

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Margarita S. Dodevska

**ISPITIVANJE UTICAJA UKUPNIH
DIJETNIH VLAKANA I REZISTENTNOG
SKROBA NA SMANJENJE FAKTORA
RIZIKA ZA POJAVU DIJABETES
MELITUSA TIPA 2 KOD GOJAZNIH
PACIJENATA SA POREMEĆENOM
GLIKOREGULACIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Margarita S. Dodevska

**ISPITIVANJE UTICAJA UKUPNIH
DIJETNIH VLAKANA I REZISTENTNOG
SKROBA NA SMANJENJE FAKTORA
RIZIKA ZA POJAVU DIJABETES
MELITUSA TIPA 2 KOD GOJAZNIH
PACIJENATA SA POREMEĆENOM
GLIKOREGULACIJOM**

doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Margarita S. Dodevska

**INVESTIGATION OF EFFECT OF TOTAL
DIETARY FIBRE AND RESISTANT
STARCH ON REDUCTION OF RISK
FACTORS FOR DIABETES MELLITUS
TYPE 2 IN OBESE PATIENTS WITH
DISORDERED GLUCOREGULATION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

MENTORI:

Dr sc. Brižita Đorđević - Predsednik Komisije, vanredni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

Dr sc. Slađana Šobajić - redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr sc. Vesna Dimitrijević-Srečković, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

Dr sc. Vesna Spasojević-Kalimanovska, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

Dr sc. Ivanka Miletić, profesor *emeritus* Farmaceutskog fakulteta Univerziteta Beogradu

U Beogradu, _____

Zahvalnica

Veliku i iskrenu zahvalnost upućujem svom mentoru prof. dr Brižiti Dorđević na pruženoj prilici da učim i radim ono što volim, na korisnim savetima, ukazanom poverenju i stručnom usmeravanju i nastajanju da disertaciju dovedemo do kraja.

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr Slađani Šobajić na stalnom podsticaju, korisnim sugestijama i velikoj podršci i pomoći u toku publikovanja dobijenih rezultata ove doktorske disertacije.

Neizmernu zahvalnost i poštovanje dugujem prof. dr Ivanki Miletić, zbog pomoći, podrške i saveta u toku izrade ove doktorske disertacije.

Veliko hvala prof. dr Vesni Dimitrijević-Srećković na pruženoj podršci i stručnoj pomoći prilikom odabira i praćenja ispitanika.

Zahvaljujem se prof. dr Vesni Spasojević-Kalimanovskoj na korisnim savetima i sugestijama tokom izrade ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Predragu Dorđeviću čiji su saveti i znanje bili dragoceni tokom izrade ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se svim ispitanicima bez čijeg dobrovoljnog učešća izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća.

Zahvaljujem se svim zaposlenima na katedri za bromatologiju.

Zahvaljujem se celokupnom kolektivu C6 odeljenja Klinike za Endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije, na pruženom gostoprimstvu i izuzetnoj saradnji.

*Veliko hvala na strpljenju i razumevanju, **mojoj porodici.***

Ispitivanje uticaja ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba na smanjenje faktora rizika za pojavu dijabetes melitusa tipa 2 kod gojaznih pacijenata sa poremećenom glikoregulacijom

Rezime

Pravilan način ishrane je važan preduslov za zdrav i kvalitetan način života.

U promociji zdravog i kvalitetnog načina ishrane u današnje vreme dijetna vlakna zauzimaju značajno mesto. Obzirom da vlakna predstavljaju veliki broj jedinjenja različitih molekulskih masa, fizičkih osobina i fizioloških efekata, u literaturi se koristi više klasifikacija.

Na osnovu vrste monosaharidnih jedinica koje ulaze u sastav polimera i načina vezivanja, dijetna vlakna se mogu podeliti na različite frakcije. Te frakcije su: rezistentan skrob, beta-glukan, arabinoksilan, celuloza, fruktan. Osim što se razlikuju po hemijskoj strukturi, različite frakcije imaju i različite fiziološke efekte, što je potvrđeno u brojnim istraživanjima.

Podaci govore da osobe sa visokim unosom vlakana (>25 g/dnevno) mogu da smanje progresiju predijabetesa u dijabetes. Unosom hrane bogate rezistentnim skrobom, jedne od frakcija vlakana, povećava se period sitosti i smanjuje postprandijalna glikemija.

Količina od 15-30 g dnevno rezistentnog skroba datog kao dodatak uz redovnu ishranu povećava insulinsku senzitivnost.

Na osnovu do sada proučenih efekata vlakana postavljeni su ciljevi ove doktorske disertacije: (I) da se odredi sadržaj ukupnih dijetnih vlakana, kao i frakcija dijetnih vlakana rezistentnog skroba, arabinoksilana, celuloze, fruktana i beta-glukana u uobičajenim izvorima u voću i povrću, u komercijalnim hlebovima, u pahuljicama od žitarica, kao i u termički obrađenim namirnicama kao što su žita i leguminoze; (II) da se procene efekti i razlike u delovanju ukupnih dijetnih vlakana i ukupnih dijetnih vlakana sa definisanom količinom rezistentnog skroba, iz različitih dijetarnih izvora na glikemiju, insulinemiju, i lipemiju kod gojaznih pacijenata sa poremećenom glikoregulacijom.

Dobijeni rezultati o količini ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba u namirnicama našeg podneblja korišćeni su pri izboru dijetarnih izvora koji su preporučeni ispitanicima koji su učestvovali u dijetarnoj intervenciji.

U istraživanju su učestvovali ukupno 50 pacijenata sa povećanom telesnom masom ili gojaznih sa poremećenom glikoregulacijom, životnog doba između 45-74 godine. Pacijenti za ovo istraživanje birani su na osnovu rezultata upitnika za određivanje rizika za pojavu dijabetes melitusa tipa 2 (DMT2). Ispitanici su bili podeljeni u dve grupe: DV grupa, 25 ispitanika, koristili su preporučeni način ishrane koji se već primenjivao na Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, i RS grupa, 25 ispitanika, koristili su modifikovani način ishrane u odnosu na ispitanike iz DV grupe i koji se razlikovao samo u količini rezistentnog skroba tj. imali su preporuku o unosu 15 g rezistentnog skroba dnevno.

Ispitanici obe grupe pre početka dijetarne intervencije nisu se razlikovali prema godinama starosti, indeksa telesne mase, obima struka i telesne mase, kao i po nivou plazma glukoze našte i posle 2 h OGTT. Razlike su bili samo u odnosu na ukupan holesterol i non-HDL-holesterol.

Ispitanicima je bio preporučen energetska unos od 1800 kcal/dnevno uz unos od 25 – 35 g/dnevno ukupnih vlakana i u RS grupi povećanje unosa rezistentnog skroba.

Preporučeni unos od 1800 kcal/dan, ispitanici nisu ostvarili posle 12 meseci. Međutim, unos kalorija je bio ipak na kraju studije značajno niži kod obe grupe koje su učestvovala u dijetarnoj intervenciji ($p < 0,05$). Na kraju studije ispitanici iz obe grupe su značajno smanjili količinu proteina, u obe grupe unos ugljenih hidrata i masti je blago smanjen, ali je značajno smanjeni unos ugljenih hidrata bio samo u DV grupi, a smanjenje masti značajno u RS grupi. Ukupan unos ukupnih ugljenih hidrata, skroba, proteina i masti, posle 12 meseci nije se značajno razlikovao između grupa. Unos RS u RS grupi bio je povećan za više od dva puta, dok je u DV grupi primećeno mnogo manje ali takođe značajno povećanje, kao rezultat generalno povećanog unosa vlakana. Procenat rezistentnog skroba u RS grupi u odnosu na ukupan skrob bio je skoro dva puta povećan, dok je kod DV grupe taj odnos ostao isti kao na početku studije. Posle obe dijetarne intervencije zabeleženo je značajno smanjenje telesne mase ispitanika u obe grupe kao i smanjenje obima struka.

Kod ispitanika iz DV grupe posle dvanaest meseci nije se promenio nivo glikemije našte ali došlo je do značajnog smanjenja nivoa glukoze posle 2-h OGTT. Nakon perioda od dvanaest meseci, nije bilo značajnog efekta na nivo glukoze kod učesnika iz RS grupe, niti posle 2 h OGTT.

Vrednosti za serumske lipide prikazani su samo kod ispitanika koji nisu koristili antiholesterolemičnu terapiju. Ukupan i LDL-holesterol bili su neznatno povećani na početku studije kod ispitanika iz DV grupe i oni su na približno istom nivou ostali do kraja studije, osim HDL-holesterola koji je značajno povećan. U DV grupi nije bilo nikakvog značajnog uticaja na nekoliko lipidnih parametara, tj. na nivo ukupnog i LDL-holesterola, ali povećanje HDL-holesterola je bilo značajno posle 12 meseci. Sa druge strane, našli smo izraženiji efekat na lipidni status (ukupni, LDL-holesterol, i non-HDL-holesterol) kod ispitanika iz RS grupe koji je i bio veći na početku studije u odnosu na DV grupu. U RS grupi značajno se smanjio ukupan-holesterol, non-HDL-holesterol, i LDL-holesterol nakon 12 meseci ali se nije povećalo nivo HDL-holesterola.

Dijetarna intervencija obe grupe koja je pored smanjenog energetskeg unosa u osnovi imala za cilj povećanje unosa dijetnih vlakana u obe grupe i povećanje unosa jedne frakcije vlakana (rezistentnog skroba), pokazala je da je samo povećanje unosa ukupnih vlakana dalo povoljan efekat na nivo glikemije posle 2 h OGTT, kako i povećanje HDL-holesterola, dok povećanje unosa rezistentnog skroba nije imalo efekta na nivo glikemije ali je pokazalo povoljan efekat tj. na smanjenje ukupnog holesterola, non-HDL-holesterola i LDL-holesterola, bez efekta na nivo HDL-holesterola.

Ključne reči: ukupna dijetna vlakna, frakcije vlakana, rezistentan skrob, poremećena glikoregulacija, dijetarna intervencija

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Hemija hrane i dijetetskih proizvoda; Medicinska biohemija

UDK: 612.39 : 616.379-008.64 : 577.1 (043.3)

615.1 (043.3)

Investigation of effect of total dietary fibre and resistant starch on reduction of risk factors for diabetes mellitus type 2 in obese patients with disordered glucoregulation

Abstract

Proper dieting is inevitable part of healthy way of life. Dietary fibres are one of the nutrients that are highly positioned in promotion of healthy nutrition. Since dietary fibres consist of numerous compounds with different molecular mass, physical properties and physiological effects, in literature it is common to find them classified by more than one criterion. Thus, based on the type of the monosaccharide unit and linkage in particular polymer, dietary fibres are divided into the fractions: resistant starch, beta-glucan, arabinoxylan, cellulose and fructan. Besides differing in chemical structure, dietary fibre fractions are also specific in terms of physiological action in the body, which has been largely proven in multitude of scientific investigations.

Literature data indicate that subjects with high dietary fibre intake (>25 g/daily) are capable of slowing down a progression of prediabetic condition into diabetes. Eating foods that are rich in resistant starch can help in achieving prolonged period of satiety, thus decreasing a postprandial glycemia. Furthermore, the improvement of the insulin sensitivity was achieved with 15-30 g of resistant starch taken daily in the form of dietary supplement.

Mentioned above are the premises taken into account when setting the goals of the actual PhD thesis: A) to determine both the content of total fibre and its fractions (resistant starch, arabinoxylan, cellulose, fructan and beta-glucan) in foods known to be their common sources, such as: fruits and vegetables, industrial bakery, grain flakes and products from heat processed grains and legumes; B) to estimate the effectiveness of increased intake of total dietary fibre versus total fibre with predefined amount of resistant starch derived from various food sources on glycemia, insulinemia and lipemia in obese patients with impaired glucoregulation.

Obtained results regarding total dietary fibre and resistant starch content in common foods were used in forming precise dieting recommendations to the participants of this dietary intervention.

The investigation included overall of 50 patients, overweight or obese with impaired glucoregulation, age ranged from 45 to 74. Including criteria for this investigation were based on the results collected using the questionnaire for diabetes mellitus type 2 (DMT2) risk assessment. The participants were not using antidiabetic medication.

Participants were arranged into 2 groups: a) Fibre group, total of 25 patients, were recommended a dietary regimen already effective at the Institute for Endocrinology, Diabetes and Metabolism Disorders; b) RS group, total of 25 patients, were recommended a modified diet differing from the Fibre group only in the amount of resistant starch, precisely 15 g of resistant starch daily.

At dietary intervention starting point the recruited participants from both groups were matched in parameters: age, body mass index, waist circumference and body weight, fasting and 2h OGT plasma glucose level. Patients within groups differed only in total cholesterol and non-HDL cholesterol.

Recommended calorie intake was 1800 kcal/day, in particular 25-35 g/daily of total dietary fibre intake was recommended, with increased portion of resistant starch in the RS group.

After 12 months the participants failed to adhere to the recommended 1800 kcal/day diet, but the achieved calorie intake was significantly lower in both intervention groups. At the study termination point the participants from both groups had significantly lower protein intake, and carbohydrate and fat intake was slightly decreased. Only Fibre group showed significantly reduced carbohydrate intake, whereas significant lowering of fat intake was observed in RS group. After 12 months of dietary intervention, the groups neither differed in total carbohydrate, starch, protein and fat intake. Resistant starch intake in the RS group increased more than twice, while in Fibre group the increase was moderate, but still significant, resulting from generally increased dietary fibre intake. The ratio of resistant starch to total starch in RS group was nearly doubled, whereas in Fibre group the same ratio remained the same as at the onset of the study.

Both dietary interventions resulted in significantly decreased body mass and waist circumference in patients from both intervention groups.

After 12 months in Fibre group there was no difference in fasting plasma glucose, however plasma glucose in 2h OGTT was significantly decreased, while patients within

RS group showed neither significant difference in fasting plasma glucose, nor in plasma glucose after 2h OGTT.

Serum lipid values were evaluated only for the sub-group of participants free from cholesterol lowering medication. Total and LDL-cholesterol were slightly increased at the study onset in the Fibre group, remaining almost same until the end of the study, except for the HDL-cholesterol where significant increase was observed. Fibre group showed no significant influence on several lipid parameters, specifically on total and LDL-cholesterol serum level. On the other side, we have observed more prominent effect on lipid status (total, LDL- and non-HDL-cholesterol) in the patients within RS group. At the end of 12 months period there was a significant lowering of total cholesterol, LDL-cholesterol and non-HDL-cholesterol in the RS group, however HDL-cholesterol level did not increase. Dietary interventions, having common goal not only to reduce calorie intake, but to increase consumption of total fibre in both intervention groups and resistant starch portion in one group, have demonstrated that beneficial effect on 2 h OGTT plasma glucose level was achieved only in the group taking higher amounts of total fibre. This group (Fibre group) also showed higher values for HDL-cholesterol. As opposed to the Fibre group, in the group with the increased resistant starch consumption (RS group), no beneficial effect on plasma glucose level, but decrease in total cholesterol, non-HDL-cholesterol and LDL-cholesterol was observed.

Keywords: total dietary fibre, fibre fraction, resistant starch, impaired glucoregulation, dietary intervention

Scientific field: Pharmacy

Scientific topic: Chemistry of food and dietary products; Medical biochemistry

UDK: 612.39 : 616.379-008.64 : 577.1 (043.3)
615.1 (043.3)

SADRŽAJ

1.UVOD	1
1.1. Dijetna vlakna	1
1.2. Podela vlakana na osnovu fizičkih karakteristika	2
1.3. Podela vlakana na osnovu hemijske strukture	5
1.3.1. Rezistentan skrob	5
1.3.1.1. Skrob	5
1.3.1.2. Varenje skroba	6
1.3.1.3. Rezistentan skrob	7
1.3.1.3.1. Fiziološki efekti rezistentnog skroba	9
1.3.1.3.1.1. Uticaj rezistentnog skroba na telesnu masu	9
1.3.1.3.1.2. Hipoglikemijski efekat i efekat na insulinsku senzitivnost	10
1.3.1.3.1.3. Rezistentan skrob i kancer debelog creva	10
1.3.1.3.1.4. Rezistentan skrob kao prebiotski ugljeni hidrat	11
1.3.1.3.1.5. Redukcija formiranja žučnog kamena	11
1.3.1.3.1.6. Hipoholesterolemičan efekat	11
1.3.2. Beta-glukan	11
1.3.3. Celuloza	12
1.3.4. Arabinoksilan	13
1.3.5. Fruktani	14
1.4. Mehanizmi fiziološkog delovanja dijetnih vlakana	15
1.4.1. Vlakna i crevna mikroflora	15
1.4.2. Vlakna i digestija ugljenih hidrata u želucu i tankom crevu	15
1.4.3. Efekti vlakana na funkciju debelog creva	17
1.5. Diabetes mellitus	19
1.5.1. Insulinska rezistencija i dijabetes melitus tipa 2	19
1.5.1.1. Klasifikacija dijabetesa	20
1.5.1.2. Metabolizam glukoze	22
1.5.1.3. Insulin	23
1.5.1.3.1. Delovanja insulina na nivou jetre	24

1.5.1.3.2. Delovanja insulina na nivou masnog tkiva	24
1.5.1.3.3. Delovanja insulina na nivou mišićnog tkiva	25
1.5.2. Gojaznost	25
1.5.2.1. Hiperplazija i hipertrofija adipocita	26
1.5.2.2. Endoplazmatski retikulum i gojaznost	28
1.5.2.3. Mitohondrije i oksidativni stres u adipocitima	30
1.5.2.4. Cirkulišuće masne kiseline, gojaznost i insulinska rezistencija	30
1.6. Uticaj dijetnih vlakana u okviru dijetarnih intervencija u prevenciji i terapiji gojaznosti, insulinske rezistencije i dijabetesa melitusa tipa 2	32
1.6.1. Dijetna vlakna i prevencija dijabetesa	33
1.6.2. Fizička aktivnost i prevencija dijabetesa	34
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	36
3. DIJETARNI IZVORI VLAKANA, ISPITANICI I METODE	37
3.1. Materijal korišćen u ispitivanju ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba	37
3.2. Izbor ispitanika	38
3.3. Dizajn studije	40
3.4. Statistička obrada podataka	43
3.5. Određivanje veličine uzorka	43
3.6. Metode	44
3.6.1. Određivanje ukupnih dijetnih vlakana	44
3.6.2. Određivanje rezistentnog skroba	46
3.6.3. Određivanje arabinoksilana	51
3.6.4. Određivanje beta-glukana	54
3.6.5. Određivanje fruktana	57
3.6.6. Određivanje sirove celuloze	59
3.6.7. Određivanje sadržaja saharoze, D-glukoze i D-fruktoze	61
3.6.8. Određivanje glukoze referentnom metodom sa heksokinazom	65
3.6.9. Određivanje koncentracije ukupnog holesterola	66
3.6.10. Određivanje koncentracije HDL-holesterola	67

3.6.11. Određivanje koncentracije triglicerida (GPO-PAP metoda)	68
3.6.12. Određivanje insulina	70
4. REZULTATI I DISKUSIJA	72
4.1. Dijetarni izvori ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba	72
4.1.1. Analiza komercijalnih hlebova	73
4.1.2. Analiza pahuljica od žitarica	76
4.1.3. Analiza kuvanih žitarica	79
4.1.4. Analiza kuvanih leguminoza	81
4.1.5. Analiza voća i povrća	84
4.1.5.1. Analiza jezgrastog voća	84
4.1.5.2. Analiza voća	86
4.1.5.3. Analiza povrća	88
4.2. Ispitanici koji su učestvovali u dijetarnoj intervenciji	91
4.2.1. Osnovne karakteristike ispitanika obe grupe	91
4.2.3. Unos nutrijenata	97
4.2.4 Efekti dijetarne intervencije na faktore rizika	103
4.2.4.1. Efekat na telesnu masu	103
4.2.4.2. Efekat na glikoregulaciju	105
4.2.4.3. Efekat na lipidni status	109
5. ZAKLJUČCI	114
LITERATURA	116

Listu skraćenica korišćenih u tekstu

SCFA	kratkolančane masne kiseline
RS	rezistentan skrob
DV	dijetna vlakna
BDS	brzo-digestibilni skrob
SDS	sporo-digestibilni skrob
UWL	nemešani sloj vode (unstirred water layer)
IFG	oštećena glikemija našte (impaired fasting glucose)
IGT	intolerancija na glukozu (impaired glucose tolerance)
DMT2	dijabetes melitus tipa 2
OGTT	test oralne tolerancije glukoze
TNF-alfa	tumor nekroze faktor-alfa
IGF-1	insulinu sličan faktor rasta 1
PPAR-gama	peroksizom proliferatorni-aktivirajući receptog gama
MCP-1	monocitni hemotoksični protein-1
ER	endoplazmatski retikulum
UPR	odgovor nesmotanih proteina
SREBPs	sterol-regulatorni element vezujući proteini
JNK	c-Jun N-terminalne kinaze
ROS	reaktivna jedinjenja kiseonika
MDA	malon-dialdehid
ITM	indeks telesne mase
E	energetski unos
GLP-1	glukagonu sličan peptid-1
ATP	adenozin-trifosfat
ADP	adenozin-difosfat
cAMP	ciklični adenzin-monofosfat
FPG	glikemija našte
ANCOVA	analiza kovarijanse
SD	standardna devijacija
RSD	relativna standardna devijacija
CV	koeficijent varijacije

Na ₂ HPO ₄	dinatrijum-hidrogenfosfat
NaH ₂ PO ₄	natrijum-dihidrogenfosfat
NaOH	natrijum-hidrooksid
HCl	hlorovodonična kiselina
AMG	amiloglukozidaza
GOPOD	glukoza oksidoperoksidaza-aminoantipirinski reagens
CaCl ₂ x 2H ₂ O	kalcijum-hlorid-dihidrat
NaN ₃	natrijum-azid
KOH	kalijum-hidrooksid
F	faktor konverzije
NAD	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADH	redukovana forma NAD
NADP	nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat
E	ekstinkcioni koeficijent
HK	heksokinaza
F-6-P	D-fruktozo-6-fosfat
PGI	fosfoglukoza-izomeraza
G6P-DH	glukoza-6-fosfat dehidrogenaza
CHOD-PAP	holesterol-oksidaza-peroksidaza
CHE	holesterol-esteraza
POD	peroksidaza
VLDL	lipoproteini veoma niske gustine
HDL	lipoprotein visoke gustine (High-Density Lipoprotein)
LDL	lipoprotein male gustine (Low-Density Lipoprotein)
LPL	lipoproteinske lipaze
GK	glicerol kinaza
GPO	glicerol-3-fosfat-oksidaze
EDTA	etilendiamintetraacetat
CLIA	hemiluminiscentna metoda
HOMA	homeostatski model (homeostasis model assessment)
ELISA	enzimski imunosorbent test
IR	insulinska rezistencija

1. Uvod

Pravilan način ishrane je važan preduslov za zdrav i kvalitetan način života. Ishrana treba da ispunjava određene nutritivne i zdravstvene uslove, tj. da zadovolji principe racionalne ishrane (1) i treba da bude prilagođena uzrastu, polu, genetskim predispozicijama i zdravstvenom stanju svakog pojedinca. Svi sastojci hrane i njihove količine su značajni, kako u prevenciji deficita i suficita određenih nutrijenata, tako i u promociji zdravlja i u smanjenju rizika od hroničnih nezaraznih bolesti.

U promociji zdravog i kvalitetnog načina ishrane u današnje vreme, dijetna vlakna zauzimaju značajno mesto. Brojne epidemiološke studije i iskustvo postavljaju količinu dijetnih vlakana u obrnuto-proporcionalnoj zavisnosti sa dijabetesom tipa 2, gojaznošću, nekim vidovima kancera i kardiovaskularnim oboljenjima.

Pozitivan uticaj ukupnih dijetnih vlakana na smanjenje faktora rizika za pojavu dijabetes melitusa tipa 2 potvrdile su velike svetske studije. Poreklo vlakana i frakcije vlakana su jako bitne kod prevencije dijabetesa. Rastvorljiva dijetna vlakna su značajna u prevenciji dijabetesa tipa 2, dok suplementacija arabinoksilanom i beta-glukanom, smanjuje postprandijalni glikemijski odgovor; inulinom, smanjuje koncentraciju insulina našte a rezistentnim skrobom, povećava insulinsku senzitivnost.

Obzirom da je hrana suplementirana određenim frakcijama vlakana dala veoma značajan efekat u prevenciji dijabetes melitusa tipa 2 potrebno je preispitati taj efekat sa konvencionalnom hranom.

Potrebno je prilagoditi konvencionalnu hranu bogatu određenom frakcijom vlakana, i ispitati njen uticaj na smanjenje faktora rizika za pojavu dijabetes melitusa tipa 2.

1.1. Dijetna vlakna

Dijetna vlakna su polimeri ugljenih hidrata sa tri ili više monomernih jedinica, koji se ne apsorbuju u tankom crevu (2).

Prema ovoj definiciji u grupu vlakana, osim biljnih vlakana, svrstaju se i vlakna koja mogu da budu sintetski ili ekstrahovani polimeri, ako se njihov povoljan fiziološki efekat potvrdi tokom naučnih studija.

Obzirom da vlakna predstavljaju veliki broj jedinjenja različitih molekulskih masa, fizičkih osobina i fizioloških efekata, u literaturi se koristi više klasifikacija.

1.2. Podela vlakana na osnovu fizičkih karakteristika

Vlakna se na osnovu fizičkih karakteristika dele na:

- rastvorljiva i nerastvorljiva u vodi
- viskozna i neviskozna
- fermentabilna i nefermentabilna (tabela 1).

Najčešća podela dijetnih vlakana je da li su rastvorljiva u vodi ili ne, iako su sposobnost formiranja gela, viskoznost ili stepen fermentacije mnogo relevantnije karakteristike. Za rastvorna dijetna vlakna najčešće se vezuje efekat smanjenja nivoa holesterola i glikemije (3, 4), dok je za nerastvorna to laksativni efekat (5).

Rastvorljiva dijetna vlakna redukuju nivo holesterola u serumu i postprandijalni nivo glukoze uglavnom zbog formiranja viskoznog gela, koji smanjuje apsorpciju holesterola i glukoze u crevima (6 - 8). Ima podataka da rastvorna dijetna vlakna takođe deluju na T-ćelijsku proliferaciju i aktivaciju makrofaga (9). Nerastvorna dijetna vlakna imaju visok kapacitet vezivanja vode i omekšavaju fekalni sadržaj. Ona smanjuju vreme tranzicije fekalnog materijala kroz debelo crevo (6, 10).

Podela dijetnih vlakana na osnovu fermentabilnosti i viskoznosti je bolje povezana sa njihovim fiziološkim efektima nego rastvorljivost. Rastvorljiva vlakna su pretežno viskozna i fermentabilna, ali to nije uvek slučaj. Tzv. prebiotski ugljeni hidrati su primeri rastvorljivih vlakana koja nisu viskozna, ali su fermentabilna (inulin i fruktooligosaharidi). Prebiotik je nesvarljivi sastojak hrane koji selektivno stimuliše rast i/ili aktivnost jedne ili ograničenog broja bakterija u debelom crevu i na taj način povoljno utiče na zdravlje domaćina (11).

Generalno važi pravilo da su dobro fermentabilna vlakna rastvorljiva u vodi, a slabo fermentabilna su nerastvorljiva.

Procenat fermentabilnosti pojedinih vlakana je sledeći:

- guar guma, pektini, rezistentan škrob, inulin, oligosaharidi: 100%
- hemiceluloza: 60 – 90%
- celuloza: 20 – 80%.

Fermentacija je anaerobni metabolički proces u kojem dolazi do degradacije prirodnih molekula koji najčešće katalizuju enzimi bakterijskog porekla (gljivice, bakterije). Iako bakterijska flora u debelom crevu proizvodi širok spektar enzima koji mogu da metabolišu nesvarene proteine, većina bakterija je usmerena na fermentaciju ugljenih hidrata (nesvareni neskrobnii ugljeni hidrati, rezistentan skrob, preostala vlakna), pri čemu nastaju kratkolančane masne kiseline (SCFA) i gasovi, uključujući metan, vodonik i ugljen-dioksid. Deo proizvoda fermentacije koriste bakterije debelog creva kao izvore energije i za rast, drugi deo se eliminiše putem fecesa ili u vidu gasova, ali glavni deo se apsorbuje od strane sluzokože debelog creva. Apsorpcija SCFA je brza i dovodi do akumulacije bikarbonata i povećanje pH u lumenu creva (12, 13).

Smanjenje digestibilnosti ugljenih hidrata produžuje apsorpciju ugljenih hidrata u distalnom delu tankog creva i povećava količinu ugljenih hidrata koji izbegavaju varenje u tankom crevu. Da li će doći do fermentacije vlakana koji dospeju do debelog creva ili neće zavisi od više faktora. Pre svega od rastvorljivosti vlakana - što je veća rastvorljivost, dostupniji su hidrolitičkim enzimima i verovatnije je da će biti više degradirani. Ipak, postoje i rastvorljiva vlakna kao što su alginati koji se sporo fermentišu. Ostali faktori koji utiču na nivo fermentacije su motilitet creva ili individualne razlike u mikroflori.

Viskoznost je još jedna od fizičkih osobina vlakana koja ne zavisi samo od količine dijetnih vlakana, nego i od njihove rastvorljivosti i molekulske mase (6, 14,15). Molekulska masa igra značajnu ulogu i u postojanju/nepostojanju fiziološkog efekta vlakana (16 - 18).

Tabela 1. Klasifikacija dijetnih vlakana

Rastvorljivost (rastvaranja u vodi)		Viskozitet (sposobnost vezivanja vode)		Fermentabilnost (digestija u debelom crevu)	
<i>Rastvorna</i>	<i>Narastvorna</i>	<i>Viskozna</i>	<i>Ne-viskozna</i>	<i>Delimično fermentisanih</i>	<i>Fermentisani u celosti</i>
Glukani iz ovsaa i ječma	Celuloza, hemiceluloza, lignin (poreklom iz pšenice i pirinča) Rezistentan skrob iz integralnih žitarica i leguminoza	Gume	Inulin	Celuloza iz povrća, šećerne repe, mekinje	Beta glukani iz ovsaa, ječma i raži
Pentoze iz raži		Sluzi	Rezistentan skrob	Hemiceluloze iz zrna žitarica	Pektini iz voća, povrća, šećerne repe i leguminiza
Oligosaharidi iz leguminoza, belog luka, artičoke, crni luk		Pektini	Polidekstroze	Lignin iz drvenastih biljaka	Gumi iz leguminoza, algi
Vlknaste komponente u pojedinih vrsta voća, povrća, leguminoza		Celuloza (ovsene mekinje)	Celuloza (pšenične i pirinčane mekinje)	Voskovi	Inulin iz cikorije, artičoke, belog luka, pšenice
		Glukomanani (konjakmanan)		Hitin i hitosan, kolagen kvasci i gabi Rezistentan skrob iz kukutuza, krompira, žitarica, leguminoza i banana	Oligosaharidi/ analozi

Preuzeto: Carolyn i Uppal, 2010

1.3. Podela vlakana na osnovu hemijske strukture

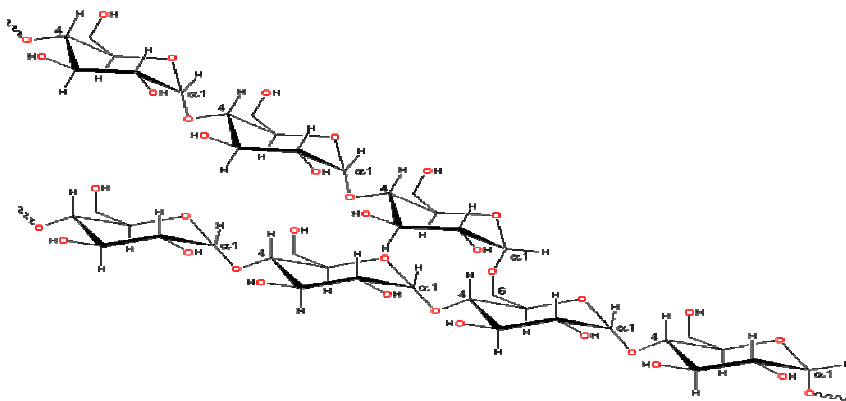
Na osnovu vrste monosaharidnih jedinica koji ulaze u sastav polimera i načina vezivanja, dijetna vlakna se mogu podeliti na različite frakcije. Te frakcije su: rezistentan skrob, beta-glukan, arabinoksilan, celuloza, fruktan. Osim što se razlikuju po hemijskoj strukturi, različite frakcije imaju i različite fiziološke efekte, što je potvrđeno u brojnim istraživanjima.

1.3.1. Rezistentan skrob

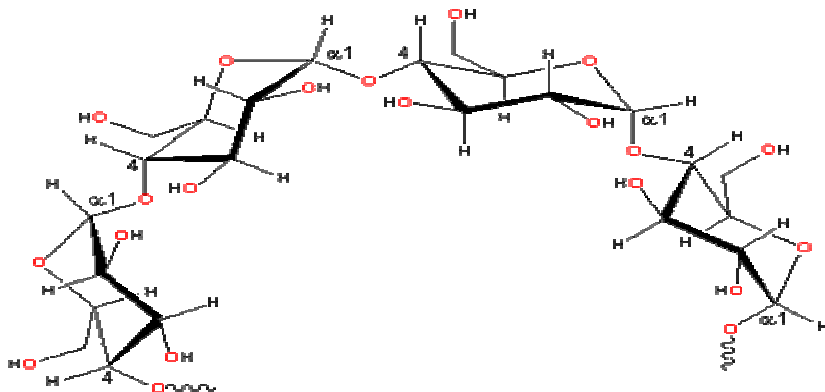
1.3.1.1. Skrob

Najvažniji rezervni polisaharid u biljkama je skrob. Skrob je izgrađen od dve strukturne komponente:

- amiloza je esencijalno linearan polimer u kom su glukozni ostaci vezani α -D-(1-4) vezom i najčešće je zastupljena sa 15-20% u skrobu,
- amilopektin je polimer sa razgranatom strukturom, sa α -D-(1-4) i α -D-(1-6) vezama i glavna je komponenta skroba.



Sl. 1. Struktura amilopektina



Sl. 2. Struktura amiloze

1.3.1.2. Varenje skroba

Varenje skroba započinje u ustima. Oko 5% skroba se hidrolizuje pomoću salivarne α -amilaze. Međutim, zadržavanje hrane u usnoj duplji je kratkotrajno i reakcija može da se nastavi u želucu, ali ona je ograničena do trenutka dok želudačni sok ne uslovi pad lokalnog pH ispod 4. U takvim uslovima salivarna amilaza se denaturiše i njeno dejstvo se nepovratno prekida.

U želucu se odvija samo mehanička faza varenja skroba, a glavna faza je u tankom crevu, zato što se u želudačnom soku nalazi mala količina gastrične amilaze koja nema značajnu ulogu u varenju skroba.

Pankreasni enzim za varenje ugljenih hidrata je pankreasna amilaza (koja je po svojoj specifičnosti α -amilaza), koja vrši hidrolizu amiloze i amilopektina na taj način što raskida α -(1-4) glikozidne veze i dobijaju se molekule glukoze i maltoze. α -amilaza ne razlaže α -(1-6) glikozidne veze, tako da će se amilopektin delimično razložiti do glukoze, maltoze i graničnih dekstrina. Dobijeni granični dekstrini biće hidrolizovani pod dejstvom izomaltaze ili α -(1-6) glikozidaze (enzimi crevnog soka) do glukoze.

Na taj način enzimi crevnog soka dovršavaju razlaganje polisaharida, jer se kao konačni produkt dobija n- molekula D-glukoze (20).

1.3.1.3. Rezistentan skrob

Frakcija skroba koja je rezistentna hidrolizi α -amilaznim *in vitro* tretmanom, naziva se rezistentan skrob (21). Termin rezistentan skrob (RS) prvi je uveo Englyst sa saradnicima 1982 godine. RS je skrob koji se ne hidrolizuje nakon 120 minutne enzimske inkubacije (22).

RS je definisan kao frakcija hranljivog skroba koji izbegava digestiju u tankom crevu, a u debelom crevu može da bude više ili manje fermentisan od strane mikroflora.

Hemijski se određuje kao razlika između ukupnog skroba sa jedne strane i zbira BDS (brzo-digestibilni skrob) i SDS (sporo-digestibilni skrob) sa druge strane.

$$RS = US - (BDS + SDS)$$

SDS i BDS su digestibilni od strane humanih enzima. BDS sadrži najčešće amorfan i koloidan skrob, nađen u visokim količinama u pripremljenoj hrani (pripremljena vlažnim i toplim postupkom). Slično kao BDS i od SDS se očekuje da bude hidrolizovan u tankom crevu, ali to se odvija veoma sporo. Onaj deo skroba koji ostane nehidrolizovan posle dužeg vremena naziva se rezistentnim.

