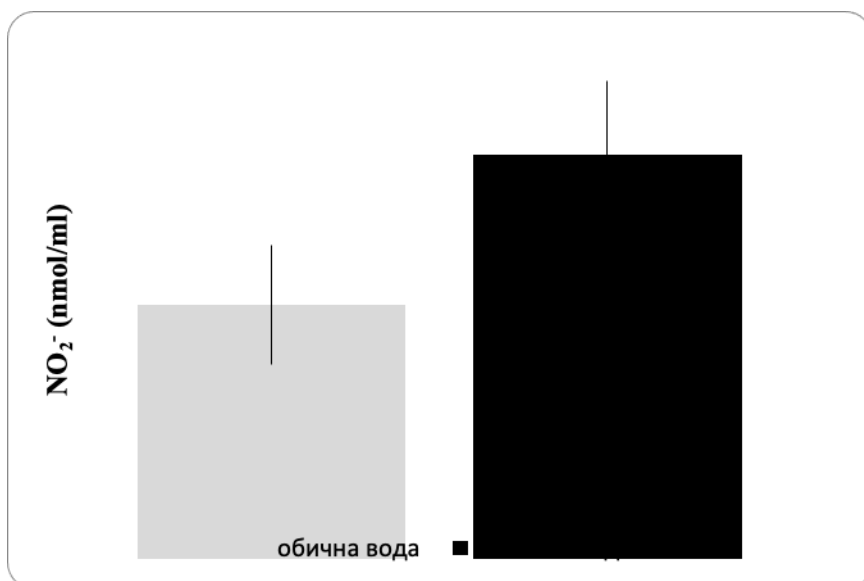


График 52. Просечне вредности  $\text{O}_2^-$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p < 0.05$ .

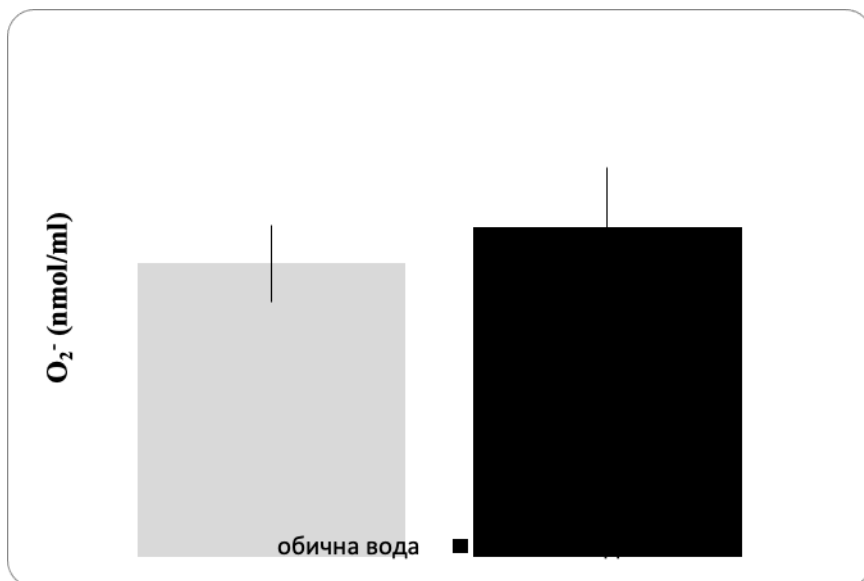


График 53. Просечне вредности  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

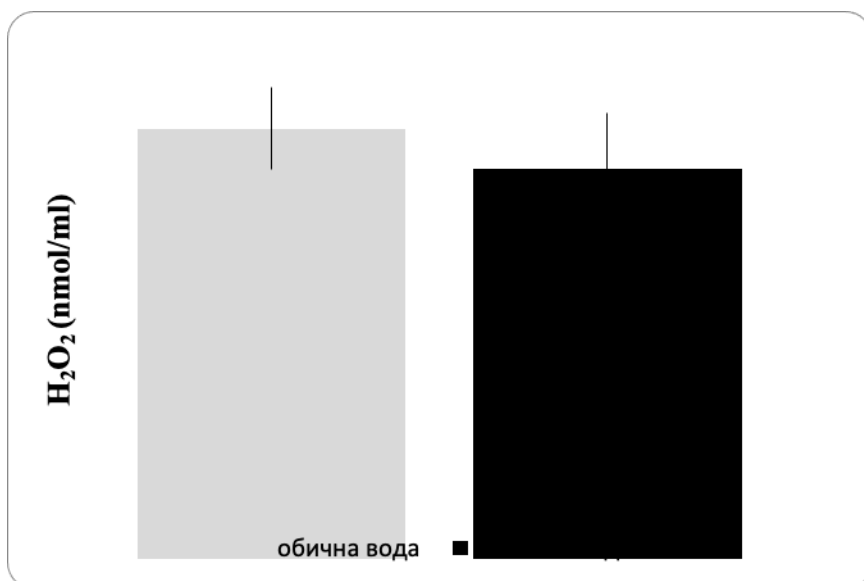


График 54. Просечне вредности SOD у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност  $*p<0.05$ .

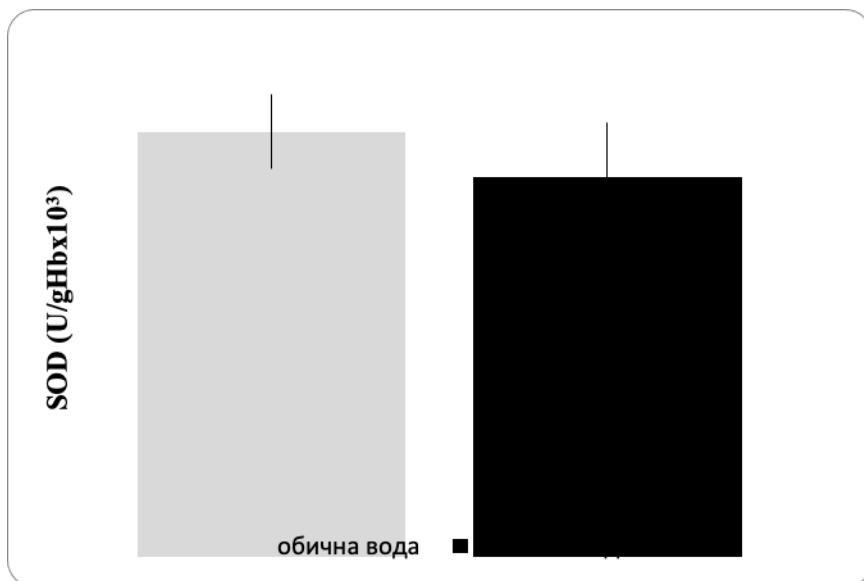


График 55. Просечне вредности CAT у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .

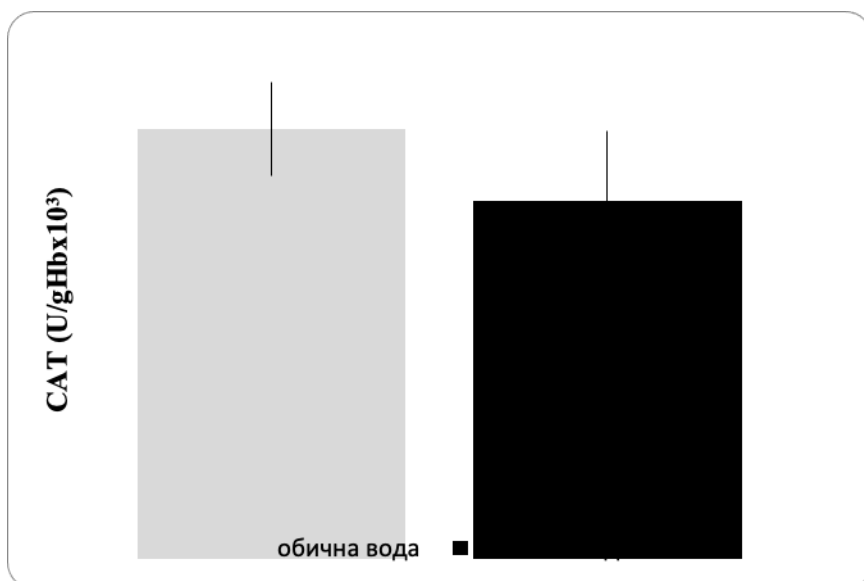
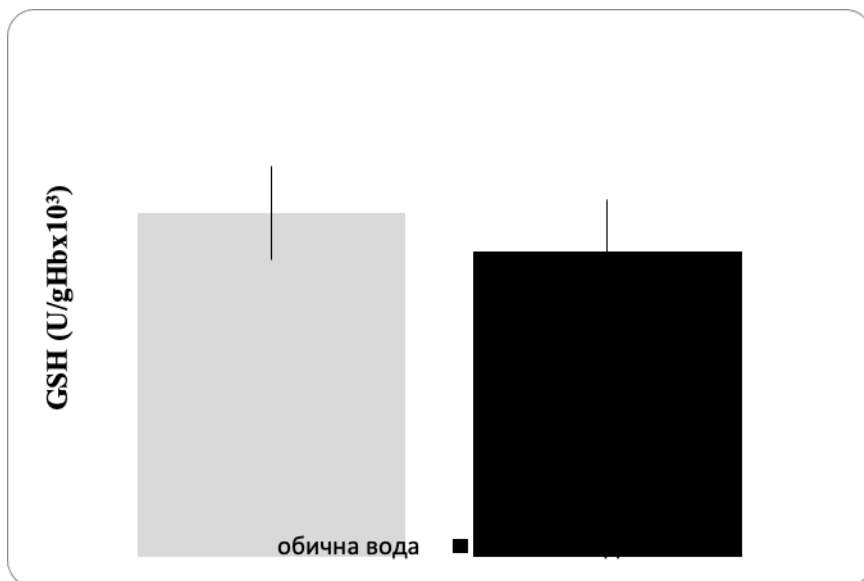


График 56. Просечне вредности GSH у плазми пацова. Резултати су изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна грешка. Статистичка значајност \* $p < 0.05$ .



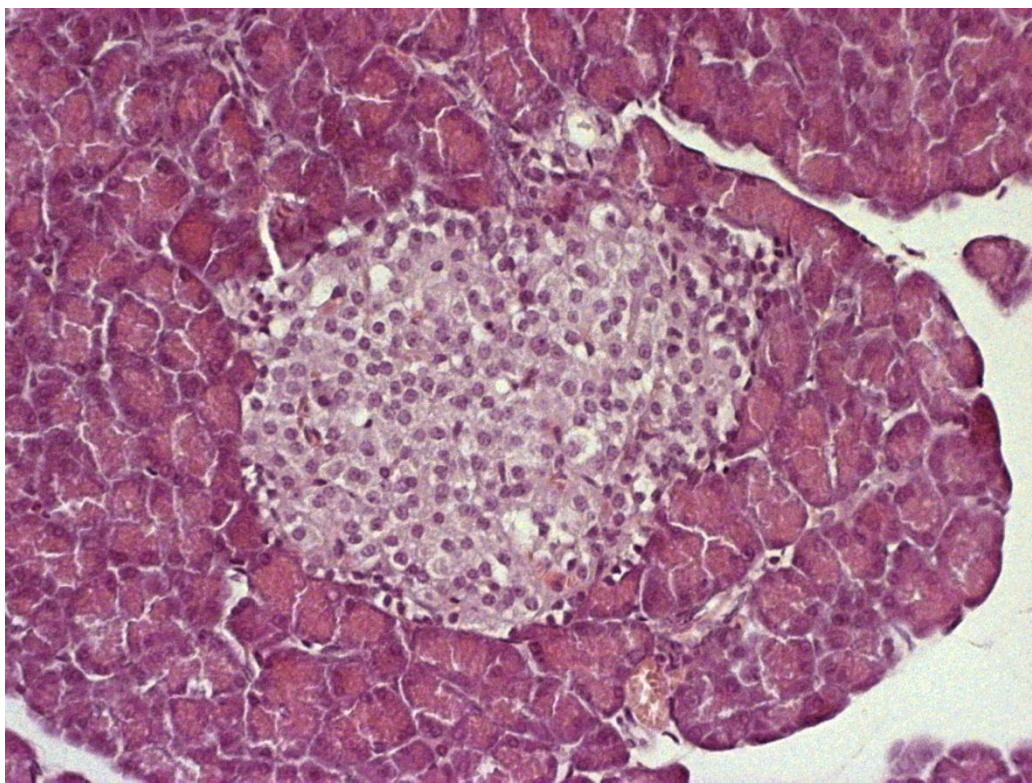
#### **4.6.2. Патохистолошка анализа ткивних пресека панкреаса**

На Н/Е обојеним пресецима максималне површине органа, микроскопски је анализирано ткиво панкреаса, у целини укалупљено у 1 парафински блок. Посматране су патохистолошке промене на ендокрином и егзокрином сегменту панкреаса које су потребне за патохистолошку потврду панкреатитиса: а) едем, б) масна промена, в) запаљенска инфилтрација.