Razlikuju se četiri vrste rezistentnog skroba:

RS1 predstavlja fizički nepristupačnu formu veoma gustog termički obrađenog skroba celih zrna žita. *RS1* je temperaturno stabilan pri termičkoj obradi kuvanjem i obzirom da su žitarice sastavni deo uobičajene ishrane, predstavlja sastojak konvencionalne hrane. Određuje se kao razlika između glukoze oslobođene u toku enzimske digestije homogenizovanog uzorka i one koja se oslobađa iz nehomogenizovanog uzorka.

Nalazi se u zrnu žitarica i leguminoza.

RS2 su prirodne skrobne granule zaštićene od digestije (zelena banana, visoko amilozno zrno žitarica). Sve skrobne granule u *RS2* su čvrsto spakovane i relativno dehidrirane.

Ovaj kompaktni strukturni nivo je delimično dostupan digestivnim enzimima, različitim amilazama i smatra se kao prirodno rezistentan negelatizovani skrob.

RS1 i *RS2* predstavljaju skrobne rezidue koje se digestuju veoma sporo i nekompletno u tankom crevu.

RS3 je retrogradovani skrob i zastupljen je u ohlađenom kuvanom krompiru, kuvanom pirinču, hlebu ili testenini. RS3 je najveća rezistentna frakcija skroba i to je uglavnom retrogradovana amilozna forma koja se dobija za vreme kuvanja ili gelatinizacije skroba. Retrogradovanje je proces u kom prilikom zagrevanja na oko 50°C u prisustvu vode amiloza u granulama bubri i granula puca. Skrobni lanci zauzimaju slučajnu strukturu, izazivajući nabreknuće skroba i zadebljanje matriksa - proces gelatinizacije – proces koji omogućava skrobu laku digestibilnost. Hlađenjem/sušenjem gelatinizovanog skroba pojavljuje se rekristalizacija (retrogradovanje). Ovo se dešava mnogo brže kod amiloznog dela, jer linearna struktura omogućava spajanje lanaca posredstvom vodoničnih veza. Razgranata struktura amilopektina usporava njegovu rekristalizaciju koja se dešava u toku nekoliko dana.

Retrogradovana amiloza (kod graška, kukuruza, pšenice, krompira) je visoko rezistentna na dejstvo enzima amilaze. Brzina i granica do koje skrob može da retrograduje posle gelatinizacije uglavnom zavisi od količine prisutne amiloze. Namirnice sa prirodno visokim sadržajem amiloze u skrobu sadrže veliku količinu RS2, koji je definisan kao skrob u svom prirodnom granularnom stanju posle kuvanja i hlađenja, ali ove namirnice sadrže i visok sadržaj RS3 ili retrogradovanog skroba. Digestibilnost leguminoznog skroba je mnogo niža u odnosu na skrob žitarica, što je posledica većeg sadržaja amiloze.

Za vreme stajanja već obrađivanih namirnica bogatih skrobom dispergovani polimeri gelatiniziranog skroba su podložni retrogradovanju do semikristalne forme, koji su takođe otporni na digestiju pankreasnom α -amilazom. To dovodi do formiranja velikog procenta rezistentnog skroba kod belog hleba i kukuruznih pahuljica.

RS4 je rezistentan skrob kod koga su formirane nove (neobične) veze, drugačije od α -D-(1-4) i α -D-(1-6). Dobija se hemijskom modifikacijom i ne nalazi se u prirodi. U RS4 se enzimski otpornost uvodi modifikacijom skroba ukrštanjem sa hemijskim agensima.

Unakrsno povezani skrobovi dobijaju se reakcijom skroba sa bi- ili polifunkcionalnim reagensima kao što su natrijum-trimetilfosfat, fosfor-oksihlorid ili mešavinom anhidrida sirćetne kiseline i neke dikarboksilne kiseline. Unakrsno povezivanje izvedeno sa sulfonatnim i fosfatnim grupama između različitih skrobnih molekula uključuje njihovu funkcionalnu grupu i na ovaj način doprinosi otpornosti prilikom amilolitičkog napada

na skrobnu molekulu. Na primer, diskrobni fosfati sa 0,4 – 0,5% fosfora sadrže sporodigestibilni skrob i RS4.

RS4 skrobovi koji imaju nisku moć bubrenja pripremaju se od pšenice, kukuruza, ječma, krompira i banane i koriste kao prehrambeni aditivi, i to uglavnom kao sredstva za zgušnjavanje ili punioci.

1.3.1.3.1. Fiziološki efekti rezistentnog skroba

1.3.1.3.1.1. Uticaj rezistentnog skroba na telesnu masu

Prema podacima skorijih istraživanja RS deluje na regulaciju telesne mase preko smanjenja kalorijskog unosa, preko modulacije osećanja sitosti i modulacije katabolizma masti u organizmu.

RS doprinosi smanjenju kalorijskog efekta hrane na organizam kada se upotrebljava kao zamena za brzodigestibilne šećere (23, 24). Od 30 do 70% RS se metaboliše.

Upoređivanjem energije koja se oslobađa iz uobičajenog kukuruznog skroba sa energijom koja se oslobađa iz kukuruznog skroba koji sadrži visoku količinu RS, energetska vrednost za RS u proseku iznosi 67,3% od energije uobičajenog kukuruznog skroba. Iz ovoga sledi da RS oslobađa 2,8 kcal/g u poređenju sa 4,1 kcal/g oslobođenom od strane uobičajenog skroba.

Ovaj podatak opravdava upotrebu RS prilikom redukovanja energetske unosa. Unos RS u SAD je procenjen na 6 g dnevno, u Velikoj Britaniji 3 g/dan, u Evropskoj Uniji od 3 do 6 g/dan, a u Australiji od 5,2 do 8,5 g/dan (25, 26). Ne postoje podaci o procenjenom unosu RS u Srbiji.

Prema nekim istraživanjima visok unos RS indukuje jači osećaj sitosti čime RS takođe pozitivno deluje kod regulacije telesne mase (27 - 29).

Prema Higginsu (30), RS prisutan u obroku pomaže u sagorevanju masti i dovodi do smanjenja njihove akumulacije u organizmu. Posle unošenja hrane sa visoko-amiloznim skrobom povećava se postprandijalna lipidna oksidacija, a samim tim smanjuje akumulaciju masti na duži period. Povećanu oksidaciju masti prati smanjena oksidacija ugljenih hidrata (30).

1.3.1.3.1.2. Hipoglikemijski efekat i efekat na insulinsku senzitivnost

RS je skrob koji se ne hidrolizuje nakon 120 minutne inkubacije. Razgradnja RS javlja se tek 5-7 h nakon konzumiranja, za razliku od uobičajenog kuvanog skroba čija digestija počinje gotovo odmah. Produžena digestija u periodu od 5-7 sati smanjuje postprandijalnu glikemiju i insulinemiju i ima potencijal za povećanje perioda sitosti (31, 32). RS pomaže pri održavanju normalnog nivoa šećera u krvi i povećava insulinsku senzitivnost. Hrana suplementirana sa rezistentnim skrobom tipa 2 u količini od 15 i 30 g/dan, povećala je insulinsku senzitivnost kod gojaznih ispitanika (33). Inkorporirani RS smanjio je glikemijski uticaj hrane kod zdravih osoba (34) i dijabetičara (35) i povećao insulinsku senzitivnost (33, 36, 37)

1.3.1.3.1.3. Rezistentan skrob i kancer debelog creva

Neresorbovani skrob u tankom crevu fermentiše mikroflora debelog creva. Skrob nije prisutan u fecesu ljudi ili eksperimentalnih životinja, što ukazuje na verovatno kompletnu fermentaciju rezistentnog skroba. Neki izvori RS su manje dostupni za fermentaciju, kao što su hemijski modifikovani skrobovi.

RS se fermentiše od strane flore debelog creva stvarajući veliku količinu SCFA. SCFA dobijeni fermentacijom RS sadrže manje acetata, a više butirata u odnosu na one dobijene iz konvencionalnih dijetnih vlakana (odnos tri najvažnije SCFA nastale fermentacijom uobičajenih dijetnih vlakana je acetat : propionat : butirat = 49 : 17 : 34 (38, 39). SCFA se lako i dobro resorbuju u debelom crevu i predstavljaju energetski izvor ćelijama debelog creva (butirat), ali i organizmu kao celini (acetat i propionat). Butirat je glavni energetski supstrat za velike intestinalne epitalne ćelije i ima podataka da inhibira malignu transformaciju takvih ćelija *in vitro*. Ova osobina čini lako fermentabilne RS frakcije jako bitnim u prevenciji raka debelog creva. Usled značajne produkcije SCFA u cekumu debelog creva RS dovodi do značajne promene u fekalnom pH i crevnom sadržaju, uz smanjenu produkciju potencijalno štetnih žučnih kiselina, amonijaka i fenola (40).

1.3.1.3.1.4. RS kao prebiotski ugljeni hidrat

RS pomaže rast bifido bakterija u debelom crevu. Kada RS skoro potpuno prođe tanko crevo može da se ponaša kao supstrat za rast probiotskih mikroorganizama (41).

1.3.1.3.1.5. Redukcija formiranja žučnog kamena

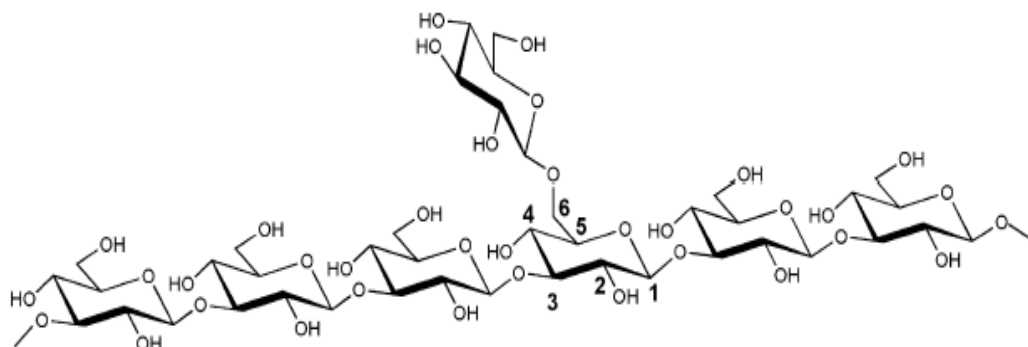
Dokazano je da digestibilan škrob doprinosi formiranju žučnog kamena preko povećane sekrecije insulina, koji sa druge strane dovodi do stimulacije sinteze holesterola. Za RS je nađeno da redukuje incidencu nastanka holelitijaze (42). Primećeno je da se kod stanovnika Južne Indije, gde se konzumiraju cela zrna žitarica, ređe javljaju žučni kamenci nego u Severnoj Indiji gde se najčešće konzumira brašno.

1.3.1.3.1.6. Hipoholesterolemičan efekat

Rezistentna frakcija pasulja dovela je do smanjenja serumskog holesterola u istraživanju Hana i saradnika, što se objašnjava povećanjem nivoa SR-B1 receptora i 7- α -hidroksilaze u jetri, koji su ključni faktori u početnom stadijumu sinteze žučnih kiselina (43).

1.3.2. Beta-glukan

Beta-glukan je još jedna frakcija dijetnih vlakana - to je razgranat homopolisaharid čije glukozne jedinice mogu da budu povezane: β -(1-3) vezom, β -(1-6) vezom, β -(2-3) vezom ili β -(3-6) vezom.



Sl. 3 Hemijska struktura 1,3-beta-D-glukana sa bočno povezanim 1,6 glukoznim jedinicama

Beta-glukan je vlakno za koje je vezana prva zdravstvenu izjava evropske Agencije za hranu i lekove, a koja se odnosi na dnevni unos od 3 g beta-glukana poreklom iz ovsa i njegov efekat na smanjenje nivoa holesterola u krvi (44).

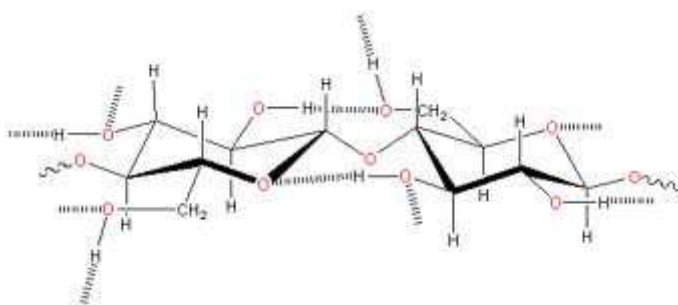
Beta-glukan je rastvorljiv u vodi (45, 46) i pripada grupi rastvorljivih dijetnih vlakana iako sadrži i delove koji nisu rastvorljivi u vodi (47). Povećanjem temperature povećava se viskozitet rastvorljivog beta-glukana (48).

Derivati beta-glukana iz ovsa i ječma imaju prebiotski potencijal (49). Beta-glukan može da proizvede velike količine laktata nakon fermentacije u kolonu (50). Beta-glukan povećava ekskreciju žunih kiselina fecesom (51). Značajna i dobro proučena funkcija beta-glukana je u aktivaciji imunog sistema (52).

Glavni izvori beta-glukana u ishrani su žitarice, određene vrste gljiva, pečurke i bakterije.

1.3.3. Celuloza

Celuloza je nerazgranati polimer glukoznih ostataka povezanih β -(1-4) glikozidnom vezom.

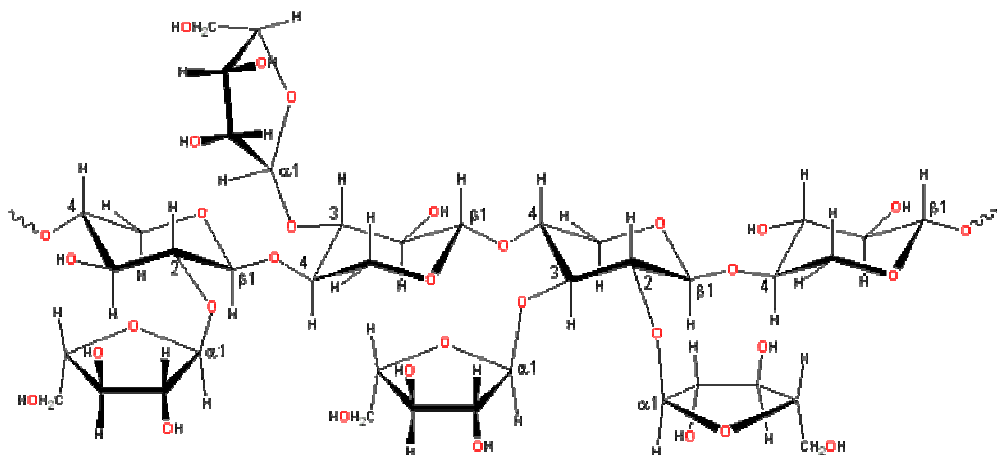


Sl. 4. Hemijska struktura celuloze

Celuloza spada u takozvane polimorfne supstance (53, 54). Posедуje amorfna područja i kristalna područja. Ako je veći procenat učešća kristalnih područja, veća je jačina i otpornost vlakana prema hemikalijama. Celuloza pripada grupi nerastvorljivih vlakana. Fiziološki efekti celuloze obuhvataju povećanje obima stolice i ubrzavanje vremena tranzita sadržaja kroz debelo crevo, a samim tim povećanje i izlučivanja potencijalnih kancerogena i nekih kontaminanata (55). Dodatna zaštitna funkcija celuloze je što štiti debelo crevo povećanjem broja apoptotičnih epitelih ćelija (56). Nalazi se u žitaricama, leguminozama, zelenom povrću.

1.3.4. Arabinoksilan

Arabinoksilan je izgrađen od linearnih lanaca β -D-ksilopiranoze, gde su na drugom ili trećem kiseonikovom atomu bočno vezani ostaci α -D-arabinofuranoze. Takođe u molekuli mogu da se nađu ostaci ferulinske kiseline (57).



Sl. 5. Hemijska struktura arabinoksilana

Arabinoksilan u pšeničnim mekinjama predstavlja 60-69% neskrobnih polisaharida, a u endospermu 88% neskrobnih polisaharida (58).

U pšeničnim mekinjama je kiseo i nerastvorljiv u vodi, a u endospermu je neutralan i rastvorljiv u vodi (58 - 60).

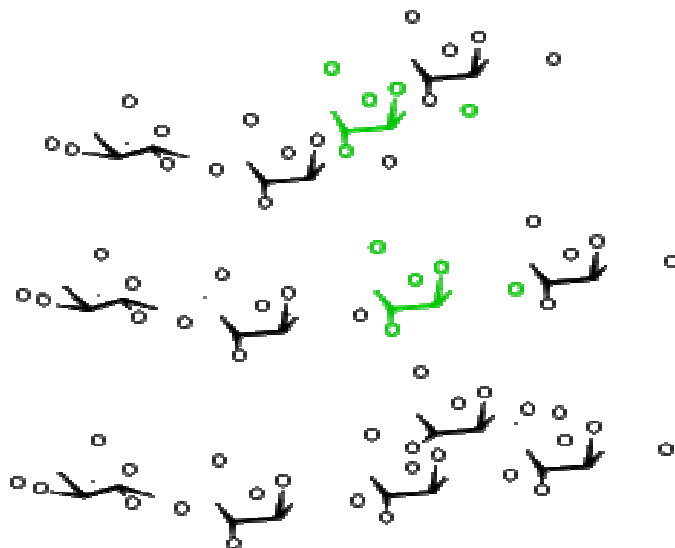
Veoma bitna fizička osobina arabinoksilana, viskozitet, zavisi od stepena supstitucije, distribucije supstituenata i stepena polimerizacije (61).

Arabinoksilan je poznat kao vlakno koje ima ulogu u procesu glikoregulacije, a deluje i kao prebiotik. Hrana bogata arabinoksilanom reguliše postprandijalnu glikemiju i insulinski odgovor (62). Arabinoksilan stimuliše rast *Lactobacilus* i *Bifidobakterium* vrsti (63).

Veliki izvori arabinoksilana u hrani su raž, pšenica, ječam, ovas, a prisutan je i u voću u manjim količinama.

1.3.5. Fruktani

Fruktani su ugljeni hidrati koji se sastoje od fruktoznih jedinica sa ili bez glukoznih jedinica, koji na osnovu razlike u molekulskoj strukturi i masi mogu da se svrstaju u tri grupe: grupa inulina, grupa levana i razgranata grupa.



Sl. 6. Hemijska struktura fruktana

Fruktani povećavaju osećaj sitosti (64) i apsorpciju kalcijuma (65), a smanjuju nivo triglicerida (66).

Deluju kao prebiotici i pokazuju selektivnost prema pojedinim gastrointestinalnim bakterijskim vrstama (67).

Fruktani kraćih lanaca se nalaze u žitaricama, a dugih lanaca u artičoki (sadrže inulin).

Ostali dobri izvori fruktana su crni i beli luk.

1.4. Mehanizmi fiziološkog delovanja dijetnih vlakana

Svoje fiziološke efekte dijetna vlakna ostvaruju preko nekoliko različitih mehanizama:

- modulacijom crevne mikroflore
- promenama u fizičkim karakteristikama crevnog sadržaja
- enzim-supstrat interakcijama
- promenom motiliteta tankog creva
- interakcijom sa mikroflorom debelog creva.

1.4.1. Vlakna i crevna mikroflora

Sastav crevne mikroflore u određenoj meri zavisi od načina ishrane, starosti osobe i geografskog položaja. U nekim istraživanjima je pokazano da određeni oligosaharidi hrane, kao što su fruktooligosaharidi, menjaju sastav bakterijske flore, dominantnim povećanjem bifidobakterija (68). Unos fruktooligosaharida povećava fekalnu količinu endogenih bifidobakterija i do deset puta, bez promene u koncentraciji anaerobnih bakterija. Bifidobakterije pomažu varenju i resorpciji hranljivih materija. Za sada nije poznato zašto samo neki polisaharidni supstrati preferentno stimulišu rast bifidobakterije, mada stepen polimerizacije može biti važnija osobina od hemijske strukture.

1.4.2. Vlakna i digestija ugljenih hidrata u želucu i tankom crevu

U gastro-intestinalnom traktu vlakna mogu da formiraju složeni matriks sa vlaknastim karakteristikama. Pojedina vlakna mogu da povećaju zaspreninu želudačnog i crevnog sadržaja, tako što će da adsorbuju vodu i hranljive materije, posebno one rastvorljive u vodi, poput šećera. Kada se *rastvorljiva vlakna* mešaju sa tečnim ili tečno/čvrstim obrocima mogu da povećaju viskozitet želudačnog sadržaja. Delujući kao emulgator, vlakna mogu da stabilizuju želudačno pražnjenje i da spreče odvajanje čvrste od tečne faze, narušavajući selektivno zadržavanje najkrupnijih čestica i time da povećavaju brzinu prolaska kroz tanko crevo (69). *Nerastvorljiva vlakna* mogu menjati pražnjenje želuca u zavisnosti od njihove sposobnosti zadržavanja vode ili od veličine čestica (5). Promene u fizičkim karakteristikama crevnog sadržaja do kojih dovodi prisutvo dijetnih vlakana mogu da utiču na:

- usporavanje pokretljivosti i aktivnosti enzima,
- sprečavanje hidrolize skroba,
- motilitet želuca i creva,
- promenu koncentracije supstrata i hranljivih materija na apsorpcionoj površini creva.

Ovi efekti dovode do sporije i slabije apsorpcije hranljivih materija kao što su glukoza i neki lipidi nakon obroka.

Enzim-supstrat interakcija

Većina vlakana menja aktivnost pankreasne amilaze. Inhibitorni efekat vlakana u odnosu na pankreasnu amilazu pripisuju se promeni pH, jonskoj razmeni, inhibiciji enzima. Prisustvo vlakana verovatno ometa enzim-supstrat interakciju. Prisustvo vlakana u obliku koji ometa gelatinizaciju skroba ili pristup hidrolitičkih enzima skrobu može da uspori brzinu varenja skroba. Spora digestija skroba leguminoza može biti povezana, između ostalog, sa rezistentnošću skroba na pankreasnu hidrolizu usled prisustva netaknutih ćelijskih zidova koji su prošli obradu i kuvanje u nepromenjenom stanju i kao takvi izolovali skrob od delovanja digestivnih enzima.

Vlakna i motilitet tankog creva

Poznato je da viskozna vlakna mogu uticati na pristup raspoloživih ugljenih hidrata mukoznoj površini i tako usporiti njihovu apsorpciju. Jedan od glavnih mehanizama ove aktivnosti u vezi je sa efektima vlakana na motilitet tankog creva (70). Kontrakcije tankog creva stvaraju turbulencije i konvektivne struje koje uzrokuju kretanje tečnosti i mešanje sadržaja u lumenu creva. Ovi pokreti takođe omogućavaju da se glukoza iz središta lumena dovede blizu epitela creva. Kad se glukoza nađe u neposrednoj blizini epitela, ona tada difunduje kroz neuzburkani (nemešani) sloj vode (unstirred water layer, UWL). Ovaj sloj nastaje zbog postepenog sve slabijeg mešanja u blizini mukoze, što stvara barijeru za difundovanje vode, razdvajajući tako izmešani sadržaj lumena creva od četkaste površine. Debljina UWL zavisi od kontrakcija tankog creva i obrnuto je srazmerna stepenu vrtloženja. Kad nema nikakvih kontrakcija, tada se tečnost kreće kroz tanko crevo laminarnim protokom, slično kretanju vode kroz cevovod. Kod ovakvog protoka nema nikakvog kretanja iz centra creva ka periferiji, tj. epitelu. Zbog

toga je vrtloženje jako slabo, a nemešani sloj debeo. Nasuprot tome, normalni motilitet creva proizvodi u isto vreme longitudinalne i radijalne konvektivne struje, stvarajući na taj način turbulenciju koja meša luminalnu tečnost. Osim što kontrakcije utiču na kretanje glukoze, motilitet tankog creva može da izmeni apsorpciju glukoze tako što menja stepen tranzita kroz UWL, čime se menja površina i dužina trajanja kontakta između glukoze i crevnog epitela.

Vlakna za koja se zna da deluju na pokretljivost creva, mogu stoga da utiču na apsorpciju glukoze upravo gore opisanim mehanizmom. Viskozna vlakna, kao što je guar guma, stimulišu motilitet, ali smanjuju stepen tranzita, zato što pružaju otpor kontrakcijama koje potiskuju sadržaj creva. Kao što se opiru potisnoj sili motiliteta, na sličan način viskozna vlakna se opiru i kontrakcijama mešanja, sprečavajući na taj način uticaj motiliteta na mešanje tečnosti. Upravo to je mehanizam kojim se povećava debljina UWL sloja usled prisustva viskoznih vlakana, što za posledicu ima usporeni prolazak glukoze kroz epitel.

1.4.3. Efekti vlakana na funkciju debelog creva

Glavni efekti vlakana dešavaju se u debelom crevu. Ovde svaki tip vlakana ulazi u interakciju sa mikroflorom, a uticaj vlakana zavisi od njihove fermentabilnosti. Stepent fermentabilnosti vlakana je različit i teško ga je predvideti. Na osnovu fermentabilnosti vlakna se mogu podeliti na one koje se brzo fermentišu (oligosaharidi), sporo fermentišu (gume) i one koje se jedva fermentišu (pšenične mekinje).

Vlakna koja se najmanje fermentišu povećavaju volumen fecesa. Povećanje zapremine sadržaja deluje na zidove kolona i stimuliše aktivaciju intramuskularnih receptora. Ovo objašnjava zašto su najmanje fermentabilna vlakna, kao što su pšenične ili kukuruzne mekinje, efikasni laksativi.

Vlakna povećavaju fekalni sadržaj na nekoliko načina (71):

- Zapremina koju zauzimaju nedegradirana vlakna povećava zapreminu ostalom sadržaju.
- Ovi ostaci mogu da apsorbuju vodu u okviru svog matriksa i tako povećaju sadržaj.
- Povećanje intraluminalne zapremine i istezanje kolonalnog mišića je takođe rezultat proizvodnje gasova nastalih tokom fermentacije vlakana.

Pored efekat na volumen sadržaja u debelom crevu, vlakna mogu da smanje i tranziciono vreme modulišući aktivnost i kretanje vode u debelom crevu (72):

- Vrhovi čvrstih delova mogu da stimulišu mehanoreceptore koje se nalaze u submukози i da stimulišu kontraktilni deo kolona na veću pokretljivost.
- Vlakna mogu da oslobode kratko-lančane masne kiseline tokom fermentacije koje stimulišu kontrakciju u terminalnom ileumu i mogu da utiču na motilitet debelog creva.

Vlakna koja imaju najveći efekat na volumen fecesa su najmanje fermentabilna. Ona deluju na osnovu njihovog kapaciteta zadržavanja (vezivanja) vode. Odnos kapaciteta zadržavanja (vezivanja) vode i vrste vlakana nije jednostavan. Vlakna sa najvećim kapacitetom vezivanja vode su oni koji se najviše fermentišu. Psilijum, međutim, apsorbuje velike količine vode iako ne fermentiše.

Brzo- fermentabilna vlakna nemaju efekat na stolicu, ali imaju na količinu i profil proizvoda bakterijske fermentacije u proksimalnom kolonu, dok sporo- fermentabilna vlakna imaju uticaj u distalnom delu kolona i neznatno povećavaju volumen fecesa.

1.5. Diabetes mellitus

1.5.1 Insulinska rezistencija i dijabetes melitus tipa 2

Prema proceni Internacionalne Federacije za Dijabetes u 2012. godini u svetu je bilo 371 miliona osoba obolelih od dijabetes melitusa tipa 2, što predstavlja 8,2% populacije i dodatnih 280 miliona (6,4%) sa intolerancijom na glukozu, IGT. U 2030. godini, na osnovu dosadašnjih trendova, procenjuje se da će u svetu biti 552 miliona dijabetičara (9,9%) i 390 miliona (7,1%) osoba sa IGT.

Diabetes mellitus je heterogena grupa metaboličkih bolesti koje se karakterišu hroničnom hiperglikemijom nastalom kao posledica defekta u sekreciji insulina, njegovom dejstvu ili usled postojanja oba ova poremećaja (73).

Tabela 2. Dijagnostički kriterijumi SZO za dijabetes i stanja hiperglikemije

<i>Dijabetes</i>	
Glikemija našte ili plazma glukoza u 120 min OGTT-a	≥7,0 mmol/L ≥11,1 mmol/L
Intolerancija na glukozu (IGT; impaired glucose tolerance)	
Glikemija našte ili Plazma glukoza u 120 min OGTT-a*	<7,0 mmol/L ≥7,8 i <11,1 mmol/L
Oštećena glikemija našte (IFG; impaired fasting glucose)	
Glikemija našte u plazmi (ako je određeno) Plazma glukoza u 120 min OGTT-a*	6,1 до 6,9 mmol/L <7,8 mmol/L

*ako plazma glukoza u 120 min nije određena, stanje može ukazivati i na dijabetes i na IGT. (Preuzeto: Klinički vodič 10/12 Beograd)

1.5.1.1. Klasifikacija dijabetesa

Danas je aktuelna etiloška klasifikacija dijabetesa, kojom su razdvojeni tipovi dijabetesa prema patogenetskim mehanizmima nastanka dijabetesa u 4 osnovne kategorije.

Etiološka klasifikacija dijabetesa

I. Tip 1 dijabetesa (destrukcija beta-ćelija koja vodi potpunom nedostatku insulinske sekrecije)

- Posredovan imunološkim procesom
- Idiopatski

II. Tip 2 dijabetesa (može se rangirati od dominantne insulinske rezistencije do dominantnog deficita sekrecije insulina koji je udružen sa insulinskom rezistencijom)

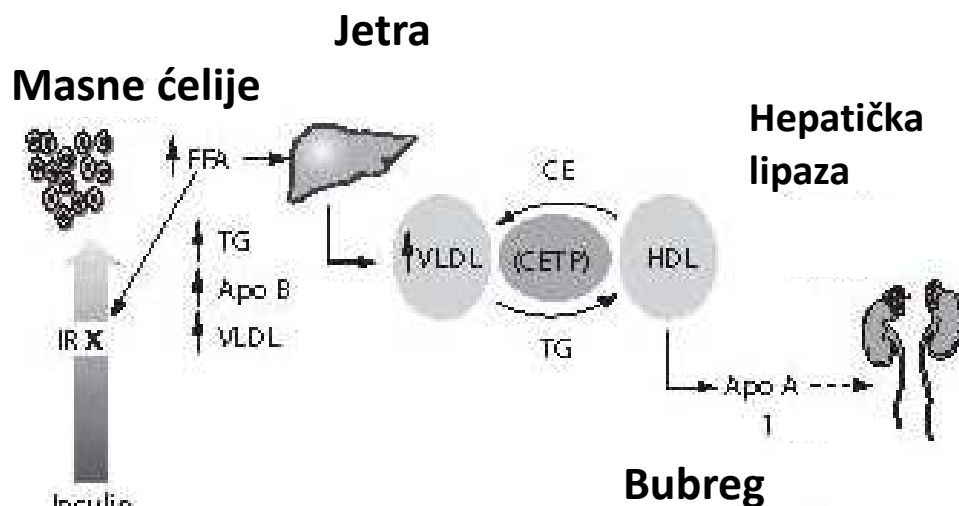
III. Drugi specifični tipovi dijabetesa

- A. Genetski deficiti funkcije beta-ćelija usled mutacija gena,
- B. Genetski uslovljeni defekt u dejstvu insulina,
- C. Dijabetes melitus usled bolesti egzokrinog pankreasa,
- D. Dijabetes melitus u okviru endokrinih bolesti,
- E. Dijabetes melitus indukovano lekovima ili hemikalijama,
- F. Dijabetes melitus indukovano infekcijama,
- H. Druge nasledne bolesti u kojih se može javiti dijabetes melitus.

IV. Gestacijski dijabetes

Insulinska rezistencija je stanje kada normalna koncentracija insulina proizvodi smanjeni biološki odgovor i nedovoljno preuzimanje glukoze u ćelije, a sa njom i veliki rizik od razvoja dijabetesa melitusa tipa 2 (DMT2) i kardiovaskularnih bolesti (75).

Insulinska rezistencija u mišićima je najraniji znak koji je moguće otkriti kod osoba kod kojih će se kasnije razviti DMT2. Takođe, u DMT2 dolazi do preteranog nakupljanja intraćelijskih triglicerida u mišićima i u jetri i ovo stanje prethodi više godina pojavi DMT2.



Sl. 7. Mehanizmi insulinske rezistencije i dislipidemije (Preuzeto: Blaton i saradnici, 2008)

Sama gojaznost i sedanterni način života doprinose pogoršanju insulinske senzitivnosti. Gojaznost i fizička neaktivnost doprinose svaka sa po 25% varijacijama u insulinskoj senzitivnosti, dok su genetski faktori odgovorni za dodatnih 50% u insulinskoj senzitivnosti (77).

Pored efekta gojaznosti na perifernu insulinsku senzitivnost, druga važna komponenta patogeneze DMT2 u gojaznosti odnosi se na interakciju gojaznosti i funkcije beta-ćelija. Kod bolesnika koji su genetski predisponirani, DMT2 najčešće nastaje sa progresivnom gojaznošću, posebno sa pojavom visceralne gojaznosti. Većina bolesnika koji boluju od DMT2 su gojazne osobe sa predominantnom visceralnom gojaznošću, tako da se smatra da masno tkivo igra krucijalnu ulogu u patogenezi DMT2. Izostanak adekvatne insulinske aktivnosti je posledica nedovoljne sekrecije i/ili smanjenog tkivnog odgovora na insulin. Funkcija beta-ćelija tokom godina postepeno opada i konačno rezultuje u smanjenju funkcije beta-ćelija i povećanju glikemije.

Ako bi se pokušao na jednostavan način objasniti nastanak insulin- nezavisnog dijabetesa najvažniji događaji bi bili sledeći: i kod osoba sa normalnom glikoregulacijom (4,4 – 6,1 mmol/L) sposobnost insulina da dovede do iskorišćavanja glukoze nije ista, a menja se u zavisnosti od mnogih faktora koji su uglavnom vezani za način života. Zbog toga vrednost normalne glikemije varira uz povećanje u postprandijalnom stanju. Tu homeostazu glukoze omogućava uglavnom mehanizam brzog i izdašnog lučenja dovoljnih količina insulina. Ukoliko dođe do smanjenja

insulinom posredovanog iskorišćavanja glukoze (insulinska rezistencija) dolazi do kompenzatorne hiperinsulinemije, dok glikemija ipak ostaje normalna. Kako se pogoršava insulinska rezistencija (po intenzitetu i trajanju), počinje progresivno smanjenje lučenja insulina koje postaje važniji etiopatogenetski faktor od insulinske rezistencije. Kada već dođe do povećanja glikemije i smanjenja lučenja insulina prvo se povećava jutarnja glikemija IFG, gde je glikemija našte od 6,1 do 6,9 mmol/L, a 2h OGTT <7,8 mmol/L, zatim intolerancija na glukozu IGT (gde je glikemija našte od 6,1 do 6,9 mmol/L, a 2h OGTT >7,8 mmol/L) i na kraju nastaje biohemijski i klinički oblik DMT2 (gde je glikemija našte >7,0 mmol/L, a 2h OGTT >11,1 mmol/L).

1.5.1.2. Metabolizam glukoze

Glukoza postaje upotrebljiva za ćelije tek kada se prenese kroz ćelijsku membranu u citoplazmu. Postoji nekoliko načina transporta glukoze kroz ćelijsku membranu:

- Mehanizam aktivnog transporta Na-glukoza kotransporta, gde aktivni transport natrijuma obezbeđuje energiju za apsorpciju glukoze nasuprot razlike u koncentraciji (gastrointestinalna membrana, epitel bubrežnih tubula)
- Olakšana difuzija (samo od strane veće ka manjoj koncentracija)
 - *bez uticaja insulina* - jetra, mozak, aktivni mišići
 - *kontrolisana insulinom* – vezivanjem glukoze za membranski proteinski nosač (ostala tkiva, neaktivni mišići).

Metabolička sudbina glukoze u ćeliji zavisi od toga da li:

- *postoji potreba za energijom* – glukoza se razgrađuje u cilju dobijanja energije (energetski metabolizam)
- *ne postoji potreba za energijom* – glukoza se skladišti u obliku glikogena (*glukogeneza*) i zatim po potrebi pretvara ponovo u glukozu (*glukogenoliza*) .

Nastajanje glukoze iz aminokiselina i glicerolskog dela masti naziva se *glukoneogeneza*

- oko 60% amino kiselina se lako pretvara u glukozu (direktno – glukogene aminokiseline ili preko fosfo-glukonatnog puta)
- glicerol poreklom iz masti se transformiše u glukozu (povratne reakcije glikolitičkog puta).

Regulacija glukoneogeneze se vrši na sledeće načine:

1. Metabolička regulacija

- smanjena količina glukoze u ćeliji i krvi stimuliše glukoneogenezu.

2. Hormonska regulacija

- smanjena količina glukoze u krvi → povećanje adenokortikotropni hormon → povećanje kortizola → povećana mobilizacija proteina iz perifernih tkiva → povećana glukoneogeneza.

Hormoni koji učestvuju u regulaciji glikemije su:

1. Hormon koji smanjuje koncentraciju glukoze u krvi je
 - **insulin**
2. Hormoni koji povećavaju koncentraciju glukoze u krvi su:
 - *glukagon*: povećava razgradnju glikogena u jetri (*glukogenoliza*)
 - *somatostatin*: smanjuje efekte insulina i glukagona
 - *steroidni hormoni*: dovode do stvaranja glukoze iz masti i proteina (*glukoneogeneza*)
 - *adrenalin*: povećava razgradnju glikogena u jetri i dovodi do brzog oslobađanja glukoze
 - *hormon rasta* koji smanjuje efekte insulina, i *adrenokortikotropni hormon* koji povećava lučenje hormona nadbubrežne žlezde, *hormoni štitaste žlezde* koji na više načina povećavaju koncentraciju glukoze u krvi.

1.5.1.3. Insulin

Insulin je jedini hormon odgovoran za snižavanje koncentracije glukoze u krvi. Insulin je mali protein koga sekretuju beta-ćelije Langerhansovih ostrvaca pankreasa. Njegov put sinteze je od insulinskog preprohormona, preko proinsulina do insulina. Da bi ostvario uticaj u ciljnim ćelijama, insulin se prvo mora vezati za membranski receptorski protein sa molekulskom masom od 300 000 i aktivirati ga. Aktivisani receptor, a ne insulin, je taj koji izaziva posledične efekte.

Normalna koncentracija glukoze u krvi je između 4,4 i 6,1 mmol/L. Posle obroka koncentracija glukoze se naglo povećava, ali i koncentracija insulina se povećava. Dve trećine apsorbirane glukoze iz creva skoro se odmah deponuje u jetri u obliku glikogena. Ova količina se kasnije, kada količina glukoze i sekretovanog insulina opadaju, vraća nazad u krv.

Insulin služi da smanji koncentraciju glukoze prema normalni. U uslovima gladovanja ili prekomerne fizičke aktivnosti, kada je koncentracija glukoze ispod nivoa, glukagon izaziva glikogenolizu u jetri i vraća glukozu prema normalni.

Insulin remodeliše veliki deo ćelijske enzimske mašinerije da bi ostvario svoje metaboličko delovanje. Poremećen metabolizam ugljenih hidrata, masti i proteina koji je izazvan poremećajem sekrecije insulina ili smanjenom osetljivošću tkiva na insulin dovodi do pojave DMT2.

1.5.1.3.1. Delovanje insulina na nivou jetre

Insulin izaziva skoro trenutno deponovanje većeg dela glukoze apsorbavane posle obroka u jetru u obliku glikogena. To postiže tako što inaktivira fosforilazu u jetri (na taj način sprečava razlaganje glikogena iz jetre), zatim povećava aktivnost enzima glikokinaze, koja je zadužena za fosforilaciju glukoze, kao i glikogen- sintaze, koja je zadužena za sintezu glikogena. Sadržaj glikogena se može povećati do ukupno 5 – 6% mase jetre, što je oko 100 g deponovanog glikogena.

Kada je količina glukoze koja ulazi u ćelije jetre veća nego što može da se deponuje u obliku glikogena, insulin podstiče pretvaranje glukoze u masne kiseline, pritom se glukoza razlaže do piruvata koji se pretvara u acetil-koenzim A iz kog se sintetišu masne kiseline. Kada se veća količina glukoze koristi kao izvor energije u ciklusu limunske kiseline stvara se višak citratnih i izocitratnih jona. Oni aktiviraju acetil-KoA-karboksilazu koja je neophodna za karboksilaciju acetil-KoA i stvaranje malonil-KoA, neophodnu komponentu za sintezu masnih kiselina.

Novonastale masne kiseline postaju deo triglicerida koji se ugrađuju u sastav lipoproteina i oslobađaju iz ćelija jetre u krv.

1.5.1.3.2. Delovanje insulina na nivou masnog tkiva

Insulin podstiče transport glukoze kroz ćelijsku membranu u masne ćelije. Deo glukoze se koristi za stvaranje masnih kiselina, a deo za sintezu alfa-glicerofosfata iz kojeg se dobija glicerol koji se kombinuje sa masnim kiselinama gradeći trigliceride. U zidu kapilara adipoznog tkiva, insulin aktivira lipoproteinsku lipazu, koja razlaže trigliceride iz cirkulišućih lipoproteina u masne kiseline koje se apsorbuju u masno tkivo i deponuju se u obliku triglicerida.

Takođe insulin inhibira hormon-senzitivnu lipazu i na taj način sprečava hidrolizu deponovanih triglicerida u masnom tkivu.

1.5.1.3.3. Delovanje insulina na nivou mišićnog tkiva

Kada je koncentracija glukoze u krvi visoka, luče se velike količine insulina koje izazivaju brz transport glukoze u mišiće kojima glukoza služi kao izvor energije. Ako posle obroka mišići nisu aktivni, a glukoza se još uvek transportuje u mišićne ćelije, ona se neće iskoristiti za energiju već će se deponovati u obliku glikogena.

Glukoza kao izvor energije mišićima služi i kada nema insulina i to u toku teškog fizičkog napora kada mišićna vlakna zbog naprezanja postaju visokopermeabilna za glukozu, zbog samog procesa kontrakcije (78).

1.5.2. Gojaznost

Gojaznost se definiše kao prekomerno nakupljanje masnog tkiva (više od 33% masnog tkiva kod žena, odnosno više od 25% masnog tkiva kod muškaraca) koje narušava zdravlje (79, 80). Takođe, gojaznost se može definisati kao indeks telesne mase (ITM) veći od 30 kg/m² (80). ITM nije pokazatelj telesnog sastava, niti rasporeda masnog tkiva.

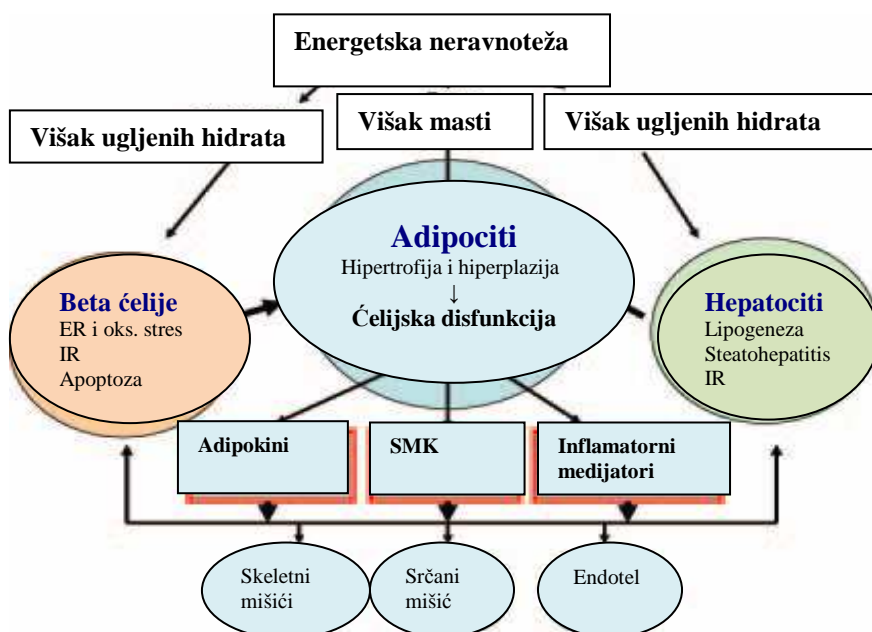
Etiologija gojaznosti je multifaktorijalna. U etiologiji gojaznosti nasledni faktori učestvuju sa 30-40% (77, 81). Gojaznost u najvećem broju slučajeva nastaje kada je energetska unos veći od potrošnje energije tokom dužeg perioda. U kratkotrajnoj kontroli unosa hrane važna je uloga gastrointestinalnih peptida, posebno holecistokinina koji mozgu prenosi informaciju o količini unete hrane i kalorija, pružajući osećaj sitosti i tako kontroliše veličinu obroka. Za dugotrajnu kontrolu unosa hrane i potrošnje energije veoma je važna uloga leptina, zatim insulina, dok glukokortikoidi mogu modulirati njihov efekat.

Među faktorima važnim za energetska neravnotežu spada i smanjeno vreme za san i spavanje (82), infektivni agensi kao što je adenovirus-36 (83) ishrana bogata trans mastima (84), perinatalni uticaji (85) i razlike u kvalitetu makronutrijenata (ugljeni hidrati sa niskim glikemijskim indeksom naspram onih sa višim glikemijskim indeksom) koji mogu da utiču na promenu metabolizma i apetita (86).

Energetska neravnoteža dovodi do skladištenja viška energije u adipocitima, koji potom pokazuju i hipertrofiju i hiperplaziju. Proces nastanka hipertrofije i hiperplazije adipocita su udruženi sa unutarćelijskim promenama u funkciji adipocita, koje su posebno izražene u endoplazmatskom retikulumu, a mitohondrijalni stres takođe ima značajnu ulogu. Sve ovo dovodi do unutarćelijskih i sistemskih posledica kao što su: insulinska rezistencija u adipocitima; proizvodnja adipokina, slobodnih masnih kiselina i medijatora inflamacije. Sve je to početak sistemske disfunkcije koja vodi ka kliničkoj manifestaciji gojaznosti.

1.5.2.1. Hiperplazija i hipertrofija adipocita

Hronična neravnoteža između unetih i potrošenih kalorija dovodi do skladištenja viška energije u vidu deponovanih triglicerida u adipocitima. Porast masnog tkiva manifestuje se i kao povećana količina intraćelijskih lipida i kao uvećanje samih adipocita (slika 8). Hipertrofija adipocita, koja je očigledna kod gojaznih pacijenata, prvobitno je smatrana kao jedini način kojim se masno tkivo uvećava kod odraslih (87). Međutim, hiperplazija adipocita je isto tako način kojim se uvećava masno tkivo kod gojaznih osoba.



Slika 8. Posledice energetske neravnoteže (Preuzeto i modifikovano prema: De Ferranti i Mozaffarian, 2008)

Višak postprandijalnih lipida i glukoze cirkulišu kroz krvotok, odakle ih preuzimaju pankreas, jetra i masno tkivo. U adipocitima se talože trigliceridi u vidu masnih

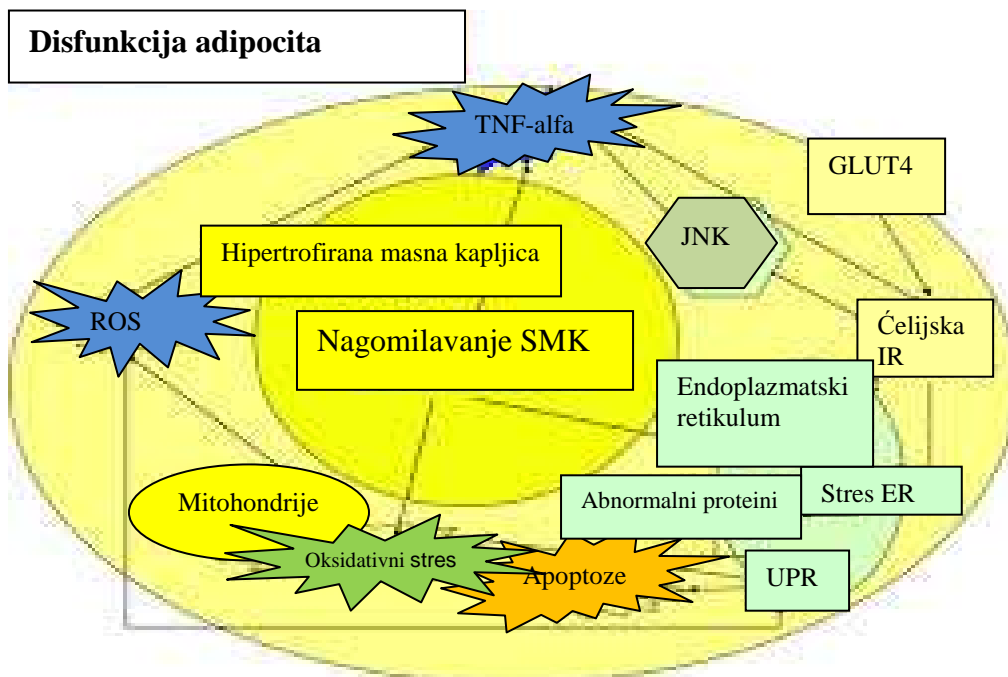
kapljica, što dovodi do hipertrofije adipocita. Kada je ovaj proces prekomeran, dolazi do poremećaja funkcije adipocita, koja se ogleda u sintezi adipokina, povećanom sadržaju slobodnih masnih kiselina u krvi, kao i opštem proinflatornom stanju organizma. Kao posledica ovih promena oštećeni su i skeletni mišići (nagomilavanje masti, periferna insulinska rezistencija), srčani mišić (taloženje lipida), a oštećena je i funkcija endotela krvnih sudova. Hronična izloženost beta-ćelije prekomernoj količini nutrijenata je okidač za insulinsku rezistenciju. Slično tome, dugotrajna izloženost hepatocita višku masti i ugljenih hidrata dovodi do stvaranja masne jetre i insulinske rezistencije.

Studije na životinjama ukazuju na to da se hiperplazija adipocita odvija u 2 koraka: prvo dolazi do povećanja u broju preadipocita, a zatim se oni diferenciraju u zrele (adipokin-sekretujuće) adipocite. Faktori koji regulišu hipertrofiju i hiperplaziju adipocita još uvek nisu u potpunosti jasni, ali su, po svemu sudeći, insulin iz cirkulacije i koncentracija glukokortikoida jaki stimulusi za diferencijaciju preadipocita (89). *In vitro* istraživanja ukazuju na to da i faktori koji lokalno sekretuju hipertrofirani adipociti, kao što su, tumor nekrozis faktor-alfa (TNF-alfa) i insulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1), dodatno stimulišu hiperplaziju na parakrini način (89). Veliki broj faktora transkripcije utiče na diferencijaciju preadipocita. Peroksizom proliferatorni-aktivirajući receptor gama (PPAR-gama) je jedan od važnih nuklearnih receptora (90) koji stimuliše hiperplaziju adipocita i može dovesti do redistribucije u veličini adipocita (91). Eksperimenti na životinjama ukazuju na to da hiperplazija adipocita može da se dogodi iza hipertrofije, sa daleko težim oblikom i posledicama na metabolizam (92). Bilo da se hipertrofija, hiperplazija, ili obe pojave dešavaju kao odgovor na energetska neravnotežu, lokalitet masnog tkiva može da varira. Na primer, žene sa većom potkožnom naslagom masnog tkiva imale su i hipertrofiju i hiperplaziju adipocita, dok je povećana omentalna masnoća (omnium: u trbušnoj duplji opna od masnog tkiva nalik na pregaču, koja se pruža od želuca i poprečnog debelog creva) prvenstveno posledica hipertrofije adipocita (90). Drolet i saradnici ukazuju na to da se potkožno nagomilavanje masti dešava na samom početku gojaznosti, pri čemu se visceralno nagomilavanje dešava jedino u slučaju da se prevaziđe kapacitet potkožnog tkiva za skladištenje masti. Podaci dobijeni na ljudima govore da su osobe sa povećanim omentalnim masnim tkivom imale veći broj makrofaga i povećanu ekspresiju monocitnog hemotaksičnog proteina-1 (MCP-1),

a ekspresija MCP-1 je korelirala sa obimom struka i verovatno insulinskom rezistencijom (93). Promene koje prate hipertrofiju adipocita predstavljaju prve korake ka disfunkciji ćelije adipocita.

1.5.2.2 Endoplazmatski retikulum i gojaznost

Prekomerno nagomilavanje lipida dovodi do funkcionalnih abnormalnosti endoplazmatskog retikuluma (ER) i mitohondrija, što predstavlja centralno mesto u patofiziološkim efektima gojaznosti. ER je zadužen za sintezu proteina, formiranje masnih kapljica, za regulaciju sinteze holesterola. Sva tri navedena puta osetljiva su na promene u dotoku nutrijenata. Odmah po završetku translacije proteina sa mRNK koji se dešava u ER, svaki novonastali lanac aminokiselina (nascentni protein) mora da uvrtnjem promeni konfiguraciju kako bi se formirao funkcionalni oblik proteina. Kao takav on odlazi u Goldžijev aparat gde učestvuje u metaboličkim i regulatornim procesima. U uslovima prekomerne količine nutrijenata, nepropisno smotani proteini se nagomilavaju u citozolu i mogu da ometaju normalne funkcije u ćeliji. Ćelija reaguje tako što menja regulatorne puteve sa ciljem da inhibira sintezu proteina i pojača eliminaciju nepravilno smotanih proteina, proces koji je nazvan UPR (odgovor nesmotanih proteina) (Slika 9).



Slika 9. Aspekti disfunkcije adipocita usled viška nutrijenata (Preuzeto i modifikovano prema: Balagopal i saradnici, 2011)

ER takođe aktivno reguliše skladištenje masti, uključujući i preuzimanje masnih kiselina, skladištenje masnih kiselina u vidu triglicerida, kao i grupisanje triglicerida u masne kapljice koje će služiti ili kao depo energije, ili za sintezu fosfolipida. ER takođe ima ulogu senzora za praćenje holesterola. Tako, na primer, ER oslobađa proteine koji se vezuju za sterol-regulatorni element vezujući proteini (SREBPs) u odgovoru na niske koncentracije insulina i sterola (95); SREBPs zauzvrat aktiviraju sintezu holesterola i lipida, ali zato imaju sniženu aktivnost u stanju insulinske rezistencije.

Stanje unutar ćelije kada je narušena funkcija ER, tako da su u njemu blokirani vitalni procesi kao što su modifikacija proteina, stvaranje masnih kapljica i osetljivost na holesterol, naziva se stres endoplazmatičnog retikuluma.

Stanje energetske neravnoteže, višak adipoznog tkiva i povećan nivo glukoze i masti u cirkulaciji i unutar ćelije, kod gojaznih osoba i obolelih od DMT2, predstavljaju okidače za stres ER. Stres ER zauzvrat reaguje pojačanom eliminacijom abnormalnih proteina, što u nastavku procesa dovodi do pojave rezistencije ćelije na insulin, što opet doprinosi daljem porastu koncentracije glukoze i lipida, a samim tim i dodatnog stresa ER. Jedan od važnijih ćelijskih medijatora ovog efekta čini se da su c-Jun N-terminalne kinaze (JNK). Kod divlje sorte miša, višak slobodnih masnih kiselina i inflamatornih citokina koji se oslobađaju u stanju stresiranog ER sposobne su da aktiviraju JNK u mišićima, jetri i adipoznim ćelijama (96). U adipocitu oslobođeni JNK smanjuje senzitivnost na insulin tako što smanjuje delovanje supstrata insulinskog receptora 1 (IRS-1) koji su važni za insulinsku signalizaciju. Aktiviranje JNK sa TNF-alfa dovodi do fosforilacije IRS-1, što smanjuje odgovor ćelije na cirkulišući insulin i proizvodi karakteristične manifestacije insulinske rezistencije (97). Uloga koju ima stresno stanje ER prevazilazi granice delovanja u samom adipocitu. U gojaznosti aktivirane su JNK u mišićima i jetri i u tim tkivima izazivaju insulinsku rezistenciju (95). Dokazi dobijeni u eksperimentima sa životinjama ukazuju na to da lipotoksičnost i glukotoksičnost redukuju masu beta-ćelija u pankreasu (98), u procesu koji je, barem delimično, posredovan nekompensovanim stresom ER u ćelijama pankreasa, što vodi ka apoptozi, čime se još više narušava glukozno-insulinska homeostaza. U ćelijama pankreasnih ostrvaca stres ER, zajedno sa aktivacijom JNK, smanjuju proizvodnju insulina i smanjuju osetljivost beta ćelija na insulin (99).

1.5.2.3 Mitohondrije i oksidativni stres u adipocitima

Osim efekta na endoplazmatski retikulum, gojaznost je praćena i oksidativnim stresom u mitohondrijama. Oksidativni stres se može definisati kao neravnoteža u količini reaktivnih jedinjenja kiseonika (ROS) u odnosu na redukujuće supstance koje služe kao zaštita od štetnih efekata slobodnih radikala i peroksida. Povećani nivo ROS, uključujući i malon-dialdehid (MDA), kao i konjugovani dien, vrlo su očigledni u adipoznom tkivu gojaznih osoba (100). ROS takođe utiču negativno na proizvodnju insulina u pankreasu, što može dovesti do apoptoze beta-ćelija (101), što onda još više pogoršava glukozno-insulinsku homeostazu. Čim je jednom poremećena homeostaza periferne glukoze usled insulinske rezistencije skeletnih mišića, hiperglikemija može dovesti do još veće proizvodnje ROS u beta-ćelijama pankreasa, kao i u endotelu krvnih sudova (102). Hronično stanje prekomernog stvaranja ROS može se odraziti na funkciju mitohondrija u jetri i skeletnim mišićima, što može dovesti do nagomilavanja masti u ovim tkivima, i tako se opet stvara začarani krug insulinske rezistencije (103, 104). Inflamatorni citokini takođe mogu da indukuju i pogoršaju oksidativni stres. Na primer, TNF-alfa stimuliše proizvodnju ROS u ćelijama jetre čoveka (105). Preusmeravanjem ovih procesa mogu se ublažiti neke od ovih abnormalnosti. Na primer, ometanjem oksidativne fosforilacije smanjuje se proizvodnja ROS kod životinja, što je povoljna okolnost za obnavljanje insulinske senzitivnosti (106).

1.5.2.4. Cirkulišuće masne kiseline, gojaznost i insulinska rezistencija

Gojaznost je praćena povećanim oslobađanjem ne-esterifikovanih masnih kiselina i triglicerida u cirkulaciju (107). Veći deo ne-esterifikovanih masnih kiselina, obično nazvane slobodne masne kiseline, cirkulišu krvotokom vezane za albumin. Povećana koncentracija cirkulišućih slobodnih masnih kiselina i triglicerida ima za rezultat nagomilavanje masti u velikom broju tkiva, uključujući jetru, skeletne mišiće, srce i pankreasne beta-ćelije. Eksperimenti na životinjama ukazuju na to da su ova neadipozna tkiva, kada su izložena višku slobodnih masnih kiselina i hipertrigliceridemiji, manje sposobna da skladište lipide nego adipociti, te su stoga neželjene posledice mnogo ozbiljnije. Nagomilavanje masti u ćeliji dovodi do steatohepatitisa, rezistenciji na insulin u skeletnim mišićima i do disfunkcije beta-ćelije. U kardiomiocitima glodara nagomilavanje lipida uzrokuje oštećenje ćelija i ventrikularnu disfunkciju (108). Kod

starije populacije, periferna rezistencija na insulin korelira sa unutarćelijskim nagomilavanjem masti i smanjenom funkcijom mitohondrija . Slobodne masne kiseline mogu, isto tako, da direktno dovedu do periferne rezistencije na insulin u skeletnom mišiću, a verovatno i u jetri; ipak nije jasno da li je ovaj efekat sekundaran, istovremen ili je pak uzrok udružene intraćelijske akumulacije masnih rezervi u skeletnim mišićima i jetri (109). U skeletnom mišiću, nagomilavanje slobodnih masnih kiselina u ćeliji redukuje supstrate za insulinski receptor, što dovodi do rezistencije na insulin (108). Osim povećanja periferne rezistencije na insulin i posledične sekrecije veće količine insulina iz pankreasa, višak slobodnih masnih kiselina u cirkulaciji može u krajnosti dovesti do oštećene funkcije, čak i do apoptoze, pankreasnih beta-ćelija kako u *in vivo* modelima na glodarima, tako i u *in vitro* modelima na humanim ćelijama pankreasnih ostrvaca (110), proces koji je nazvan pankreasna lipotoksičnost. Stoga, povećana koncentracija cirkulišućih slobodnih masnih kiselina može da ima dvostruko dejstvo: smanjenje odgovora perifernog tkiva na insulin, što dugoročno dovodi do iscrpljivanja pankreasa.

Razvoj insulinske rezistencije inicijalno započinje u mišićnom tkivu, što dovodi do smanjenog preuzimanja glukoze u mišićima. Smanjeno preuzimanje glukoze od strane mišića zbog rezistencije na delovanje insulina dovodi do postprandijalne hiperglikemije. Dalji razvoj promena dovodi do relativnog nedostatka insulina, pojave povećanog otpuštanja glukoze iz jetre i ispoljene hiperglikemije našte i tokom dana. Dosadašnja istraživanja su ukazala da se insulinska rezistencija najčešće pojavljuje kod osoba koje su genetski predisponirane za njen razvoj u uslovima tzv. toksičnog delovanja spoljašnje sredine. Pod toksičnim delovanjem spoljašnje sredine se podrazumeva udruženost nedostatka fizičke potrošnje (ili tzv. sedanterni način života) i kalorijski suficit. Prospektivne kliničke studije su ukazale da je smanjenje insulinske senzitivnosti prvi detektabilni poremećaj kod bolesnika predisponiranih da dobiju dijabetes, pri čemu se taj poremećaj dešava mnogo godina pre započinjanja kliničkog ispoljavanja DMT2. Promene u sekreciji insulina moguće je otkriti samo 3 do 5 godina pre započinjanja ispoljene hiperglikemije. Hiperglikemija se dešava kasnije, kada sekrecija insulina iz pankreasa počinje da bude nedovoljna da omogući adekvatno snabdevanje insulinom za metaboličke potrebe obolele osobe. Insulinska rezistencija postoji kad god normalna koncentracija insulina proizvodi manji od normalnog biološkog odgovora. Berson i

Yallow su 1970. godine dali svoju originalnu definiciju insulinske rezistencije. Prema njihovoj definiciji „insulinska rezistencija je stanje (ćelije, tkiva, sistema ili tela) u kome je potrebna veća količina insulina od normalne da bi se izazvao kvantitativno normalan odgovor“.

Insulin ima kratak poluživot u plazmi (2-3 min) i pruža centralnom nervnom sistemu informaciju o metaboličkoj aktivnosti, iz minuta u minut putem signala koji je direktno proporcionalan količini masnog tkiva.

1.6. Uticaj dijetnih vlakana u okviru dijetarnih intervencija u prevenciji i terapiji gojaznosti, insulinske rezistencije i dijabetesa melitusa tipa 2

U faktore rizika vezane za pojavu dijabetesa koji se mogu modifikovati spadaju:

- Prekomerna telesna masa (ITM: 25-30 ili obim struka: 80-88 cm za žene ili 94-102 cm za muškarce) i gojaznost (ITM>30 ili obim struka >88 cm za žene ili >102 cm za muškarce)
- Nedovoljna fizička aktivnost
- Nepravilna ishrana
- Hiperglikemija (IFG, glikemija našte: 6,1 -6,9 ili IGT: glikemija našte: 6,1 – 6,9 mmol/L, glukoza u plazmi 2 h posle opterećenja sa 75 g glukoze: 7,8 – 11,1 mmol/L)
- Hipertenzija i poremećaj lipida
- Depresija.

Faktori rizika vezani za pojavu dijabetesa koji se ne mogu modifikovati su:

- Godine starosti
- Porodična anamneza dijabetesa
- Mala, odnosno velika težina na rođenju
- Gestacijski dijabetes kod gojaznih žena
- Etnička pripadnost.

Na osnovu brojnih studija je dokazano da promena načina života može da zaustavi i/ili da odloži pojavu dijabetesa kod ljudi koji spadaju u visoko rizičnu grupu. DMT2 dovodi kako do makro tako i do mikrovaskularnih komplikacija koje su odgovorne za povećan morbiditet i mortalitet. Dok su makrovaskularne komplikacije kao što su

kardiovaskularna oboljenja najčešći uzrok povećanog mortaliteta, mikrovaskularne komplikacije kao što su retinopatija, nefropatija i neuropatija su odgovorne za povećan morbiditet.

Na osnovu „dokaza zasnovanih na preporukama“, preporuke za ishranu lica sa dijabetesom (113) su sledeći:

- dostići i održavati ITM 25 kg/m^2 ,
- unos ugljenih hidrata 55 – 65% od ukupnog energetskeg unosa (E),
- proteina 12 – 16% E,
- ukupnih masti <30% E, zasićenih/trans masnih kiselina <10% E, mononezasićenih masnih kiselina 12 -15% E, polinezasićenih masnih kiselina <10%, holesterola <200 mg/dnevno i
- vlakana 25 – 35 g/dnevno.

Ciljevi promena navika koja se pokazala efikasnom kod prevencije DMT2 su:

- Smanjenje telesne mase (>5% početne telesne mase ili ITM <25 kg/m^2)
- Umeren unos ukupnih masti (30-35% od energetskeg unosa (E))
- Redukovan unos zasićenih i trans masnih kiselina (<10 % E)
- Povećan unos vlakana (25-35 g/dnevno)
- Fizička aktivnost minimum 30 minuta 5 dana u nedelji.

Prvi cilj smanjenja telesne mase za 5% proizlazi iz činjenice da je 80% dijabetičara gojazno (112, 113).

1.6.1. Dijetna vlakna i prevencija dijabetesa

Nekoliko velikih studija su ubedljivo pokazale da je promenom životnih navika moguća prevencija DMT2. Finska studija o prevenciji dijabetesa (FDPS) je pokazala da modifikacija načina života može da smanji značajno pojavu DMT2 i to za 58% kod osoba sa velikim rizikom (114). Kasnije se to potvrdilo i preko velikog evropskog projekta za sprečavanje pojave DMT2 u Evropi, „DE-PLAN“ (115, 116). Polovina ispitanika sa hiperglikemijom iz studije FDPS (114) je uspela da dostigne normalnu glikemiju (4,4 – 6,1 mmol/L) samo sa promenom životnog stila, dok je jedna trećina ispitanika obolela od DMT2 u roku od 10 godina. Podaci govore da ispitanici sa visokim unosom vlakana (>25 g/dnevno) mogu da smanje progresiju predijabetesa u dijabetes za 62% u toku perioda od 4 godine (117).

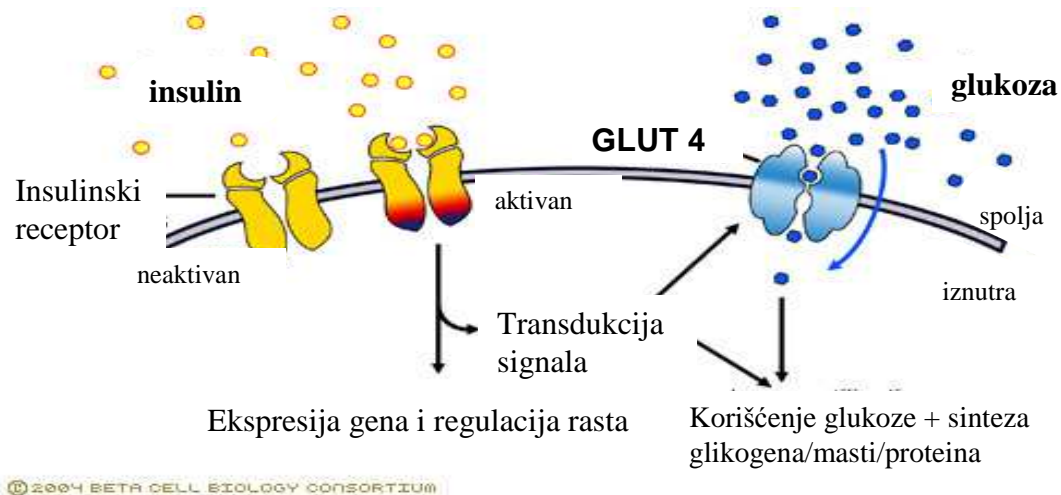
Dijetna vlakna poboljšavaju insulinsku senzitivnost, tako što indukuju sintezu glukagonu sličnom peptidu – 1 (GLP-1). GLP-1 ima višestruke efekte uključujući inhibiciju izlučivanja glukagona, poboljšanje insulin-zavisne ćelijske apsorpcije glukoze, odloženo pražnjenje želuca, umanjene unosa hrane putem povećanja sitosti (118). Prema Lattimera i Hauba (119) rastvorna vlakna su značajna u prevenciji DMT2. Ova vlakna sa ostalim sastojcima hrane povećavaju viskozitet crevnog sadržaja. Pomenuta promena može biti odgovorna za smanjenje telene mase, smanjeni glikemijski i insulinemijski odgovor, jer hranljive materije postaju zarobljene i pražnjenje želuca kasni. Poreklo vlakana i frakcije vlakana su jako bitne kod prevencije dijabetesa. Rodriguez-Moran i saradnici (120) i Anderson (121) u svojim studijama su pokazali da vlakna poreklom iz žitarica, ali ne iz voća i povrća, pokazuju inverzan odnos sa razvojem DMT2. Arabinoksilan i beta-glukan su se pokazali kao veoma efikasni u redukciji postprandijalnog glikemijskog odgovora (119), dok se za pektine vezuje i hipolipemična i hipoglikemična aktivnost (122, 123). Placebo kontrolisana studija je pokazala da dnevni unos od 10 g inulina značajno doprinosi smanjenju nivoa insulina našte (124), dok se unosom 20 g/dnevno fruktooligosaharida značajno smanjuje proizvodnja glukoze u jetri (125). Količina od 15-30 g dnevno rezistentnog skroba datom kao dodatak uz redovnu ishranu, značajno povećava insulinsku senzitivnost (33).

1.6.2. Fizička aktivnost i prevencija dijabetesa

Fizička aktivnost je neophodna u prevenciji dijabetesa. Studija koja je trajala šest godina pratila je uticaj preporučenog režima ishrane; fizičke aktivnosti; ishrane i fizičke aktivnosti (126). Posle šest godina prevalenca DMT2 u grupi u kojoj se pratio uticaj fizičke aktivnosti je bila 41%, u grupi sa preporučenim režimom ishrane 44%, u grupi gde su praćeni i fizička aktivnost i preporučeni režim ishrane 46%, dok je u kontrolnoj grupi učestalost bila 68%.

Fizička aktivnost povećava insulinsku senzitivnost na sledeći način (slika 9): glavni transporter za glukozu u mišićima i masnom tkivu je GLUT4. U ćelije pomenutih tkiva, glukozu ulazi olakšanom difuzijom pomoću GLUT4 transportera. Povećanje insulinske senzitivnosti praćeno je prenosom većeg broja GLUT4 transportera ka površini ćelije. U toku umerenog ili teškog fizičkog napora transporter za glukozu GLUT4 je aktivan bez insulinske aktivnosti. U toku kontrakcije mišićna vlakna troše ATP (adenozin-trifosfat) i

oslobađa se jedne fosfatna grupa i nastaje ADP (adenozin-difosfat), od koga u nastavku reakcije nastaje cAMP (ciklični adenzin-monofosfat) i oslobađa se još jedna fosfatna grupa. Povećani odnos ATP:cAMP aktivira cAMP-zavisnu protein-kinazu i podstiče sintezu i prenos GLUT4 transportera na membranu mišićne ćelije. cAMP-zavisna protein-kinaza dovodi do povećanog ulaska glukoze u ćeliju, aktivacije fosforilaze b (fosforilaza postoji u dve forme: „fosforilaza a“ je fosforilisana i aktivna kako u prisustvu tako i u odsustvu AMP, dok je „fosforilaza b“ defosforilisana i aktivna samo u prisustvu cAMP) i do glikolize, što sveukupno dovodi do efikasnijeg iskorišćavanja glukoze i oslobađanja energije.



Sl. 10. Transport glukoze u ćeliju (Preuzeto: Beta Cell Biology Consortium)

2. Cilj istraživanja

Cilj rada je proceniti efekte i razlike u delovanju ukupnih dijetnih vlakana i ukupnih dijetnih vlakana sa definisanom količinom rezistentnog skroba, iz različitih dijetarnih izvora na smanjenje faktora rizika za pojavu dijabetes melitusa tipa 2, kod gojaznih pacijenata sa poremećenim nivoom glukoze našte (IFG) i sa smanjenom tolerancijom na glukozu (IGT).

a) Prvi deo istraživanja ima za cilj određivanje sadržaja ukupnih dijetnih vlakana, kao i pojedinih frakcija dijetnih vlakana: rezistentnog skroba, arabinoksilana, celuloze, fruktana i beta-glukana u uobičajenim izvorima: sveže voće i povrće, komercijalni hlebovi, pahujice od žitarica i zrnasta hrana, kao i u termički obrađenim namirnicama.

b) Drugi deo istraživanja ima za cilj praćenje efekata ukupnih dijetnih vlakana i ukupnih dijetnih vlakana sa definisanom količinom rezistentnog skroba na glikemiju, insulinemiju, i lipemiju.

3. Dijetarni izvori vlakana, ispitanici i metode

3.1. Materijal korišćen u ispitivanju ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba

U velikom broju namirnica biljnog porekla određeni su sadržaj i profil vlakana.

Analizirani su:

4 komercijalne vrste hleba: beli pšenični, pšenično/kukuruzni, pšenično/ražani i integralni hleb od tri različita proizvođača.

Analiza je rađena istog dana kada su hlebovi kupljeni.

Za analizu su korišćene kriške hleba koje su samlevene u blenderu.

Kuvane leguminoze

- boranija (40 minuta)
- grašak (60 minuta)
- sočivo (60 minuta)
- pasulj (100 minuta).