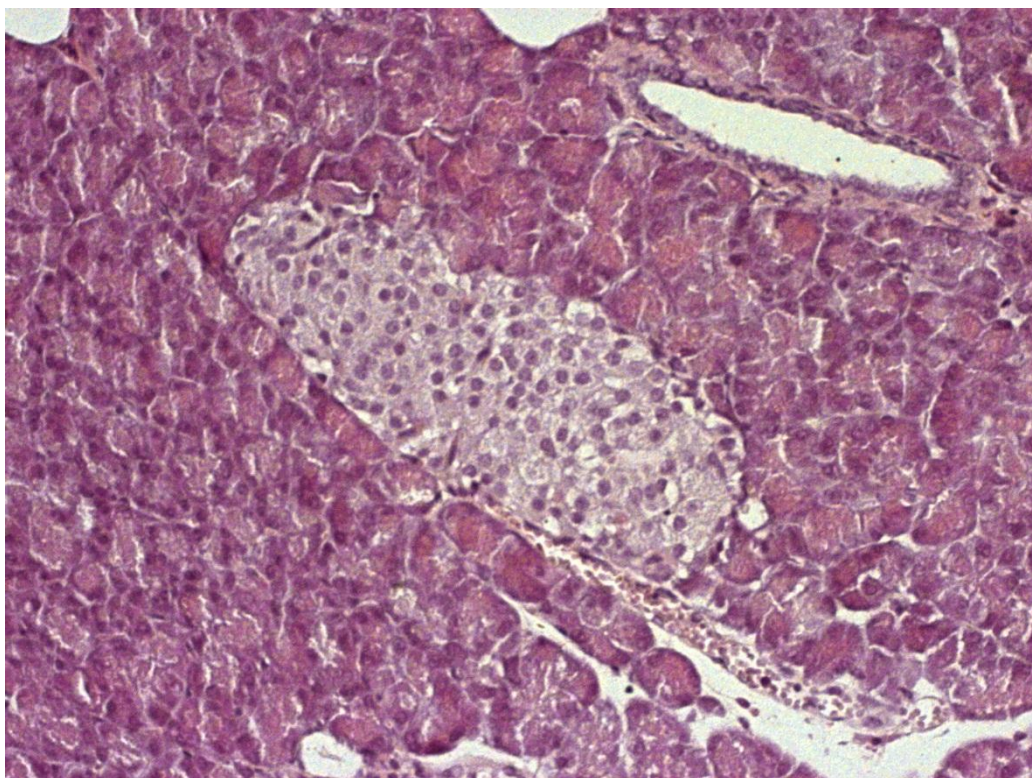
Присутне морфолошке промене одговарају алкохолном панкреатитису са примесама масне инфилтрације. Квалификоване су према постојећим стандардима, и присутне су у свим узорцима панкреаса, у обе испитиване групе пацова.

Између анализираних група пацова није утврђено постојање статистички значајне разлике у степену оштећења ендокриног и егзокриног панкреаса. (Слике 9 и 10).

Слика 9. Репрезентативна фотографија панкреатитиса код групе пацова која је конзумирала обичну воду за пиће.



Слика 10. Репрезентативна фотографија панкреатитиса код групе пацова која је конзумирала воду из изворишта "Снежник-1/79".



# V ДИСКУСИЈА

*”Вода је једино пиће за мудрог човека“.*

*Хенри Дејвид Торо (engl. Henry David Thoreau; 1817 — 1862), амерички природњак, есејиста, песник и филозоф.*

У данашњем времену када, због финансијских ограничења и појаве бројних нежељених ефеката фармаколошких агенаса, алтернативни видови терапије многих болести постају све актуелнији, примена минералних вода у склопу терапијских алгоритама чини се све сврсисходнијом и привлачи све већу пажњу научне јавности.

Сходно томе, генерални циљ спроведене студије је био да испита и утврди ефикасност употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на морфолошке и функционалне промене кардиоваскуларног, гастроинтестиналног, хепатобилијарног и уринарног система код пацова користећи одговарајуће моделе болести ових органских система.

Кроз испитивање ефеката конзумирања ове воде на најчешће патофизиолошке процесе најзначајнијих органских система желели смо да добијемо што комплетнију слику о њеним дејствима на организам у целини.

Осим тога кроз евалуацију параметара оксидационог стреса покушали смо да расветлимо бар неки од субцелуларних и целуларних механизма који имају удела у генези остварених ефеката воде са поменутог изворишта.

Узевши у обзир наше опредељење да потврду ефеката "Снежник" воде испитамо кроз морфолошке аспекте односно патохистолошке анализе различитих органских система, очигледна је оправданост и супериорност коришћења анималног модела за овакав тип истраживања. С тим у вези, наша сазнања се могу посматрати и као неопходне и незаменљиве смернице за дизајнирање клиничких студија из ове медицинске проблематике.

Увидом у историјске изворе и емпиријска сведочења људи долазимо до података о корисностима употребе "Снежник" воде на широк спектар болести. Ипак, релевантност ових сазнања је крајње суспектна услед објективних технолошких недостатака ранијих анализа (из периода првих деценија двадесетог века) као и субјективности и немогућности валидације искуствених тврдњи конзументата.

У том смислу, у савременој литератури готово да нема валидних и релевантних истраживања које проучавају ову, све актуелнију, тематику. На овај начин се потврђује оригиналност садашње студије, али и отежава компарација и орјентација остварених резултата.

Управо због тога ће анализа и дискусија добијених налаза бити изложена у светлу доступних и релевантних базичних и примењених истраживања које су проучавале ефекте минералних вода на различите патолошке ентитете.

## **5.1. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на функцију миокарда и оксидациони стрес пацова са изазваним дијабетес мелитусом типа 2**

Већина дијететских препорука за особе које болују од дијабетеса се најчешће односе на конзумацију хране, док се о контроли хидрационих навика односно квалитативним и квантитативним карактеристикама конзумиране течности мало зна (176). Ранија истраживања управо сугеришу да воде богате минералима могу обезбедити унос потребних количина минерала чија је хомеостаза поремећена у овој и другим етабличким болестима. Осим тога, важно је напоменути да је доступност и биоискористљивост минерала много већа из воде него из хране (176).

Постоје подаци који указују на позитивну улогу минералних вода у регулацији метаболизма глукозе и липида, међутим њихов утицај на срчану функцију у дијабетичним условима је слабо истражен. У том смислу у овом делу истраживања је пројектни задатак био да се процени утицај 4-недељног уноса са минералне воде из извора „Снежник-1/79“ на метаболизам глукозе као и *ex vivo* функцију миокарда дијабетичних пацова са посебним освртом на значај оксидационог стреса у добијеним ефектима.

Наши резултати показују да је на крају протокола студије унос воде био је мањи у групи која је примала испитивану минералну воду, док није дошло до промене нутритивних навика пацова и тиме промене телесне масе. У складу са нашим налазима, претходна истраживања такође не бележе значајне разлике у уносу хране и промени телесне тежине након конзумирања природне минералне воде (177). Добијено смањење уноса воде код пацова који су конзумирали Снежник воду може бити последица ублажавања полиурије и/или полидипсије пацова, као једних од важних симптома дијабетеса (178).

Иако су током прве 3 недеље експерименталног протокола гликемијске вредности биле сличне у посматраним групама, на крају треће и почетком четврте недеље праћења примећене су ниже вредности уз бољу метаболичку контролу у групи пацова која је конзумирала Снежник воду. Након 4-недељног протокола, употреба воде „Снежник-1/79“ била је повезана са враћањем гликемије у оквиру физиолошких вредности ( $5,8 \pm 0,6$  mmol/l). Ово обнављање нормогликемије код дијабетичних пацова би могли бити једно од најважнијих сазнања овог дела студије, с обзиром да показује благотворни терапијски утицај испитиване ниско минералне воде у третману хипергликемије.

Наша запажања су у корелацији са претходним истраживањима која сугеришу да пијење бањске воде може бити повезано са смањењем гликемије наше код пацијената са дијабетес мелитусом типа 2, посебно уколико се конзумира у комбинацији са оралним хипогликемијским лековима (179). Такође је запажено да унос натријум-бикарбонатне минералне воде (натријум, 1 g/l; бикарбонат, 2 g/l) током 8 недеља може редуковати ниво гликемије код особа са умереном хиперхолестеролемијом (180). Други аутори су показали да газирана минерална вода богата натријумом узрокује повећање осетљивости периферних ткива на инсулин код жена у постменопаузи (181, 182). Супротно томе, постоје подаци да 8-недељни третман натријум-карбонатном минералном водом (48 mmol/l натријума, 35 mmol/l бикарбоната и 17 mmol/l хлорида) није битније утицао на концентрацију ниво глукозе и инсулина код нормогликемичних особа (177).

Као што је поменуто, посебан фокус нашег истраживања био је да се процени да ли конзумирање Снежник воде мења концентрацију системских прооксиданата и модулира активност антиоксидационих ензима заштите. Наши резултати индикују да је поменута минерална вода била способна да смањи ниво супероксид анион радикала и индекса липидне пероксидације као и да унапреди активност компоненти



антиоксидационе ензимске баријере - SOD и GSH. Сnižено ослобађање системског супероксид анион радикала је у корелацији са повишеном активношћу SOD. Овај ензим који представља прву линију ћелијске одбране, је вероватно конвертовао супероксид анион радикал настао у митохондријима до мање токсичног водоник пероксида.

Повећање GSH може делимично објаснити смањено ослобађање индекса липидне пероксидације, будући да GSH делује као ко-супстрат у регулацији и редукцији концентрације липидних пероксида (183). Непромењене активности CAT подржавају одсуство промене у вредностима водоник пероксида, с обзиром да је повећана синтеза ово молекула окидач за појачану активност CAT, ензима који га разлаже (184).

Пре око две деценије је сугерисано конзумирање минералне воде богате сумпором може позитивно утицати на активност антиоксидационог одбрамбеног система код пацијената са остеоартритисом и смањити маркере липидне пероксидације (185). Додатно, антиоксидациони потенцијал природних минералних вода код здравих добровољаца и пацијената са различитим хроничним болестима је такође потврђена у каснијим студијама (186-188).

Међутим, подаци који се односе на утицај минералних вода на системски редокс статус и срчана производњу срчаних про-оксиданата код дијабетичара и даље су неусаглашени и отворени за дискусију. Постоје извештаји који указују на антиоксидациони потенцијал природне минералне воде и њене ефикасности у контроли дијабетеса (189). У прилог резултатима садашњег истраживања су студије на пацијентима са дијабетесом које сугеришу да чак и краће излагање минералној води (2 недеље) може бити довољно да испољи корисна својства на одржавање системског редокс стања (179). Заправо, ова група аутора је потврдила да унос сумпор-бикарбонат-калцијум-магнезијум богате минералне воде уз стандардну терапију може довести до пада концентрације реактивних врста кисеоника и повећања активности антиоксидативне баријере (179).

Осим тога, у једном истраживању је закључено да потрошња алкалне неутралне воде током 2 месеца снажно подиже антиоксидациони ензимски капацитет (каталаза, супероксид дисмутаза и глутатион) код пацијената са дијабетесом типа 2 (190). У нашој студији уочени антиоксидациони потенцијал воде „Снежник-1/79“ може се објаснити богатством ове воде разним минералима који су потребни за функцију антиоксидационих ензима заштите (190).

Када је реч о утицају Снежник воде на параметре функције изолованог срца дијабетичних пацова, наши налази указују да четвородневни унос ове воде није променио односно утицао на контрактилна и релаксантна својства леве коморе, о чему сведоче непромењене вредности  $dp/dt \max$  и  $dp/dt \min$ . Штавише, вредности SLVP, DLVP и CF биле су сличне у оба посматранЕ групе, што сугерише да ова минерална вода не мења систолни и дијастолни капацитет као и коронарни вазодилаторни одговор код дијабетичних пацова.

Напротив, унос Снежник воде довео је до благог пораста срчане фреквенције, која је остала у физиолошким границама за пацове. Ова запажања указују да употреба поменуте воде не омета функцију срца пацова које је изложено хипергликемијским условима.

Са друге стране други су показали да је потрошња хипертоничне, природно газираних минералних вода богате натријумом спречила пораст срчане фреквенце код пацова са метаболичким синдромом (191). Претходно спроведене студије су углавном биле оријентисане на позитивне утицаје минералних вода у редукцији кардиоваскуларних фактора ризика попут укупног холестерола, хипергликемије и LDL-холестерола, међутим, нема података који указују на утицај на рад срца (192).