Kuvane žitarice

- Žito (80 minuta)
- Pirinač (25 minuta)
- Integralni pirinač (60 minuta)
- Proso (25 minuta)
- Špageti (20 minuta)

Povrće

- Brokoli
- Spanać
- Zelena salata
- Peršun
- Kupus
- Kuvani krompir (25 minuta)

Analiza kuvanih namirnica je rađena na dan kuvanja. Leguminoze, žitarice i krompir su posle kuvanja procedene i samlevene u blenderu.

Sveže voće

- Maline
- Kupine
- Ribizle
- Jagode
- Višnje
- Jabuke
- Banane

Pahuljice od žitarica

- Ovsene pahuljice
- Ječmene pahuljice
- Ražane pahuljice
- Kukuruzne pahuljice

Svi ispitivani uzorci nabavljeni su iz tri velika marketa sa teritorije Beograda.

3.2. Izbor ispitanika

U ovom istraživanju je učestvovalo 50 gojaznih pacijenata sa poremećenom glikoregulacijom, životnog doba između 45-74 godina.

Isključujući kriterijumi za uključivanje pacijenata u studiju bila je terapija hipoglikemijskim lekovima, kao i dijagnostikovana oboljenja jetre, bubrega i druga ozbiljna hronična oboljenja.

Pre uključivanja u studiju veći broj potencijalnih učesnika je popunjavao upitnik za određivanje rizika za pojavu DMT2, FINDRISK (117, 128) i na osnovu tih rezultata jedan broj ispitanika je podvrgnut biohemijskim analizama.

Upitnik je obuhvatao sledeća pitanja:

1. Godine starosti:
 - 0 poena ispod 45 godina
 - 2 poena 45-54 godine
 - 3 poena 55-64 godine
 - 4 poena preko 64 godine
2. Antropometrijska merenja (visina, telesna masa, obim struka):

Indeks telesne mase

 - 0 poena manji od 25 kg/m²
 - 1 poen 25 - 30 kg/m²
 - 3 poena veći od 30 kg/m²

Obim struka ispod rebara (obično u nivou pupka)

	Muškarci	Žene
• 0 poena	manji od 94 cm	manji od 80 cm
• 3 poena	94-102 cm	80-88 cm
• 4 poena	veći od 102 cm	veći od 88 cm
3. 30 min fizičke aktivnosti na poslu ili u toku slobodnog vremena (uključujući normalnu dnevnu aktivnost):
 - 0 poena DA
 - 2 poena NE
4. Svakodnevno konzumiranje voća i povrća:
 - 0 poena svakog dana
 - 1 poen ne svakog dana
5. Porodičnu anamnezu dijabetesa:
 - 0 poena NE
 - 3 poena DA: baba, deda, tetka, ujak, stric (ali ne roditelji, rođeni brat, sestra)
 - 5 poena DA: roditelji, rođeni brat, sestra, vaše dete
6. Hipertenzija:
 - 0 poena NE
 - 2 poena DA

7. Podatak o eventualnoj povećanoj glikemiji u određenom periodu života:

- 0 poena NE
- 5 poena DA

UKUPNI RIZIK (na osnovu FINDRISK upitnika)

Rizik za pojavu tipa 2 dijabetesa u toku 10 godina je:

Manje od 7 poena	Mali: 1 od 100 će dobiti dijabetes
7 - 11 poena	Lako povećan: 1 od 25 će dobiti dijabetes
12 - 14 poena	Umereno povećan: 1 od 6 će dobiti dijabetes
15 - 20 poena	Visok: 1 od 3 će dobiti dijabetes
Preko 20 poena	Izuzetno visok: 1 od 2 će dobiti dijabetes

Pacijentima koji su ostvarili najmanje 11 poena u upitniku (128) rađen je OGTT. U odnosu na nivo glukoze u venskoj plazmi, a prema klasifikaciji SZO (74), ispitanici su klasifikovani na sledeći način: normalna glikoregulacija (NGT): FPG: (glikemija našte) <6,1 mmol/L i 2h OGTT <7,8 mmol/L; IFG: FPG: 6,1-6,9 mmol/L i 2h OGTT <7,8 mmol/L; IGT: NGT <7,0 mmol/L i 2h OGTT 7,8-11,1 mmol/L; T2DM: FPG \geq 7,0 mmol/L i 2 h OGTT \geq 11,1 mmol/L. Onima sa poremećenom glikoregulacijom: IFG ili IGT predloženo je učešće u studiji.

3.3 Dizajn studije

Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta za klinička ispitivanja Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Svi ispitanici su bili obavešteni o proceduri studije, kao i o mogućnosti povlačenja iz studije u svakom trenutku. Uzimanje krvi vršeno je u prostorijama Instituta za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije. Biohemijske analize uzoraka krvi obavljene su na Katedri za medicinsku biohemiju i Katedri za bromatologiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Svaki pacijent koji je ušao u studiju popunjavao je još jedan upitnik koji je sadržao 47 pitanja koja su se odnosila na: zdravstveno stanje, informacije o pušenju, informacije o fizičkim aktivnostima, sociodemografski podaci kao i podaci o ishrani (dnevna ili nedeljna potrošnja raznih prehrambenih artikala kao što su: meso, mleko, riba itd. ili grupe namirnica: voće, testenine itd). Na osnovu tih pitanja donet je zaključak o načinu ishrane svakog pojedinca i o propustima u ishrani istih. Ovaj upitnik se popunjavao 2 puta i to na početku istraživanja i posle 12 meseci. Količina ukupnog energetskeg i nutritivnog unosa određivana je na osnovu podataka iz trodnevne ishrane i to dva dana u radnoj nedelji i jedan dan za vikend. Iz tih podataka preračunavan je ukupni energetski i nutritivni unos hranljivih materija, uključujući i ukupna vlakna, na početku i na kraju studije, korišćenjem kompjuterskog programa Cron-O-Meter v 0.96. Procena unosa RS kod ispitanika vršena je na osnovu kombinacije rezultata trodnevnog dnevnika ishrane i rezultata analize sadržaja RS u namirnicama sa našeg tržišta, koji predstavljaju prvi deo ove teze. Takođe su korišćeni rezultati dobijeni u prethodnim ispitivanjima drugih autora (25, 136).

Ovo istraživanje koristilo je princip samolečenja, obzirom da ispitanici nisu bili bolesni, ali su spadali u kategoriju osoba sa umerenim rizikom za razvoj DMT2. Svi učesnici studije su dobijali uputstva o izmeni načina ishrane i o koristi pojedinih namirnica u ishrani i njihovom pozitivnom uticaju na zdravlje. Ispitanicima je tokom eksperimenta bila preporučena dijetarna intervencija smanjene energetske vrednosti od 1800 kcal/dnevno, koju je trebalo da sprovode u periodu od 12 meseci. Ispitanicima je takođe dat savet da se bave fizičkom aktivnošću svakodnevno u trajanju od 30 minuta kontinuirano (brzi hod, vožnja bicikla ili plivanje).

Ovaj protokol se bazirao na postojećem dugogodišnjem iskustvu u edukaciji pacijenata sa DMT2, kao i iskustvu u uspešnoj prevenciji DMT2 Instituta za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije.

Učesnici su bili podeljeni metodom slučajnog izbora u dve grupe:

DV grupa: (25 ispitanika) koristili su dijetu koja se već primenjivala na Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma kod pacijenata sa dijabetesom (autori prof. Predrag Đorđević i prof. Vesna Dimitrijević-Srečković) i

RS grupa: (25 ispitanika) koristili su dijetu koja se u odnosu na dijetu koju su primenjivali ispitanici iz DV grupe razlikovala u količini rezistentnog skroba, tj. imali su preporuku o unosu namirnica za koje je preračunato da mogu da obezbede 15 g rezistentnog skroba dnevno. Namirnice koje su preporučivane kao izvor rezistentnog skroba bile su: kuvane leguminoze, kuvani krompir hladno serviran, palenta, pasta, kuvane žitarice, zelene banane (tabela 3).

Pacijenti su dobijali jelovnike i uputstva za korišćenje istih. Bili su pozivani telefonom 2 puta mesečno da bi bili podstaknuti da poštuju studijski protokol i da izlože eventualne probleme sa kojima se susreću. Na tri meseca su dolazili na kontrolu kako bi se nadgledalo njihovo zdravstveno stanje.

Tabela 3. Preporuke o ishrani date ispitanicima u dijetarnoj intervenciji

<i>Namirnice za koje je dat savet ispitanicima da ih ne koriste u ishrani ili da smanje korišćenje</i>		<i>Namirnice za koje je dat savet ispitanicima da ih često koriste u ishrani</i>	
<i>RS</i>	<i>DV</i>	<i>RS</i>	<i>DV</i>
<i>Beli i kukuruzni hleb</i>	<i>Beli i kukuruzni hleb</i>	<i>Ražani hleb</i>	<i>Integralni hleb</i>
<i>Lisnata testa</i>	<i>Lisnata testa</i>	<i>Ražane pahuljice</i>	<i>Ovsene pahuljice</i>
<i>Čokolada</i>	<i>Čokolada</i>	<i>Kuvani krompir</i>	<i>Spanać pire</i>
<i>Med</i>	<i>Med</i>	<i>Kuvani pirinač</i>	<i>Brokoli salata</i>
<i>Kukuruzne pahuljice</i>	<i>Kukuruzne pahuljice</i>	<i>Kuvani grašak</i>	<i>Blitva salata</i>
<i>Punomasno mleko</i>	<i>Punomasno mleko</i>	<i>Kuvani pasulj</i>	<i>Karfiol pire</i>
<i>Punomasni sirevi</i>	<i>Punomasni sirevi</i>	<i>Kuvano sočivo</i>	<i>Boranija</i>
<i>Masna mesa</i>		<i>Pasta</i>	<i>Salata od kupusa</i>
<i>Prerađevine od svinjskog mesa</i>	<i>Prerađevine od svinjskog mesa</i>	<i>Palenta</i>	<i>Salata od cvekle</i>
<i>Margarin</i>	<i>Margarin</i>	<i>Kuvani kukuruz</i>	<i>Palenta</i>
<i>Majonez</i>	<i>Majonez</i>	<i>Kuvano žito</i>	<i>Dinstana šargarepa</i>
<i>Maslac</i>	<i>Maslac</i>	<i>Zelena banana</i>	<i>Maslinovo ulje</i>
<i>Suvo voće</i>	<i>Suvo voće</i>	<i>Paradajz</i>	<i>Sveže voće</i>
<i>Sve vrste sokova</i>	<i>Sve vrste sokova</i>	<i>Mladi sir</i>	
		<i>Maslinovo ulje</i>	
		<i>Bobičasto voće</i>	

3.4. Statistička obrada podataka

Normalnost distribucije podataka je proveravana upotrebom Kolmogorov-Smirnov testa. Kontinuirani podaci su prikazani kao srednja vrednost i standardna devijacija, ukoliko je raspodela ispitivanih podataka sledila normalni tok. Kod parametara čija distribucija nije sledila normalni tok, proveravana je distibucija logaritmovanih vrednosti i rezultati su prikazani kao geometrijska sredina i 95 % interval pouzdanosti. Kontinuirane varijable koje slede normalnu raspodelu, kao i kontinuirane varijable koje posle logaritmovanja slede normalnu raspodelu, poređene su Studentovim t-testom. Varijable koje ne prate normalnu raspodelu poređene su Wilkison neparametarskim testom. Analiza kovarijanse (ANCOVA) je primenjena za utvrđivanje statistički značajne razlike između grupa u cilju eliminacije uticaja promenljive kovarijanse na ispitivane zavisne parametre. Razlike između kategoričkih podataka su testirane upotrebom χ^2 testa. Za ispitivanje korelacije između različitih parametara koji su određivani u studiji korišćena je Spearmanova neparametarska korelaciona analiza. Minimalni uslov za postojanje statistički značajne razlike je p (nivo značajnosti) manji od 0,05. Statistička obrada podataka izvedena je korišćenjem računarskih programa SPSS ver. 11,5 (SPSS, Chicago, IL, USA), i Medcalc (MedCalc ver. 11,4 Software, Belgium).

3.5. Određivanje veličine uzorka

Osnovni cilj ove studije bio je smanjenje nivoa glikemije našte. Pod pretpostavkom da će se primenjenim intervencijama smanjiti nivo glikemije našte za 0,64 mmol/L (oko 10%) i za veličinu SD od 0,8 (130), sa $\alpha = 0,05$ i $1 - \beta = 0,8$, donet je zaključak da je potrebno po dvadeset pet ispitanika u svakoj grupi. Za proračun veličine uzorka korišćen je komercijalno dostupan program „GPower 3,1.“

3.6. Metode

- a) *Hemijske metode analize hrane*
- b) *Analiza unosa nutrijenata i energije kod ispitanika*
- c) *Biohemijske metode analize krvi*

a) *Hemijske metode analize hrane*

U ispitivanim uzorcima namirnica određivani su sledeći parametri:

- *Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana*
- *Sadržaj pojedinih frakcija vlakana*
 - *Rezistentan skrob*
 - *Arabinoksilan*
 - *Celuloza*
 - *Beta-glukan*
 - *Fruktan*
- *Ukupni ugljeni hidrati*
 - *Brzo digestibilni šećeri (glukoza, fruktoza, saharoza)*
 - *Skrob*
- *Proteini*
- *Masti*

3.6.1. *Određivanje ukupnih dijetnih vlakana*

Za određivanje ukupnih dijetnih vlakana korišćena je enzimsko-gravimetrijska metoda AOAC 985.29 (131). Korišćen je komercijalni kit, proizvođača kitova Megazyme, Bray, Ireland (K-TDFR 01/12).

Princip metode:

Usitnjeni uzorak tretira se termostabilnim enzimima α -amilazom, amiloglukozidazom i proteazom, pri definisanom pH i temperature. Termostabilna α -amilaza prevodi skrob u tačno stanje i optimizuje uslove za katalitičku hidrolizu u sledećoj fazi pomoću enzima

amiloglukozidaze. Završni tretman je delovanje proteolitičkog enzima koji hidrolizuje proteine u rastvorljive aminokiseline i kratkolančane peptide. Nakon enzimskog tretmana vrši se korekcija eventualno zaostalih mineralnih i azotnih materija. Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana određuje se gravimetrijski.

Reagensi:

Reagens 1: Thermostabilna α -amilaza (20 mL, ~ 3,000 U/mL (Ceralpha method); ~ 10,000 U/mL za rastvorljivi skrob).

Reagens 2: Proteaza (20 mL, 50 mg/mL; ~ 350 tirozin U/mL).

Reagens 3: x 2 Amiloglukozidaza (20 mL, 3300 U/mL za rastvorljivi skrob).

Priprema reagenasa:

1. Fosfatni pufer, 0,08 M, pH 6,0. Rastvoriti 1,400 g anhidrovanog dinatrijum-hidrogenfosfata (Na_2HPO_4) (ili 1,753 g dihidrata) i 9,68 g natrijum-dihidrogenfosfata monohidratnog (NaH_2PO_4) (ili 10,94 g dihidratnog) u 700 mL destilovane vode. Dopuniti do 1 L destilovanom vodom. Podesiti pH, pH metrom.
2. Natrijum-hidroksid, 0,275 M. Rastvoriti 11,00 g NaOH u 700 mL destilovane vode, posle hlađenja dopuniti normalni sud do 1 L destilovanom vodom.
3. Hlorovodonična kiselina, 0,325 M. Razrediti 1M HCl standardni rastvor (325 mL od 1M HCl) u normalni sud od 1 L sa destilovanom vodom.

Procedura:

Odmeriti $1 \pm 0,020$ g usitnjenog uzorka (0,3 – 0,5 mm) u duplikatu u čaše od 400 mL. Uzorak se suspenduje dodatkom 50 mL fosfatnog pufera. Proveriti pH pomoću pH metra i podesiti sa 0,275 M NaOH ili 0,375 M HCl na $6,0 \pm 0,2$. Dodati 100 μL α -amilaze, čaše pokriti aluminijumskom folijom i inkubirati 30 minuta na 100°C , tako što se ključanje postigne za oko 15 minuta. Nakon inkubacije čaše skinuti sa vodenog kupatila, a zidove čaša isprati sa 10 mL destilovane vode. Posle hlađenja do sobne temperature podesiti pH na $7,0 \pm 0,1$ pomoću 0,275 M NaOH. Dodati 100 μL proteaze, čaše pokriti aluminijumskom folijom i inkubirati 30 minuta na 45°C . Posle inkubacije i hlađenja do sobne temperature podesiti pH na $4,5 \pm 0,2$ pomoću 0,375 M HCl, dodati 200

μL amiloglukozidaze i inkubirati 30 minuta na 60°C . Posle inkubacije dodati 280 mL 95% etil-alkohola zagrejanog na 60°C i ostaviti 60 minuta.

Sadržaj iz čaša profiltrirati kroz odmereni i temperirani guč (G-2). Rezidue ispirati sa 3 x 20 mL 78% etil-alkoholom i 2 x 10 mL 95% etil-alkoholom. Guč sa sadržajem ostaviti preko noći na 105°C . Posle merenja (M) sadržaj iz jednog guča iskoristiti za određivanje rezidua proteina (M_1), a iz drugog za određivanje rezidue pepela (M_2). Rezidue proteina odrediti metodom po Kjeldahl-u, a pepeo, žarenjem na 525°C .

Proračun:

Sadržaj ukupnih vlakana = $M - M_1 - M_2$

Gde su:

M = masa guča sa suvim ostatkom posle sušenja preko noći na 105°C

M_1 = sadržaj rezidua proteina

M_2 = sadržaj rezidua pepela

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa referentnim materijalom: T2454 (FAPAS). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,6% i 98,0%, odgovarajuće.

3.6.2. Određivanje rezistentnog skroba

Za određivanje rezistentnog skroba korišćena je enzimska metoda AOAC 2002.02; AACC 32-40 (132). Korišćen je komercijalni kit RSTAR (Megazyme, Bray, Ireland).

Princip metode:

Ova metoda daje najpribližnije i, koliko je to moguće, najverovatnije reflektirane *in vivo* uslove i čiji dobijeni rezultati su fiziološki značajni. Ona proučava efekat koncentracije pankreasne α -amilaze, pH inkubacije, važnost maltozne inhibicije na α -amilazu, efekat mešanja i trešenja na krajnju vrednost, kao i probleme sa obnavljanjem i analiziranjem rezistentnog skroba.

Reagensi:

Reagens 1: Pankreasna α -amilaza (Pankreatin, 10 g 3 Ceralpha U/mg)

Reagens 2: Amiloglukozidaza (12 mL, 3300 U/mL)

Reagens 3: GOPOD enzimski reagens. Glukozo-oksidadza (> 12.000 U), peroksidaza (>650 U) i 4-aminoantipirina (0.4 mM). Stabilan > 3 god na -20°C .

Reagens 4: GOPOD puferski rastvor (koncentrisan), 50 mL. Stabilan > 3 god na 4°C .

Reagens 5: Standardni rastvor D-Glukoze (1 mg/mL) u 0,2 % (w/v) benzoeve kiseline. Stabilan > 5 godina na sobnoj temperaturi.

Reagens 6: Rezistentan skrob - kontrolni uzorak. Stabilan > 5 godina na sobnoj temperaturi.

Priprema reagenasa:

1. Natrijum-maleinski pufer (0,1 M, pH=6,0)

23,2 g maleinske kiseline rastvoriti u 1600 mL dejonizovane vode i podesiti pH na 6,0 pomoću 4 M NaOH. Dodati 0,6 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ i 0,4 g NaN_3 i dopuniti do 2 L dejonizovanom vodom. Stabilan je 12 meseci na 4°C .

2. Natrijum-acetatni pufer (1,2M, pH=3,8).

Razblažiti 69,6 mL glacijalne sirćetne kiseline sa 800 mL dejonizovane vode i podesiti pH na 3,8 koristeći 4 M NaOH. Dopuniti do 1 L dejonizovanom vodom. Stabilan je 12 meseci na sobnoj temperaturi.

3. Natrijum-acetatni pufer (100 mM, pH=4,5)

Razblažiti 5,8 mL glacijalne sirćetne kiseline sa 900 mL dejonizovane vode i podesiti pH na 4,5 koristeći 4M NaOH. Dopuniti do 1 L dejonizovanom vodom. Stabilan je 2 meseca na 4°C .

4. Kalijum-hidrooksid (2M)

Rastvoriti 112,2 g KOH sa 900 mL dejonizovane vode. Dopuniti do 1 L dejonizovanom vodom.

5. 50% w/w etanol

6. Amiloglukozidazni rastvor AMG-12 mL, 3300 U/mL u 50% glicerolu

Rastvor je viskoznan. AMG rastvor bi trebao biti bez detektabilnih nivoa slobodne glukoze.

(U je količina enzima potrebna za oslobađanje 1 mikromolekule glukoze iz rastvorljivog skroba u minuti na 40°C i pH=4,5). Stabilan je više od 5 meseci na 4°C.

7. Razblaženi amiloglukozidazni rastvor, 300 U/mL

Razblažiti 2 mL koncentrovanog rastvora AMG (rastvor 6) u 22 mL 0,1 M natrijum-maleinskog pufera, pH=6,0. Podeliti u pet flašica i čuvati na -20°C. Stabilan je više od 5 godina na -20°C.

8. Pankreasna α -amilaza (10 mg/mL) i AMG (3 U/mL)

1 g pankreasne α -amilaze rastvoriti u 100 mL natrijum-maleinskog pufera i mešati pet minuta. Dodati 1,0 mL AMG (300 U/mL) i ponovo mešati. Centrifugirati deset minuta na 1,500 g i pažljivo dekantovati supernatant. Koristi se na dan pripreme.

9. GOPOD glukozna oksidoperoksidaza-aminoantipirinski reagens

Razblažiti 50 mL GOPOD u 1 L pufera. Reagens je stabilan 2-3 meseca na 4°C ili više od dve godine na -20°C.

Priprema dodatnog puferskog koncentrata

Rastvoriti 136 g kalijum-dihidrogenortofosfata, 42 g natrijum-hidroksida i 30 g hidroksibenzojeve kiseline u 900 mL dejonizovane vode. Podesiti pH na 7,4 pomoću 2M HCl ili 2M NaOH. Dopuniti rastvor do 1 L i dodati 0,2 g natrijum-azida. Stabilan je 3 godine na 4°C.

Proveravanje boje, formacije i stabilnosti GOPOD:

U duplikatu pripremiti: 3,0 mL GOPOD, 0,1 mL glukoznog standarda, 0,1 mL 0,1M natrijum-acetatnog pufera (100 mM, pH=4.5).

Maksimalna boja trebalo bi da se postigne u roku od 20 minuta i da bude stabilna više od 60 minuta.

Procedura:

Samleti oko 50 g uzorka, tako da veličina čestica uzorka može da prođe sito od 1,0 mm.

Preneti materijal u plastičnu teglu. Preparati industrijskog skroba su obično nabavljeni kao fini prah pa nije potrebno drobljenje. Seckati sveže uzorke (banane, krompir...) ručno ili električnim mikserom za meso tako da prođe sito od 4,5 mm.

Odrediti sadržaj vode suvog odnosno svežeg uzorka AOAC metodom 925,10.

Hidroliza i rastvaranje nerezistentnog skroba

Tačno odmeriti 100 ± 5 mg uzorka direktno u kivetu sa poklopcem (16 x 125 mm). Za uzorke kao što su seckani konzervisani pasulj ili hranljivi produkti odmerna količina uzorka treba da iznosu oko 0,5 g.

Dodati 4,0 mL pankreasnu α -amilazu (10 mg/mL) koja sadrži AMG (3 U/mL) u kivetu. Pokriti kivete, promešati ih na vorteksu a zatim ih postaviti horizontalno u tresuće vodeno kupatilo, zaronjeni u pravcu kretanja.

Vršiti inkubaciju na 37°C koristeći tresuće vodeno kupatilo (200 udara/min za 16h).

Posle inkubacije odstraniti poklopce, obrisati kivetu spolja i dodati 4,0 mL 99% etanola uz energičnim mešanjem na vorteksu.

Centrifugirati 10 minuta na 1,500 g.

Pažljivo dekantovati supernatante i ponovo suspendovati kuglice sa 2 mL 50% etanolom i snažnim mešanjem na vorteksu. Dodati još 6,0 mL 50% etanola, mešati na vorteksu i ponovo centrifugirati (10 minuta na 1,500 g).

Dekantovati supernatante i ponoviti ovaj korak suspenzije i centrifugiranja još jednom. Pažljivo dekantovati supernatante.

Merenje rezistentnog skroba

Dodati 2 mL 2M KOH u svaku kivetu i resuspendovati kuglice (rastvoriti rezistentni skrob) mešanjem 20 minuta u ledenom vodenom kupatilu pomoću magnetne mešalice. Ne mešati na vorteksu da ne bi došlo do stvaranja emulzije.

Zatim dodati 8 mL 1,2 M natrijum-acetatnog pufera $\text{pH}=3,8$ u svaku kivetu mešanjem na magnetnoj mešalici. Odmah dodati 0,1 mL AMG 3300 U/mL i staviti kivetu u vodeno kupatilo na 50°C .

Inkubirati 30 minuta uz povremeno mešanje na vorteksu.

Za uzorke koji sadrže $>10\%$ rezistentnog skroba kvantitativno preneti sadržaj u normalni sud od 100 mL. Dopuniti do crte dejonizovanom vodom i promešati.

Deo rastvora centrifugirati 10 minuta na 1,500 g.

Za uzorke koji sadrže $<10\%$ rezistentnog skroba direktno centrifugirati 10 minuta na 1,500 g. Za ovakve uzorke krajnji volumen u cevi je 10,3 mL. Ova zapremina variraće ako su uzorci vlažni. Odgovarajuće variranje trebalo bi se uzeti u obzir u krajnjoj kalkulaciji.

Preneti 0,1 mL uzorka, razblaženog ili ne, u zavisnosti od sadržaja rezistentnog skroba (u duplikatu raditi) u plastičnu kivetu. Dodati 3 mL GOPOD i inkubirati 20 minuta na 50°C. Meriti na 510 nm naspram slepe probe.

Slepa proba: Pomešati 0,1 mL 0,1 M natrijum-acetatnog pufera pH=4,5 sa 3,0 mL GOPOD.

Glukoзни standard: Pomešati 0,1 mL glukoze sa 3,0 mL GOPOD.

Merenje nerezistentnog skroba

Supernatante dobijene centrifugiranjem sa 99% etanolom i dva puta sa 50% etanolom sakupiti u normalni sud od 100 mL i dopuniti do crte sa 100 mM natrijum-acetatnog pufera pH=4,5. Dobro promešati.

Preneti 0,1 mL rastvora (raditi u duplikatu), 10 µL razblaženog amiloglukozidnog rastvora 300 U/mL (rastvor 7) i 0,1 mL 0,1 M natrijum-maleinskog pufera. Inkubirati 20 minuta na 50°C. Dodati 3 mL GOPOD i inkubirati 20 minuta na 50 °C.

Meriti na 510 nm naspram slepe probe.

Proračun:

Rezistentan skrob (g/100 g uzorka) kada uzorak sadrži >10% rezistentnog skroba
= $\Delta E \times F/W \times 90$

Rezistentan skrob (g/100 g uzorka) kada uzorak sadrži <10% rezistentnog skroba
= $\Delta E \times F/W \times 9,27$

Nerezistentan skrob (g/100 g uzorka)
= $\Delta E \times F/W \times 90$

Gde su:

ΔE = očitana vrednost apsorbance uzorka naspram slepe probe.

W = suva materija uzorka

F = faktor konverzije apsorbance (očitana vrednost apsorbance glukoze naspram slepe probe).

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa internim referentnim materijalom: Resistant Starch Control (Megazyme, Lot: 50904). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,4% i 97,2%, odgovarajuće.

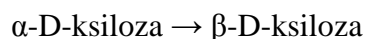
3.6.3. Određivanje arabinoksilana

Za određivanje D-ksiloze, uključujući ksilan i arabinoksilan, korišćena je enzimska metoda prema uputstvu koje daje proizvođač komercijalnih kitova Megazyme, Bray, Ireland (K- xylose 03/07)

Princip metode:

Određivanje se zasniva na interkonverziji α -D-ksiloze u β -D-ksilozu, koja se zatim oksidiše uz pomoć NAD do odgovarajuće kiseline. Naime:

Ksiloza mutarotaza katalizuje interkonverziju α i β anomernih oblika D-ksiloze:



β -D-ksiloza se oksidiše do D-ksilonske kiseline u prisustvu NAD^+ i dehidrogenaze β -ksiloze na pH 7,5.



Količina nastalog redukovanog oblika NADH u reakciji je proporcionalna (direktno srazmerna) koncentraciji D-ksiloze. Određivanje NADH se vrši spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 340 nm.

Reagensi:

Reagens 1. TEA pufer (45 ml 1M, pH 7,5) sa MgCl_2 (70 mM) uz NaN_3 (0,02 % w/v) kao konzervans. Stabilan > 2 godine na 4°C .

Reagens 2. NAD^+ (105 mg) i ATP (1,05 g). Stabilan > 5 godina na -20°C.

Reagens 3. Suspenzija heksokinaze (2,2 ml, 1000 U/mL). Stabilna > 2 godine na 4°C .

Reagens 4. Suspenzija β -ksiloze dehidrogenaze (120 U/mL) i ksiloze mutarotaze (4,1 mg/ml); 2,2 mL. Stabilna > 2 godine na 4°C.

Reagens 5. Standardni rastvor D- ksiloze (5 ml, 0,25 mg/mL). Stabilan > 2 godine na 4°C.

Priprema reagenasa:

Sadržaj iz bočice 1 koristi se nerazblažen. Stabilan > 2 godine na 4°C .

Sadržaj iz bočice 2 rastvoriti u 21 ml destilovane vode, podeli u pet jednakih delova i čuvati u odgovarajućim bočicama od polipropilena na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabilan > 2 godine na 20°C .

Sadržaj iz bočice 3 i 4 koristiti nerazblažen. Pre upotrebe promućkati! Stabilan > 2 godine na 4°C .

Sadržaj iz bočice 5 koristi se nerazblažen. Stabilan > 2 godine na 4°C

Procedura:

Propisno usitnjen uzorak (0,5 mm) preneti u epruvetu i dodati 5 mL 1,3 M HCl. Zatim zagrevati na vodenom kupatilu na temperaturi od $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 1h. Nakon toga ohladiti do sobne temperature i dodati 1,3 M NaOH. Kvantitativno preneti u normalni sud od 100 mL i dopuniti destilovanom vodom do crte. Nakon razblaživanja preneti u kivetu i centrifugirati (1,500 g) u trajanju od 10 min. Nastaviti prema šemi za pipetiranje:

Šema pipetiranja:

Pipetirati u kivetu	Slepa proba (mL)	Uzorak (mL)
Destilovana voda ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$)	2,10	2,00
Uzorak	/	0,10
Rastvor 1 (TEA/MgCl ₂)	0,40	0,40
Rastvor 2 (NAD ⁺ / ATP)	0,40	0,40
Suspencija 3 (heksokinaza)	0,02	0,02
Izmešati, nakon 5 min pročitati absorbancu (A_1) i dodati:		
Suspencija 4 (β -XDH/XMR)	0,02	0,02
Izmesati, i nakon ~ 6 min pročitati absorbancu (A_2)		

Ako je vrednost $\Delta A_{D\text{-xylose}}$ suviše niska (npr. $< 0,1$) neophodno je uzeti veću količinu uzorka ili slabije razblaženje.

Sadržaj D-ksiloze prisutan u kivetama (npr. u 0,1 mL uzorka koji se analizira) treba da bude u rasponu od 2-100 μg . Stoga rastvor uzorka mora da bude razblažen do koncentracije D- ksiloze 0,002-1,00 g/L.

Linearnost se postiže u rasponu koncentracija od 2-100 μg D-ksiloze po uzorku.

Tabela razblaženja:

Procenjena količina D-ksiloze (g/L)	Faktor razblaženja (F)	Razblaživanje vodom
< 1,00	/	1
1,00-10,0	1+9	10
10,0-100	1+99	100
>100	1+999	1000

Ako je uzorak tokom pripreme razblažen neophodno je rezultat pomnožiti faktorom razblaženja, F.

Proračun:

Odredi se razlika absorbanci $A_2 - A_1$ (ΔA), za uzorak i za slepu probu, i izračunata vrednost se uvrsti u jednačinu za izračunavanje koncentracije D-ksiloze:

$$C = ((V \times M \times W) / (\epsilon \times d \times v)) \times \Delta A_{D\text{-ksiloze}}$$

V = konačna zapremina (mL)

v = zapremina uzorka (mL)

MW = molekulska težina ispitivane supstance (g/mol)

d = put svetlosti (cm)

ϵ = ekstinkcioni koeficijent NADH pri:

$$340 \text{ nm} = 6,3 \text{ (l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 \text{ (l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ (l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

Sadržaj D-ksiloze = $(c_{D\text{-ksiloze}}(\text{g/L rastvora uzorka}) / \text{masa uzorka (g/L rastvora uzorka)}) \cdot 100$ [g/100 g]

Sadržaj arabinoksilana = Sadržaj D-ksiloze (g/100 g) x 100/62

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa internim referentnim materijalom: D-xylose Control (Megazyme, LOT 90401a). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,0% i 99,2%, odgovarajuće.

3.6.4. Određivanje beta-glukana

Beta-glukan je određivan enzimskom metodom AACC 32-23; AOAC 995,16) (133).

Korišćen je komercijalni kit K- BGLU (Megazyme, Bray, Ireland).

Princip metode:

Suspendovani i hidratizirani uzorci pomoću fosfatnog pufera (20 mM, pH 6,5), inkubiraju se u prisustvu lihenaze, a zatim filtriraju. Deo filtrata se kompletno hidrolizuje u prisustvu β -glukozidaze.

Reagensi:

Reagens 1. lihenaza (specifična, endo-(1-3)(1-4)- β -D-glukan 4-glukanohidrolaza) suspenzija (1 mL, 1.000 U/mL). Stabilan > 3 godine na 4°C .

Reagens 2. β -D-Glukozidaza (1 mL, 40 U/mL) suspenzija. Stabilan > 3 god na -20°C.

Reagens 3. GOPOD puferski rastvor. Kalijum-fosfatni pufer (1 M, pH 7,4), p-hidroksibenzova kiselina (0,22 M) i natrijum-azid. Stabilan > 3 god na 4°C .

Reagens 4. GOPOD enzimski reagens. Glukoza oksidaza (> 12,000 U), peroksidaza (>650 U) i 4-aminoantipirina (80 mg). Stabilan > 5 god na -20°C.

Reagens 5. Standardni rastvor D-Glukoze (5 mL, 1,0 mg/mL) u 0,2 % (w/v) benzojeve kiseline. Stabilan > 5 godina na sobnoj temperaturi.

Reagens 6. Kontrolni uzorak ječmenovog brašna. Stabilan > 5 godina na sobnoj temperaturi.

Reagens 7. Kontrolni uzorak ovsenovog brašna. Stabilan > 5 god na sobnoj temperaturi.

Priprema reagenasa:

Natrijum-fosfatni pufer (20 mM, pH 6,5):

rastvoriti 3,12 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u 900 mL destilovane vode. Pomoću 0,1 M NaOH podesiti pH 6,5 (oko 50 mL 0,1 M NaOH). Destilovanom vodom dopuniti normalni sud od 1 L. Rastvor stabilizovati pomoću 0,2 g Na_3N . Pufer je stabilan 2 meseca na 4°C.

Natrijum-acetatni pufer (50 mM, pH 4,0):

razblažiti 2,9 mL glacijalnu CH_3COOH sa 900 ml destilovane vode. Pomoću 1 M NaOH podesiti pH 4,0. Destilovanom vodom dopuniti normalni sud od 1 L. Rastvor stabilizovati pomoću 0,2 g Na_3N . Pufer je stabilan 2 meseca na 4°C.

Natrijum-acetatni pufer (200 mM, pH 4,0):

razblažiti 11,6 CH₃COOH u 900 mL destilovane vode. Pomoću 1 M NaOH podesiti pH na 4,0. Destilovanom vodom dopuniti normalni sud od 1 L.

Rastvor stabilizovati pomoću 0,2 g Na₃N. Pufer je stabilan 2 meseca na 4°C.

Sadržaj iz bočice 1 (lihenaza) razblažiti sa 20 ml natrijum-fosfatnog pufera (20 mM, pH 6,5). Sadržaj podeliti u nekoliko bočica i čuvati na -20°C. Stabilan je > od 2 godine na -20°C.

Sadržaj iz bočice 2 (beta glukozidaza) razblažiti sa 20 mL natrijum-acetatnog pufera (50 mM, pH 6,5). Sadržaj podeliti u nekoliko bočica i čuvati na -20°C. Stabilan je > od 2 godine na -20°C.

Sadržaj iz bočice 3 (GOPOD puferski rastvor): razblažiti sa 1 L destilovane vode.

Sadržaj iz bočice 4 rastvoriti sa 20 mL pripremljenog GOPOD enzimskog reagensa i kvantitativno preneti u pripremljeni GOPOD puferski rastvor. Flašu zaštititi aluminijumskom folijom. Ovo je GOPOD reagens.

Stabilan je 3 meseca na 2-5°C ili 12 meseci na -20°C.

Procedura:

1. Odmeriti 80 – 120 mg sirovog uzorka direktno u staklenu kivetu (16x120 mm, kapacitet 17 mL).
2. Nakvasiti uzorak sa 0,2 mL 50% C₂H₅OH. Dodati 4,0 mL natrijum-fosfatnog pufera 2 mM, pH 6,5; mešati na vorteksu.
3. Inkubirati na ključalom vodenom kupatilu 60 sekundi. Ponovo mešati na vorteksu. Inkubaciju i mešanje ponoviti još jednom.
4. Na 50°C inkubirati pet minuta.
5. Dodati 0,2 mL lihenazu, (10 U) i mešati. Zatvoriti cev parafilmom i inkubirati 1h na 50°C. U tom periodu promešati 3 – 4 puta na vorteksu.
6. Dodati 5,0 mL (kod termički tretiranih uzoraka dodaje se 2,0 mL) natrijum-acetatnog pufera 200 mM, pH 4,0; mešati na vorteksu.
7. Ostaviti 5 minuta na sobnoj temperaturi. Centrifugirati 10 min, na 1,000g. Pažljivo preneti po 0,1 mL supernatanta u tri epruvete (kapacitet 12 mL).
8. U dve epruvete dodati 0,1 mL 0,2 U β-glukozidazu. U treću epruvetu (slepa proba) dodati 0,1 mL natrijum-acetatnog pufera 50 mM, pH 4,0. Inkubirati na 50°C deset minuta.
9. Dodati po 3 mL GOPOD u svaku cev i inkubirati na 50°C, dvadeset minuta.

10. Čitati apsorbancu na 510 nm.

Kod termički tretiranih uzoraka odmeriti 1 g uzorka i dodati 5,0 mL 50% C₂H₅OH.

Inkubirati na ključalom vodenom kupatilu 5 minuta. Mešati na vorteksu i dodati još 5,0 mL 50% C₂H₅OH. Centrifugirati 10 minuta na 1,000g. Odbaciti supernatant.

Resuspendovati kuglicu sa 10,0 mL 50% C₂H₅OH. Centrifugirati i odbaciti supernatant.

Suspendovati kuglicu sa 5,0 ml natrijum-fosfatnog pufera 20 mM, pH 6,5.

Kod termički tretiranih uzoraka, odmerna količina uzoraka treba da iznosi 0,2 g i kod 6. koraka umesto 5,0 mL 200 mM natrijum-acetatnog pufera, pH 4,0 dodati 2,0 mL.

Zbog toga je u preračunu kod termički tretiranih uzoraka faktor korekcije 64, a kod sirovih uzoraka 94.

4.4.4. Proračun:

Beta-glukan (% w/w) = $\Delta A \times F \times 94$ (ili 64) $\times 1/1000 \times 100/W \times 162/180$

= $\Delta A \times F/W \times 8,46$ (ili 5,76)

ΔA = Absorbanca posle tretmana β -glukozidazom predstavlja razliku između apsorbance uzorka i slepe probe.

F = Factor konverzije u μg glukoze

= $100 (\mu\text{g D-glukoze})/\text{absorbanca od } 100 \mu\text{g D-glukoze}$

94 = Faktor korekcije zapremine (0,1 mL u zapremini od 9,4 mL kod sirovih uzoraka).

64 = Faktor korekcije zapremine (0,1 mL u zapremini od 6,4 mL kod termički tretiranih uzoraka).

1/1000 = Konverzija od μg u mg.

W = Suva materija uzorka u mg.

162/180 = Faktor konverzije D-glukoze, određivane kao, anhidrid-D-glukoze u beta-glukanu.

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa internim referentnim materijalom: Beta-glucan Control (Megazyme, LOT 60301). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,1% i 98,4%, odgovarajuće.

3.6.5. Određivanje fruktana

Fruktan je određivan enzimskom metodom AOAC 999,03, AACC 32,32 (134).

Korišćen je komercijalni kit K- FRUCHK (Megazyme, Bray, Ireland).

Princip metode:

Saharozna i maltosaharidi sa niskim stepenom polimerizacije hidrolizuju se do fruktoze i glukoze u prisustvu enzima saharozo/maltaze. Nakon podešavanja pH analiza se odvija u dva pravca i to: do glukoze i fruktoze (A) ili nakon tretiranja sa fruktanazom do glukoze i fruktoze (B). Koncentracija glukoze i fruktoze određuje se pomoću heksokinazo/fosfo-glukozo-izomerazo/glukozo-6-fosfato-ehidrogenazo sistemom. Sadržaj fruktana se dobija kao razlika između B i A.

Reagensi:

Bočica 1: Imidazolni pufer (25 mL, 2 M, pH 7,6), magnezijum-hlorid (100 mM) i natrijum-azid (0.02 % w/v) kao konzervans. Stabilan je > 2 godine na 4°C.

Bočica 2: NADP⁺ (150 mg) i ATP (440 mg). Stabilan je > 5 godine na -20°C.

Bočica 3: Saharozna (100 U)/maltaza (1,000 U), liofilizovani prah i BSA. Stabilan je > 5 godine na -20°C.

Bočica 4: Fruktanaza (visoko pročišćena ekso-inulinaza (5,000 U) i endo-inulinanaza (100 U), liofilizovani prah. Stabilan je > 5 godine na -20°C.

Bočica 5: Hexokinaza (425 U/mL), glukozo-6-fosfato-dehidrogenaza (212 U/mL) i PGI (840 U/mL) suspenzija, 2,25 mL. Stabilna je > 2 godine na 4°C.

Bočica 6: D-Fruktoza standardni rastvor (0,5 mg/mL) u 0,2 % (w/v) benzojeve kiseline. Stabilan je > 2 godine na sobnoj temperaturi.

Bočica 7: Fruktan kontrolni uzorak. Stabilan je > 5 godine na sobnoj temperaturi.

Priprema reagenasa:

1. Sadržaj iz bočice 1 koristiti nerazređen. Stabilan je > 2 godine na 4°C.

2. Sadržaj iz bočice 2 rastvoriti u 12 mL destilovane vode. Sadržaj podeliti u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20°C.

3. Sadržaj iz bočice 3 rastvoriti u 11 mL pufera (100 mM natrijum-maleata, pH 6,5). Sadržaj podeliti u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20°C.

4. *Sadržaj iz bočice 4* rastvoriti u 11 mL pufera (100 mM natrijum-acetata, pH 4,5). Sadržaj podeliti u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20°C.
5. *Sadržaj iz bočice 5* koristiti nerazređen. Stabilan je > 2 godine na 4°C.
6. *Sadržaj iz bočice 6* koristiti nerazređen. Stabilan je > 2 godine na sobnoj temperaturi.
7. *Kontrolni uzorak*. Stabilan je > 4 godine na sobnoj temperaturi.
8. Natrijum-maleinski pufer (100 mM, pH 6,5). Rastvoriti 11,6 g maleinsku kiselinu (Sigma kataloški broj: M-0375) u 900 ml destilovane vode. Podesiti pH 6,5 sa 2M NaOH. Dopuniti normalnim sud od 1 L destilovanom vodom. Pufer čuvati na 4°C.
9. Natrijum-acetatni pufer (100 mM, pH 4,5). 5,8 mL glacijalnu sirčetnu kiselinu dodati u 900 mL destilovane vode. Podesiti pH 4,5 sa 1 M NaOH. Dopuniti do crte normalni sud od 1L destilovanom vodom. Pufer čuvati na 4°C.

Procedura:

U 1 g sitno sprasjenog (< 0,5 mm) uzorka dodati 40 mL tople destilovane vode (~ 80°C). Koristiti normalni sud od 50 mL. Inkubirati u šejkeru 15 minuta na ~ 80°C. Ostaviti da se ohladi na sobnu temperaturu. Dopuniti destilovanom vodom. Profiltrirati. Pipetirati 0,2 mL rastvora u plastičnu kivetu (16 x 100 mm) i dodati 0,2 mL rastvora 3 (Saharozo/maltaza). Inkubirati 30 minuta na 40°C. Dodati 0,5 mL natrijum-acetatnog pufera (100 mM, pH 4,5). Mešati na vorteksu. Nastaviti proceduru u plastičnim kivetama prema šemi pipetiranja.

Proračun:

$$\begin{aligned} \text{Fruktan (\% w/w)} &= \Delta A_{\text{fruktan}} \times F \times 5 \times 0,9/0,2 \times V \times 100/W \times 1/1000 \times 162/180 \\ &= \Delta A_{\text{fruktan}} \times F/W \times V \times 2,025 \end{aligned}$$

Gde su:

$$\Delta A_{\text{fruktan}} = [\Delta (A2 - A1)_{\text{uzorak}}] - [(\Delta(A2 - A1))_{\text{slepa proba}}]$$

F = faktor konverzije = (50 µg fruktoze)/(apsorbanca od µg fruktoze)

5 = Dobija se kada se 1 podeli sa 0,2 mL uzorka

0,9/0,2 = 0,2 mL uzeto za enzimsku digestiju iz 0,9 mL.

V = zapremina normalnog suda u kome se vrši ekstrakcija uzorka.

W = masa uzorka koji se ekstrahira

$100/W$ = faktor koji prevodi fruktan u procentima mase

$1/1000$ = faktor koji prevodi μg u mg .

$162/180$ = faktor konverzije slobodne glukoze i fruktoze u anhidrovanu glukozu

odnosno fruktozu, koji se javlja u fruktanu.

Šema pipetiranja

Pipetirati u kivetu	<i>Slepa proba (mL)</i>	<i>Uzorak (mL)</i>
Destilovana voda	2,00	2,00
Uzorak (0,2 mL) + acetatni pufer (0,1 mL)	0,30	-
Uzorak (0,2 mL) + rastvor 4 (fruktanaze) (0,1 mL)	-	0,30
Rastvor 1 (imidazolni pufer)	0,20	0,20
Rastvor 2 (NADP ⁺ /ATP)	0,10	0,10
Promešati (plastičnim štapićima) i čitati apsorbancu A1 za tri minuta. Zatim dodati:		
Suspenzija 5 (HK/PGI/G-6-PDH)	0,02	0,02
Promešati (plastičnim štapićima) i čitati apsorbancu A2 posle 10 – 15 minuta. Ako se reakcija ne završi posle 15 minuta, čitati apsorbancu svakih 5 minuta.		

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa internim referentnim materijalom:

Fructan Control (Megazyme, LOT 90705). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,5% i 98,7%, odgovarajuće.

3.6.6. Određivanje sirove celuloze

Sadržaj sirove celuloze određivan je AOAC 950,37/2000 metodom opisanom od strane Horwitza (2000).

Princip metode:

Metoda se zasniva na kuvanjem sa kiselinom i bazom, pri čemu se kuvanjem sa kiselinom vrši hidroliza skroba i proteina, a sa bazom hidroliza onih proteina koji se nisu hidrolizovali sa kiselinom i vrši se saponifikacija masti. Ostatak (sirova celuloza), se filtrira, suši i meri.

Reagensi:

- 0,255 M H₂SO₄
- 0,313 M NaOH
- 1% HCl

Procedura:

1 g (masa W₁) spraćenog uzorka staviti u ćašu od 600 mL i dodati 200 mL 0,255 M H₂SO₄. Uz povratni hladnjak zagrevati uz ključanje 30 minuta. Filtrirati kroz filter papir i ispirati toplom destilovanom vodom. Proveriti kiselost filtrata lakmus papirom. Ispirati do neutralne reakcije. Ostatak uzorka, tj. talog vratiti u ćašu i zagrevati uz ključanje 30 minuta sa toplim 0,313 M NaOH.

Profiltrirati ostatak i ispirati toplom destilovanom vodom četiri puta i jednom sa 15 mL 1% HCl. Talog prebaciti u izžareni porcelanski lončić i sušiti do konstantne mase na 105°C. Brzo izmeriti posle hlađenja u eksikatoru, jer je sirova celuloza jako higroskopna (masa W₂). Porcelanski lončić se sa ostatkom žari 4h na 550°C. Posle hlađenja u eksikatoru ponovo se izmeriti ostatak. To je masa W₃.

Proraćun:

Sirova celuloza (%) = $(W_2 - W_3/W_1) \times 100$

Gde je:

W₁: masa uzorka

W₂: masa ostatka posle sušenja na 105°C

W₃: masa ostatka posle žarenja na 550°C

Interna kontrola kvaliteta bila je sprovedena sa referentnim materijalom: T 1061

(FAPAS). Repetabilnost (RSD) i Recovery metode bili su 2,4% i 98,2%, odgovarajuće.

3.6.7. Određivanje sadržaja saharoze, D-glukoze i D-fruktoze

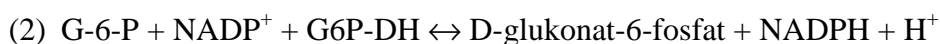
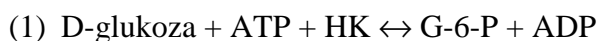
Za određivanje sadržaja saharoze, D-glukoze i D-fruktoze, korišćena je enzimska metoda prema uputstvu koje daje proizvođač komercijalnih kitova R-biopharm AG, Germany (kataloški broj: 10716260035).

Princip metode:

Koncentracija D-glukoze se određuje pre i posle enzimske hidrolize saharoze. D-fruktoza se određuje odmah nakon D-glukoze.

Određivanje D-glukoze pre inverzije

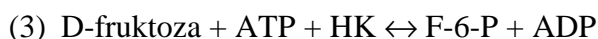
Na pH 7,6 enzim heksokinaza (HK) katalizuje fosforilaciju D-glukoze pomoću ATP pri čemu nastaje ADP:



Nastali NADPH stehiometrijski odgovara količini D-glukoze. Meri se aporbanca na 340 nm.

Određivanje D-fruktoze

Heksokinaza katalizuje fosforilaciju D-fruktoze do D-fruktozo-6-fosfata (F-6-P) pomoću ATP



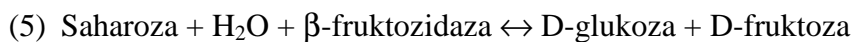
Po završetku reakcije F-6-P se konvertuje pomoću fosfoglukoza-izomeraze (PGI) do G-6-P



G-6-P opet reaguje sa NADP dajući D-glukonat-6-fosfat i NADPH. Količina nastalog NADPH stehiometrijski odgovara količini D-fruktoze.

Enzimska inverzija

Pri pH 4,6 saharoza hidrolizuje pomoću enzima β -fruktozidaza (invertaza) do D-glukoze i D-fruktoze



Sadržaj saharoze se računa iz razlike D-glukoze pre i posle enzimске inverzije.

Reagensi:

1. Oko 0,5 g liofilizata, citratni pufer (pH 4,6) i β -fruktozidaza (720U)
2. Oko 7,2 g praškaste mešavine koja sadrži trietanolaminski pufer (pH 7,6), NADP (oko 110 mg), ATP (oko 260 mg), i $Mg(SO_4)_2$
3. oko 1,1 mL enzimске suspenzije koja sadrži enzim heksokinazu (oko 320U) i G6P-DH (oko 160U)
4. kontrolni materijal za saharozu
5. kontrolni materijal za D-glukozu

Priprema reagenasa:

1. rastvoriti sadržaj 1 sa 10,0 mL redestilovane vode
2. rastvoriti sadržaj 2 sa 45 mL redestilovane vode
3. sadržaj 3 koristiti narazblažen
4. sadržaj 4 koristiti nerazblažen

Procedura:

Koristiti čiste, bezbojne i praktično neutralne tečne uzorke direktno ili nakon razblaženja po tabeli za razblaženje i zapremine do 2,000 mL (D-glukoza i D-fruktoza) i 1,800 mL saharoze.

Filtrirati mutne rastvore. Deaerisati uzorke koji sadrže CO_2 .

Tačno odmeriti oko 1 g uzorka u normalni sud od 100 mL, dodati oko 60 mL vode i inkubirati oko 15 minuta na $70^\circ C$, promućkati s vremena na vreme. Za bistrenje dodati 5 mL Carrez I reagensa, 5 mL Carrez II reagensa i 10 mL 0,1M NaOH, pomešati posle svakog dodatka, podesiti na sobnu temperaturu i dopuniti do oznake. Promešati i filtrirati. Koristiti bistar rastvor. Nastaviti prema šemi pipetiranja:

Šema pipetiranja:

Pipetirati u kivetu	Slepa proba uzorka saharoze	Uzorak saharoze	Slepa proba D-glukoze/D-fruktoze uzorka	Uzorak D-glukoze/D-fruktoze
Rastvor 1	0,200 mL	0,200 mL	-	-
Rastvor uzorka	-	0,100 mL	-	0,100mL
Promešati, inkubirati 15 minuta na 20-25°C ili 5 minuta na 37°C (pre pipetiranja, zagrejati na 37°C). Dodatkom:				
Rastvor 2	1,000 mL	1,000 mL	1,000 mL	1,000 mL
Redestilovana voda	1,800 mL	1,700 mL	2,000 mL	1,900 mL
Promešati, čitati apsorbancu posle oko 3 minuta A1, započeti reakciju dodatkom:				
Suspenzija 3	0,020 mL	0,020 mL	0,020 mL	0,020 mL
Promešati, sačekati kraj reakcije (oko 10 do 15 minuta) i čitati apsorbancu rastvora A2. ako se reakcija ne završi za 15 minuta, nastaviti sa čitanjem na svaka 2 minuta dok nema promene apsorbance. Dodatkom:				
Suspenzija 4	-	-	0,020 mL	0,020 mL
Promešati, čitati aprobanu nakon 10 do 15 minuta A3				

Ako A2 stalno raste, ekstrapolirati apsorbance na vreme dodatkom suspenzije 3.

Odrediti razliku apsorbanci (A2-A1) za slepu probu reagensa i uzorka.

$$\Delta A = (A2-A1)_{uzorka} - (A2-A1)_{slepa\ proba}$$

$$\Delta A_{saharoze} = \Delta A_{ukupne\ D-glukoze\ (iz\ uzorka\ saharoze)} - \Delta A_{D-glukoze\ (iz\ uzorka\ D-glukoze)}$$

Za određivanje D-fruktoze:

Odrediti A3-A2 za slepu probu i uzorak:

$$\Delta A_{D-fruktozu} = (A3-A2)_{uzorka} - (A3-A2)_{slepa\ proba}$$

Merena razlika apsorbanci mora biti najmanje 0,100 da bi se postigla dovoljna preciznost.

Proračun

Prema opštoj jednačini za izračunavanje koncentracije:

$$c = (V \cdot MW) / (\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000) \cdot \Delta A \text{ [g/L]}$$

Iz čega sledi da je za saharozu:

$$c = 10,34/\epsilon \cdot \Delta A_{\text{saharoze}} \text{ [g saharoze/L rastvora uzorka]}$$

za D-glukozu:

$$c = 5,441/\epsilon \cdot \Delta A_{\text{glukoze}} \text{ [g D-glukoze/L rastvora uzorka]}$$

za D-fruktozu:

$$c = 5,477/\epsilon \cdot \Delta A_{\text{fruktoze}} \text{ [g D-fruktoze/L rastvora uzorka]}$$

Ako je rastvor uzorka bio razblažen, rezultat se mora pomnožiti faktorom razblaženja F.

Kada se analiziraju čvrsti i polučvrsti uzorci koji se odmeravaju, rezultat mora da se izrazi preko odmerene mase:

Sadržaj saharoze = $(c_{\text{saharoze}} \text{ [g/L rastvora uzorka]}/\text{masa uzorka [g/L rastvora uzorka]}) \cdot 100 \text{ [g/100 g]}$

Sadržaj D-glukoze = $(c_{\text{D-glukoze}} \text{ [g/L rastvora uzorka]}/\text{masa uzorka [g/L rastvora uzorka]}) \cdot 100 \text{ [g/100 g]}$

Sadržaj D-fruktoze = $(c_{\text{D-fruktoze}} \text{ [g/L rastvora uzorka]}/\text{masa uzorka [g/L rastvora uzorka]}) \cdot 100 \text{ [g/100 g]}$

Sadržaj ukupnih proteina i masti određivani su klasičnim metodama i to

- za određivanje ukupnih proteina korišćena je metoda po Kjeldalu, a
- za određivanje ukupnih masti metoda po Soksletu.

Merenje antropometrijskih parametara (visina, telesna masa, obim struka), vršeno je standardnim metodama u prostorijama Instituta za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije.

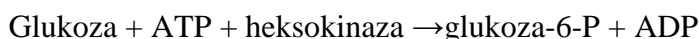
b). Biohemijske metode analize krvi

3.6.8. Određivanje glukoze

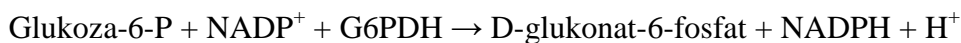
Referentna metoda sa heksakinazom

Princip metode:

Glukoza se fosforiliše pomoću ATP u prisustvu heksokinaze i Mg^{2+} , pri čemu nastaje, glukoza-6-fosfat i ADP.



U prisustvu G6PDH, G-6-P se specifično oksiduje pomoću NADP do D-glukonat-6-fosfata uz nastajanje NADPH



Nastali NADPH stehiometrijski odgovara količini D-glukoze, koji se meri na 340 nm.

Šema pipetiranja:

<i>Pipetirati u epruvete</i>	<i>A (uzorak)</i>	<i>A (slepa proba)</i>
Uzorak	10 μ L	-
Destilovana voda	-	10 μ L
Radni reagens	1,5 mL	1,5 mL
Promešati reakcionu smešu i inkubirati 3 minuta na 37°C ili 6 minuta na 30°C a zatim izmeriti apsorbancu na 340 nm. Boja je stabilna 30 minuta.		

Proračun:

$$\text{Glukoza} = (A_{\text{uzorak}} - A_{\text{slepa proba}}) \times 24,28 \text{ (mmol/L)}$$

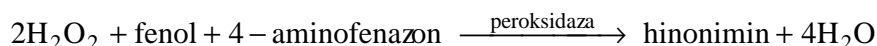
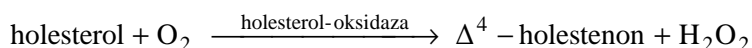
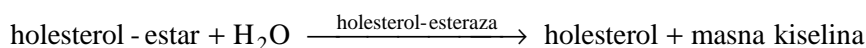
Intra-assay koeficijent varijacije (CV) bio je 0,54%, a inter-assay CV 0,97%.

3.6.9. Određivanje koncentracije ukupnog holesterola

CHOD-PAP (holesterol-oksidaza-poroksidaza) metoda

Princip metode:

Ova metoda je zasnovana na hidrolizi holesterol-estara (na C-3) do holesterola i masnih kiselina, pod dejstvom holesterol-esteraze (CHE). Slobodan holesterol i holesterol oslobođen iz estara se oksiduju kiseonikom, pod uticajem holesterol-oksidaze (CHOD) do holestenona, uz izdvajanje vodonik-peroksida. U drugoj reakciji dolazi do kondenzacije fenola sa reagensom za kuplovanje 4-aminofenazonom (PAP) i nastalim vodonik-peroksidom, u prisustvu peroksidaze (POD). Nastaje hromogen hinonimin sa maksimumom apsorbancije na 500 nm.



Reagensi

- Pipes pufer pH 6,8: 50 mmol/L
- Fenol: 10 mmol/L
- POD: > 1 kU/L
- 4-AA: 0,75 mmol/L
- CHE: > 400 U/L
- CHOD: > 400 U/L
- Standard holesterola 5,17 mmol/L

Šema pipetiranja:

Pipetirati u epruvete	A(uzorak)	A(standard)	A(slepa proba)
Uzorak	10 µL	-	-
Standard	-	10 µL	
Destilovana voda	-	-	10 µL
Radni reagens	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Promešati reakcionu smešu i inkubirati 5 minuta na 37 °C ili 10 minuta na sobnoj temperaturi a zatim izmeriti apsorbancije uzorka i standarda prema slepoj probi na 500 nm. Boja je stabilna 30 minuta.			

Proračun:

Ukupan holesterol = $(A_{\text{uzorak}}/A_{\text{standard}}) \times 5,17$

Intra-assay CV iznosio je 0,72%, a inter-assay CV 1,45%.

3.6.10. Određivanje koncentracije HDL-holesterola

Princip metode:

Hilomikroni, lipoproteini veoma niske gustine (VLDL) i LDL čestice iz uzorka krvi se istalože dodavanjem 12-volframfosforne kiseline i magnezijumovih jona i nakon centrifugiranja u supernatantu ostaju samo HDL čestice. Sadržaj holesterola u HDL česticama zatim se određuje enzimskom metodom.

Reagensi:

Reagens za taloženje: volframfosforna kiselina, $c = 16,7$ mmol/L,

Magnezijum-hlorid, $c = 3,0$ mmol/L

Izmešati pet delova fosfovolframove kiseline i jedan deo rastvora magnezijum-hlorida.

Radni reagens: isti sastav kao kod određivanja ukupnog kolesterola.

Standard: holesterol, $c = 5,17$ mmol/L

Procedura:

U epruvetu za centrifugiranje otpipetirati 500 μL seruma i dodati 50 μL reagensa za taloženje. Dobro promešati, ostaviti 10 minuta i centrifugirati 15 minuta na 5,000 obrtaja/min. Bistri supernatant koristiti kao uzorak i pipetirati prema šemi:

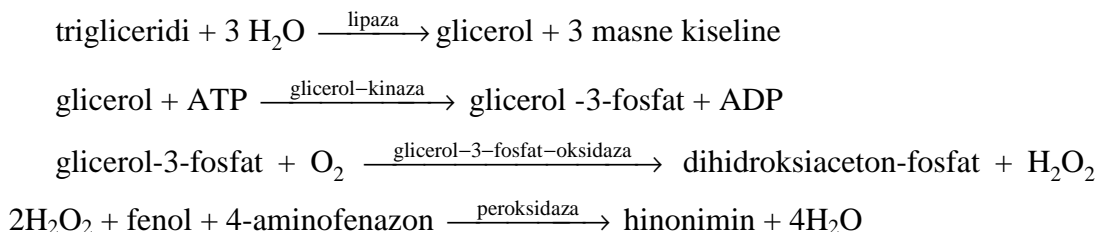
Šema pipetiranja:

Pipetirati u epruvete	A(Slepa proba)	A(standard)	A(uzorak)
Destilovana voda (μL)	50	-	-
Standard (μL)	-	50	-
Uzorak (μL)	-	-	50
Reagens (μL)	1,0	1,0	1,0
Promešati reakcionu smešu i inkubirati 10 minuta na 37 °C i izmeriti apsorbancije uzorka i standarda prema slepoj probi na 510 nm.			

Intra-assay CV iznosio je 0,69%, a inter-assay CV 1,62%.

3.6.11. Određivanje koncentracije triglicerida (GPO-PAP metoda)Princip metode:

Metoda je zasnovana na hidrolizi triglicerida do glicerola i masnih kiselina pod dejstvom lipoproteinske lipaze (LPL). Fosforilacijom glicerola pod dejstvom glicerol-kinaze (GK), a zatim oksidacijom glicerol-3-fosfata, pod dejstvom glicerol-3-fosfat-oksidge (GPO) nastaje H_2O_2 . Količina nastalog H_2O_2 se određuje u prisustvu 4-aminoantipirina i fenola pod dejstvom peroksidaze (POD), pri čemu nastaje obojeni hinonimin. Intenzitet boje hinonimina je direktno proporcionalan koncentraciji triglicerida.

Reagensi

Reagens 1:

- Tris pufer, pH 7,8±0,1, c= 100 mmol/L
- ATP, c = 0,55 mmol/L
- EDTA, c = 10 mmol/L
- Mg²⁺, c = 17 mmol/L
- peroksidaza 2,5 kat/L
- Standard: glicerol, c = 2,5 mmol/L

Reagens 2:

- DHBS, c = 1,60 mmol/L
- glicerol-kinaza 16,7 kat/L
- glicerol-3-fosfat-oksidaza 66,7 kat/L
- 4-aminoantipirin, c = 0,40 mmol/L
- lipoprotein-lipaza 16,7 kat/L

Reagens 3

Standard triglicerida: 2,29 mmol/L

Radni reagens: Sadržaj enzimskog reagensa rastvoriti u pufer reagensu, kvantitativno preneti u bočicu sa pufer reagensom i promešati.

Šema pipetiranja:

<i>Pipetirati u epruvete</i>	<i>A (uzorak)</i>	<i>A (standard)</i>	<i>A (slepa poba)</i>
Uzorak	10 µL	-	-
Standard	-	10 µL	
Destilovana voda	-	-	10 µL
Radni reagens	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Promešati reakcionu smešu i inkubirati 5 minuta na temperaturi od 37°C ili 10 minuta na temperaturi 20-25°C, a zatim izmeriti apsorbancije uzorka (Auz) i standarda (Ast) prema slepoj probi reagensa (Asp). Merenje izvršiti u roku od 30 minuta na 500 nm.			

Proračun:

trigliceridi, mmol/L = Auz/Ast x 2,29

Intra-assay CV iznosio je 0,64%, a inter-assay CV 2,80%.

Friedewald formula korišćena je za izračunavanje LDL-holesterola:

LDL-holesterol (mmol/L) = Ukupan-holesterol (mmol/L) – HDL-holesterol (mmol/L) - Tg/2,17 (mmol/L).

Koncentracija non-HDL-holesterola određivana je računskim putem:

non-HDL-holesterol (mmol/L) = Ukupan-holesterol (mmol/L) - HDL-holesterol (mmol/L).

3.6.12. Određivanje insulina

Sadržaj insulina određivan je hemiluminiscentnom metodom (CLIA).

U proceni insulinske rezistencije korišćen je HOMA (engl. *homeostasis model assessment*) indeks koji se izračunava prema formuli:

HOMA-IR = koncentracija glukoze (mmol/L) x insulin (μ IU/mg)/22,5

Princip metode:

Hemiluminescentni imunoesej (CLIA) je test koji se pokazao kao izuzetno osetljiv u određivanju insulina. Ovaj test je ekonomična alternativa konvencionalnim metodama kao što je klasična ELISA. CLIA je u samoj osnovi ELISA tehnika.

Sistem sadrži anti-insulin antitela vezana za čvrstu fazu i druga anti-insulin antitela obeležena enzimom. Najpre se dodaje uzorak i standard u bunarčićima koja su obložena insulin antitelama. Zatim se dodaju anti-insulin antitela obeležena enzimom. Ukoliko je insulin prisutan u uzorku, on će se vezati za ova antitela. Nakon 1 h inkubacije, ispira se višak obeleženih antitela i dodaje rastvor hemiluminescentnog supstrata.

Hemiluminescencija se očitava na odgovarajućem luminometru u relativnim svetlosnim jedinicama (RLU – relative light units). Intenzitet svetlosti proporcionalan je količini insulina u uzorku. Nepoznata koncentracija insulina određuje se preko niza standarda insulina koji su kvantifikovani na isti način i preko standardne krive.

Reagensi:

- Mikrotitraciona ploča, 12x8, ukupno 96 bunarčića
Mikrotitraciona ploče obložena poliklonalnim antitelom, sa 96 bunarčića.
- Enzim- konjugovani reagens
- Insulin referentni standard: 0; 5; 25; 50; 100 i 200 uIU/mL.
- Rastvor za pranje, koncentrovani

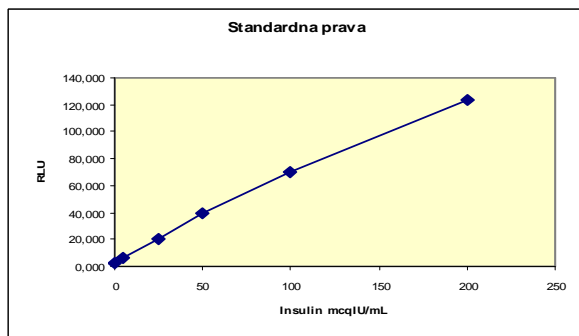
- Hemiluminiscentni reagens A,
- Hemiluminiscentni reagens B

Procedura:

- Izdvojite pažljivo potreban broj mesta na ploči.
- Pipetirati po 50 μL (raditi u duplikatu) uzorke, razređene uzorke, standarde i QC uzorke u mikrotitracione ploče.
- Nežno, ali temeljno mešati 10 sekundi.
- Dodati 100 μL enzim-konjugovani reagens. Mešati nežno 30 sekundi.
- Inkubirati 60 sekundi
- Dekantovati ploču i prati svako udubljenje pet puta sa 300 μL reagensa za pranje.
- Dodati 100 μL reagensa hemiluminiscentnog supstrata. Nežno, ali temeljno mešati 10 sekundi. Inkubirati na tamnom, na sobnoj temperaturi 20 minuta.
- Dodati 100 μL stop rastvora. Nežno, ali temeljno mešati 10 sekundi, dok plava boja ne pređe u žutu.
- Čitati na čitaču na 450 nm u roku od 15 min.

Proračun:

Standardna prava za insulin



Za proračun korišćena je jednačina prave: $y = 6,0935x + 0,601$, sa korelacionim koeficijentom: 0,9978. Inter-assay CV iznosio je 3,9%.

4. Rezultati i diskusija

Pošto je cilj ovog rada bila procena uticaja promene načina života, uključujući dijetarnu intervenciju sa dva različita nivoa rezistentnog skroba poreklom iz uobičajenih namirnica, na faktore rizika za razvoj DMT2, jedna od važnih polaznih informacija bila je ona o sadržaju i profilu dijetnih vlakana u namirnicama koje se koriste u svakodnevnoj ishrani u Srbiji. Pregledom dostupne literature uočen je nedostatak ovakvih podataka, ne samo onih koji se odnose na namirnice karakteristične za region Balkana i Srbije, već i na globalnom nivou. Većina radova i tablica hemijskog sastava zadržava se na analizi ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih dijetnih vlakana, dok su detaljni profili pojedinih frakcija vlakana retki i nekompletni (136, 137). Zbog toga je prvi deo istraživanja u ovom radu bio posvećen detaljnoj kvalitativnoj i kvantitativnoj hemijskoj analizi vlakana većeg broja namirnica. Odabir namirnica za analizu vršen je na osnovu njihove značajne zastupljenosti u strukturi svakodnevne ishrane našeg stanovništva. Ovi podaci su takođe bili neophodni za kasniji preračun unosa rezistentnog skroba kod ispitanika – učesnika u kliničkoj studiji.

4.1. Dijetarni izvori ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba

Istraživanje sadržaja i sastava dijetnih vlakana u namirnicama obuhvatilo je nekoliko grupa biljnih namirnica, sa ciljem da se obuhvate najznačajniji predstavnici iz tih grupa, a koji potencijalno predstavljaju dobar izvor vlakana u ishrani. Analizirane su namirnice iz sledećih grupa:

1. Komercijalni hlebovi;
2. Pahuljice od žitarica (monokomponentni komercijalni proizvodi žitnih pahuljica);
3. Kuvana žita;
4. Kuvano leguminozno povrće;
5. Voće (jezgrasto i ostalo voće) i
6. Povrće (lisnato i ostalo povrće).

Rezultati za ukupna dijetna vlakna koji su prikazani u daljim tabelama ne obuhvataju fruktan, koji se ne može odrediti analitičkim enzimsko-gravimetrijskim postupkom koji je primenjen za analizu ukupnih vlakana.

4.1.1 Analiza komercijalnih hlebova

Tradicionalno korišćena namirnica u ishrani na ovim prostorima je hleb. Interesantna je činjenica da su na sajtu Ginisove knjige rekorda Srbija i Crna Gora navedene posle Turske kao zemlje sa najvećom potrošnjom hleba po glavi stanovnika na svetu (138). Nekada je beli hleb bio dominantan u ishrani, ali sve više njegovo mesto zauzimaju integralni, ražani i kukuruzni hleb. I pored pozitivnih trendova poslednji zvanični podatak iz Zdravstveno-statističkog godišnjaka Republike Srbije za 2006. godinu (139) pokazuje da više od polovine stanovništva Srbije (57,2%) koristi u ishrani isključivo beli hleb, a svega 14,8% redovno koristi crni, ražani i ostale vrste hleba. Pošto hleb i peciva mogu biti značajni izvori dijetnih vlakana u ishrani, što zavisi od vrste žita koje se koristi u njihovoj proizvodnji i stepena obrađenosti, značano je uraditi detaljnu analizu profila vlakana u različitim komercijalnim vrstama hleba. U okviru ove doktorske disertacije analizirane su četiri različite vrste komercijalnih hlebova: beli pšenični, pšenično/kukuruzni, pšenično/ražani i integralni hleb, a u okviru svake vrste bilo je po tri različita uzorka nabavljenih iz tri velika marketa, sa ciljem da se stvori što verodostojnija slika o kvalitetu pomenutih komercijalnih hlebova i da dobijeni rezultati budu reprezentativni prilikom formiranja tablica hemijskog sastava namirnica za potrebe kliničkih studija. S obzirom da na domaćem tržištu većina hlebova koji se deklarišu kao „pšenični“ i „ražani“ u stvari predstavlja hlebove proizvedene od kombinacije pšeničnog brašna sa varirajućim udelom kukuruznog/ražanog brašna, ovakvi hlebovi su i odabrani za analizu.