Док већина студија сугерише улогу природне минералне воде у смањењу производње маркера оксидационог стреса, ефекти ових вода на продукцију срчаних прооксиданаса у дијабетичким условима тек треба да се разумеју. У том смислу, желели смо да тестирамо да ли 4-недељна потрошња Снежник воде може утицати на генезу прооксиданата у срчаном ткиву дијабетичних пацова. По завршетку експерименталног протокола смо открили да је унос ове минералне воде био повезан са редукцијом производње индекса липидне пероксидације и супероксид анион радикала у срцу, што је у складу са резултатима ових маркера пореклом из системске циркулације који су одраз системског оксидативног статуса. Добијено снижење концентрације срчаних прооксиданаса је од значаја јер указује на то да Снежник вода може ублажити или превенирати оксидационо оштећење кардиомиоцита у хипергликемијским условима.

Објашњење за све постигнуте ефекте из овог дела студије би се могло пронаћи у садржају минерала који је у Снежник води прилично занимљив. Наиме, изо-осмоларне концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  и хипо-осмоларне концентрације других минерала могу створити ефикасну комбинацију за утицај на активност антиоксидационих ензима (посебно  $\text{Mg}^{2+}$ ) или позитивно утицати на регулацију синтезе инсулина и последично смањење нивоа глукозе. Бројна истраживања потврђују вишеструки значај јона  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  у одржавању физиолошког метаболизма глукозе. Тако је познато да улазак јона  $\text{Ca}^{2+}$  у ћелију покреће серију реакција које индукују ослобађање инсулина из бета ћелија у крвоток (193). Осим тога, јони магнезијума су неопходни за процес ауто-фосфорилације инсулинског рецептора, будући да се два магнезијумова јона везују за домен тирозин киназе. Стога, недостатак магнезијумових јона може довести до промена у фосфорилацији и развијања инсулинске резистенције.

С друге стране, унос  $\text{Mg}^{2+}$  повећава осетљивост на инсулин везањем ових јона за унутарћелијски домен инсулинског рецептора (194, 195). У том смислу претпостављамо да би унос минералне воде која садржи изо-осмоларне концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  могао побољшати гликорегулацију и сигналну каскаду повезану са секрецијом инсулина. Штавише, антиоксидативни потенцијал Снежник воде могао би се објаснити поменутих минералним саставом, а посебно пожељним концентрацијама магнезијум-јона који је неопходан кофактор за активност каталазе (196).

Налази ове студије пружају нови увид у заштитну улогу природне ниско минералне воде у контроли и третману дијабетеса, што сугерише да би ова вода могла бити од користи у свакодневној хидрацији дијабетичних пацијената. Позитивни ефекти Снежник воде у побољшању редокс статуса указују на могућност њене адјувантне примене у превенцији или лечењу бројних физиолошких и патолошких стања повезаних са повишеним оксидационим стресом.

Међутим, неопходно је спровести будуће студије са дужим временом експозиције да би се у потпуности разјаснио терапеутски потенцијал воде Снежник воде и разумели разноврсни механизми који су укључени у њене благотворне ефекте.

Сумарно посматрано након ове фазе студије можемо закључити да је 4-недељна примена слабо минералне воде са изворишта „Снежник-1/79“ била повезана са снижењем вредности глукозе и побољшањем регулације гликемије код дијабетичних пацова. Штавише, ова вода није реметила параметре функције срца, чиме се показала као безбедна у погледу утицаја на срчани рад. Додатно, редукција производње маркера оксидационог стреса имплицира позитиван утицај ове воде на системску и срчану редокс хомеостазу.

## **5.2. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене желуца пацова**

Циљ ове фазе студије је био да утврди ефекте минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на формирање запаљенских промена желуца пацова који су третирани етанолом како би се изазвао хемијски индукован гастритис. Кроз одређивање концентрације маркера оксидационог стреса покушали смо утврдити бар један од механизма који могу имати посредовати у оствареним ефектима, будући да је добро позната улога поремећаја редокс хомеостазе у гастричним лезијама (197).

Про-оксидациони биомаркери (TBARS,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2$ ) су, иако без статистичке потврде, били незнатно нижи у групи која је конзумирала Снежник воду. Са друге стране, све три одређиване компоненте антиоксидационе заштите (SOD, CAT и GSH) се нису битније разликовале без обзира на врсту примењене воде. Уопштено посматрајући ови резултати сугеришу да код пацова са индукованим гастритисом, употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са већим ризиком за оксидационог дисбаланса. Ови резултати сугеришу да између група није било сигнификантне разлике у развоју запаљенских лезија желуца. Осим тога, патохистолошке анализе ткива су показале да је у обе испитиване групе дошло до развоја лезија желудачне слузнице, које се по својим морфолошким карактеристикама нису разликовале.

У доступној литератури има веома мало релевантних истраживања које су проучавале дејства минералних вода на настанак и/или ублажавање симптома различитих форми гастритиса. Једна руска студија је тако доказала протективна дејства натријум-калцијум-сулфатне воде на морфолошку структуру желуца и секреторну функцију његових жлезда (198). Други аутори су показали да минералне воде сличног састава односно богате комбинацијом натријума, сулфата, калцијума али и хлорида могу протективно деловати на желудачну слузницу код хроничног гастритиса (199).

Истраживање које је обухватило велики студијски узорак од 734 пацијената са хроничним гастритисом и секреторном инсуфицијенцијом је проучавало како акутне тако и продужене ефекте употребе натријум-хлоридне минералне воде (200). Резултати који су добијени показују да и овај тип минералне воде може имати позитивна дејства на особе које пате од хроничног гастритиса односно допринети ублажавању њихове клиничке слике (200).

Сумарно узевши на основу налаза садашње студије и поменутих литературних извора може се уочити да је већина аутора сагласна да минералне воде различитог састава могу благотворно утицати на тегобе које прате хронични гастритис и да се

њихова примена може повезати са редукцијом симптома односно бољом контролом гастричне хиперсекреције (198-200). Иако се ове воде разликују по минералном саставу од Снежник воде, очигледно је да се присуство минерала пре свега катјона може довести у везу са оствареним позитивним својствима свих вода. Важно је такође напоменути да ниједна наведена студије нема ни минималног механистичког карактера односно није покушала да објасни механизам остварених ефеката примењених вода кроз промене редокс хомеостазе које су један од окидача желудачних лезија у хроничном гастритису (197).

На крају, на основу наших сазнања из овог дела истраживања можемо извести следећа запажања: 1. код обе групе пацова је патохистолошки потврђено постојање запаљенских промена слузнице желуца у облику хроничног парцијално ерозивног гастритиса; 2. код пацова са овим типом гастритиса конзумирање "Снежник" воде није било повезано са већом продукцијом про-оксидационих маркера и смањеном активношћу ензимског антиоксидационог система заштите у односу на обичну воду за пиће. У том смислу, употреба ове воде није била повезана са постојањем већег ризика за настанак оксидационог стреса односно оксидационих оштећења ћелија; 3. између група није утврђена разлика у формирању хроничних запаљенских лезија желуца што указује да воде које су конзумиране нису утицале на стварање поменутих морфолошких промена; 4. ови налази индикују да би за израженије ефекте "Снежник" воде било од интереса да постоји дужи временски период експозиције.

### **5.3. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене колона пацова**

Овај део истраживања је дизајниран ради испитивања утицаја минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на формирање запаљенских промена колона пацова који су третирани сирћетном киселином како би се изазвао хемијски индукован улцерозни колитис. Као и у претходном случају, осим патохистолошке анализе слузнице колона, одређивани су и маркери оксидационог стреса чија је улога у патогенези улцерозног колитиса доказана у више публикација (201).

Са напредовањем болести, инфилтрација инфламаторних ћелија слузнице колона постаје све израженија, пре свих макрофага, неутрофила и других врста леукоцита (201). Сви они потом почињу са индукцијом синтезе реактивних кисеоничних врста и развоја локалног оксидационог стреса који уколико прогредира може да прерасте у поремећај редокс равнотеже на системском нивоу (201). Управо ова конекција улцерозног колитиса и биомаркера оксидационог статуса из системске циркулације је била једна од главних идеја за осмишљавање и спровођење овог дела студије. На овај начин смо имали интенцију да расветлимо бар један од механизма који је укључен у добијене ефекте испитиване воде.

Са друге стране уочено је да примена егзогенних антиоксиданаса (куркумина, резвератола) има позитиван утицај на унапређење активности ендогенних антиоксидационих ензима (каталазе, редукованог глутатиона, супероксид дизмутазе), што за последицу може да има ублажавање симптома ове болести (202, 203).

Наши резултати показују да је унос Снежник воде био у корелацији са (несигнификантно) нижим вредностима већине параметара који су индикатори про-оксидационог стања ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2$ ), док се активност антиоксидационих ензима

заштите није разликовала између група. Генерално тумачено ови налази сугеришу да код пацова са хроничним запаљенским лезијама колона, конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" није било повезано са већом генезом слободних радикала односно мањом мобилношћу ензимског антиоксидационог система у односу на контролну групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

Осим тога, у погледу патохистолошких карактеристика препарата формиране лезије колона које одговарају улцерозном колитису нису битније вариране без обзира на тип воде којима су животиње појене (обична или Снежник вода).

У литератури је тешко наћи истраживања која су се бавила проучавањем каузалне повезаности употребе минералних вода и промене тегоба односно клиничке слике код особа које болују од улцерозног колитиса. Студија објављена прошле године је указала да врста воде за пиће може да буде повезана са ризиком од развоја улцерозног колитиса, Кронове и других инфламаторних болести црева (204). То се поготово односи на воде богате нитратима које захтевају даљу анализу и разјашњење конекције са настанком и компликацијама ових болести (204). Супротно томе има и студија које су показале да не постоји асоцијација између врсте воде која се конзумира и развоја инфламаторних болести црева (205), што уноси додатне недоумице ове слабо истражене проблематике.

Полазећи од ових оскудних података из литературе и истовремено узимајући у обзир наша сазнања можемо запазити следеће: 1. недовољан број и неусаглашеност до сада познатих доказа о повезаности утицаја употребе минералних вода и развоја односно тежине улцерозног колитиса намеће потребу за спровођењем нових, комплекснијих и релевантнијих студија базичног и клиничког карактера; 2. у садашњем истраживању је код обе групе пацова патохистолошки потврђено постојање запаљенских промена дебелог црева по типу улцерозног колитиса без значајнијих разлика које би се могле довести у везу са врстом примењене воде; 3. код пацова са улцерозним колитисом употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезано са већим ризиком за настанак оксидационог стреса односно оксидационих оштећења у односу на обичну воду за пиће. 4. за евидентније ефекте "Снежник" воде било би од интереса да постоји дужи временски период експозиције.

#### **5.4. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене јетре пацова**

Циљ ове подфазе истраживања је био да испита утицај минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на настанак запаљенских промена јетре пацова који су третирани етанолом како би се изазвао алкохолни хепатитис. Принцип утврђивања улоге оксидационог стреса односно откривање субћелијских и ћелијских оксидационих промена који су повезани са оствареним ефектима је био исти као приликом ранијих експерименталних проткола.

Поменути интенција се заснива на добро познатој повезаности између настанка запаљенских лезија јетре и оксидационог стреса (206). Хронична инфламација

хепатоцита инфективне и неинфективне етиологије на различите начине покреће серију каскадних реакција чија је последица продукција реактивних кисеоничних и реактивних азотних врста (206). Већина истраживача је сагласна да су главни окидачи производње ових токсичних молекула Купферове ћелије и полиморфонуклеарни леукоцити путем активације ензима NADPH оксидазе (206). Осим овог механизма, током оштећења јетре запаљенске генезе долази до индукције транскрипције и синтезе серије различитих цитокина и фактора раста који са своје стране индукују продукцију слободних радикала (207).

Резултати садашње студије су показали да је у погледу системског оксидационог статуса развоја алкохолних оштећења јетре био повезан са сличном динамиком ослобађања свих испитиваних про-оксидационих маркера. У том смислу можемо уочити да примењени тип воде за пиће није утицао на продукцију биомаркера про-оксидационог стања. Сличан тренд је забележен и приликом анализе активности антиоксидационих ензима која се није разликовала између две групе. Осим тога, као и у претходним случајевима, патохистолошке карактеристике развијеног алкохолног хепатитиса су биле готово идентичне. Сумарно посматрано, на основу наведених налаза се може запазити да код пацова са запаљенским променама јетре, употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са појачаном производњом слободних радикала и смањеном активношћу ензимских антиоксиданаса у односу на групу која је конзумирала стандардну воду за пиће.