Analizom ukupnih dijetnih vlakana, utvrdili smo da je njihov sadržaj bio očekivano najveći kod pšenično/ražanog i integralnog hleba i statistički se značajno razlikovao od sadržaja u kukuruznom, odnosno belom hlebu ($p < 0,05$). Najznačajnija frakcija vlakana u svim tipovima hleba nije celuloza, što je pomalo neočekivano, već su to frakcije rezistentnog skroba, arabinoksilana i fruktana. Pšenično/ražani i integralni hleb dominiraju po sadržaju arabinoksilana, a statistički se pšenično/ražani hleb značajno

razlikuje ($p < 0,05$) u odnosu na pšenično/kukuruzni i beli hleb. Pšenično/ražani hleb je bogatiji fruktanom u odnosu na ostale komercijalne hlebove. Kao što se i moglo očekivati, celuloza (0,65 g/100 g) je najzastupljenija kod integralnog hleba. Dobile vrednosti za RS su veoma slične kod svih ispitanih tipova hleba i kreću se od 0,90 g/100 g za beli pšenični do 1,22 g/100 g za pšenično/ražani hleb. Postoji jaka pozitivna Spearmanova korelacija između količine dijetnih vlakana i celuloze ($r = 0,825$ $p < 0,001$) kao i između fruktana i arabinoksilana ($r = 0,712$, $p < 0,001$).

Tabela 4. Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana i pojedinih frakcija dijetnih vlakana kod ispitivanih uzoraka hleba u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci:	<i>Fruktan</i>	<i>Arabino-ksilan</i>	<i>Celuloza</i>	<i>Beta-glukan</i>	<i>Rezistentan skrob</i>	<i>Ukupna dijetna vlakna</i>
<i>Beli pšenični</i>	0,88±0,05 _c	1,00±0,05 _c	0,28±0,07 _d	0,12±0,04 _c	0,90±0,22	2,68±0,57 _d
<i>Pšenično/kukuruzni</i>	0,87±0,31 _c	0,83±0,02 _c	0,24±0,10 _{c,d}	0,15±0,06 _c	1,12±0,18	2,12±0,57 _c
<i>Pšenično/ražani</i>	1,36±0,28	1,27±0,12	0,42±0,11 _d	0,27±0,07	1,22±0,43	3,82±0,89
<i>Integralni</i>	0,99±0,17	1,11±0,24	0,65±0,15	0,20±0,07	1,09±0,25	4,36±1,11

c ($p < 0,05$) vs. pšenično ražani hleb; d ($p < 0,05$) vs. integralni hleb

Kada se upoređi sadržaj arabinoksilana i beta-glukana kod ispitivanih uzoraka belog hleba sa ispitivanim uzorcima koje su radili Hiller i saradnici (2011) može se konstatovati da se vrednosti za sadržaj arabinoksilana i beta-glukana dobro slažu, ali za pšenično/ražani hleb vrednosti koje smo mi dobili su daleko niže, što se može objasniti različitim recepturama i različitim odnosima pojedinih vrsta brašna u komercijalnim hlebovima.

U tabeli 5 su prikazane vrednosti za osnovni nutritivni sastav analiziranih komercijalnih uzoraka hleba. Iz rezultata se jasno vidi da između ispitivanih uzoraka komercijalnih hlebova nema značajne razlike u energetske vrednosti, ali značajna razlika postoji u sadržaju proteina i to u korist integralnog hleba (integralni > pšenično/ražani > beli pšenični > pšenično/kukuruzni hleb). S druge strane, sadržaj ukupnih ugljenih hidrata

kod integralnog hleba je statistički značajno manji, a sadržaj ukupnih vlakana je očekivano veći u odnosu na ostale komercijalne hlebove.

Tabela 5. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka hleba (g/100 g) u originalnim uzorcima

Uzorci:	Masti	Proteini	Ugljeni hidrati	Šećeri	Skrob	Energetska vrednost (kcal)
<i>Beli pšenični</i>	1,84±0,17	7,00±0,33 _d	48,43±1,34 _{b,d}	0,51±0,28	47,92±1,41	245,26±5,58
<i>Pšenično/kukuruzni</i>	1,78±0,20	6,14±0,27 _d	51,68±0,42 _{c,d}	1,54±1,41	50,13±1,30 _d	253,26±2,76
<i>Pšenično/ražani</i>	1,82±0,23	7,17±0,54 _d	48,86±0,75 _d	0,28±0,03	48,57±0,77 _d	250,78±2,01
<i>Integralni</i>	1,44±0,23	8,94±0,65	45,47±1,08	0,43±0,21	45,04±0,96	241,22±7,03

b (p<0,05) vs. pšenično/kukuruzni hleb; c (p<0,05) vs. pšenično/ražani hleb; d (p<0,05) vs. integralni hleb

Činjenica da je hleb od integralnog i ražanog brašna bolji izvor vlakana i proteina u odnosu na druge vrste hleba potvrđuje njihovo mesto u savremenoj ishrani i dijetoterapiji. Pozitivni fiziološki efekti korišćenja integralnog i ražanog hleba u ishrani je potvrđen u više navrata. Integralni hleb od oljuštenog zrna izazvao je niži postprandijalni glikemijski odgovor i veću insulinsku senzitivnost u odnosu na beli hleb (141). Ražani hleb kod žena u menopauzi povećao je koncentraciju enterolaktona u plazmi, što može povoljno uticati na zdravlje creva. Interesantno je da nisu konstatovane razlike u sastavu fekalnih bakterijskih enzima, pre svega u aktivnosti β -glukuronidaze i u koncentraciji SCFA u fekalnoj masi pri unosu ražanog, odnosno pšeničnog hleba (142). Takođe, veoma važan zaključak je da se kod muškaraca smanjila aktivnost β -glukuronidaze i β -glukozidaze nakon konzumiranja ražanog hleba, a kod žena nije. Sporije tranzitno vreme kroz kolon kod žena omogućava i veću i efikasniju apsorpciju SCFA. Poredeći efekte unosa ražanog i pšeničnog hleba, uočen je niži odgovor C-peptida i postprandijalnog insulina nakon konzumiranja ražanog hleba u poređenju sa pšeničnim hlebom. Hidroliza skroba *in vitro* kod visoko vlaknastog ražanog hleba je smanjena u odnosu na pšenični hleb (143).

Ražani hleb pokazuje bolji efekat u odnosu na beli hleb ili integralni i ovseni u postprandijalnom insulinskom odgovoru kod zdravih osoba (141, 143), kao i kod osoba sa metaboličkim sindromom (144).

Na osnovu dobijenih vrednosti za analizirane uzorke hleba u odnosu na pojedine frakcije dijetnih vlakana i ukupnih dijetnih vlakana, zapaža se da po kvalitetu prednjače pšenično/ražani i integralni hleb. Znajući ulogu i značaj koji imaju pojedine frakcije dijetnih vlakana (141,143,144), ražani i integralni hleb bi trebalo da budu deo svakodnevne uobičajene ishrane.

4.1.2 Analiza pahuljica od žitarica

Pahuljice od žitarice koja se konzumiraju za doručak su značajan izvor dijetnih vlakana u savremenoj ishrani. Ova grupa proizvoda je relativno nova na tržištu Srbije i tek poslednjih 15 godina polako dobija na popularnosti. Prema proceni Euromonitora, u 2013. godini potrošnja ove grupe namirnica je u našoj zemlji na godišnjem nivou bila ispod 300 g po glavi stanovnika.

Komercijalni proizvodi prisutni na tržištu sastoje se od jedne ili više vrsta žita različitog stepena prerade, što utiče na kvalitativni i kvantitativni sastav vlakana. U literaturi nema mnogo podataka o sadržaju različitih frakcija vlakana u ovoj grupi proizvoda. Analizom ove grupe proizvoda obuhvatili smo samo monokomponentne proizvode – kukuruzne, ječmene, ovsene i ražane pahuljice zbog toga što one čine osnovu svih drugih komercijalnih proizvoda.

Dobijeni rezultati pokazuju da su najbogatije dijetnim vlaknima ovsene i ražane pahuljice. Ječmene imaju značajno niži sadržaj dijetnih vlakana ($p < 0,001$).

Kukuruzne pahuljice sadrže najveći procenat skroba, a značajno su najsiromašnije u dijetnim vlaknima u odnosu na ostale tipove pahuljica (tabela 6). Interesantna je činjenica da se profili pojedinih frakcija vlakana veoma razlikuju u zavisnosti od vrste žita. Tako su najbogatije beta-glukanom ječmene i ovsene pahuljice (4,3 odnosno 4,6 g/100 g) i on u ovim vrstama pahuljica predstavlja najznačajniju frakciju vlakana. Iako ječmene pahuljice sadrže manji procenat ukupnih vlakana u odnosu na ražane i ovsene, one imaju dobru procentualnu zastupljenost svih pojedinih frakcija, osim celuloze. Ovsene pahuljice imaju najniži sadržaj RS i fruktana, ali najviši sadržaj ukupnih

vlakana, dok je za ražane pahuljice karakteristična visoko procentualna zastupljenost arabinoksilana, fruktana i RS (tabela 6).

Iz dobijenih rezultata se vidi da izbor žitarica koje se koriste kao žita za doručak može značajno uticati na količinu i vrstu unetih vlakana.

Tabela 6. Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana i pojedinih frakcija dijetnih vlakana kod ispitivanih uzoraka pahuljice od žitarica izraženi u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci	Fruktan	Arabino-ksilan	Celuloza	Beta-glukan	Rezistentan skrob	Ukupna dijetna vlakna
Kukuruzne	1,75±0,22 cc,dd	0,29±0,12	0,12±0,05 b,c,dd	0,63±0,06 bb,cc,d	1,86±0,31 cc,dd	2,67±0,35 bb,cc,dd
Ječmene	1,49±0,12 cc,dd	3,10±0,57	0,50±0,10 dd	4,31±0,25 dd	2,35±0,25 cc,dd	9,69±0,68 cc,dd
Ovsene	0,32±0,02	2,53±0,23	0,66±0,12 dd	4,62±0,33 dd	0,33±0,11 dd	14,27±0,91
Ražane	4,40±0,09	6,70±0,21	1,35±0,22	1,70±0,17	3,67±0,22	14,27±1,10

b (p<0,05) vs. ječmene; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. ovsene; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. ražane

Spearmanovom korelacijom utvrđeno je da postoji jaka pozitivna korelacija između arabinoksilana i celuloze ($r=0,960$ $p<0,001$), pri čemu visoki nivo arabinoksilana prati visok nivo celuloze. Takođe postoji jaka pozitivna korelacija između fruktana i rezistentnog skroba ($r=0,943$ $p<0,001$).

Iz tabele 7 u kojoj su prikazani rezultati analize osnovnih hranljivih sastojaka jasno se vidi da su ražane pahuljice u prednosti u odnosu na ostale vrste žitnih proizvoda i zbog niže energetske vrednosti, ali i najniže količine skroba i šećera. Kukuruzne pahuljice karakteriše najveća energetska vrednost, najviši sadržaj ugljenih hidrata, a najmanji proteina. Generalno se može zaključiti da kukuruzne pahuljice, koje su možda i najpopularnije od svih analiziranih vrsta pahuljica, imaju najveću nutritivnu vrednost.

Tabela 7. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka pahuljice od žitarica izraženi u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci:	Masti	Proteini	Ugljeni hidrati	Šećeri	Skrob	Energetska vrednost (kcal)
<i>Kuku- ruzne</i>	0,41±0,91 bb,cc,dd	7,41±0,43 bb,c,d	83,25±0,90 bb,cc,dd	4,46±1,72 c,d	78,78±1,40 bb,cc,dd	375,39±4,15 bb,dd
<i>Ječme- ne</i>	1,78±0,22 cc	9,74±0,36	67,06±0,40 cc,dd	5,04±1,38 c,d	62,02±1,53 d	345,94±4,71 c,d
<i>Ovsene</i>	6,80±0,24 dd	9,20±0,30	60,15±1,04 d	1,17±1,08	58,98±0,71	367,94±7,84 dd
<i>Ražane</i>	1,73±0,23	9,30±0,22	57,36±0,84	0,81±0,51	56,56±1,26	319,77±4,04

b (p<0,05), bb (p<0,001) vs. ječmene; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. ovsene; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. ražane

Veći broj naučnih radova ukazuje da je korišćenje pojedinih proizvoda iz ove grupe praćeno i povoljnim zdravstvenim efektom, što se pre svega objašnjava visokim sadržajem vlakana. Unosom 14 g dijetnih vlakana / 1000 kcal/dan poreklom iz ovsenih pahuljica u okviru dijeta sa smanjenom energijom u trajanju od 12 nedelja statistički je značajno smanjilo obim struka (p<0,012), što nije bio slučaj kod manje količine od 8 g vlakana /1000 kcal/dan (145). Unos celog zrna visoko-vlknastog ječma kod zdravih ispitanika za doručak znatno je smanjio glad pre ručka (146). Taj efekat je postignut sa 18 g dijetnih vlakana poreklom iz ječmenih pahuljica i snek proizvoda, dok kombinacije pšeničnih pahuljica i snek proizvoda u količini od 7 g dijetnih vlakana i pirinčanih pahuljica sa snek proizvodima u količini od 1 g dijetnih vlakana nisu pokazali pomenuti efekat.

4.1.3 Analiza kuvanih žitarica

Pored hleba i pahuljice od žitarica, urađena je i analiza sadržaja vlakana u 6 vrsta kuvanih žita i proizvoda od žita. Od termički tretiranih (kuvanih) žita odabrana su ona koja su najčešće zastupljena u našoj ishrani, a to su: pšenica, proso, pasta (od pšeničnog brašna), kukuruz šećerac, pirinač i integralni pirinač. Rezultati analize profila vlakana prikazani su u tabeli 8.

Tabela 8. Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana i pojedinih frakcija dijetnih vlakana kod ispitivanih uzoraka kuvanih žitarica izraženi u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci	<i>Fruktan</i>	<i>Arabino-ksilan</i>	<i>Celuloza</i>	<i>Beta-glukan</i>	<i>Rezistentan skrob</i>	<i>Ukupna dijetna vlakna</i>
<i>Pšenica</i>	0,79±0,28 bb,c,dd,ee	1,58±0,13 bb,cc,dd,ee,ff	0,68±0,11 bb,cc,dd,ee,f	0,17±0,04	0,53±0,10 b,cc,dd	3,48±0,32 bb,c,d,ee,f
<i>Pasta</i>	0,40±0,14 e	0,45±0,16 ee,ff	0,20±0,08 d,f	n.d.	1,22±0,23 ee,ff	2,75±0,39 ee
<i>Proso</i>	0,16±0,10 f	0,12±0,03 cc,d	0,33±0,10 e	n.d.	0,77±0,23 c,e,ff	1,36±0,22 c
<i>Šećerac</i>	0,35±0,13 f	0,43±0,08 ee,ff	0,59±0,31 ee	n.d.	0,98±0,57 e,ff	2,56±0,37 e
<i>Pirinač</i>	0,11±0,05 ff	0,05±0,02	n.d.	n.d.	0,62±0,12 f	0,70±0,23
<i>Integralni pirinač</i>	0,56±0,17	0,13±0,04	0,40±0,14	0,10±0,07	0,15±0,16	1,75±0,29

b (p<0,05), bb (p<0,001) vs. pasta; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. proso; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. šećerac; e (p<0,05), ee (p<0,001) vs. pirinač; f (p<0,05), ff (p<0,001) vs. integralni pirinač

Od analiziranih uzoraka dijetna vlakna su u značajno najvećoj količini bila zastupljena kod kuvane pšenice (p<0,05). Kuvana pšenica sadrži 3,48 g/100 g dijetnih vlakana, od čega je 0,79 g/100 g fruktana, 1,58 g/100 g arabinokilana i 0,68 g/100 g celuloze, dok je sadržaj RS kod pšenice (0,53 g/100 g) bio znatno niži nego kod prosa (0,77 g/100 g), paste (1,22 g/100 g), kukuruza šećerca (0,98 g/100 g) i pirinča (0,62 g/100 g). Proso, šećerac i paste imaju veoma izražen proces retrogradovanja tokom termičkog tretmana (147) i otud tako visoka vrednost rezistentnog skroba.

Iz tabele se jasno vidi da je kod svih uzoraka kuvanih žitarica arabinoksilan bio najzastupljenija frakcija, i to sa oko 50% ukupnih vlakana. Količina ove frakcije

prednjači kod kuvane pšenice, a literaturni podaci ukazuju da baš arabinoksilan iz pšenice ima pozitivan fiziološki efekat. Naime, arabinoksilan ekstrahovan u toku procesa prerade pšeničnog brašna i dodat ishrani u količini od 6 ili 12 g doveo je do smanjenja postprandijalne glikemije i povećanja insulinske senzitivnosti kod zdravih ispitanika (63).

Pasta je znatno siromašnija u svim frakcijama vlakana iako se dobija od pšenice, što je verovatno posledica primenjenog tehnološkog postupka. Očigledno je da ovaj postupak posebno smanjuje količinu arabinoksilana, koja u pšenici čini 45,5% ukupnih vlakana, a u pasti je njena zastupljenost svega 16% . Beta-glukan se u ovom postupku u potpunosti gubi. Pasta, takođe, ima niži sadržaj celuloze i fruktana u odnosu na pšenicu.

Kuvani oljušteni/glazirani pirinač je najsiromašniji u ukupnim dijetnim vlaknima (0,70 g/100 g), fruktanu (0,11 g/100 g), arabinoksilanu (0,05 g/100 g), dok celuloza i beta-glukan nisu ni zastupljeni. Pirinač ne sadrži beta-glukan. Sadržaj vlakana u integralnom pirinču u odnosu na glazirani pirinač je 2,5 puta veći. Najznačajnije frakcije vlakana u integralnom pirinču su fruktani i celuloza. U integralnom pirinču mala količina beta-glukana najverovatnije potiče iz mekinja.

Kukuruz šećerac ima visok procenat rezistentnog skroba (0,98 g/100 g), dok su ostale frakcije manje zastupljene. Beta-glukan kod šećerca nije detektovan.

Tabela 9. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka kuvanih žitarica (g/100 g) u originalnim uzorcima

Uzorci:	Masti	Proteini	Ugljeni hidrati	Šećeri	Skrob	Energetska vrednost (kcal)
Pšenica	0,45±0,10 b,d	3,32±0,29 e,f	17,83±0,81 b,c,dd,ee,f	0,24±0,03 d	17,59±0,84 b,d,ee	97,28±3,98 b,c
Proso	0,97±0,17 c,ee	3,45±0,38 e,f	21,59±0,74 ff	0,32±0,07 d	21,27±0,77 ee	111,91±4,81 b,d
Testenine	0,49±0,17 d	4,05±0,22 ee,ff	21,08±0,20 d,ee	0,93±0,27 e	20,15±0,79 ee	110,69±5,59 d,e
Šećerac	1,04±0,16 ee	3,79±0,29 e,ff	23,96±1,00 ee	1,54±0,11	22,42±1,09 ee	126,23±6,63 f
Pirinač	0,24±0,06 f	2,46±0,25	28,56±1,05 ff	0,18±0,13	20,37±0,93 ff	127,80±4,09 f
Integralni pirinač	0,74±0,11	2,16±0,18	21,69±0,74	0,85±0,61	20,84±1,33	106,79±2,62

b (p<0,05) vs. proso; c (p<0,05) vs. pasta; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. šećerac; e (p<0,05), ee (p<0,001) vs. pirinač; f (p<0,05), ff (p<0,001) vs. integralni pirinač

Od ispitivanih uzoraka kuvane zrnaste hrane koja pripada grupi žitarica, kuvana pšenica ima najnižu energetska vrednost uz najniži sadržaj ukupnih ugljenih hidrata i skroba, a najveći sadržaj ukupnih vlakana.

4.1.4. Analiza kuvanih leguminoza

Leguminoze (biljke iz porodice *Fabaceae*) predstavljaju grupu namirnica koja je odličan izvor dijetnih vlakana i proteina, sa relativno niskom energetska vrednošću (148). Prema Mihailoviću i Mikiću (2010) u Srbiji se gaji čak 36 različitih biljaka iz grupe leguminoza koje se koriste u ishrani ljudi i domaćih životinja. Za našu zemlju najveći značaj u ljudskoj ishrani imaju pasulj, sočivo, grašak i boranija, dok se soja ređe koristi, te su ove leguminoze i ispitane i to nakon termičkog tretmana, jer se u ishrani samo tako i koriste.

Kada je u pitanju sadržaj ukupnih dijetnih vlakana kod analiziranih vrsta leguminoznog povrća izdvajaju se pasulj i grašak koji imaju skoro dva puta veću količinu vlakana u odnosu na sočivo i boraniju.

Najznačajnije frakcije vlakana u svim leguminozama su celuloza i RS. Pasulj sadrži i značajnu količinu arabinoksilana i po tome se značajno razlikuje od ostalih leguminoza

($p < 0,001$), a grašak najveći procenat RS u odnosu na ostale ispitivane leguminoze ($p < 0,001$).

Tabela 10. Sadržaj ukupnih dijetnih vlakana i pojedinih frakcija dijetnih vlakana kod ispitivanih uzoraka kuvanih leguminoza u g/100 g u originalnom stanju

Uzorci	Fruktan	Arabino-ksilan	Celuloza	Beta-glukan	Rezistentan skrob	Ukupna dijetna vlakna
<i>Pasulj</i>	0,42±0,15 d	0,66±0,11 bb,c,dd	1,80±0,53 d	n.d.	1,43±0,27 bb,cc,dd	5,46±0,37
<i>Sočivo</i>	0,40±0,15 d	0,27±0,09	1,42±0,27 c,dd	n.d.	0,54±0,13 cc	3,32±0,33 d
<i>Grašak</i>	0,36±0,09	0,33±0,10	2,42±0,31 d	n.d.	2,00±0,28 dd	6,08±0,61
<i>Boranija</i>	0,10±0,08	0,13±0,05	1,30±0,29	n.d.	0,23±0,08	2,85±0,44

b ($p < 0,05$), bb ($p < 0,001$) vs. sočivo; c ($p < 0,05$), cc ($p < 0,001$) vs. grašak; d ($p < 0,05$), dd ($p < 0,001$) vs. boranija.

Zajedničko za sve ispitane leguminoze je da ne sadrže beta-glukan.

Postoji jaka negativna Spearmanova korelacija između celuloze i fruktana ($r = -0,832$ $p < 0,001$), pri čemu visoki procenat celuloze prati nizak procenat fruktana.

Od ispitivanih uzoraka kuvanih leguminoza boranija sadrži najmanje masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata i skrob, što za posledicu ima tri puta nižu energetska vrednost od ostalih leguminoza. Pasulj je najveći izvor proteina, a ujedno kod njega je sadržaj skroba najveći. Grašak je najbogatiji u ukupnim ugljenim hidratima i šećerima.

Kada bi se uzeli u obzir svi ispitivani parametri, izbor leguminoze bi u mnogome mogao biti diktiran željenim dijetarnim ciljem. Pasulj i grašak su u prednosti nad ostalim leguminozama ako se posmatra količina vlakana, ali je boranija u prednosti ako se posmatra njen dijetetski potencijal, tj. niska energetska vrednost.

Tabela 11. Sadržaj masti, proteina, ukupnij ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka kuvanih leguminoza u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci	Masti	Proteini	Ugljeni hidrati	Šećeri	Skrob	Energetska vrednost (kcal)
<i>Pasulj</i>	0,25±0,05	7,26±0,56 dd	16,50±0,17 dd	0,58±0,19 cc	15,93±0,30 dd	108,94±4,18 dd
<i>Sočivo</i>	0,29±0,07 d	7,12±0,52 dd	15,16±0,67 c,dd	0,33±0,21 cc	14,83±0,81 dd	99,13±6,48 dd
<i>Grašak</i>	0,36±0,06 d	6,10±0,76 dd	17,79±0,79 dd	2,97±0,69 dd	14,82±0,16 dd	111,47±6,49 dd
<i>Boranija</i>	0,11±0,06	2,00±0,46	6,22±0,45	0,41±0,09	5,81±0,49	39,40±4,42

c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. grašak; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. boranija.

Američka Agencija za hranu i lekove (FDA) je 2005. godine odobrila sledeću zdravstvenu izjavu: „Ishrana koja uključuje pasulj može da smanji rizik od bolesti srca i nekih vrsta kancera“ (Diets including beans may reduce your risk of heart disease and certain cancers). Ova izjava je odobrena na osnovu prikupljenih dokaza o pozitivnim efektima leguminoza u ishrani. Hrana koja sadrži visok procenat dijetnih vlakana poreklom iz pasulja povećava holecistokininski odgovor. Holecistokinin je regulator pražnjenja želuca, a samim tim ima ulogu u digestiji i apsorpciji. Postprandijalni porast holecistokinina je povezan sa redukcijom glikemije i insulinemije kod dijabetičara (150). Prema Jenkinsu i saradnicima (2012) uključivanje leguminoza u ishranu kao deo dijeta sa niskim glikemijskim indeksom poboljšava kontrolu glikemije i smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti kod DMT2.

4.1.5. Analiza voća i povrća

Voće i povrće predstavljaju značajan prirodan izvor vlakana (152).

Od ukupnog unosa dijetnih vlakana 40-50% potiče iz cerealijskih, 30–40% od povrća, oko 16% od voća i ostala 3% od drugih izvora (153). Svakodnevni unos voća i povrća smanjuje rizik za pojavu hroničnih bolesti (154), smanjuje rizik od ishemijskog moždanog udara i usporava progresiju ateroskleroze karotidnih arterija (155, 156).

Postoji značajna povezanost između visokog unosa ove grupe namirnica i smanjenog ukupnog mortaliteta, mortaliteta od koronarnih bolesti i mortaliteta od kancera (157, 158). Povećano konzumiranje voća i povrća dovodi i do značajnog smanjenja krvnog pritiska (159).

Za razliku od većine studija koje su najčešće određivale ukupne količine vlakana iz ispitanih uzoraka voća i povrća, zajedno sa nerastvorljivim i rastvorljivim vlaknima, detaljniji profil pojedinih frakcija vlakana se retko pominje. U okviru ovog ispitivanja izvršeno je određivanje sadržaja sledećih frakcija vlakana: celuloza, arabinokilan, rezistentan škrob i beta-glukan. Određivanje je izvršeno u jezgrastom voću, odabranom voću i povrću.

4.1.5.1. Analiza jezgrastog voća

Iako jezgrasto voće spada u grupu voća, ono se od ostalih predstavnika značajno razlikuje po visokoj energetske vrednosti, malom sadržaju vode i visokom sadržaju masti i proteina. Od jezgrastog voća ispitivani su sirovi bademi, lešnici, indijski orasi i orasi. Pored visokog procenta ω -3 masnih kiselina (160), jezgrasto voće sadrži i visok procenat dijetnih vlakana, što se ređe pominje u radovima.

U ispitivanim uzorcima jezgrastog voća sadržaj ukupnih dijetnih vlakana kretao se u rasponu od 13,9 kod badema do 4,2 g/100 g kod indijskog oraha. I ovde je vidljivo da izbor vrste jezgrastog voća može uticati na značajne razlike u unosu vlakana. Celuloza, klasifikovana kao nerastvorljivo vlakno, pronađena je u visokom procentu u svakom uzorku. Beta-glukan se nalazio u minornim količinama u ovoj grupi namirnica. Badem, pored toga što je dobar izvor ukupnih vlakana, predstavlja i dobar izvor arabinoksilana (0,53 g/100 g).

Tabela 12. Sadržaj frakcija vlakana i ukupnih vlakana u uzorcima jezgrastog voća u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci	Arabino-ksilan	Celuloza	Beta-glukan	Rezistentan skrob	Ukupna dijetna vlakna
<i>Bademi</i>	0,53±0,18 cc,	3,64±0,23 b,cc,dd	0,05±0,02	0,16±0,05 cc,d	13,87±0,45 bb,cc,dd
<i>Lešnici</i>	0,44±0,13 cc	2,67±0,43 c,d	0,04±0,02	0,17±0,06 cc,d	8,09±0,51 cc,d
<i>Indijski orah</i>	0,21±0,10	1,02±0,20	0,02±0,01	0,93±0,23 dd	4,21±0,29 d
<i>Orasi</i>	0,45±0,11	1,29±0,36	0,03±0,01	0,07±0,03	6,42±0,53

b (p<0,05), bb (p<0,001) vs. lešnici; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. indijski orah; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. orasi

Skrob nije glavna komponenta ispitivanih uzoraka jezgrastog voća, ali je prisutan u količini koja nije zanemarljiva (tabela 13). Pogotovo je kod indijskog oraha nađena visoka količina skroba od 10,11 g/100 g. Analizom RS kod jezgrastog voća došli smo do važnog podatka da RS može biti prisutan i u ovoj grupi namirnica i pored toga što su analizirane u sirovom stanju. Njegova količina kod badema, lešnika i oraha je bila zanemarljiva, ali kod indijskog oraha podatak da sadrži RS u količini od 0,93 g/100 g veoma je značajan. U literaturi ne postoje podaci o prisutnosti RS u jezgrastom voću. Ovo je prva studija koja daje podatak, odnosno informaciju o prisutnosti rezistentnog skroba u jezgrastom voću.

Količina beta-glukana kod jezgrastog voća je u tragovima i verovatno potiče iz ljuske. I literaturni podaci potvrđuju naš rezultat da beta-glukan nije komponenta dijetnih vlakana kod jezgrastog voća.

Jezgrasto voće ima veliku energetska vrednost, koja najvećim delom potiče iz masti (oko 75% od ukupne energije) iako je i sadržaj proteina dosta visok (od 15,15 do 18,84%). Preporučuje se unos jezgrastog voća u količini od 30 grama dnevno (161), a njegovo konzumiranje je korisno pre svega u svrhu prevencije kardiovaskularnih bolesti (162).

Tabela 13. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka jezgrastog voća u g/100 g originalnog uzorka

Uzorci	Masti	Proteini	Ugljeni hidrati	Šećeri	Skrob	Energetska vrednost (kcal)
<i>Bademi</i>	54,14±0,96	18,84±0,96 b,c,d	19,59±1,11 c,d	4,70±0,36 c,d	1,35±0,23 b,cc	641,07±5,47
<i>Lešnici</i>	58,86±1,27	14,93±0,85 c	18,37±1,07 c,d	4,95±0,65 c,d	2,51±0,33 cc,d	662,90±6,51
<i>Indijski orasi</i>	51,94±1,05	17,77±1,78 d	20,25±1,20	4,53±0,86 d	10,11±0,92 dd	619,54±5,63
<i>Orasi</i>	54,90±1,81	15,15±1,35	14,31±1,21	3,23±0,66	0,97±0,26	627,26±4,23

b (p<0,05) vs. lešnici; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. indijski orah; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. orasi

4.1.5.2. Analiza voća

Voće je poznato kao dobar izvor ukupnih dijetnih vlakana. Najčešće se njegoa analiza svodi na određivanje ukupnih dijetnih vlakana, kao i rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana, a analiza pojedinih frakcija nije tako česta. Od frakcija vlakana u voću najčešće se određuje sadržaj pektina (163). U ispitivanim uzorcima (jabuka, ribizla, kupina, malina, jagoda, višnja i banana), pored sadržaja ukupnih dijetnih vlakana, određivane su sledeće frakcije: arabinoksilan, celuloza, beta-glukan i rezistentan skrob. Banana, kupina i malina se u odnosu na ostale analizirane vrste voća značajno razlikuju po većim količinama ukupnih vlakana (2-2,5 puta veće količine). Analizom je utvrđeno da beta-glukan nije bio prisutan kod ispitivanih uzoraka voća, a da je rezistentan skrob prisutan samo u banani i to u značajnoj količini koja može da se poredi sa količinom u žitima. Celuloza je sa visokim procentom bila zastupljena u svim vrstama voća i to u količini od 10% ukupnih vlakana (kod banane) do 37% (kod kupine). Udeo arabinoksilana u odnosu na količinu ukupnih vlakana je bio nizak. I ta niska vrednost je jako bitna jer potvrđuje da može da bude prisutan i u ovoj grupi namirnica. Razlika koja može da se uoči u količini frakcija i makronutrijenata kod jabuka u odnosu na literaturne podatke potiče iz različitog pristupa analizi, tj. da li je uzorak analiziran sa korom ili ne.

Tabela 14. Sadržaj frakcija vlakana i ukupnih vlakana u uzorcima voća u g/100 g svežeg uzorka

Uzorci	Arabinoksilan	Celuloza	Beta-glukan	Rezistentan škrob	Ukupna dijetna vlakna
<i>Jabuka sa korom</i>	0,11±0,03 b,d,e,f	0,49±0,11 b,cc,dd,e	n.d.	n.d.	2,26±0,12 cc,dd,gg
<i>Ribizla</i>	0,07±0,04 c,d,e,f	0,79±0,09 cc,d	n.d.	n.d.	2,90±0,19 cc,dd,gg
<i>Kupina</i>	0,11±0,04 d,e,f	1,93±0,19 d,ee,ff	n.d.	n.d.	5,13±0,25 ee,ff
<i>Malina</i>	0,15±0,03 f	1,21±0,22 e,f,	n.d.	n.d.	5,50±0,24 ee,ff
<i>Jagoda</i>	0,14±0,05 f	0,71±0,26	n.d.	n.d.	2,20±0,14 gg
<i>Višnja</i>	0,08±0,03	0,64±0,10	n.d.	n.d.	2,11±0,17 gg
<i>Banana</i>	0,13±0,04	0,60±0,14	n.d.	4,33±0,59	6,22±0,56

b (p<0,05), vs. ribizla; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. kupina; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. malina; e (p<0,05), ee (p<0,001) vs. jagoda; f(p<0,05), ff (p<0,001) vs. višnja g(p<0,05), gg (p<0,001) vs. banana

Voće ima nisku energetska vrednost. Siromašno je u mastima i proteinima, a bogato vlaknima i brzo digestibilnim šećerima. Što je bogatije u vlaknima a siromašnije u šećerima, to je kvalitetnije. Od ispitivanih uzoraka voća kupina ima odnos vlakana i šećera 1:1, dok kod jabuke i višnje taj odnos je znatno veći i nepovoljniji i iznosi: 1:4.

Tabela 15. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka voća u g/100 g svežeg uzorka

<i>Uzorci:</i>	<i>Masti</i>	<i>Proteini</i>	<i>Ugljeni hidrati</i>	<i>Šećeri</i>	<i>Skrob</i>	<i>Energetska vrednost (kcal)</i>
<i>Jabuka</i>	0,22±0,08 b,c,dd	0,33±0,08 b,cc,dd,e,ff	13,80±1,02 c,d,e,g	10,43±0,98	-	58,50±2,91 e
<i>Ribizla</i>	0,34±0,10 c,dd	0,72±0,13 c,d,f	14,87±1,12 c,e,g	10,09±0,67	-	65,42±3,09 e
<i>Kupina</i>	0,48±0,14 ^d	1,49±0,23	10,24±0,67 ^c , gg	4,98±0,43	-	51,24±2,14 ^e
<i>Malina</i>	0,78±0,14	1,20±0,21	11,98±0,98 ^e , gg	4,45±0,54	-	59,74±3,11 ^e
<i>Jagoda</i>	0,31±0,10	0,87±0,11	7,77±1,01 ^{gg}	4,98±0,51	-	37,35±1,32 ^f
<i>Višnja</i>	0,30±0,14	1,09±0,21	12,25±0,86 ^g	8,76±1,09	-	56,06±2,87
<i>Banana</i>	0,45±0,19	1,10±0,26	23,54±1,11	9,17±0,76	7,87±0,89	102,61±3,06

b (p<0,05), vs. ribizla; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. kupina; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. malina; e (p<0,05) vs. jagoda ; f(p<0,05), ff (p<0,001) vs. višnja; g (p<0,05), gg (p<0,001) banana

4.1.5.3. Analiza povrća

Povrće u svakodnevnoj ishrani predstavlja značajan izvor vlakana, a njegova komparativna prednost u odnosu na ostale biljne izvore je veoma niska energetska vrednost. Iz grupe povrća analizirani su predstavnici lisnatog zelenog povrća, paradajza i kuvanog krompira i ti rezultati su prikazani u tabeli 16.

Zeleno lisnato povrće predstavlja dobar izvor vlakana i za razliku od voća gde su šećeri bili druga velika komponenta, kod lisnatog povrća ta druga komponenta su proteini. Sadržaj ukupnih vlakana kod ove grupe namirnica se kreće u rasponu 1,09 – 4,33 g/100 g, pri čemu su kuvani krompir i sveži peršun najbogatiji vlaknima, a zelena salata najsiromašnija. Krompir se od ostalog povrća razlikuje po sastavu frakcija, jer je zbog izuzetno visokog sadržaja skroba, najzastupljenija frakcija vlakana upravo rezistentan skrob. U ostalim vrstama povrća od frakcija najzastupljenija je bila celuloza, čije se učešće u ukupnim vlaknima kretalo u rasponu od 2,3 do 46%. Kod zelenog lisnatog povrća količina arabinokilana je bila veoma niska i kretala se između 0,02 i 0,08

g/100g. Beta-glukan i rezistentni skrob u lisnatom povrću nisu detektovani. U literaturi nisu pronađeni podaci o prisustvu beta-glukana u ispitivanim uzorcima.

Tabela 16. Sadržaj frakcija vlakana i ukupnih vlakana u uzorcima povrća u g/100 g originalnog uzorka

<i>Uzorci</i>	<i>Arabinoksilan</i>	<i>Celuloza</i>	<i>Beta-glukan</i>	<i>Rezistentan skrob</i>	<i>Ukupna dijetna vlakna</i>
Spanać	0,02±0,01	0,90±0,16 b,e,g	n.d.	n.d.	2,81±0,26 b,c,g
Peršun	0,08±0,03	1,39±0,21 c,d,gg	n.d.	n.d.	3,36±0,23 cc,d,e
Zelena salata	0,05±0,02	0,90±0,12 ^{e,g}	n.d.	n.d.	1,09±0,12 ^{d,e,gg}
Kupus	0,05±0,02	1,05±0,10 ^{gg}	n.d.	n.d.	2,39±0,17 ^g
Brokoli	0,07±0,03	1,26±0,13 ^{gg}	n.d.	n.d.	2,94±0,22 ^g
Paradajz	0,09±0,10	0,45±0,15 ^g	n.d.	0,86±0,23	1,65±0,22 ^{gg}
Krompir (kuvani)	n.d.	0,10±0,10	n.d.	3,92±0,56	4,33±0,34

b (p<0,05), vs. peršun; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. zelena salata; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. kupus; e (p<0,05), ee (p<0,001) vs. brokoli ; f(p<0,05), ff (p<0,001) vs. paradajz; g (p<0,05), ggp<0,001) vs. krompir

Energetska vrednost analiziranog lisnatog povrća je izuzetno niska, niža od većine analiziranih vrsta voća. Jedini izuzetak je krompir koji kao predstavnik krtolastog povrća ima značajan sadržaj skroba i višu energetske vrednost. Ugljeni hidrati i proteini predstavljaju dve najznačajnije komponente u sastavu povrća (tabela 17). Generalno voće i povrće sadrže nizak procenat masti, a visok procenat vlakana.

Tabela 17. Sadržaj masti, proteina, ukupnih ugljenih hidrata, skroba i šećera kod ispitivanih uzoraka povrća u g/100 g originalnog uzorka

<i>Uzorci:</i>	<i>Masti</i>	<i>Proteini</i>	<i>Ugljeni hidrati</i>	<i>Šećeri</i>	<i>Skrob</i>	<i>Energetska vrednost (kcal)</i>
Spanać	0,44±0,09 bb,c,d,f,g	2,92±0,35 c,d,ff	3,69±0,41 b,d,e,gg	0,41±0,11 b,c,dd,ee,g	-	30,42±1,26 b,cc,e,gg
Peršun	0,84±0,15 cc,dd,e,ff,gg	3,05±0,25 c,d,ff	6,43±0,39 c,g	0,94±0,13 dd,e,h	-	45,48±2,01 cc,d,g
Zelena salata	0,23±0,09	1,34±0,26 e	2,85±0,30 d,e,gg	0,85±0,21 dd,e	-	18,83±1,06 d,ee,gg
Kupus	0,12±0,07	1,38±0,18 e	5,84±0,57 ^g	3,28±0,34 e	-	29,96±2,05 e,gg
Brokoli	0,48±0,05 ^{f,g}	2,87±0,32 ^f	6,61±0,71 ^g	1,75±0,33 ^{gg}	-	42,24±2,78 g
Paradajz	0,08±0,06	1,02±0,21 g	3,10±1,32 ^{gg}	0,96±0,21 ^g	0,35±0,11	17,20±1,12 gg
Kuvani krompir	0,15±0,10	2,10±0,15	17,61±1,02	0,53±0,10	13,23±1,26	80,20±1,89

b (p<0,05), vs. peršun; c (p<0,05), cc (p<0,001) vs. zelena salata; d (p<0,05), dd (p<0,001) vs. kupus; e (p<0,05), ee (p<0,001) vs. brokoli ; f(p<0,05), ff (p<0,001) vs. paradajz; g (p<0,05), ggp<0,001) vs. krompir

Dijetarni referentni unos ukupnih dijetnih vlakana u SAD (164) iznosi 38 g/dan za muškarce i 25 g/dan za žene (za odrasle osobe mlađe od 50 godina). S obzirom da voće i povrće doprinosi sa oko 50% ukupnom unosu ukupnih vlakana, a ostale namirnice sa preostalih 50%, pravilnom kombinacijom namirnica iz pojedinih grupa može se doći do količina koje su pokazali povoljan fiziološki efekat. Količine kao što su >25 g/dan vlakana (114); 6 g/dan arabinoksilana (62); 5g/dan celuloze (165) mogu da se postignu sa uobičajenom svakodnevnom ishranom dobrim kombinovanjem namirnica iz različitih grupa. Podaci dobijeni u ovoj studiji omogućavaju bolji uvid u potencijal pojedinih grupa namirnica, kao i pojedinih namirnica iste grupe, u ostvarenju preporučenih dnevnih unosa vlakana.

4.2. Ispitanici koji su učestvovali u dijetarnoj intervenciji

Drugi deo istraživanja odnosi se na procenu efekta promene načina života, koja je uključivala dijetarnu intervenciju sa dva nivoa unosa RS, na faktore rizika od razvoja DMT2 kod gojaznih osoba sa poremećenom glikoregulacijom.

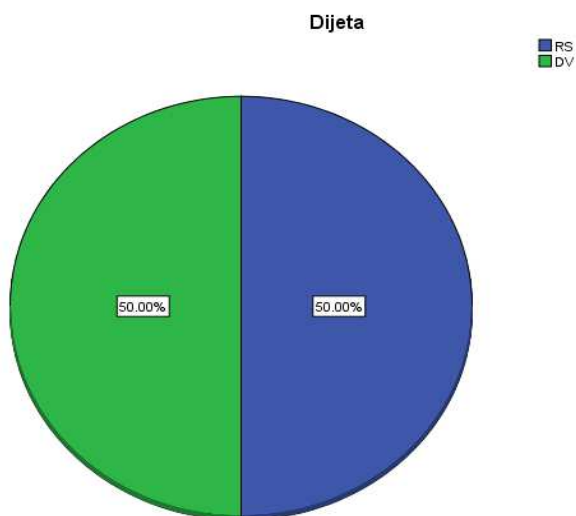
U dijetarnoj intervenciji učestvovalo je 50 ispitanika.

Na osnovu unosa vlakana podeljeni su u dve grupe:

- **RS grupa:** grupa koja je dobila instrukcije da poveća unos ukupnih dijetnih vlakana i unos rezistentnog skroba,
- **DV grupa** koja je dobila instrukcije da poveća unos ukupnih dijetnih vlakana.

4.2.1. Osnovne karakteristike ispitanika obe grupe:

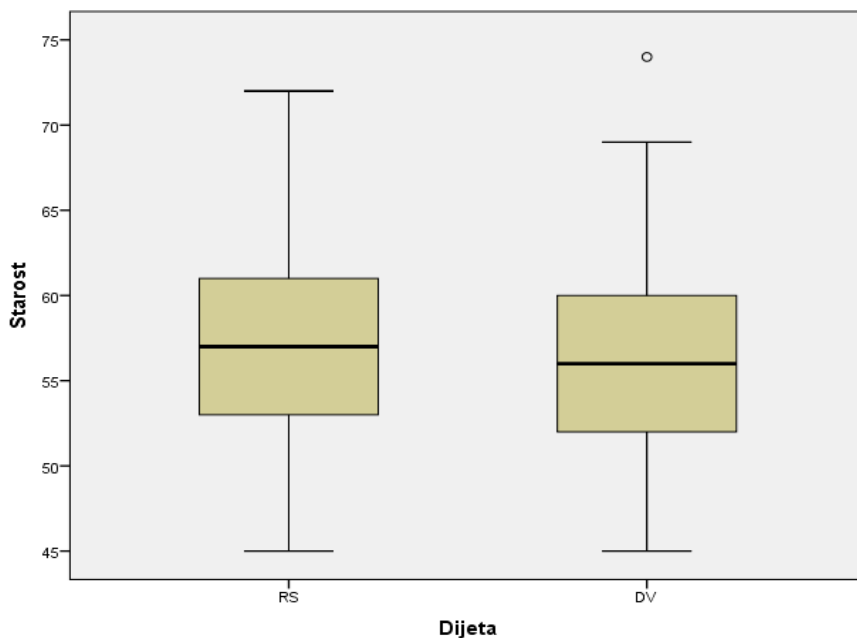
U obe grupe (**RS grupa, DV grupa**) je bilo regrutovano po 25 ispitanika.



Sl. 11. Podela ispitanika po grupama na osnovu dijetarnog režima

U RS grupi bilo je regrutovano 15 (60%) žena i 10 (40%) muškaraca, dok je u DV grupi bilo 12 (48%) žena i 13 (52%) muškaraca.

Nije bilo statistički značajne razlike između grupa po godinama starosti ($t=0,698$; $p=0,423$). U RS grupi ispitanici su imali $58,36\pm 6,12$ godina, dok su u DV grupi imali $56,96\pm 6,13$ godina.



Sl. 12. Podela ispitanika prema godine starosti

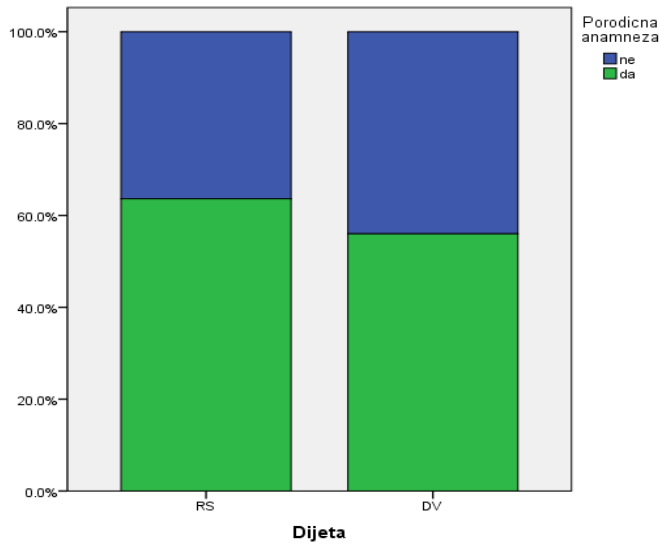
Takođe, između ispitanika obe grupe nije bila statistički značajna razlika u telesnoj masi - u RS grupi telesna masa ispitanika je bila 93,9 kg, a u DV grupi 88,1 kg, $p=0,156$.

Statistički značajne razlike nije bilo ni u obimu struka (kod RS grupe iznosio je 106,4 cm, a kod DV grupe 103,6 cm, $p=0,414$), kao ni u indeksu telesne mase (kod RS grupe bio je $33,1 \text{ kg/m}^2$, a kod DV grupe $31,1 \text{ kg/m}^2$). Svi ispitanici su spadali u gojazne, što je bio jedan od značajnih faktora rizika za razvoj DMT2.

Genetska predispozicija igra važnu ulogu za pojavu DMT2. Procenjuje se da doprinosi u pojavi ovog oboljenja sa 50% (77).

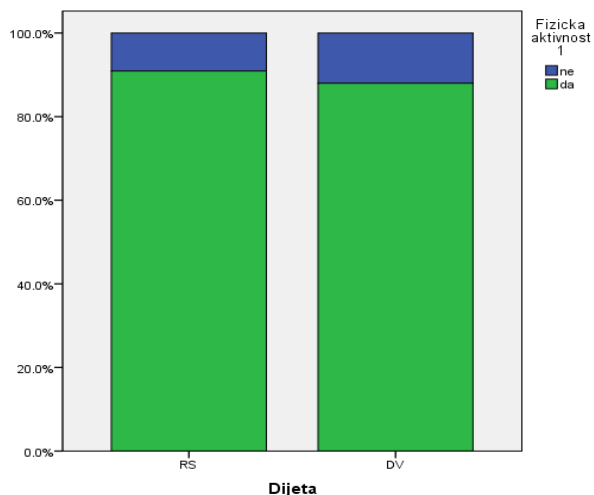
U obe grupe više od 50% ispitanika su imali porodičnu predispoziciju za pojavu DMT2. Tačnije, u RS grupi 15 (60%) ispitanika i 14 (56%) u DV grupi su imali u svojim porodicama dijagnostifikovan DMT2.

Nije bilo statistički značajne razlike između grupa prema porodičnoj anamnezi DMT2 ($\chi^2=0,082$; $p=0,774$).



Sl. 13. Podela ispitanika na osnovu porodične anamneze DMT2

Za normalno funkcionisanje organizma nije dovoljan samo adekvatan način ishrane već neophodna je i fizička aktivnost. Fizička aktivnost ima pozitivan učinak na insulinsku senzitivnost, metabolizam masti, arterijski pritisak, vazodilataciju, koagulaciju, fibrinolizu (166,167). Kod učesnika u ovoj studiji u visokom procentu je bila zastupljena fizička aktivnost, od minimum trideset minuta dnevno. Kod RS grupe iznosila je 63,6% , a kod DV grupe 56%. Nije postojala statistički značajna razlika između grupa, $p=0,595$ u odnosu na fizičku aktivnost.



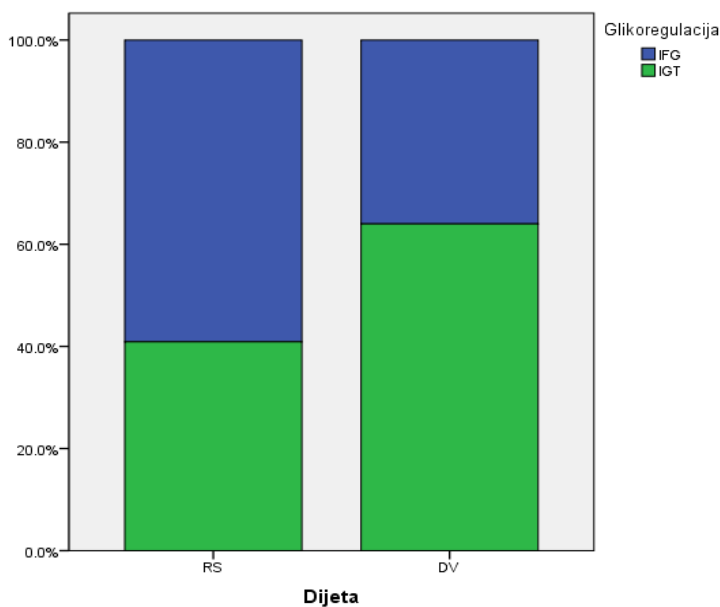
Sl. 14. Podela ispitanika po grupama na osnovu zastupljenosti svakodnevne fizičke aktivnosti

Svi ispitanici su na početku istraživanja imali poremećenu glikoregulaciju. U RS grupi 15 (60%) ispitanika imalo je IFG, a 10 (40%) IGT, dok u DV grupi 9 ispitanika (36%) je imalo IFG, a 16 (64%) IGT.

Tabela 18. Glikemija našte i posle 2 h OGTT kod obe grupe ispitanika

<i>Glikemija</i>			
Plazma glukoza (mmol/L)	RS grupa	DV grupa	p
Našte	6,26±0,58	6,00 ±0,77	0,196
2 h OGTT	7,31±2,09	7,93 ±1,27	0,210

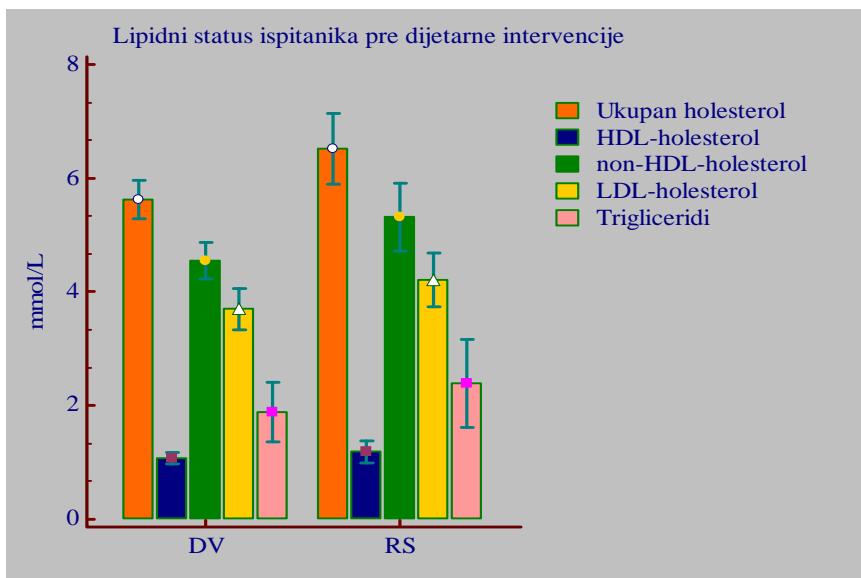
Nije bilo statistički značajne razlike između grupa na osnovu glikoregulacije ($X^2=2,885$; $p=0,089$). Iz slike br. 15 se jasno vidi da je veća učestalost IGT na početku studije bila u DV grupi.



Sl. 15. Podela ispitanika po glikoregulaciji

DV grupa je imala ozbiljniji poremećaj glikoregulacije u odnosu na RS grupu, ali je RS grupa imala veću prevalencu dislipidemije (90,9%) u odnosu na DV grupu (68,0) iako u slučaju dislipidemije ta razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,119$) (slika 16). Razlike između grupa odnosile su se samo na ukupan holesterol i non-HDL-holesterol. Pre početka dijetarne intervencije kod ispitanika iz DV grupe vrednosti za ukupan holesterol bili su neznatno povećane, dok su ispitanici iz RS grupe imali visoko-rizične vrednosti za naznačeni parametar (168), dok su vrednosti za non-HDL-holesterol bile i kod jedne i kod druge grupe visoko rizične.

Ispitanici u obe grupe bili su hipertenzivni i to 80% ispitanika iz RS grupe, a 72% iz DV grupe.



Slika 16. Lipidni status ispitanika obe grupe pre dijetarne intervencije

Tabela 19. Osnovne karakteristike ispitanika obe grupe

Karakteristike	RS grupa	DV grupa	p [†]
n	25	25	-
Muškarci (%)	40,0	36,0	0,770
Godine	58,36±6,12	56,96±6,13	0,423
Telesna masa (kg)	93,93±14,68	88,12±13,84	0,156
ITM (kg/m ²)	33,06±5,59	31,07±5,03	0,191
Obim struka (cm)	106,36±12,87	103,56±11,10	0,414
Glukoza (mmol/L)			
Natašte	6,26±0,58	6,00±0,77	0,196
2 h OGT-test	7,31±2,09	7,93±1,27	0,210
Insulin (μIU/mL)	23,10 (15,88-31,70)	21,49 (16,36-28,84)	0,306
Krvni pritisak (mmHg)			
Sistolni	133,80±12,10	137,40±15,89	0,372
Dijastolni	84,30±8,95	87,20±8,18	0,327
Hipertenzija (%)	80,0	72,0	0,741
Porodična anamneza dijabetesa (%)	60,0	56,0	0,774
Lipidi (mmol/L)			
Ukupan-holesterol	6,39±1,27	5,55±0,86	0,009
HDL-holesterol	1,15±0,22	1,07±0,23	0,236
Non-HDL-holesterol	5,24±1,22	4,47±0,81	0,013
LDL-holesterol	4,05±1,00	3,63±0,86	0,123
Trigliceridi	2,17 (1,71-3,17)	1,48 (1,29-2,08)	0,101
Dislipidemija (%)	90,9	68,0	0,119

Parametri su predstavljani kao n (%), srednja vrednost i standardna devijacija ili medijana (interkvartili);

Dislipidemija: Trigliceridi >1.7 mmol/L i/ili HDL-holesterol: < 1.03 mmol/L za muškarce i <1.29

mmol/L za žene ili korišćenje hipolipemika. Hipertenzija: sistolni krvni pritisak ≥ 140 mmHg ili dijastolni krvni pritisak ≥ 90 mmHg ili korišćenje antihipertenzivne terapije.

Na osnovu antropometrijskih parametara, vrednosti glikemije i lipemije, može se zaključiti da su ispitanici obe grupe bili gojazni sa poremećenom glikoregulacijom, u

većini slučajeva hipertenzivni, a u RS grupi i sa povećanim rizikom za razvoj kardio-vaskularnih bolesti (169).

4.2.3. Unos nutrijenata

Na osnovu upitnika koji su ispitanici popunjavali i ankete - trodnevnog dnevnika ishrane, prikupljeni su podaci o njihovom načinu ishrane pre dijetarne intervencije. Ispitanici obe grupe pre dijetarne intervencije imali su povećani energetske unos. Tome je doprineo unos visoko-energetske hrane, kao što su punomasni sirevi, konditorski proizvodi, pržena hrana, gazirani napici. Ova dijetarna intervencija je primenjivala neophodne edukacije u pogledu ishrane sa ispitanicima. Sa svakim ispitanikom je ponaosob razgovarano koje izmene treba da primeni u svojoj ishrani. Pre svega je sugerisano da se smanji količina unete hrane i da se punomasni mlečni proizvodi zamene niskomasnim, zatim pržena hrana da se zameni barenom ili kuvanom i da se poveća unos vlakana unosom nerafinisanih biljnih namirnica, odnosno da se poveća unos hrane bogate rezistentnim skrobom u RS grupi (tabela 20), uz svakodnevnu fizičku aktivnost u trajanju od minimum 30 minuta.

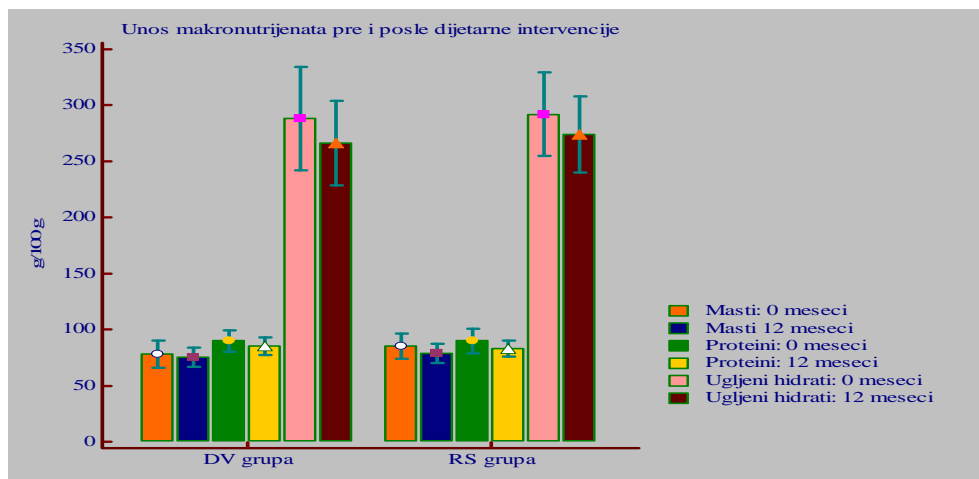
Praćenje dijetarnog unosa vršeno je u dve tačke, odnosno, pre početka dijetarne intervencije i posle dvanaest meseci. Podaci o dnevnom unosu energije i svih nutrijenata dobijeni su iz trodnevnog dnevnika ishrane ispitanika obe grupe. U tabeli 20 prikazane su vrednosti dijetarnog unosa makronutrijenata pre i posle dijetarne intervencije i odnose se na ispitanike koji su ostali do kraja dijetarne intervencije.

Na kraju dijetarne intervencije broj ispitanika u RS grupi bio je smanjen, odnosno od početnih 25 studiju je završilo 22 ispitanika. Razlog koji su naveli ispitanici je nedostatak vremena za pripremu preporučene hrane, tj. da je veoma teško da se pridržavaju preporuka i da nastave sa svakodnevnom obavezama koje imaju. U DV grupi nije bilo promene u broju ispitanika, odnosno svi su završili dvanaestomesečnu dijetarnu intervenciju.

Prema podacima dobijenim pre početka dijetarne intervencije ispitanici su generalno imali visok ukupan unos masti, proteina, ugljenih hidrata, skroba i dijetnih vlakana, što je rezultiralo i energetske unosom koji je premašivao njihove potrebe (>2200 kcal/dan). U RS grupi energetske unos je bio 2338 kcal/dnevno a u DV grupi 2258 kcal/dnevno, što predstavlja razliku od 80 kcal, koja nije bila statistički značajna. Na početku studije nije bilo razlike u procenjenim količinama unetih ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba za RS i DV grupu. Ukupan unos vlakana obe grupe bio je procenjen na 21,6 g/dnevno, a unos rezistentnog skroba na oko 6,4 g/dnevno, što predstavlja u proseku 30% ukupnih vlakana.

Tabela 20. Dnevni dijetarni unos praćenih grupa pre i posle dijetarne intervencije

Nutrient	Na početku	Posle 12 meseci	Razlika (na početku – posle 12 meseci) [†]	p	Srednja vrednost razlike [‡] (RS – DV grupa)	p
Energetski unos(kcal/dan)						
RS grupa	2337,75±543,6	2195,70±420,39	-142,04±261,77	0,019		
DV grupa	2257,86±684,86	2137,99±497,71	-119,87±243,22	0,024	22,17±73,68	0,427
Masti (g/dan)						
RS grupa	85,18±25,09	79,05±19,00	-6,13±9,18	0,005		
DV grupa	78,06±29,43	75,40±20,38	-2,66±11,24	0,246	3,47±3,02	0,102
Proteini (g/dan)						
RS grupa	89,83±24,74	83,01±16,10	-6,82±11,66	0,012		
DV grupa	89,86±22,84	85,11±18,91	-4,75±9,66	0,034	2,06±3,11	0,303
Ukupni ugljeni hidrati (g/dan)						
RS grupa	292,14±84,44	274,37±76,90	-17,77±60,99	0,186		
DV grupa	288,17±112,06	266,02±91,29	-22,15±40,80	0,017	4,38±15,35	0,777
Ukupna vlakna (g/dan)						
RS grupa	21,62±5,63	27,36±6,34	5,75±7,85	0,002		
DV grupa	21,58±6,18	27,44±7,22	5,86±5,26	<0,001	0,11 ±1,93	0,953
Rezistentan skrob (g/dan)						
RS grupa	6,42±2,25	14,72±3,19	8,30±3,76	<0,001		
DV grupa	6,32±2,58	7,52±2,32	1,20±1,74	0,003	7,09 ±0,88	<0,001
Skrob (g/dan)						
RS grupa	228,01±108,51	238,95 ±91,23	10,95 ±33,96	0,146		
DV grupa	214,75±114,35	214,64 ±73,52	-0,12 ±74,02	0,983	11,06 ±16,48	0,507



Sl. 17. Unos makronutrijenata pre i posle dijetarne intervencije

Iako je ispitanicima bilo preporučeno da unos energije smanje na 1800 kcal/dan, u stvarnosti ispitanici su posle 12 meseci premašili predloženi unos kalorija. Međutim, unos kalorija je bio značajno niži kod obe dijetarne intervencije u odnosu na početnu vrednost, tako da se u RS grupi smanjio za 142 kcal/dan, $p = 0,019$, a u DV grupi za 120 kcal/dan, $p = 0,024$. Na kraju studije ispitanici iz obe grupe su značajno smanjili unos proteina. U obe grupe unos ugljenih hidrata i masti bio je na kraju studije smanjen, ali je to smanjenje dostiglo statističku značajnost samo u DV grupi za ugljene hidrate, a za masti u RS grupi. Ukupan unos ukupnih ugljenih hidrata, skroba, proteina i masti posle 12 meseci nije se razlikovao između grupa.

Specifični cilj ove studije bio je da se poveća unos ukupnih vlakana sa dva različita nivoa unosa RS, jer brojne studije potvrđuju da vlakna i neke frakcije vlakana imaju povoljno delovanje na smanjenje nivoa glukoze u plazmi (114, 119, 170). Polazna hipoteza za ovu studiju zasnivala se na mogućnosti da različit profil vlakana u okviru iste dijetarne intervencije može imati različit efekat na faktore rizika za razvoj DMT2. RS je skrob koji izmiče varenju u tankom crevu i može biti fermentisan u debelom crevu. Prisutan je kako u sirovom tako i u termički tretiranim namirnicama. Metabolizam RS se javlja 5-7 h nakon konzumiranja hrane, za razliku od uobičajenog skroba, koji se vari skoro odmah. Za razliku od nekih drugih studija u kojima je rezistentan skrob dodavan u vidu suplementa ili funkcionalno obogaćenih namirnica

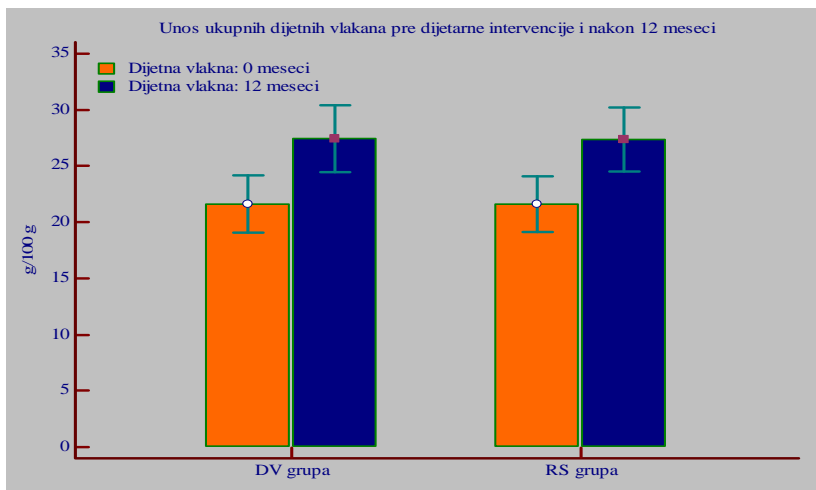
(33), u ovoj je povećanje unosa rezistentnog skroba ostvareno pažljivim odabirom namirnica koje su se u prvom delu istraživanja pokazale kao dobri izvori ove frakcije vlakana.

Za procenu unosa ukupnih dijetnih vlakana korišćeni su rezultati o unosu pojedinih namirnica iz trodnevnog dnevnika ishrane u kombinaciji sa podacima o sadržaju dijetnih vlakana u namirnicama (136, 137). Ovu, tzv. računsku metodu ili metodu ankete je bilo moguće izvesti kod procene unosa ukupnih vlakana zbog toga što su podaci o količini vlakana u namirnicama postali šire dostupni u poslednjih desetak godina.

Podaci o količini RS u namirnicama su, na žalost, retki u literaturi i nisu uvršteni u klasične tablice hemijskog sastava namirnica. Procena unosa RS kod ispitanika vršena je na osnovu kombinacije rezultata trodnevnog dnevnika ishrane i rezultata analize sadržaja RS u namirnicama sa našeg tržišta, koji predstavljaju prvi deo ove teze. Takođe su korišćeni rezultati dobijeni u prethodnim ispitivanjima drugih autora (25,136).

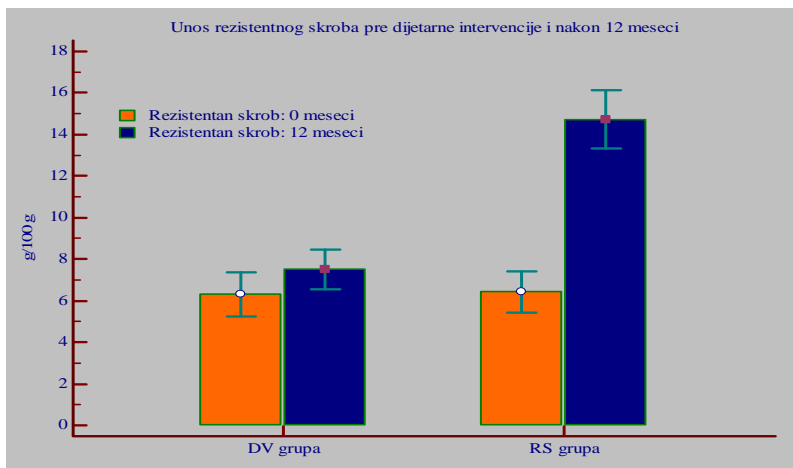
Računskim putem su dobijene vrednosti za unos RS kod naših ispitanika koje su iznosile u proseku 6,4 g/dan i to je prvi podatak o unosu rezistentnog skroba za naše stanovništvo. Ovi rezultati su veći od onih koji su prijavljene za američku (6 g/dnevno) i evropsku populaciju (3 – 6 g/dnevno) ali u skladu sa onima u australijskoj populaciji (5,2 – 8,5 g/dnevno) (25, 26).

Veće vrednosti koje su dobijene u našem istraživanju mogu se objasniti činjenicom da je ispitivanje sprovedeno na ispitanicima koji su gojazni i koji su imali povećan energetske unos i da dobijene vrednosti verovatno ne odgovaraju unosu RS u opštoj populaciji.



Sl. 18. Unos ukupnih dijetnih vlakana pre dijetarne intervencije i nakon dvanaest meseci

Na kraju studije primenjeni dijetetski režimi rezultirali su velikim razlikama u unosu RS, ali ne i u unosu ukupnih vlakana. U obe grupi unos vlakana na kraju dijetarne intervencije se povećao od 21,6 na 27,4 g /dnevno. Procenjena količina unetih ukupnih vlakana za obe grupe bila je identična, za razliku od količine RS koja se drastično promenila. Na početku studije u RS grupi procenjena količina unetog RS bila je 6,4 g/dnevno, a u DV grupi 6,3 g/dnevno, dok posle dvanaest meseci unos RS kod RS grupe bio je 14,7 g/dnevno a u DV grupi 7,5 g/dnevno. Znači procenjeni unos RS u RS grupi nakon 12 meseci povećan je više od dva puta ($p < 0,001$), tačnije za 8,3 g/dnevno dok je u DV grupi primećeno mnogo manje (1,2 g/dnevno), ali takođe značajno povećanje, kao rezultat generalno povećanog unosa vlakana ($p = 0,003$). Posle 12 meseci unos rezistentnog skroba iznosio je 53,8% od ukupnog unosa vlakana u RS grupi, dok je kod DV grupe odnos vlakna/RS ostao isti kao na početku studije.



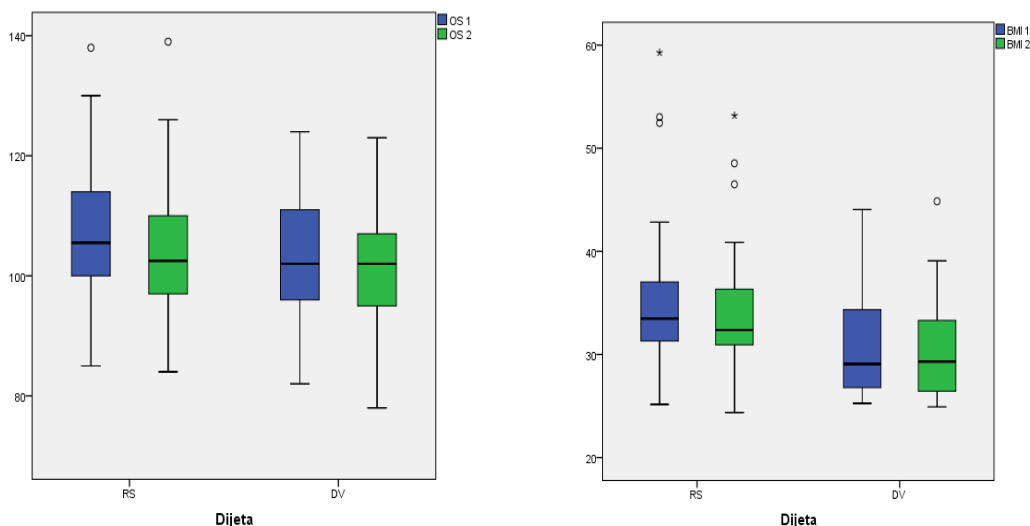
Sl. 19. Unos rezistentnog skroba pre dijetarne intervencije i nakon dvanaest meseci

4.2.4. Efekti dijetarne intervencije na faktore rizika

Obzirom da su ispitanici odabrani da učestvuju u istraživanju imali više faktora rizika, efekat dijetarnih intervencija sa dva nivoa rezistentnog skroba praćen je na osnovu promena telesne mase, promene u glikoregulaciji i promena u nivou lipida u krvi.

4.2.4.1. Efekat na telesnu masu

Preporučeni energetske unos u obe grupe nije bio ispoštovan, ali ostvareno smanjenje unosa energije uz povećanu fizičku aktivnost bilo je dovoljno da dovede do smanjenja početne telesne mase ispitanika za 4,6% u RS grupi i 2,7% u DV grupi. Takođe je došlo do značajnog smanjenja obima struka za 3,5% ($p < 0,05$) u RS grupi i 3,0% ($p < 0,001$) u DV grupi.



Sl. 20 i 21. Obim struka i indeks telesne mase kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

Ispitanici obe grupe pre početka dijetarne intervencije pripadali su grupi gojaznih, jer su imali ITM $33,8 \text{ kg/m}^2$ (RS grupa), odnosno $31,1 \text{ kg/m}^2$ (DV grupa). Pripadali su kategoriji „gojaznost I stepena“ u kojoj je ITM definisan u rasponu od 30 do $34,9 \text{ kg/m}^2$ (171). Posle dvanaest meseci, ITM kod RS grupe se smanjio za 4,2% ($32,4 \text{ kg/m}^2$), a kod DV grupe za 2,0% ($30,5 \text{ kg/m}^2$). Došlo je do značajnog smanjenja ITM u obe grupe, s tim što ispitanici nisu prešli u kategoriju „predgojaznih“ (171).