Будући да у доступним базама података има веома мало истраживања која су изучавала утицај минералних вода и развоја и тока различитих форми хепатитиса, осврнућемо се најпре на повезаност воде за пиће и формирања акутног токсичног хепатитиса (208). Наиме, у једној од ретких студија из ове проблематике је представљен приказ случаја коме је забележен развој акутног токсичног хепатитиса након уноса воде богате хлором (208). Токсично дејство поменуте воде се приписује формирању трихалометана који настају у реакцији хлора и органских једињења пореклом из хепатоцита (208).

У студији руских аутора је испитивана ефикасност третмана Омонкона минералне воде (енгл. Omonkhona) из изворишта у Узбекистану у терапији хепатобилијарне патологије (209). Седамдесетседам пацијената са болестима хепатобилијарног тракта, између осталог и пацијената са хепатитисом, је конзумирало поменуту воду током две недеље у волумену од један до три литра. Налази које су ови аутори добили показују да је конзумирана минерална вода довела до редукције тегобе код већине пацијената и до побољшања биохемијских показатеља болести. Остварени позитивни ефекти су били најмање изражени код пацијената са цирозом јетре (209).

Друго истраживање експерименталног дизајна се бавило проучавањем бенефитних својстава слабо натријум-хидро-карбонатне минералне воде која је садржала хуминску киселину (210). Закључено је да се најкориснија дејства поменуте минералне воде срећу двадесетједан дан након апликације при чему је концентрација хуминске киселине износила 20g/dm<sup>3</sup>. Овакав третман је био повезан са редукцијом инфламаторних процеса у хепатоцитима као и ублажавањем хистопатолошке слике њиховог оштећења (210).

Последња студија вредна помена је била такође експерименталног карактера и изучавала је потенцијалне ефекте Рихал-Су (енгл. Rychal-Su) минералне воде са

изворишта из Дагестана на физиолошке и биолошке параметре јетре пацова са тетралорметан индукованим токсичним оштећењем јетре (211). Истраживање је показало да је употреба поменуте воде довела до побољшања функције јетре у смислу ресторације вредности јетриних ензима, смањења липидних оштећења и бољег секреторног капацитета хепатоцита (211).

Узевши у разматрање све наведене студије као и резултате садашњег истраживања можемо закључити да је и у случају испитивања овог патофизиолошког ентитета јасно да постоји реална потреба за даљим истраживањима који би пружили комплетније и свеобухватније информације о испитиваној проблематици. Наша сазнања показују да код пацова са поменутим обликом хепатитиса употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са већим ризиком од настанка оксидационог стреса и тиме оксидационих ћелијских оштећења у односу на обичну воду за пиће. Осим тога, примена ове воде није била у корелацији са променама хистопатолошких лезија које су развијене.

### **5.5. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене бубрега пацова**

У овом делу студије је проучаван ефекат минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на настанак запаљенских промена гломеруло-тубулског система бубрега пацова који су третирани говећим серумским аблумином како би се изазвао мембранозни гломерулонефритис. Осим процене морфолошких промена, кроз спровођење патохистолошких анализа, задатак је био да се утврђивањем концентрације оксидационог стреса испита улога поремећаја редокс равнотеже у добијеним ефектима.

Место оксидационог стреса у индукцији гломерулско-тубулских промена које воде у настанак и прогресију гломерулонефритиса је добро позната (212, 213). Бројне експерименталне студије су потврдиле значај оксидационих оштећења у формирању лезија кроз идентификацију оксидационих продуката у ткиву бубрега и урину (212-214). Запаљенски инфилтрат у гломерулима обилује моноцитима и неутрофилима који заједно са ендотелним ћелијама и подоцитима током инфламаторног процеса доводе до продукције слободних радикала (213). Овако формиран слободни радикали потом изазивају оштећења различитих структура што за последицу има поремећај пропустљивости протеина, смањење гломерулског протока крви и филтрације (212-214).

У истраживању Булбула и коаутора је испитиван оксидациони статус деце са гломерулонефритиса како у акутној форми тако и током ремисије (215). Узорци крви су сакупљани приликом пријема у болницу као и након десет недеља. Забележено је да концентрације биомаркера липидне пероксидације и супероксид дизмутазе високо корелирају са ремисијом болести (215). На овај начин је указано да постоји корелација између тока ове болести и системског оксидационог статуса, што је била једна од хипотеза садашње студије.

Када је реч о примени минералних вода у превенцији и третману запаљенских промена гломеруло-тубулског система, доступне базе нам пружају више података него у случају претходно испитиваних патолошких ентитета.

Тако су Телина и сарадници проучавали ефикасност примене минералне воде богате калцијум-магнезијум-сулфатима на клиничку слику пацијената са хроничним пијелонефритисом и уролитијазом (216). По завршетку периода праћења и конзумације ове воде запажено је да се диуреза побољшала док су протеинурија, оксалурија и уратурија значајно смањене (216). Бенефитне ефекте примене минералних вода са различитим електролитним саставом су забележиле и друге студије поготово Дудученка и његове групе (217, 218). Ипак, ниједно од ситраживања није покушала да доведе у везу поремећаје оксидационог статуса са уносом минералних вода код особа са бубрежним болестима.

У том смислу, резултати нашег истраживања показују да се вредност свих испитиваних индикатора про-оксидационог стања нису битније разликовале без обзира на врсту примењене воде. Слично томе, активности мерених антиоксидационих ензима су такође биле блиске између испитиваних група. Додатно, ниво оштећења гломерула, крвних судова и тубуларног система су били сличних патохистолошких одлика након обе врсте примењене воде.

На основу овог дела истраживања можемо закључити следеће: 1. код обе групе пацова патохистолошки је доказан настанак инфламацијских лезија бубрега у форми гломерулонефритиса са секундарним оштећењем тубулског система; 2. код пацова са гломерулонефритисом, употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са већим ризиком од настанка оксидационог стреса и последичних оксидационих субцелуларних оштећења у односу на обичну воду за пиће; 3. патохистолошким анализом ткивних пресека бубрега није откривена разлика у запаљенској реакцији између група које су конзумирале обичну и Снежник воду. Ови резултати сугеришу да би за евидентније ефекте "Снежник" воде било од интереса да постоји дужи временски период експозиције.

#### **4.6. Испитивање утицаја минералне воде "Снежник" на запаљенске промене панкреаса пацова**

У последњем делу истраживања смо имали за циљ да испитамо ефекте минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на настанак запаљенских промена панкреаса пацова који су третирани комбинацијом хране са богатим садржајем масти и етанолом како би се изазвао панкреатитис. Као и у претходним случајевима, осим патохистолошких анализа ткива панкреаса, одређиване су и вредности параметара оксидационог стреса како би се утврдио значај оксидационог статуса у добијеним резултатима и утврдила корелација са морфолошким променама у панкреасу.

Улога оксидационог стреса у патогенези акутног панкреатитиса је потврђена како у базичним тако и у клиничким истраживањима. Механизми путем којих слободни радикали погудују развоју и прогресији инфламације током запаљена панкреаса су бројни.



Међу овим механизмима се најчешће сматра да реактивне кисеоничне врсте покрећу серију инфламаторних каскадних реакција и мобилизацију запаљенских ћелија који са своје стране оштећују ткиво панкреаса (219, 220). Комплексност поменутих догађаја се огледа и у међусобној интеракцији између реактивних кисеоничних врста и про-инфламаторних цитокина која је посредована NF- $\kappa$ B и STAT3 сигналних путева (221).

Осим повећане продукције слободних радикала, приликом запаљена панкреаса долази и до смањене активности ендогених антиоксиданата (221). Додатно, примена егзогених антиоксиданаса може бити повезана са смањењем болова код особа које болују од хроничног панкреатитиса (222).

У садашњој студији смо уочили да је концентрација свих испитиваних про-оксидационих маркера била слична у обе групе као и да се активност антиоксидационих ензима заштите није разликовала без обзира на тип примењене воде. Генерално посматрано, можемо запазити да код пацова са панкреатитисом, конзумирање воде са изворишта "Снежник-1/79" није било повезано са већим ризиком од настанка оксидационог стреса у односу на групу која је конзумирала стандардну воду за пиће. У погледу патохистолошких карактеристика, настала морфолошка оштећења се по степену тежине и осталим одликама нису битније разликовала између група, што указује да се развој алкохолног панкреатитиса одвија неометано у бое групе животиња.

Терапијски ефекти употребе минералних вода различитог састава на запаљенске лезије панкреаса су испитиване како у експерименталним тако и студијама на хуманој популацији. Третман водом не само минералног карактера, односно правилна и довољна хидрација су оправдани и срећу су многим медицинским доктринама будући да се приликом инфламаторног процеса панкреаса узимање хране редукује те је повећан унос течности вишеструко неопходан (223). Приликом лечења пре свега хроничног панкреатитиса, предност се даје минералној води слабе и средње минерализације. Ове минералне воде најчешће садрже сумпор, калцијум, хидрогенкарбонате и сулфате. Претпостављени механизам деловања ових слабо минералних вода код панкреатитиса заснован је на смањењу конгестије панкреасних канала, фацилитацији ослобађања панкреасног секрета и генерално презервацији његове активности током инфламације (223).

Друга истраживања наводе да се позитиван утицај минералних вода код овог патофизиолошког стања огледа и у стимулацији производње панкреасних ензима и секрета (224). Механизам овог дејства се базира на снабдевању панкреасних ћелија довољним количинама минерала који су есенцијални кофактори за функцију произведених ензима. Међу њима су најзначајнији магнезијум, манган, цинк, калијум, калцијум, колбат, гвожђе и други (224). Осим тога, бикарбонати присутни у овим водама помажу и олакшавају продукцију панкреасног секрета који је управо богат овим јонима са циљем неутрализације ефеката желудачне киселине у танком цреву. Поједине студије наводе чак да примена минералних вода делује бенефитно на отварање Одијевог сфинктера те продукцију дигестивних хормона у дудоденуму (225).

У једном од експериментални истраживања на пацовима из ове године је доказан стимулативни ефекат минералне воде на активност бета ћелија панкреаса које су биле изложене парцијалној деструкцији стрептозотоцином (226). Студија сличног дизајна у којој су мишеви третирани стрептозотоцином ради оштећења Лангерхансових острваца и изазивања дијабетеса је показала да унос вода богатих натријумом може бити у корелацији са хистопатолошким опоравком ћелија ових острваца и последичном нормализацијом производње инсулина од стране бета ћелија (227).

На крају, узевши у обзир резултате нашег истраживања можемо запазити следеће: 1. код обе групе испитиваних пацова је патохистолошки потврђено постојање запаљенских промена панкреаса у облику алкохолног панкреатитиса са примесима масне инфилтрације; 2. употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са већим ризиком од настанка оксидационог стреса и тиме оксидационих оштећења у односу на обичну воду за пиће; 3. патохистолошком анализом ткивних пресека панкреаса није уочена разлика у степену оштећења овог органа између група које су конзумирале обичну и "Снежник" воду. Као и у претходним случајевима, наша сазнања указују да би за евидентније ефекте "Снежник" воде било неопходно да постоји дужи временски период конзумације.

**VI**  
**ЗАКЉУЧАК**

На основу спроведеног истраживања се могу извести следећи закључци:

1. "Снежник" вода показује повољан терапеутски ефекат на контролу хипергликемије односно доводи се у везу са успостављањем нормогликемије код дијабетичних пацова.
2. Употреба воде са изворишта "Снежник-1/79" не ремети функцију срца дијабетичних пацова и може да оствари позитивно хронотропно дејство у физиолошким границама.
3. Конзумирање "Снежник" воде је повезано са снижењем срчаног оксидационог стреса дијабетичних пацова, а тиме и оксидационих оштећења кардиомиоцита.
4. Унос воде са изворишта "Снежник-1/79" је повезано са појачаном активношћу највећег дела ензимске компоненте примарне антиоксидационе заштите пацова, што указује да ова минерална вода може да има антиоксидациона својства.
5. У моделу гастритиса употреба "Снежник" воде није битније утицала на оксидациони статус и хистопатолошке карактеристике желуца пацова.
6. У моделу улсерозног колитиса примена воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са променом редокс равнотеже и морфолошких оштећења колона пацова.
7. У моделу алкохолног хепатитиса употреба "Снежник" воде није показала значајнији ефекат на оксидациони статус и хистопатолошке одлике јетре пацова.
8. У моделу мембранозног гломерулонефритиса примена воде са изворишта "Снежник-1/79" није била повезана са променом редокс равнотеже и морфолошких оштећења бубрега пацова.
9. У моделу алкохолног панкреатитиса употреба "Снежник" воде није показала значајнији ефекат на оксидациони статус и хистопатолошке одлике јетре пацова.
10. Сумарно анализирано, након испитивања утицаја минералне воде „Снежник“ на поремећаје различитих органских система пацова, можемо закључити да су једини манифестни протективни ефекти евидентирани у моделу експерименталног дијабетеса и то како на хипергликемију, тако и на оксидациони стрес (као софистицирани маркер потенцијалног оштећења) и на функцију миокарда пацова. У осталим моделима болести ефекти ове воде нису били статистички потврђени. У том смислу, сматрамо да би дужа експозиција овој минералној води након индукције свих патофизиолошких стања показала значајније ефекте, што може бити предмет даљих истраживања.

**VII**  
**ЛИТЕРАТУРА**

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Ганонгов преглед медицинске физиологије. Прво издање на српском језику. Ganong William. Главни редактор Владимир Јаковљевић. Факултет медицинских наука, Крагујевац 2015.
2. Levallois P, Barn P, Valcke M, Gauvin D, Kosatsky T. Public Health Consequences of Lead in drinking water. *Curr Environ Health Rep* 2018; 5(2):255-62.
3. Armstrong LE, Johnson EC. Water intake, water balance, and the elusive daily water requirement. *Nutrients* 2018; 10(12):1928.
4. Guyton A, Hall J. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Elsevier Inc; 2006.
5. Koruga Dj, Miljkovic S, Ribar S, Matija L, Kojic D. Water hydrogen bonds study by Opto-Magnetic Fingerprint technique. *Acta Physica Polonica A* 2010; 117(5):777-81.
6. Duck AF. Physical Properties of Tissue, Academic Press, London, p.323, 1990.
7. Raman A, Schoeller DA, Subar AF, Troiano RP, Schatzkin A, Harris T, Bauer D, Bingham SA, Everhart JE, Newman AB, Tylavsky FA. Water turnover in 458 American adults 40-79 yr of age. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286(2): F394-F401.
8. McCane KL, Huether SE. Pathophysiology – The biologic basis for disease in adults and children. Third Edition, Mosby – Year Book, Inc., 1998.
9. Mujovic M. Značaj voda u održavanju homeostatske harmonije organizma. Narodna knjiga, 117-145, 1996.
10. Stavros AK, Costas AA. Water Physiology: Essentiality, metabolism, and health implications nutrition today. 2010; 6(45):S27-S32.
11. Shirreffs SM, Maughan RJ. Volume repletion after exercise-induced volume depletion in humans; replacement of water and sodium losses. *Am J Physiol* 1998; 274(5 Pt 2): F868-F875.
12. Adolph EF, Dill DB: Observations on water metabolism in the desert. *Am J Physiol* 1938; 123:369-499.
13. Nielsen B, Hales JR, Strange S, Christensen NJ, Warberg J, Saltin B. Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *J Physiol* 1993; 460:467-85.
14. Morimoto T. Thermoregulation and body fluids: role of blood volume and central venous pressure. *Jpn J Physiol* 1990; 40(2):165– 179.
15. Maughan RJ, Shirreffs SM. Dehydration and rehydration in competitive sport. *Scand J Med Sci Sports* 2010; 20(3):40-7.
16. Santillanes G, Rose E. Evaluation and Management of Dehydration in Children. *Emerg Med Clin North Am* 2018; 36(2):259-73.
17. Kotloff KL. The Burden and Etiology of Diarrheal Illness in Developing Countries. *Pediatr. Clin N Am* 2017; 64(4):799–814.
18. Binder HJ, Brown I, Ramakrishna BS, Young GP. Oral rehydration therapy in the second decade of the twenty-first century. *Curr Gastroenterol Rep* 2014; 16(3):376.
19. Kaunitz JD. Oral Defense: How oral rehydration solutions revolutionized the treatment of toxigenic diarrhea. *Dig Dis Sci* 2020; 65(2):345-8.
20. Petraccia L, Liberati G, Masciullo SG, Grassi M, Fraioli A. Water, mineral waters and health. *Clin Nutr* 2006; 25(3):377-85.
21. Quattrini S, Pampaloni B, Brandi ML. Natural mineral waters: chemical characteristics and health effects. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2016; 13(3):173-180.

22. LaMoreaux, Philip E., & Tanner, Judy T. Springs and bottled water of the world: Ancient history, source, occurrence, quality and use. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2001.
23. Melgar-Sánchez LM, García-Ruiz I, Pardo-Marqués V, Agulló-Ortuño MT, Martínez-Galán I. Influence of mineral waters on in vitro proliferation, antioxidant response and cytokine production in a human lung fibroblasts cell line. *Int J Biometeorol* 2019; 63(9):1171-80.
24. Blazicková S, Rovenský J, Koska J, Vidas M. Effect of hyperthermic water bath on parameters of cellular immunity. *Int J Clin Pharmacol Res* 2000; 20(1-2):41-6.
25. Bender T, Karagülle Z, Bálint GP, Gutenbrunner C, Bálint PV, Sukenik S. Hydrotherapy, balneotherapy, and spa treatment in pain management. *Rheumatol Int* 2005; 25(3):220-4.
26. Karagülle MZ, Karagülle M. Balneotherapy and spa therapy of rheumatic diseases in Turkey: a systematic review. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 2004; 11(1):33-41.
27. Klimo A. Mineralne vode bawskih lečilišta Panonskog basena Srbije. *Srp Arh Celok Lek* 2011; 139(3-4):203-8.
28. Krunić O, Sorajčić S. Balneološka klasifikacija mineralnih voda Srbije. *Srp Arh Celok Lek* 2013; 141(1-2):72-80.
29. 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.
30. Sl. list SRJ br.42/98 i 44/99: Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće.
31. Sl. list SCG br. 53/05: Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za prirodnu mineralnu vodu, prirodnu izvorsku vodu i stonu vodu.
32. EU Directive 98/83/EC, 1998. Council Directive of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Union* L330/32 5/12/1998.
33. EU Directive 2003/40/EC, 2003. Council Directive of 16 May 2003 establishing the list, concentration limits and labeling requirements for the constituents of natural mineral waters and the conditions for using ozone-enriched air for the treatment of natural mineral.
34. EU Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters. *Official Journal of the European Union* L164/45 26/06/2009.
35. WHO, 2006: Guidelines for drinking-water quality. First Addendum to Third Edition Vol. 1 Recommendation, Geneva, Switzerland, p. 595.
36. Vračar Lj. Flaširanje prirodnih mineralnih, prirodnih izvorskih i stonih voda, Kontrolakvaliteta vode za piće, U: Dalmacija B, Ababa J, Novi Sad: Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju; 2006.
37. Boccia A. Le acque minerali, guida rapida al loro corretto utilizzo. Milano: Editmabi.com; 2002.
38. van der Aa NGFM. Classification of mineral water types and comparison with drinking water standards. *Environmental Geology*. 2003;44:554-63.
39. Rizzo R, Elia V, Napoli E. The new frontiers of Hydrology. 2011; 22(66):5.
40. Albertini MC, Dacha M, Teodori L, Conti ME. Drinking mineral waters: biochemical effects and health implications – the state-of-the-art. *Int. J Environmental Health* 2007; 1(1): 153-169.

41. 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.
42. Ziemaska J, Szynal T, Mazańska M, Solecka J. Natural medicinal resources and their therapeutic applications. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2019; 70(4):407-13.
43. Kochergin IuV, Oranskiĭ LE. Technologies for the application of natural healing factors (therapeutic muds, mineral water) in children with the pathology of hepatobiliary system residing in unfavourable ecological conditions. *Gig Sanit* 2015; 94(2):76-9.
44. Efimenko NV, Kašsinova AS, Metsaeva ZV, Fedorova TE, Ortabaeva MKh. The use of mineral waters for the rehabilitative treatment of the patients with non-alcoholic lesions of the liver in the hospital environment. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2012; (1):17-20.
45. Marchegiani C, Pignataro L. Changes in the serum glycoprotein pattern in patients with hepatobiliary diseases after administration of bicarbonated-alkaline earth mineral water (sangemini water). *Gazz Int Med Chir* 1963; 67:1790-7.
46. Beaume J, Braconnier A, Dolley-Hitze T, Bertocchio JP. Bicarbonate: From physiology to treatment for all clinicians. *Nephrol Ther* 2018; 14(1):13-23.
47. Crawford MD, Gardner MJ, Morris JN. Cardiovascular disease and the mineral content of drinking water. *Br Med Bull* 1971; 27(1):21-4.
48. Tékus V, Borbély É, Kiss T, Perkecz A, Kemény Á, Horváth J, Kvarda A, Pintér E. Investigation of lake Hévíz Mineral water balneotherapy and Hévíz Mud Treatment in Murine osteoarthritis and rheumatoid arthritis models. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018; 2018:4816905.
49. Ostantino M, Filippelli A, Quenau P, Nicolas JP, Coiro V. Sulphur mineral water and SPA therapy in osteoarthritis. *Thérapie* 2012; 67(1):43-8.
50. Neĭmark AI, Davydov AV. Use of "Serebrianyĭ Kliuch" mineral water in the postoperative treatment of patients with nephrolithiasis after extracorporeal shock-wave lithotripsy. *Urologiia* 2003; (4):44-6.
51. 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). doi: 10.17392/1263-21.
52. Imparato E. Le cure idrominerali nelle malattie ginecologiche [Mineral water therapy of gynecological diseases]. *Rass Int Clin Ter* 1952; 32(13):421-6.
53. Huang Y, Ma X, Tan Y, Wang L, Wang J, Lan L, Qiu Z, Luo J, Zeng H, Shu W. Consumption of Very Low Mineral Water Is Associated with Lower Bone Mineral Content in Children. *J Nutr* 2019; 149(11):1994-2000.
54. Mathisen A. Mineral waters, electricity, and hemlock: devising therapeutics for children in eighteenth-century institutions. *Med Hist* 2013; 57(1):28-44.
55. Jesserer H. Indications and contraindications in therapeutic use of iodine containing mineral water. *Wien Med Wochenschr* 1956; 106(28-29):625-7.
56. Andrejevic M. Indications and contraindication in the treatment of gastrointestinal diseases with mineral water. *Med Glas* 1952;6(8):225-8.
57. Capurso A, Solfrizzi V, Panza F, Mastroianni F, Torres F, Del Parigi A, Colacicco AM, Capurso C, Nicoletti G, Veneziani B, Cellamare S, Scalabrino A. Increased bile acid excretion and reduction of serum cholesterol after crenotherapy with saltrich mineral water. *Aging (Milano)* 1999; 11(4):273-276.
58. Bertoni M, Olivieri F, Manghetti M, Boccolini E, Bellomini MG, Blandizzi C, Bonino F, Del Tacca M. Effects of a bicarbonate-alkaline mineral water on gastric functions



- and functional dyspepsia: a preclinical and clinical study. *Pharmacol Res* 2002; 46(6):525-531.
59. Burckhardt P. The effect of the alkali load of mineral water on bone metabolism: interventional studies. *J Nutr* 2008; 138(2):435S- 437S.
  60. Wynn E, Krieg MA, Aeschlimann JM, Burckhardt P. Alkaline mineral water lowers bone resorption even in calcium sufficiency: alkaline mineral water and bone metabolism. *Bone* 2009; 44(1):120-4.
  61. 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 28;8(7).
  62. Schoppen S, Perez-Granados AM, Carbajal A, Oubina P, Sanchez- Muniz FJ, Gomez-Gerique JA, Vaquero MP. A sodium-rich carbonated mineral water reduces cardiovascular risk in postmenopausal women. *J Nutr* 2004; 134(5):1058-63.
  63. Schoppen S, Perez-Granados AM, Carbajal A, Sarria B, Sanchez-Muniz FJ, Gomez-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(4): 582-7.
  64. Schoppen S, Perez-Granados AM, Carbajal A, Sarria B, Navas-Carretero S, Pilar Vaquero M. Sodium-bicarbonated mineral water decreases aldosterone levels without affecting urinary excretion of bone minerals. *Int J Food Sci Nutr* 2008; 59(4):347-55.
  65. Toxqui L, Perez-Granados AM, Blanco-Rojo R, Vaquero MP. A sodium-bicarbonated mineral water reduces gallbladder emptying and postprandial lipaemia: A randomised four-way crossover study. *Eur J Nutr* 2012; 51:607-614.
  66. Toxqui L, Vaquero MP. Aldosterone changes after consumption of a sodium-bicarbonated mineral water in humans. A four-way randomized controlled trial. *J Physiol Biochem* 2016; 72(4):635-41.
  67. Casado A, Ramos P, Rodriguez 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.
  68. 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.
  69. Dupont C, Hébert G. Magnesium Sulfate-Rich Natural Mineral Waters in the Treatment of Functional Constipation-A Review. *Nutrients*. 2020; 12(7):2052. doi: 10.3390/nu12072052.
  70. Dupont C, Constant F, Imbert A, Hébert G, Zourabichvili O, Kapel N. Time to treatment response of a magnesium- and sulphate-rich natural mineral water in functional constipation. *Nutrition* 2019; 65:167-172.
  71. Bothe G, Coh A, Auinger A. Efficacy and safety of a natural mineral water rich in magnesium and sulphate for bowel function: a doubleblind, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Nutr* 2017; 56(2):491-9.
  72. Mennuni G, Petracchia L, Fontana M, Nocchi S, Stortini E, Romoli M, Esposito E, Priori F, Grassi M, Geraci A, Serio A, Fraioli A. 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.
  73. Dawson PA, Elliott A, Bowling FG. Sulphate in pregnancy. *Nutrients* 2015; 7(3):1594-606.

74. Bortolotti M, Turba E, Mari C, Lopilato C, Porrizzo G, Scalabrino A, Miglioli M. Changes caused by mineral water on gastrointestinal motility in patients with chronic idiopathic dyspepsia. *Minerva Med* 1999; 90(5-6):187-94.
75. Evandri MG, Bolle P. Pharmaco-toxicological screening of commercially available Italian natural mineral waters. *Farmaco* 2001; 56:475-82.
76. Venâncio LVL, Farinha ASF, Gomes MTSR. Analysing sulphate and chloride in mineral drinking water by flow injection analysis with a single acoustic wave sensor. *Talanta* 2018; 189:65-70.
77. Heaney P. Absorbability and utility of calcium in mineral waters. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(2):371-4.
78. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Calcium and contribution to the normal development of bones: evaluation of a health claim pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2016;14(10):4587.
79. Roux S, Baudoin C, Boute D, Brazier M, De la Gueronniere V, De Vernejoul MC. Biological effects of drinking-water mineral composition on calcium balance and bone remodeling markers. *J Nutr Health Aging* 2004; 8(5):380-4.
80. Wynn E, Raetz E, Burckhardt P. The composition of mineral waters sourced from Europe and North America in respect to bone health: composition of mineral water optimal for bone. *Br J Nutr* 2009; 101(8):1195-9.
81. Tucker KL, Hannan MT, Kiel DP. The acid-base hypothesis: diet and bone in the Framingham Osteoporosis Study. *Eur J Nutr.* 2001; 40(5):231-7.
82. Meunier PJ, Jenvrin C, Munoz F, de la Gueronniere V, Garnero P, Menz M. Consumption of a high calcium mineral water lowers biochemical indices of bone remodeling in postmenopausal women with low calcium intake. *Osteoporos Int* 2005; 16(10):1203-9.
83. Bohmer H, Muller H, Resch KL. Calcium supplementation with calcium- rich mineral waters: a systematic review and meta-analysis of its bioavailability. *Osteoporos Int* 2000; 11(11):938-43.
84. Bacciottini L, Tanini A, Falchetti A, Masi L, Franceschelli F, Pampaloni B, Giorgi G, Brandi ML. Calcium bioavailability from a calcium-rich mineral water, with some observations on method. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38(9):761-6.
85. Costi D, Calcaterra PG, Iori N, Vourna S, Nappi G, Passeri M. Importance of bioavailable calcium drinking water for the maintenance of bone mass in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest* 1999; 22(11):852-6.
86. Aptel I, Cance-Rouzaud A, Grandjean H. Association between calcium ingested from drinking water and femoral bone density in elderly women: evidence from the EPIDOS cohort. *J Bone Miner Res* 1999; 14(5):829-33.
87. Ikarashi N, Mochiduki T, Takasaki A, Ushiki T, Baba K, Ishii M, Kudo T, Ito K, Toda T, Ochiai W, Sugiyama K. A mechanism by which the osmotic laxative magnesium sulphate increases the intestinal aquaporin 3 expression in HT-29 cells. *Life Sci* 2011; 88(3-4):194-200.
88. Jiang L, He P, Chen J, Liu Y, Liu D, Qin G, Tan N. Magnesium Levels in Drinking Water and Coronary Heart Disease Mortality Risk: A Meta-Analysis. *Nutrients* 2016; 8(1):5.
89. Stojkovic N, Subotic S. Historical review of water fluorization. *Zdrastvena zaštita* 2013; 42 (1): 43-52
90. International Agency for Research on Cancer. Some aromatic amines, anthraquinones and nitroso compounds, and inorganic fluorides used in drinking-water and dental preparations. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum.* 1982; 27:1-341.

91. International Agency for Research on Cancer (1987). Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 42. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum Suppl. 1987;7:1-440.
92. EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request of the Commission related to concentration limits for boron and fluoride in natural mineral waters adopted on 22 June 2005. The EFSA Journal. 2005;237:1-8.
93. World Health Organization (WHO). Drinking water guidelines (4th Edition). Chemical fact sheets. Fluoride. WHO, Geneva, 2011.
94. Gallego Reyes SM, Martínez Beneyto Y, Serna-Muñoz C, Pérez-Silva A, Cury JA, Ortiz Ruiz AJ. Fluoride and heavy metals concentration in bottled waters: barrier measures against dental caries and fluorosis. Rev Esp Salud Publica 2019; 93:e201912110.
95. Halksworth G, Moseley L, Carter K, Worwood M. Iron absorption from Spatone (a natural mineral water) for prevention of iron deficiency in pregnancy. Clin Lab Haematol 2003; 25(4):227-31.
96. Marullo T, Abramo A. Effects of sulphur-arsenic-ferrous water treatment on specific chronic phlogosis of the upper respiratory tract. Acta Otorhinolaryngol Ital 1999; 19(4 Suppl 61):5-14.
97. Nishimuta M, Kodama N, Yoshitake Y, Shimada M, Serizawa N. Dietary Salt (Sodium Chloride) Requirement and Adverse Effects of Salt Restriction in Humans. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2018; 64(2):83-89.
98. Schoppen S, Sanchez-Muniz FJ, Perez-Granados M, Gomez-Gerique JA, Sarria B, Navas-Carretero S, Pilar Vaquero M. Does bicarbonated mineral water rich in sodium change insulin sensitivity of postmenopausal women? Nutr Hosp 2007; 22(5):538-44.
99. Pereira CD, Severo M, Araujo JR, Guimaraes JT, Pestana D, Santos A, Ferreira R, Ascensao A, Magalhaes 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.
100. Matsumoto S. Evaluation of the Role of Balneotherapy in Rehabilitation Medicine. J Nippon Med Sch. 2018; 85(4):196-203.
101. Sicree R. The Global burden. Diabetes and impaired glucose tolerance, IDF Diabetes Atlas, fourth edition
102. Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL et al. Harrison's principles of Internal medicine. 17th edition. New York-Toronto; The McGraw-Hill Companies: 2008.
103. Spellman CW. Islet cell dysfunction in progression to diabetes mellitus. J Am Osteopath Assoc 2007; 107(3):S1-S5.
104. Wild S, Roglic G, Green A, Sircee R, King H. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030 Diabetes Care 2004; 27 (5): 1047–1053.
105. Shaw E. J. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes research and clinical practice 2010; 87 (1): 4–14.
106. Nacionalni vodič za dijagnostikovanje i lečenje diabetes mellitus-a. Drugo izmenjeno i dopunjeno izdanje. 2012. Available from <https://www.zdravlje.gov.rs>.
107. Massi M. The cost of diabetes in Europe CODE 2 study. Diabetologia. 2002; 45 (7): S1-4.
108. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in diabetes – 2017. Diabetes Care 2017; 40(1):1-147.

109. AACE/ACE Comprehensive type 2 diabetes Management algorithm. *Endocr Pract.* 2018; doi: 10.4158/CS-2017-0153.
110. Raveendran AV, Chacko EC, Pappachan JM. Non-pharmacological treatment options in the management of diabetes mellitus. *Eur Endocrinol* 2018; 14(2):31–9.
111. O'Connor L, Imamura F, Lentjes MA, Khaw KT, Wareham NJ, Forouhi NG. Prospective associations and population impact of sweet beverage intake and type 2 diabetes, and effects of substitutions with alternative beverages. *Diabetologia* 2015; 58(7):1474 – 83.
112. Carroll HA, Betts JA, Johnson L. An investigation into the relationship between plain water intake and glycated Hb (HbA1c): a sex-stratified, cross-sectional analysis of the UK National Diet and Nutrition Survey (2008–2012). *Br J Nutr* 2016; 116(10):1–11.
113. 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.
114. Quattrini S, Pampaloni B, Brandi ML. Natural mineral waters: chemical characteristics and health effects. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2016; 13(3):173–180
115. 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.
116. Mandel, E.I.; Curhan, G.C.; Hu, F.B.; Taylor, E.N. Plasma bicarbonate and risk of type 2 diabetes mellitus. *CMAJ Can. Med. Assoc. J* 2012, 184, E719–E725.
117. Simental-Mendía, L.E.; Sahebkar, A.; Rodríguez-Morán, M.; Guerrero-Romero, F. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials on the effects of magnesium supplementation on insulin sensitivity and glucose control. *Pharmacol Res* 2016; 111, 272–82.
118. Williams RS, Heilbronn L.K., Chen DL, Coster ACF, Greenfield JR, Samocha-Bonet D. Dietary acid load, metabolic acidosis and insulin resistance—Lessons from cross-sectional and overfeeding studies in humans. *Clin Nutr* 2016; 35(5), 1084–1090.
119. Souto G, Donapetry C, Calviño J, Adeva MM. Metabolic acidosis-induced insulin resistance and cardiovascular risk. *Metab. Syndr. Relat. Disord* 2011; 9(4), 247–53.
120. Pereira CD, Severo M, Araújo JR et al (2014) 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* 2014:384583.
121. Costantino M, Giampaolo C, Filippelli A (2012) Effects of drinking spa therapy on oxidative stress. *Clin Ter* 163:e13–e17.
122. 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.
123. Gorbunov AIu. Treatment of patients with cholelithiasis and concomitant gastritis using sodium-calcium sulfate mineral water. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2010; (6):21-3.
124. Jaup R. Domestic mineral water therapy and its significance for gastritis therapy. *Arch Phys Ther (Leipz)* 1953; 5(2):140-3.
125. Vaganova VS, Knyshova VV. Effect of complex treatment of chronic gastritis with carbonated magnesium-calcium mineral water on lipid homeostasis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2003; (2):32-5.

126. Mishchuk VG. Effect of mineral water on the immunological reactivity of chronic pancreatitis patients. *Vrach Delo* 1983; (3):34-8.
127. 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.
128. Khodykin AV, Volosevich NV, Volosevich GA, Tin VP. Effect of sanatorium treatment using mineral water from Goryachiy Klyuch health resort springs Nos. 58 and 104 on the glycemia in chronic pancreatitis patients. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 1973; 38(3):261-4.
129. Verigo NS, Ulashchik VS. The hepatotropic action of sodium chloride and hydrocarbonate mineral water containing humic acids (an experimental study). *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2015; 92(1):37-42.
130. 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):22-9.
131. Evans MA, Sano S, Walsh K. Cardiovascular Disease, Aging, and Clonal Hematopoiesis. *Annu Rev Pathol* 2020; 15:419-38.
132. Francula-Zaninovic S, Nola IA. Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. *Curr Cardiol Rev* 2018;14(3):153-163.
133. Badimon L, Chagas P, Chiva-Blanch G. Diet and Cardiovascular Disease: Effects of Foods and Nutrients in Classical and Emerging Cardiovascular Risk Factors. *Curr Med Chem* 2019;26(19):3639-3651.
134. Manzur F, Rico A, Romero JD, Rodriguez-Martinez CE. Efficacy and safety of valsartan or chlorthalidone vs. combined valsartan and chlorthalidone in patients with mild to moderate hypertension: the VACLOR study. *Clin Med Insights Cardiol* 2018; 12:1179546818796482.
135. Miller T. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 386(10010):2287-323.
136. Stadeager C, Johansen LB, Warberg J, Christensen NJ, Foldager N, Bie P, Norsk P. Circulation, kidney function, and volume-regulating hormones during prolonged water immersion in humans. *J Appl Physiol* 1992; 73(2):530–38.
137. Christensen P, Clemensen P, Andersen PK, Henneberg SW. Thermodilution versus inert gas re-breathing for estimation of effective pulmonary blood flow. *Crit Care Med* 2000; 28(1):51–56.
138. Nishimura M, Onodera S. Effects of supine floating on heart rate, blood pressure and cardiac autonomic nervous system activity. *J Gravit Physiol A J Int Soc Gravit Physiology* 2000; 7(2):P171.
139. Hu PC, Wang RR, Shang ZH et al. Floating therapy in treatment of patients with primary hypertension. *Chin Ment Health J* 2000; 14(6):414– 6.
140. Yamaoka K, Mitsunobu F, Hanamoto K et al. Biochemical comparison between radon effects and thermal effects on humans in radon hot spring therapy. *J Radiat Res* 2004; 45(1):83–8.
141. Ercegrukavina T, Stefanovski M. Effects of Sulphate-Sulphide Mineral Water “Mlječanica” in Patients with Hypertension. *Materia Socio Medica* 2014; 26(6): 364–5.

142. Rühle PF, Klein G, Rung T et al. Impact of radon and combinatory radon/carbon dioxide spa on pain and hypertension: results from the explorative RAD-ON01 study. *Mod Rheumatol* 2018; 29(1):1–22.
143. L'vova NV, Tupitsyna IuIu, Badalov NG, Krasnikov VE, Lebedeva OD. The influence of carbon dioxide baths differing in the total mineralization levels on the functional state of the cardiovascular system of the patients presenting with hypertensive disease associated with coronary heart disease. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2013; (6):14-7.
144. Tubek S. Role of trace elements in primary arterial hypertension: is mineral water style or prophylaxis? *Biol Trace Elem Res* 2006; 114(1-3):1-5.
145. Branco M, Rêgo NN, Silva PH, Archanjo IE, Ribeiro MC, Trevisani VF. Bath thermal waters in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized controlled clinical trial. *Eur J Phys Rehabil Med* 2016; 52(4):422-30.
146. Verhagen AP, Bierma-Zeinstra SM, Boers M, Cardoso JR, Lambeck J, de Bie R, de Vet HC. Balneotherapy (or spa therapy) for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 2015(4):CD000518.
147. Harzy T, Ghani N, Akasbi N, Bono W, Nejjari C. Short- and long-term therapeutic effects of thermal mineral waters in knee osteoarthritis: a systematic review of randomized controlled trials. *Clin Rheumatol* 2009; 28(5):501-7.
148. Pantelić NĐ, Jaćimović S, Štrbački J, Milovanović DB, Dojčinović BP, Kostić AŽ. Assessment of spa mineral water quality from Vrnjačka Banja, Serbia: geochemical, bacteriological, and health risk aspects. *Environ Monit Assess* 2019 17;191(11):648.
149. Gasparov A. Analysis of 1700 histories of gastroduodenal ulcer; data of the military hospital in Vrnjacka Banja. *Vojnosanit Pregl* 1958;15(5):347-56.
150. Godic V, Radic M. Effect of mineral waters of Vrnjacka Banja on choleresis. *Srp Arh Celok Lek* 1957; 85(5):552-8.
151. 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.
152. Ristić M, Radić M, Godić V. Effect of bathing in mineral water Vrnjacka Banja for the diuresis and the excretion of electrolytes. *Med Arh* 1965; 19(6):41-6.
153. Radak R. Effect of mineral waters of Vrnjacka Banja on intestinal motility. *Vojnosanit Pregl* 1954; 11(1-2):20-4.
154. Radic M, Godic V, Cvetkovic M. Immediate effect of natural carbon dioxide baths and of the drinking of mineral water Sneznik in Vrnjacka Banja on glycemia of diabetics. *Srp Arh Celok Lek* 1956; 84(2):199-203.
155. Säve-Söderbergh M, Åkesson A, Simonsson M, Toljander J. Endemic gastrointestinal illness and change in raw water source and drinking water production - A population-based prospective study. *Environ Int* 2020;137:105575.
156. Mitra P, Pal DK, Das M. Does quality of drinking water matter in kidney stone disease: A study in West Bengal, India. *Investig Clin Urol* 2018;59(3):158-165.
157. De Roos AJ, Kondo MC, Robinson LF, Rai A, Ryan M, Haas CN, Lojo J, Fagliano JA. Heavy precipitation, drinking water source, and acute gastrointestinal illness in Philadelphia, 2015-2017. *PLoS One* 2020;15(2):e0229258.
158. Rapant S, Cvečková V, Fajčíková K, Dietzová Z, Stehlíková B. Chemical composition of groundwater/drinking water and oncological disease mortality in Slovak Republic. *Environ Geochem Health* 2017;39(1):191-208.
159. Lalovic D, Jakovljevic V, Radoman K, Bradic J, Jeremic N, Vranic A, Milosavljevic I, Jeremic J, Srejovic I, Turnic TN, Zivkovic V, Stanojevic D, Bolevich

- S, Djuric DM. The impact of low mineral content water on cardiac function in diabetic rats: focus on oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 2020 Sep;472(1-2):135-144.
160. Morshedi M, Saghafi-Asl M, Hosseini ES. The potential therapeutic effects of the gut microbiome manipulation by synbiotic containing-Lactobacillus plantarum on neuropsychological performance of diabetic rats. *J Transl Med.* 2020;18(1):18.
  161. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351–358.
  162. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PI, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 26: 131–8.
  163. Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvald RA (ed) *Handbook of methods for oxygen radical research*. CRC Press Une, Boca Raton, pp 123–132.
  164. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980; 38: 161–70.
  165. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide-anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247:3170-5.
  166. Beutler E (1982). *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*. New York: Grune and Stratton.
  167. Beutler E, Duron O, Kelly BM (1963) Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 61:882–888.
  168. Ji W, Liang K, An R, Wang X. Baicalin protects against ethanol-induced chronic gastritis in rats by inhibiting Akt/NF-κB pathway. *Life Sci.* 2019;239:117064.
  169. Sretenovic J, Ajdzanovic V, Zivkovic V, Srejovic I, Corbic M, Milosevic V, Jakovljevic V, Milosavljevic Z. Nandrolone decanoate and physical activity affect quadriceps in peripubertal rats. *Acta Histochem.* 2018;120(5):429-437.
  170. Ozsoy Z, Ozsoy S, Gevrek F, Demir E, Benli I, Daldal E, Yenidogan E. Effect of bevacizumab on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *J Surg Res.* 2017;216:191-200.
  171. Mohammadi S, Nezami A, Esmaeili Z, Rouini MR, Ardakani YH, Lavasani H, Hassanzadeh G, Ghazi-Khansari M. Pharmacokinetic changes of tramadol in rats with hepatotoxicity induced by ethanol and acetaminophen in perfused rat liver model. *Alcohol.* 2019;77:49-57.
  172. Liu Y, Xu X, Xu R, Zhang S. Renoprotective Effects Of Isoliquiritin Against Cationic Bovine Serum Albumin-Induced Membranous Glomerulonephritis In Experimental Rat Model Through Its Anti-Oxidative And Anti-Inflammatory Properties. *Drug Des Devel Ther.* 2019;13:3735-3751.
  173. McIlwrath SL, Westlund KN. Pharmacological attenuation of chronic alcoholic pancreatitis induced hypersensitivity in rats. *World J Gastroenterol.* 2015;21(3):836-53.
  174. Das JK, Severo M, Pereira CD, Patrício E, Magalhães J, Monteiro R, Neves D, Martins MJ. Natural mineral-rich water ingestion by ovariectomized fructose-fed Sprague-Dawley rats: effects on sirtuin 1 and glucocorticoid signaling pathways. *Menopause.* 2017;24(5):563-573.

175. 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.
176. 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.
177. Burmazovic S, Henzen C, Brander L, Cioccarì L. One too many diabetes: the combination of hyperglycaemic hyperosmolar state and central diabetes insipidus. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2018; 2018:18-0029.
178. Costantino M, Giampaolo C, Filippelli A. Effects of drinking spa therapy on oxidative stress. *Clin Ter* 2012; 163:e13–e17.
179. 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.
180. Schoppen S, Pérez-Granados AM, Carbajal A, Oubiña P, SánchezMuniz FJ, Gómez-Gerique JA, Vaquero MP. A sodium-rich carbonated mineral water reduces cardiovascular risk in postmenopausal women. *J Nutr* 2004; 134:1058–1063.
181. Schoppen S, Sánchez-Muniz FJ, Pérez-Granados M, Gómez-Gerique JA, Sarriá B, Navas-Carretero S, Pilar Vaquero M. Does bicarbonated mineral water rich in sodium change insulin sensitivity of postmenopausal women? *Nutr Hosp*. 2007 Sep-Oct;22(5):538-44.
182. 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; 21(10):948–953.
183. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 482:419–425.
184. Bradic J, Zivkovic V, Srejovic I et al. Protective effects of Galium verum L. extract against cardiac ischemia/reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019:4235405.
185. Bellometti S, Cecchettin M, Lalli A, Galzigna L. Mud pack treatment increases serum antioxidant defences in osteoarthrosic patients. *Biomed Pharmacother* 1996; 50:37.
186. Benedetti S, Benvenuti F, Nappi G. Antioxidative effects of sulfurous mineral water: protection against lipid and protein oxidation. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63:106–112.
187. Caraglia M, Beninati S, Giuberti G et al. Alternative therapy of earth elements increases the chondroprotective effects of chondroitin sulfate in mice. *Exp Mol Med* 2005; 37(5):476–481.
188. Masuda K, Tanaka Y, Kanehisa M et al. Natural reduced water suppressed anxiety and protected the heightened oxidative stress in rats. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2017; 13:2357–2362.
189. Li Y, Hamasaki T, Teruya K et al. Suppressive effects of natural reduced waters on alloxan-induced apoptosis and type 1 diabetes mellitus. *Cytotechnology* 2012; 64:281–297.
190. Bamosa AO, Elnour AA, Al Meheithif A, Aleissa K, Al-Almaie SM. Zamzam water ameliorates oxidative stress and reduces hemoglobin A1c in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Metab* 2013; 2013: 4:3.
191. Pereira CD, Severo M, Araújo JR et al. 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.
192. Quattrini S, Pampaloni B, Brandi ML. Natural mineral waters: chemical characteristics and health effects. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2016; 13:173–180.
  193. Hivelin C, Béraud-Dufour S, Devader C et al. Potentiation of calcium influx and insulin secretion in pancreatic beta cell by the specific TREK-1 blocker Spadin. *J Diabetes Res.* 2016; 2016:3142175.
  194. 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.
  195. Ha BG, Park JE, Shin EJ, Shon YH. Modulation of glucose metabolism by balanced deep-sea water ameliorates hyperglycemia and pancreatic function in streptozotocin-induced diabetic mice. *PLoS ONE* 2014; 9:e102095.
  196. Zheltova AA, Kharitonova MV, Iezhitsa IN, Spasov AA. Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. *Biomedicine (Taipei)* 2016; 6(4):20.
  197. Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Mogami S, Hibi T. Roles of oxidative stress in stomach disorders. *J Clin Biochem Nutr.* 2012;50(1):35-39.
  198. Gorbunov AIu. Treatment of patients with cholelithiasis and concomitant gastritis using sodium-calcium sulfate mineral water. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2010 Nov-Dec;(6):21-3.
  199. Ishchenko NV, Nikitin AV, Verikovskii VA, Mordasova VI. Efficiency of chloride-sulphate calcium-sodium mineral water for patients with chronic gastritis with increased acid formation. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2007 Nov-Dec;(6):29-30.
  200. Chaban AG, Lysiuk AD, Chernobrovyi VN, Kuchuk AP. The therapeutic efficacy of a sodium chloride mineral water in chronic gastritis patients with secretory insufficiency. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1990 Sep-Oct;(5):17-9.
  201. Jena G, Trivedi PP, Sandala B. Oxidative stress in ulcerative colitis: an old concept but a new concern. *Free Radic Res.* 2012 Nov;46(11):1339-45.
  202. Chojnacki C, Wisniewska-Jarosinska M, Walecka-Kapica E, Klupinska G, Jaworek J, Chojnacki J. Evaluation of melatonin effectiveness in the adjuvant treatment of ulcerative colitis. *J Physiol Pharmacol* 2011 ; 62 : 327 – 334 .
  203. Hanai H, Iida T, Takeuchi K, Watanabe F, Maruyama Y, Andoh A, et al. Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial . *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006 ; 4 : 1502 – 1506.
  204. Holik D, Bezdan A, Marković M, Orkić Ž, Milostić-Srb A, Mikšić Š, Včev A. The Association between Drinking Water Quality and Inflammatory Bowel Disease-A Study in Eastern Croatia. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Nov 16;17(22):8495.
  205. Sarao M, Burla K, Singh P, Tadepalli S, Wert ML, Nookala V. The Association of Water and Inflammatory Bowel Disease: 2806. *The American Journal of Gastroenterology.* 2018; 113. 10.14309/00000434-201810001-02805.
  206. Choi J, Ou JH. Mechanisms of liver injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 May;290(5):G847-51.
  207. Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med.* 2003 Jan 1;34(1):1-10.
  208. Martínez Amate E, Rodríguez Manrique MA, González Sánchez M, Casado Martín M. Acute toxic hepatitis due to drinking water. *Gastroenterol Hepatol.* 2010 Nov;33(9):629-32.

209. 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.
210. Verigo NS, Ulashchik VS. The hepatotropic action of sodium chloride and hydrocarbonate mineral water containing humic acids (an experimental study). *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2015 Jan-Feb;92(1):37-42.
211. Emirbekov ISh, Ogurtsov IuA, Makarov VA, Rekkandt SA. Effect of chloride-hydrocarbonate sodium mineral water Rychal-Su on some physiological and biochemical indicators of the liver in rats with experimental toxic hepatitis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2001 Sep-Oct;(5):24-6.
212. Wójcicka G, Bełtowski J. Oxidative stress in glomerulonephritis. *Postepy Hig Med Dosw.* 2001;55(6):855-69.
213. Gwinner W, Gröne HJ. Role of reactive oxygen species in glomerulonephritis. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2000; 15(8): 1127–1132.
214. Penescu MN, Ene (Nicolae) CD, Ceaușu E, Nicolae I. Oxidative lesions of DNA in membranous glomerulonephritis associated with the infection with hepatitis B virus. *BMC Infect Dis.* 2014;14(7):P51.
215. Bülbül M, Oner A, Demircin G, Erdoğan O. Oxidative stress in children with acute glomerulonephritis. *Ren Fail.* 2008;30(2):209-14.
216. Telina EN, Sakhabutdinov IuE, Mosikhina SS, Anisimova IV, Nizamova FA. An efficacy study of the treatment of patients with chronic pyelonephritis and urolithiasis using sulfate-bicarbonate calcium-magnesium mineral water. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1999;(4):26-8.
217. Dudchenko MA, Andreeva ME, Chuenko AE, Dudchenko AM. Effect of mineral water from the Naftusia spa of the Truskavets health resort on the functional state of the kidneys in chronic diffuse glomerulonephritis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1970;35(6):529-31.
218. Dudchenko MA, Dudchenko AM, Sereda LI, Filiuk AP. Effect of Chelkar mineral water on the water-salt equilibrium and the function of the kidneys. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1973;38(6):552-5.
219. Yu JH, Kim H. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2014 Dec 14;20(46):17324-9.
220. Pereda J, Sabater L, Aparisi L, Escobar J, Sandoval J, Viña J, López-Rodas G, Sastre J. Interaction between cytokines and oxidative stress in acute pancreatitis. *Curr Med Chem.* 2006;13(23):2775-87.
221. Armstrong JA, Cash N, Soares PM, Souza MH, Sutton R, Criddle DN. Oxidative stress in acute pancreatitis: lost in translation? *Free Radic Res.* 2013;47(11):917-33.
222. Tandon RK, Garg PK. Oxidative stress in chronic pancreatitis: pathophysiological relevance and management. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(10):2757-66.
223. Benda J. Mechanisms pisobení přírodních minerálních vod. *Rehabilitace a fyzikální lékařství* 1996; 3(3). 117-126.
224. Staforandova NV, Polushina ND, Istoshin NG, Nerovnia EA. Differential health resort drinking treatment of patients with chronic pancreatitis. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2004;(5):18-20.
225. Zdichynec B, Svorcova L, Prochazka D. Kvantitativní změny mikroflóry tlustého střeva vlivem pití Karlovarských minerálních vod u nemocných s chronickou obštipací a po cholecystektomii. *Cz. Gastroent. Vyz.* 1983;37:161-169.

226. Abramtsova AV, Efimenko NV, Reys VF, Ter-Akopov GN. Evaluation of the influence of different physical and chemical composition mineral waters on the state of carbohydrate metabolism in experimental metabolic syndrome. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2021;98(1):38-46.
227. Ha BG, Park JE, Shin EJ, Shon YH. Modulation of glucose metabolism by balanced deep-sea water ameliorates hyperglycemia and pancreatic function in streptozotocin-induced diabetic mice. *PLoS One.* 2014;9(7):e102095.

## 8. Прилог

### 8.1 КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ**

**Редни број - РБ:**

**Идентификациони број - ИБР:**

**Тип документације - ТД:** Монографска публикација

**Тип записа - ТЗ:** Текстуални штампани материјал

**Врста рада - ВР:** Докторска дисертација

**Аутор - АУ:** Дијана Лаловић

**Ментор/коментор - МН:** Доц. др Тамара Николић Турнић

**Наслов рада - НР:** Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на поремећаје различитих органских система код пацова

**Језик публикације - ЈП:** српски/ћирилица

**Језик извода - ЈИ:** српски/енглески

**Земља публикавања - ЗП:** Србија

**Уже географско подручје - УГП:** Централна Србија

**Година - ГО:** 2021.

**Издавач - ИЗ:** Ауторски репринт

**Место и адреса - МС:** 34000 Крагујевац, Светозара Марковића 69

**Физичи опис рада - ФО:** 112 страна, 10 слика, 6 табела, 56 графика

**Научна област - НО:** Медицина

**Научна дисциплина - ДИ:** Превентивна медицина

**Предметна одредница / кључне речи - ПО:** Снежник, минерална вода, оксидациони стрес, пацов

**УДК:**

**Чува се - ЧУ:** У библиотеци Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**Важна напомена - МН:**

## Извод:

## ИД

Коришћење минералних вода у лековите сврхе је већим делом засновано на теоријским претпоставкама (које узимају у обзир однос њиховог минералног састава и патофизиолошког субстрата у оквиру неке болести) а много мање на релевантним подацима базичних и клиничких истраживања. Већина података који указују да одређени типови ових вода могу ублажити прогресију различитих болести па чак бити повезане и са потпуном ремисијом тегоба долазе из неакадемских и научно неутемељених извора. Осим тога, механизми путем којих се остварују ова позитивна дејства су готово непознати.

Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на морфолошке и функционалне промене кардиоваскуларног, гастроинтестиналног, хепатобилијарног и уринарног система код пацова користећи одговарајуће моделе болести ових органских система.

Истраживање је обухватило 112 пацова мушког пола (Wistar albino сој, телесне масе  $250 \pm 20$  g, старости 8 недеља) који су били сврстани у групе према типу патофизиолошког поремећаја одређеног органског система (дијабетес мелитус тип 2, гастритис, улцерозни колитис, алкохолни хепатитис и панкреатитис, и гломерулонефритис). У оквиру сваког од ових стања пацови су третирани обичном или Снежник водом током четири недеље. Након експерименталног периода и жртвовања животиња одређивани су параметри срчане функције, биомаркери оксидационог стреса и спроведене су патохистолошке анализе испитиваних органа.

Добијени резултати показују да су једини манифестни протективни ефекти Снежник воде евидентирани у моделу експерименталног дијабетеса и то како на хипергликемију, тако и на оксидациони стрес (као софистицирани маркер потенцијалног оштећења) и на функцију миокарда пацова. У осталим моделима болести ефекти ове воде нису били статистички потврђени. У том смислу, сматрамо да би дужа експозиција овој минералној води након индукције свих патофизиолошких стања показала значајније ефекте, што може бити предмет даљих истраживања.

**Датум прихватања теме од стране ННВ:**  
ДП

30.09.2020.

**Датум одбране:**  
ДО

**Чланови комисије:**  
КО

- 1.
- 2.
- 3.

## 8.2. KEY WORDS DOCUMENTATION

### UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

**Accession number - ANO:**

**Identification number - INO:**

**Documentation type - DT:** Monographic publication

**Type of record - TR:** Printed textual material

**Contents code - CC:** PhD Thesis

**Author - AU:** Dijana Lalovic

**Menthor/co-mentor - MN:** Assist. prof. Tamara Nikolic Turnic

**Title - TI:** Estimation of the effects of mineral water from the spring "Snežnik-1/79" on disorders of various organ systems in rats

**Language of text - LT:** Serbian (cyrilic)

**Language of abstract:** Serbian/English

**Country of publication - CP:** Republic of Serbia

**Locality of publication - LP:** Central Serbia

**Publication year - PY:** 2021.

**Publisher - PU:** Author`s reprint

**Publication place - PP:** Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Street Svetozara Markovica 69, 34000 Kragujevac

**Physical description - PD:** 112 pages, 10 images, 6 tables, 56 graphs

**Scientific field - SF:** Medicine

**Scientific discipline - SD:** Preventive medicine

**Subject/key words - SKW:** Snežnik, mineral water, oxidative stress, rat

**UDC:**

**Holding data:** Library of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia

**Note - N:**

**Abstract:****AB**

The use of mineral waters for medical purposes is largely based on theoretical assumptions (which take into account the relationship between their mineral composition and pathophysiological substrate within a disease) and much less on relevant data from basic and clinical research. Most of the data that indicate that certain types of these waters can alleviate the progression of various diseases and even be associated with complete remission come from non-academic and scientifically unfounded sources. In addition, the mechanisms by which these positive effects are realized are almost unknown.

Investigation of the effects of mineral water from the spring "Snežnik-1/79" on morphological and functional changes of the cardiovascular, gastrointestinal, hepatobiliary and urinary system in rats by using appropriate models of diseases of these organ systems.

The study included 112 male rats (Wistar albino strain, body weight  $250 \pm 20$  g, age 8 weeks) who were classified into groups according to the type of pathophysiological disorder of a particular organ system (diabetes mellitus type 2, gastritis, ulcerative colitis, alcoholic hepatitis and pancreatitis, and glomerulonephritis). Within each of these conditions, rats were treated with plain or Sneznik water for four weeks. After the experimental period and sacrificing of animals, the parameters of cardiac function, biomarkers of oxidative stress were determined and pathohistological analyzes of the examined organs were performed.

The obtained results show that the only manifest protective effects of Sneznik water were recorded in the model of experimental diabetes, both on hyperglycemia and oxidative stress (as a sophisticated marker of potential damage) and on rat myocardial function. In other disease models, the effects of this water were not statistically confirmed. In that sense, we believe that longer exposure to this mineral water after induction of all pathophysiological conditions would show more significant effects, which may be the subject of further research



**Accepted by the Scientific Board on:**  
**ASB**

30.09.2020.

**Defended on:**  
**DE**

**Thesis defended board**  
**(Degree/name/surname/title/faculty)**  
**DB**

- 1.
- 2.
- 3.

## БИОГРАФИЈА

### 1. Лични подаци

Име и презиме: Дијана Лаловић

Датум и место рођења: 05.04.1983. године, Подгорица, Република Црна Гора

Адреса: Обалских радника 4V/14, Београд

Телефон: 062/349489

### 2. Образовање

- Средња медицинска школа Подгорица

- Основне и специјалистичке студије - Висока здравствена школа струковних студија у Београду

- Факултет за менаџмент Зајечар - смер менаџмент у здравству

### 3. Познавање страних језика

- Енглески (виши ниво)

### Радно искуство

- 2009. година - Средња медицинска школа „Милутин Миланковић“, Београд.

- 2009. година до данас - наставник здравствене неге у Медицинској школи „Надежда Петровић“, Земун.

- 2015/2016. година - сарадник у настави Високе здравствене школе струковних студија у Београду на основним студијама.

- 2016/2017. година - сарадник у настави Високе здравствене школе струковних студија у Београду на специјалистичким студијама.

- 2017.-2019. година - члан научно уређивачког одбора и рецензент Националног часописа „Визија“.

## БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Lalovic D**, Jakovljevic V, Radoman K, Bradic J, Jeremic N, Vranic A, Milosavljevic I, Jeremic J, Srejovic I, Turnic TN, Zivkovic V, Stanojevic D, Bolevich S, Djuric DM. The impact of low mineral content water on cardiac function in diabetic rats: focus on oxidative stress. *Mol Cell Biochem.* 2020 Sep;472(1-2):135-144.
2. **Lalovic D**, Vranic A, Jeremic J, Stanojevic, D, Bolevich S, Bolevich S, Ristic J, Cikiriz, N, Pesic D, Zagorac Z, Zivkovic V, Jakovljevic, V. Influence of “Sneznik-1/79” mineral water on anthropometric, functional and biochemical parameters of professional basketball players: role of oxidative stress. *Ser J Exp Clin Res.* 2020. DOI: 10.1515/sjecr-2020-0015.
3. Dimitrijevic M, **Lalovic D**, Milovanov DJ. Correlation of different anthropometric methods and bioelectric impedance in assessing body fat percentage of professional male athletes. *Ser J Exp Clin Res.* 2021. DOI: 10.2478/sjecr-2021-0026.



Образац 1

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Дијана Лаловић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта "Снежник-1/79" на поремећаје различитих органских система код пацова

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 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,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 19.4.2021. године,

  
\_\_\_\_\_ потпис аутора

Образац 2

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Дијана Лаловић,

дозвољавам

не дозвољавам

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

Испитивање ефеката употребе минералне воде са изворишта  
"Снежник-1/79" на поремећаје различитих органских система код пацова

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, 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 - делим под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делим под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>

У Крагујевцу \_\_\_\_\_, 19.4.2021. 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/](http://creativecommons.org.rs/)