Tabela 21. Osnovna antropometrijska ispitivanja ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

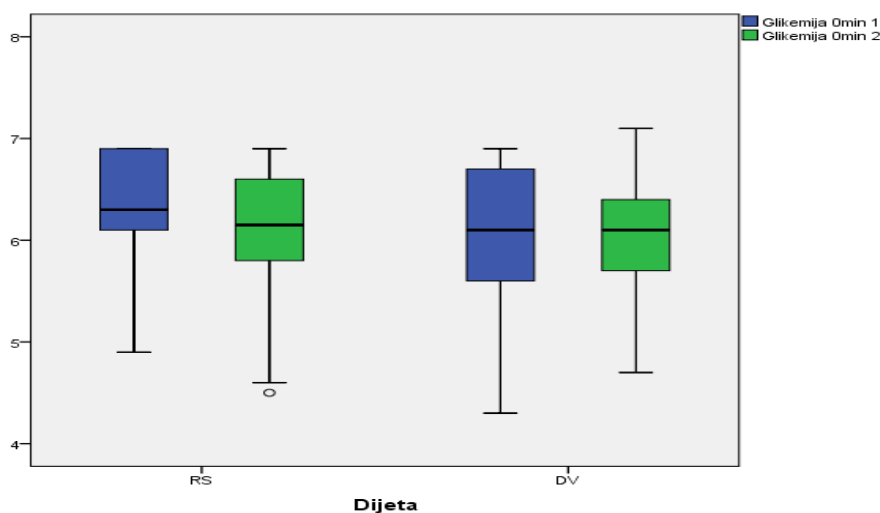
Karakteristike	RS grupa		DV grupa	
	Na početku	Posle 12 meseci	Na početku	Posle 12 meseci
Telesna masa (kg)	$94,83 \pm 15,46$	$90,45 \pm 13,59$	$88,12 \pm 13,84$	$85,76 \pm 13,85$
ITM (kg/m^2)	$33,79 \pm 5,56$	$32,37 \pm 4,75$	$31,07 \pm 5,03$	$30,46 \pm 5,00$
Obim struka (cm)	$107,77 \pm 13,08$	$103,95 \pm 11,87$	$103,56 \pm 11,10$	$100,50 \pm 10,97$

Smanjenje telesne mase za 5% je jedan od važnih ciljeva u svakoj dijetarnoj intervenciji gojaznih pacijenata, čime se istovremeno smanjuje rizik za pojavu DMT2 kod gojaznih pacijenata. Još pre tri decenije Wing sa saradnicima (172) je pokazao da mali gubitak telesne mase ima povoljno delovanje na nivo glikoziliranog hemoglobina i glikemijsku kontrolu. Mnoge novije studije, uključujući i ovu, imaju zajedničku karakteristiku koja se ogleda u dokazima da se sa promenom načina života i umerenim smanjenjem telesne mase smanjuje prevalenca DMT2 (114).

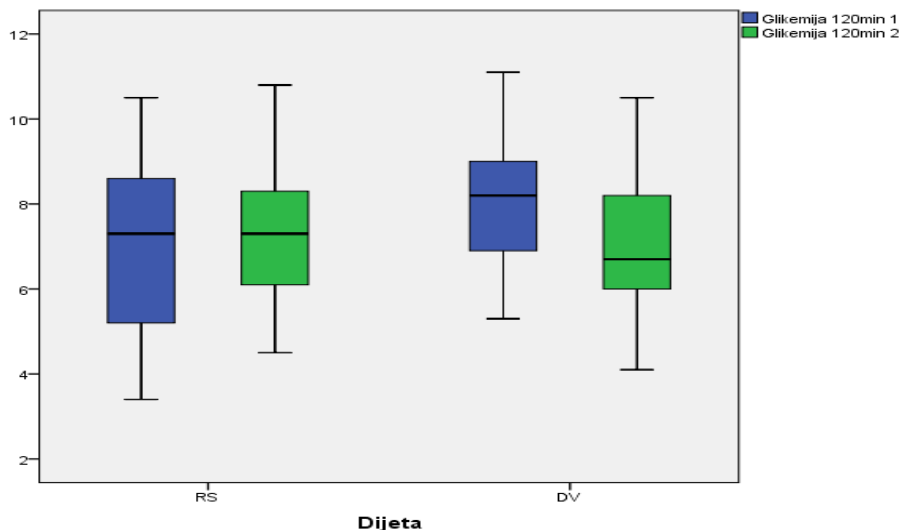
4.2.4.2. Efekat na glikoregulaciju

Učesnicima iz obe grupe određivani su glikemija našte i posle 2 h OGTT na početku studije i posle 12 meseci dijetarne intervencije, a na svaka tri meseca obavljan je konsultativni sastanak o njihovom zdravstvenom stanju (slike 22 i 23).

Kod ispitanika iz DV grupe posle dvanaest meseci nije se promenilo nivo glikemije našte, ali došlo je do značajnog smanjenja nivoa glukoze posle 2-h OGTT (7,93 naspram 6,96 mmol/L, $p = 0,034$). Nakon perioda od dvanaest meseci, nije bilo značajnog efekta na nivo glukoze našte kod učesnika iz RS grupe (6,30 v 6,09 mmol/L, $p = 0,118$), niti posle 2 h OGTT (7,02 naspram 7,31 mmol/L, $p = 0,748$).



Sl. 22. Glikemija našte kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije



Sl. 23. Glikemija posle 2 h OGTT kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

Postoje snažni dokazi koji sugerišu da intervencije koje se zasnivaju na promenama u načinu života mogu da smanje stopu progresije DMT2 kod ljudi sa oštećenom glikoregulacijom. Šestogodišnja studija (173), dizajnirana da prati uticaj samo ishrane, samo vežbanja, ili ishrane sa vežbanjem na učestalosti dijabetesa pokazala je značajno smanjene učestalosti dijabetesa. U grupi gde nije bio uključen ni jedan faktor uticaja za pojavu dijabetesa (tj. u kontrolnoj grupi), dijabetes se javio u 68% slučajeva, dok u grupi sa preporučenim načinom ishrane 44%, u grupi sa preporučenom fizičkom aktivnošću 41%, a u grupi gde se primenjivala i preporučena ishrana i vežbanje 46%. Finski Program Prevencije dijabetesa (114) pokazao je da promene u ishrani i povećanoj fizičkoj aktivnosti smanjuju rizik za pojavu dijabetesa za 58% u odnosu na 31% za koliko se smanjio rizik u grupi na terapiji sa hipoglikemikom metforminom (174).

Tabela 22. Glikemija našte, posle 2 h OGTT, insulin našte i HOMA IR kod ispitanika pre i posle dijetarne intervencije

Karakteristike	RS grupa		DV grupa	
	Na početku	Posle 12 meseci	Na početku	Posle 12 meseci
Glukoza (mmol/L)				
Našte	6,30±0,60	6,09±0,66	6,00±0,77	6,06±0,64
2 h OGT-test	7,02±2,04	7,31±1,80	7,93±1,27	6,96±1,80
Insulin	23,47	25,95	21,49	20,01
(μ IU/mL)	(15,54-32,60)	(14,40-30,87)	(16,36-28,84)	(17,49-27,51)
HOMA IR	7,60±4,62	8,16±7,84	6,19±2,27	5,95±2,34

Učesnicima u studiji bilo je preporučeno da promene način ishrane i da povećaju fizičku aktivnost na sličan način kao što je to urađeno u prethodnim studijama (114, 174), ali samo za period od 12 meseci. To bi mogao biti razlog za manji stepen normalizacije glikoregulacije uočen u našoj studiji – ukupno smanjenje za obe grupe iznosilo je 34%. Rastvorljiva vlakna su značajna u prevenciji DMT2 (119), jer povećavaju viskozitet crevnog sadržaja. Pomenuta promena može biti odgovorna za smanjenje telesne mase, smanjeni glikemijski i insulinemijski odgovor, jer hranljive materije postaju zarobljene i pražnjenje želuca kasni, a sa njim je odložena i apsorpcija unetih ugljenih hidrata. Nerastvorljiva vlakna uglavnom ne pokazuju taj efekat.

Mogući mehanizam delovanja RS na postprandijalnu glikemiju zasniva se na smanjenoj digestiji hrane bogate RS, odnosno RS kao frakcija skroba opire se digestiji i na taj način dovodi do manjeg porasta glukoze u plazmi posle obroka u odnosu na hranu koja je bogata samo svarljivim skrobom, koji dovodi do većeg oslobađanja glukoze u plazmi. Ovaj mehanizma je zajednički za sva vlakna i nije specifičnost samo za RS. Većina prethodnih studija je pratila fiziološke efekte RS koristeći RS koji je dodat redovnim obrocima, uglavnom u obliku suplemenata ili kao funkcionalna hrana i to u velikim količinama (6-30 g / obrok ili dan). U našoj studiji pokušali smo da postignemo povećani unos RS putem preporuka ispitanicima da koriste namirnice sa visokim sadržajem RS, kao što su kuvani krompir, kukuruz, pirinač, leguminoze, proso, testenine, ražane pahuljice, banane (25, 136). Detaljnijom analizom rezultata o

procenjenom unosu RS zaključuje se da u RS grupi povećan nivo ukupnih vlakana potiče isključivo od povećanog unosa RS. U DV grupi ispitanici su bili savetovani da povećaju unos ukupnih vlakana, bez akcenta na pojedine frakcije, tako da je udeo RS u ukupnim vlaknima ostao isti i na početku i na kraju studije, što znači da je ukupno povećanje unosa vlakana u ovoj grupi poticalo od ravnomernog povećanja svih frakcija vlakana, uključujući RS, ali i celulozu, arabinoksilane, pektine i druge frakcije. Prikazani rezultati su pokazali da ishrana sa povećanim sadržajem uobičajenih ukupnih vlakana ili sa povećanim sadržajem RS, poreklom iz uobičajene hrane, imaju različite efekte na glikoregulaciju kod ispitanika sa poremećenom glikoregulacijom. Pošto povećan unos vlakana i RS u obe grupe nije bio praćen povećanim unosom ukupnih ugljenih hidrata i skroba, objašnjenje za uočene efekte dijetarne intervencije može da bude različit sastav dijetnih vlakana. Obe dijetarne intervencije nisu imale značajan efekat na glikemiju našte, a 2 h OGTT je bio značajno smanjen u DV grupi, ali ne i u RS grupi, u kojoj je primećen mali ali neznan porast. Naša DV grupa pokazala je značajno smanjen nivo glukoze nakon 2h OGTT na isti način kao što je pokazano u interventnoj grupi finske studije (114). Iako je u obe naše grupe unos vlakana povećan sa 21 na 27 g/dan i dostigao preporučeni nivo, ishrana bogata u RS bila je manje efikasna u glikoregulaciji. U grupi DV, RS je učestvovao sa 27.4% u ukupnim vlaknima, dok je udeo RS u RS grupi bio 53.8%. Maki i saradnici su 2012. ispitivali efekat 15 ili 30 g/dan RS poreklom od visoko amiloznog tipa kukuruza kod gojaznih ispitanika. Oni su zaključili da visok unos prehrambenog RS povećava osetljivost na insulin. U našoj studiji ukupno povećanje RS u grupi RS iznosilo je približno 8 g/dan i to može objasniti nedostatak uticaja na glikoregulaciju.

Naš rezultat takođe ukazuje na to da je dodatno povećanje unosa RS od 15-30 g/dan, koje je pokazalo pozitivne efekte na glikoregulaciju u drugim studijama, gotovo nemoguće postići koristeći kombinacije namirnica koje se uobičajene u ishrani, već samo suplementacijom ili obogaćivanjem hrane.

4.2.4.3. Efekat na lipidni status

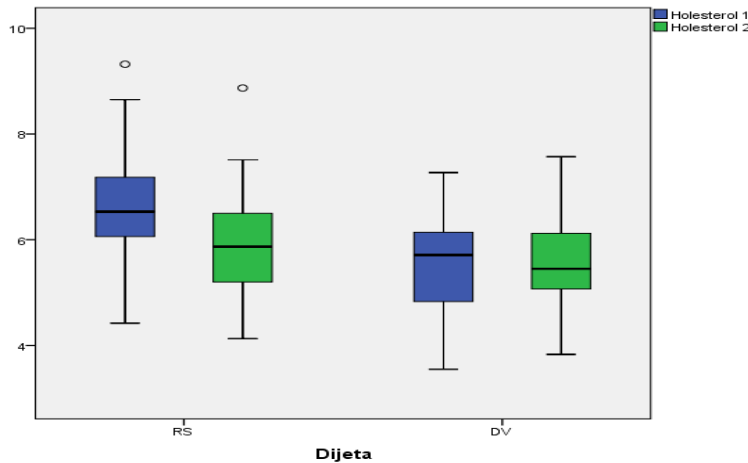
Ispitanici koji su regrutovani u ovom istraživanju imali su visoku prevalencu dislipidemije, koja je bila izraženija u RS grupi. Od ispitanika koji su ostali do kraja u istraživanju, ispitanici iz RS grupe imali su visok procenat dislipidemije (83,3%) u odnosu na DV grupu (60,9) iako ta razlika nije bila statistički značajna ($p=0,329$). Jedan broj ispitanika iz obe grupe koji je završio istraživanje koristio je tokom celog perioda istraživanja hipolipemike prema odluci lekara. Ovi ispitanici nisu uzeti u obzir prilikom obrade podataka o efektima dijetarnih intervencija na profil lipida krvi. U tabeli 23 su prikazani rezultati ispitivanih serumskih lipida samo za ispitanike koji nisu koristili antilipemičku terapiju tj. za 12 ispitanika u grupi RS i 23 ispitanika u DV grupi.

Tabela 23. Lipidni profil ispitanika pre i posle dijetarne intervencije

Promenljive	RS grupa			DV grupa			p^{\ddagger}
	Na početku	Posle 12 meseci	p	Na početku	Posle 12 meseci	p	
<i>Lipidi (mmol/L)</i>							
Ukupan holesterol	6,51±0,98	5,71±0,74	0,010	5,63±0,79	5,62±0,88	0,991	0,208
HDL-holesterol	1,19±0,30	1,15±0,23	0,311	1,08±0,24	1,22±0,36	0,036	0,086
Non-HDL-holesterol	5,32±0,94	4,56±0,73	0,010	4,55±0,75	4,40±0,88	0,783	0,287
LDL-holesterol	4,21±0,75	3,66±0,62	0,031	3,70±0,81	3,60±0,75	0,811	0,402
Trigliceridi	2,04 (1,46-3,21)	2,22 (1,27-3,07)	0,170	1,43 (1,24-2,11)	1,47 (1,09-1,88)	0,789	0,763

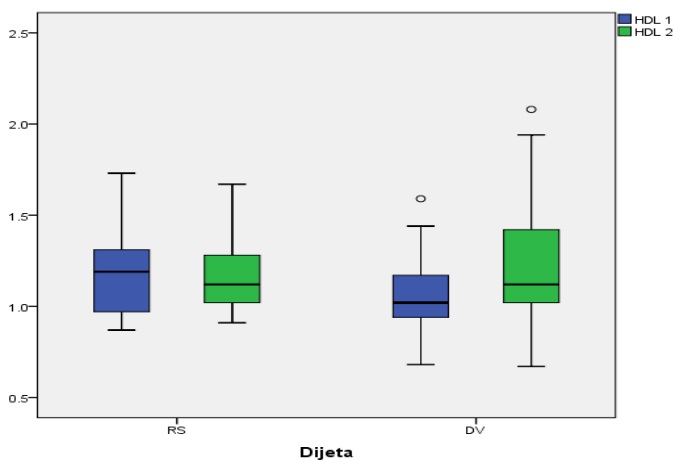
Na početku istraživanja statistički značajna razlika između ispitanika obe grupe koji nisu koristili antilipemičku terapiju bila je samo za ukupan holesterol ($p=0,007$) i non-HDL-holesterol ($p=0,012$). Pre početka dijetarne intervencije kod ispitanika iz DV grupe vrednosti za ukupan holesterol bile su neznatno povećane, dok su ispitanici iz RS

grupe imali visoko-rizične vrednosti (rizik od ateroskleroze, kardiovaskularna oboljenja, DMT2 i metabolički sindrom), za naznačeni parametar (168), dok je vrednost za non-HDL-holesterol i kod jedne i kod druge grupe pripadala visoko-rizičnoj grupi.



Slika 24. Ukupan holesterol kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

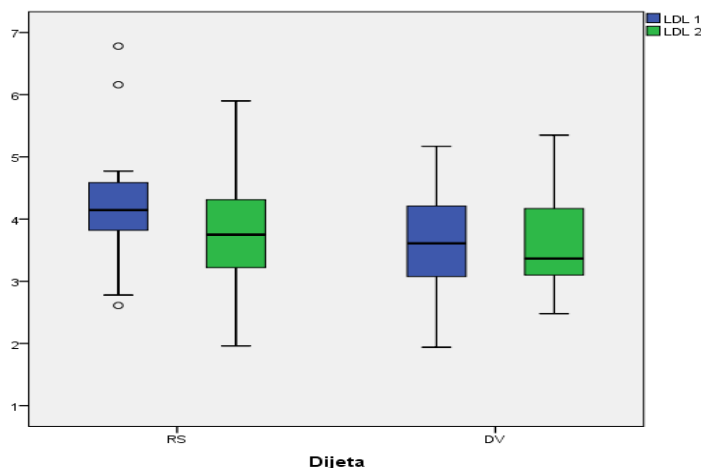
Ukupan i LDL-holesterol bili su neznatno povećani na početku studije kod ispitanika iz DV grupe i oni su na približno istom nivou ostali do kraja studije. Na kraju studije nisu primećene promene ni na nivou triglicerida, koji su na početku studije bili u granicama normalnih vrednosti (<1,7 mmol/L) (168). Jedino je kod HDL-holesterola uočena značajna promena, koji je nakon 12 meseci dijetarne intervencije primenjene u DV grupi, bio značajno povećan (+12,96%, $p = 0,036$).



Slika 25. HDL-holesterol kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

Na početku studije u RS grupi kod ispitanika koji nisu koristili antilipemičnu terapiju, vrednosti za nivo ukupnog holesterola (6,51 mmol/L), LDL-holesterola (4,21 mmol/L) i non-HDL-holesterola (5,32 mmol/L), bili su u visoko-rizičnoj grupi, a trigliceridi (2,04 mmol/L) i HDL-holesterol (1,19 mmol/L) u grupi sa granično povišenim rizikom.

U ovoj grupi nakon 12 meseci ukupan holesterol bio je značajno smanjen (-12,3%, $p = 0,010$), kao i non-HDL-holesterol (-14,3%, $p = 0,010$) i LDL-holesterol (-13,1%, $p = 0,031$). Jedino se nivo triglicerida, blago povećao, ali bez statističke značajnosti. Nakon 12 meseci vrednosti za ukupan holesterol u RS grupi su i dalje ostali u visoko-rizičnoj kategoriji, dok su vrednosti za non-HDL-holesterol i LDL-holesterol iz kategorije visokog rizika prešle u grupu sa granično povećanim rizikom. U RS grupi su trigliceridi i HDL-holesterol ostali u kategoriji u kojoj su bili i pre dijetarne intervencije (168).



Slika 26. LDL-holesterol kod ispitanika obe grupe pre i posle dijetarne intervencije

Dijetarna intervencija koja je u osnovi imala preporuku o različitom unosu RS bez razlike u unosu makronutrijenata pokazala je različit efekat na lipidni status. Ako se ima u vidu da su u upitnicima o otkrivanju rizika za pojavu DMT2, ispitanici obe grupe pre početka intervencije prijavili da imaju kontinuiranu fizičku aktivnost u trajanju od pola sata dnevno i da su taj nivo fizičke aktivnosti zadržali i posle 12 meseci, može se zaključiti da sama fizička aktivnost nije uticala na uočene promene. Činjenica je da su ispitanici iz RS grupe imali veći lipidni poremećaj pre početka intervencije, što je moglo da utiče na različit efekat uočen u dve interventne grupe. Iako je na kraju studije unos ugljenih hidrata, skroba i masti bio bez značajnih razlika između grupa, ne treba

zaboraviti da su promene do kojih je došlo tokom dijetarne intervencije, u suštini bile različite u RS i DV grupi zbog različitih početnih vrednosti. U RS grupi došlo je do statistički značajnog smanjenja unosa masti za -6,13 g/dnevno ($p=0,005$), bez statistički značajnog smanjenja u DV grupi: -2,66 g/dnevno ($p=0,246$). Takođe, značajno smanjenje je zabeleženo u unosu ukupnih ugljenih hidrata u DV grupi: -22,15 g/dnevno, ($p=0,017$) bez značajnih promena u unosu u RS grupi: -17,77 g/dnevno ($p=0,186$). Faktori koji, pored razlika u sastavu frakcije vlakana, možda imaju važnu ulogu u stabilizaciji lipida, su pomenuti značajno sniženi unos masti u RS grupi, koji nije viđen u DV grupi, kao i povećani početni nivoi holesterola u RS grupi. Moguće je da dijetarna intervencija intenzivnije deluje na one osobe sa višim početnim vrednostima (RS grupa) u odnosu na one sa normalnom lipemijom (DV grupa). Dokazano je da rastvorna vlakna povoljno deluju na smanjenju ukupnog i LDL-holesterola (175 - 178). Anderson i saradnici su 1994. godine proučavali uticaj rastvorljivih vlakana iz ovasa i pasulja na nivo serumskih lipida kod hiperholesterolemičnih ispitanika. U njihovoj studiji srednja koncentracija HDL-holesterola je smanjena za 20% nakon 3 nedelje, ali nakon 99 nedelja koncentracija HDL-holesterola bila je za 9% veća od početne vrednosti. Kad je u pitanju RS, manje je podataka o njegovom delovanju na lipide. Efekti RS na lipidne parametre retko su ispitivani u studijama sa humanom populacijom. U studiji sa hrčcima dijete sa vlaknima tj. ovsenim vlaknima (9,9%) i manioka skrobom sa dodatih 9,7% RS su pokazale hipoholesterolemičan efekat, tj. smanjenje ukupnog holesterola, LDL + VLDL-holesterola i triglicerida (180). Ipak, i pored malog broja podataka, postoje dokazi koji ukazuju na njegov hipoglikemični i hipoholesterolemični efekat, kao i na povećanje insulinske senzitivnosti (119, 165).

Rezultati naše studije ukazuju da primenjeni različiti profili vlakana u dijetarnoj intervenciji potencijalno mogu biti značajan faktor od kog zavisi nivo i profil uticaja na lipidni status. U našoj studiji u DV grupi nije bilo nikakvog značajnog uticaja na nekoliko lipidnih parametara, tj. na nivo ukupnog i LDL-holesterola, ali povećanje HDL-holesterola je bilo značajno posle 12 meseci (12,9%). Sa druge strane, našli smo izraženiji efekat na lipidni status (ukupni, LDL-holesterol, i non-HDL-holesterol) kod ispitanika iz RS grupe koji je i bio veći na početku studije u odnosu na DV grupu. U RS grupi značajno se smanjio ukupan-holesterol, non-HDL-holesterol i LDL-holesterol nakon 12 meseci (12,3%, 14,3% i 13,1%, redom) ali se nije povećao nivo HDL-

holesterola. Na kraju studije ukupan energetski unos, unos masti, ugljenih hidrata, i skroba u obe grupe se nisu razlikovali značajno, pa prikazani efekti mogu da bude posledica različitog sastava vlakana.

Mehanizam hipolipidemičnog dejstva visoko vlaknaste ishrane je smanjena apsorpcija holesterola u crevima uz istovremeno povećanog fekalnog izlučivanja holesterola.

Viskoznost se smatra važnim faktorom, iako su rastvorljivost i molekularna masa vlakana jako bitni kada je u pitanju njihova sposobnost da smanje nivo holesterola (180), što ukazuje da profil vlakna može biti od presudnog značaja za ukupan efekat vlakana na nivo lipida. Efekat smanjenja ukupnog i LDL-holesterola najčešće je u sprovedenim istraživanjima praćen u kratkom vremenskom intervalu, od par nedelja do nekoliko meseci, i to uglavnom preko delovanja rastvorljivih vlakana, kao što su beta-glukan i guar gume, i hidroksipropilmetilceluloze kao nerastvorljivog vlakna, a koji se ispitanicima davao u obliku suplemenata (119,165). Velika fermentabilnost pektina, gume, sluzi i RS može biti uzrok njihovog efekta na snižavanje nivoa lipida, zajedno sa efektima njihovih proizvoda metabolizma, kao što su kratkolančane masne kiseline, koje se apsorbuju i koncentrišu u jetri i inhibiraju holesterogenezu (181).

Pomenuti mehanizmi mogu biti faktori koji stoje iza različitih rezultata dobijenih u našoj studiji, nakon dijetarne intervencije sa različitim profilima vlakana.

5. Zaključci

U skladu sa postavljenim ciljevima studije, a na osnovu rezultata sprovedenih ispitivanja mogu se doneti sledeći zaključci:

- Analizom namirnica koji su deo tradicionalne ishrane srpske populacije ili su u skorije vreme to postale, u pogledu sadržaja ukupnih dijetnih vlakana i pojedinih frakcija vlakana (arabinoksilan, beta-glukan, fruktan, rezistentan skrob i celuloza), zaključeno je da su značajni izvori ukupnih dijetnih vlakana i naznačenih frakcija: pšenično/ražani i integralni hleb; ovsene, ražane i ječmene pahuljice, kao i kuvana pšenica. Značajan izvor ukupnih vlakana, i frakcije: arabinoksilana, fruktana, rezistentnog skroba i celuloze, uz odsustvo beta-glukana su: pasulj, grašak i badem. Značajan izvor ukupnih vlakana, kao i celuloze su: bobičasto voće i zeleno povrće.
- Značajne količine rezistentnog skroba nalaze se kako u pojedinim vrstama žitarica tako i u pojedinim vrstama voća i povrća. Namirnice koje sadrže visok procenat rezistentnog skroba, su: termički tretirane namirnice (procesom kuvanja: krompir, grašak, pasulj, pasta, šećerac, pšenica); zatim pšenično/ražani i integralni hleb; ražane i ječmene pahuljice; banana i indijski orah. Navedene namirnice korišćene su u dijetarnoj intervenciji kao izvori rezistentnog skroba.
- Dijetarna intervencija koja je pratila uticaj povećanog unosa ukupnih dijetnih vlakana (DV grupa) kao i povećanog unosa ukupnih dijetnih vlakana sa definisanom količinom rezistentnog skroba (RS grupa), iz različitih dijetarnih izvora, na smanjenje faktora rizika za pojavu dijabetesa melitusa tipa 2, kod gojaznih pacijenata sa poremećenim nivoom glukoze našte (IFG) i smanjenom tolerancijom na glukozu (IGT), dovela je do značajnog smanjenja telesne mase i obima struka, ali i do različitih efekata na glikemiju i lipidni status kod obe grupe ispitanika (DV grupa i RS grupa).
- Dijetarna intervencija koja je pratila uticaj povećanog unosa ukupnih dijetnih vlakana sa definisanom količinom rezistentnog skroba (RS grupa) nije dovela do

značajnog smanjenja nivoa plazma glukoze i nivoa plazma glukoze posle drugog sata OGTT.

- Dijetarna intervencija sa povećanim sadržajem ukupnih vlakana i definisanom količinom RS (RS grupa), dovela je do značajnog smanjenja nivoa ukupnog holesterola, non-HDL-holesterola i LDL-holesterola.
- Dijetarna intervencija koja je pratila uticaj povećanog unosa ukupnih dijetnih vlakana (DV grupa), dovela je do značajnog smanjenja nivoa plazma glukoze posle drugog sata OGTT.
- Dijetarna intervencija sa povećanim sadržajem ukupnih dijetnih vlakana (DV grupa), dovela je do značajnog povećanja HDL-holesterola.
- Hrana bogata ukupnim vlaknima kao i ukupnim vlaknima sa povećanim sadržajem rezistentnog skroba nije pokazala statistički značajan efekat na insulinsku senzitivnost ni u jednoj grupi ispitanika.
- Promena životnog stila, u skladu sa opštim preporukama medicinske nutritivne terapije, vezanim za optimalni način ishrane i povećanu fizičku aktivnost, kao i posebnim preporukama vezanim za povećani unos ukupnih dijetnih vlakana i rezistentnog skroba može sprečiti ili odložiti nastanak dijabetes melitusa tipa 2.

Literatura

1. Grujić R, Miletić I. Nauka o ishrani čovjeka, knjiga prva, Tehnološki fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, 2006.
2. European Commision. Draft commision directive: amending directive 90/496/Eec. Available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/consultation/cwd> (accessed 20 May 2008).
3. Rosamond WD. Dietary fiber and prevention of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 57–59
4. Chau CF, Huang YL. Effects of the insoluble fiber derived from *Passiflora edulis* seed on plasma and hepatic lipids and fecal output. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49: 786-90.
5. Slavin JL. Dietary fiber and body weight. *Nutr* 2005; 21: 411-8.
6. American Association of Cereal Chemists. Report of the Dietary Fiber Definition Committee. The definition of dietary fiber. *Cereal Food World* 2001; 46: 112–126.
7. Manthey FA, Hareland GA, Huseby DJ. Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. *Cereal Chem* 1999; 76: 417–420.
8. Newman RK, Newman CW, Graham H. The hypocholesterolemic function of barley b-glucan. *Cereal Food World* 1989; 34: 883–886.
9. Sherry CL, Kim SS, Dilger RN, Bauer LL, Moon ML, Tapping RI, Fahey GC, Tappenden KA, Freund GG. Sickness behavior induced by endotoxin can be mitigated by the dietary soluble fiber, pectin, through up-regulation of IL-4 and Th2 polarization. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 631-640.
10. American Association of Cereal Chemists. Report by the AACC Dietary Fiber Technical Committee. All dietary fiber is fundamentally functional, *Cereal Foods World* 2003; 48: 128–132.
11. Gibson G, Roberfroid M. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J Nutr* 1995; 1401-1412
- 12 Jenkins DJ, Wolever TM, Collier CR, Ocana A, Rao AV, Buckley G, Law Y, Mayer A, Thomson LU. Matabolic effects of a low-glycemic-index diet. *Amer J Clin Nutr.* 1987; 46: 986-995

- 13 Jackson AA. Aminoacids: essential and non-essential? *Lancet* 1983; 1:1034-1037.
- 14 Wood PJ; Weisz J, Fedec P. Potential for Beta-Glucan Enrichment in Brans Derived from Oat (*Avena sativa* L.) Cultivars of Different (1→3),(1→4)-Beta-D-Glucan Concentrations. *Cereal Chem* 1991; 68: 48-5
15. Wood PJ, Arrigoni E, Miller SS, Amadò R. Fermentability of oat and wheat fractions enriched in beta-glucan using human fecal inoculation. *Cereal Chem* 2002; 79: 445-54.
16. Cugnet-Anceau C; Nazare JA, Biorklund M, Le Coquil E, Sassolas A; Sothier M, Holm J, Landin-Olsson M, Onning G, Laville, M, Moulin PA. Controlled study of consumption of beta-glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. *Br J Nutr* 2010; 103: 422-428.
17. Braaten JT, Wood PJ, Scott FW, Wolynetz MS, Lowe MK, Bradley-White P, Collins MW. Oat beta-glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48: 465-474.
18. Pariyarath S. Thondre C, Jeya K. Henry. High-molecular-weight barley β -glucan in chapatis (unleavened Indian flatbread) lowers glycemic index. *Nutr Res* 2009; 29: 480–486.
19. Li C, Uppal M. Canadian Diabetes Association National Nutrition Committee Clinical Update on Dietary Fibre in Diabetes: Food Sources to Physiological Effects. *Can J diabetes* 2010; 34: 355-361
20. Jovan Anđić. Osnovi medicinske biohemije. Medicinska knjiga Beograd-Zagreb 1987
22. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: S33–S50.
21. Englyst HN, Wiggins HS, Cummings JH. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* 1982; 107: 307–18.
23. Behall KM, Howe JC. Resistant starch as energy. *J Am Coll Nutr* 1996; 15: 248–53.
24. Aust L, Dongowski G, Frenz U, Tafel A, Noack R. Estimation of available energy of dietary fibres by indirect calorimetry in rats. *Eur J Nutr* 2001; 40: 23-9.

25. Marphy MM, Douglass JS, Birkett A. Resistant Starch Intakes in the United States. *J Am Diet Assoc* 2008; 108: 67-78.
26. Landon S, Colyer CGB, Salman H. The Resistant Starch Report: An Australian update on health benefits, measurement and dietary intakes. http://foodaust.com.au/wp-content/uploads/2012/04/Hi_Maize-supplement_web.pdf. Accessed online March 2013.
27. So P-W, Yu W-S, Kuo Y-T, Wasserfall C, Goldstone AP, et al. Impact of Resistant Starch on Body Fat Patterning and Central Appetite Regulation. *PLoS ONE* 2007; 2: 1309.
28. Guillon F, Champ MJ. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Br J Nutr* 2002; 88: S293-S306.
29. Warren JM, Henry CJ, Simonite V. Low glycemic index breakfasts and reduced food intake in preadolescent children. *Pediatrics* 2003; 112: 414.
30. Higgins JA, Higbee DR, Donahoo WT, Brown IL, Bell ML, Bessesen DH. Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutr & Metabolism* 2004; 1: 8-18.
31. Raben A, Tagliabue A, Christensen NJ, Madsen J, Holst JJ, Astrup A. Resistant starch: The effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 544-551.
32. Reader D, Johnson ML, Hollander P, Franz M. Response of resistant starch in a food bar vs. two commercially available bars in persons with type II diabetes mellitus. *Diabetes* 1997; 46: 254A.
33. Maki KC, Pelkman CL, Finocchiaro ET, Kelley KM, Lawless AL, Schild AL, Rains TM. Resistant Starch from High-Amylose Maize Increases Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Men. *J Nutr* 2012; 142: 717-723.
34. Vonk RJ, Hagedoorn RE, De Graaff R, Elzinga H, Tabak S, Yang Y-X, Stellaard F. Digestion of so-called resistant starch sources in the human small intestine. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 432-438.
35. Giacco R, Clemente G, Brighenti F, Mancini M, D'Avanzo A, Coppola S, Ruffa G, La sorella G, Riviaccio AM, Rivellese A, Riccardi G. Metabolic effects of resistant starch in patients with Type 2 diabetes. *Diab Nutr Metab* 1998; 11:330-335.

36. Robertson MD, Currie JM, Morgan LM, Jewell DP, Frayn KN. "Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects". *Diabetologia* 2003; 46: 659–65.
37. Robertson MD, Bickerton AS, Dennis AL, Vidal H, Frayn KN. "Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism". *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 559–67.
38. Schwartz A, Lehmann U, Jacobasch G, Blaut M. Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing *Eubacterium* spp. in the human intestine. *J Appl Microbiol* 2002; 93: 157-62.
39. Guillon F, Champ MJ. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Brit J Nutr* 2002; 88: 293–306.
40. Whitehead RH, Young GP, and Bhathal PS. Effects of short chain fatty acids on a new human colon carcinoma cell line (LIM1215). *Gut* 27: 1457–1463, 1986.
41. Brown I. Complex carbohydrates and resistant starch. *Nutr. Rev.*, 1996, 54, S115–S119.
42. Heaton KW. Gall stone prevention. In *Bile acids and diseases*. Lancaster: MTP Press 1988; 57–169.
43. Han KH, Fukushima M, Kato T, Kojima M, Ohba K, Shimada K, Sekikawa M, Nakano M. Enzyme-resistant fractions of beans lowered serum cholesterol and increased sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats. *Lipids* 2003; 38: 919–24.
44. Wood PJ. Cereal β -glucans in diet and health. *J Cereal Sci* 2007; 46, 230-238.
45. Izydorczyk MS, Biliaderis CG, Macri LJ, MacGregor AW. Fractionation of oat (1→3,1→4)- β -D-glucans and characterisation of the fractions. *J. Cereal Sci* 1998a; 27: 321-325.
46. Izydorczyk MS, Macri LJ, MacGregor AW. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides. I. Water-extractable β -glucans and arabinoxylans. *Carbohydr. Polym* 1998b; 35: 249-258.
47. Johansson L, Tuomainen P, Ylinen M, Ekholm P, Virkki L. Structural analysis of water-soluble and -insoluble β -glucans of whole-grain oats and barley. *Carbohydr Polym* 2004; 58: 267–274.

48. Izydorczyk MS, Storsley J, Labossiere D, MacGregor AW, Rossnagel BG. Variation in total and soluble β -glucan content in hullless barley: Effects of thermal, physical, and enzymic treatments. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48: 982-989.
49. Hughes SA, Shewry PR, Gibson GR, McCleary BV, Rastall RA. In vitro fermentation of oat and barley derived beta-glucans by human faecal microbiota. *FEMS Microbiology Ecology* 2008; 64: 482–493.
50. Lin B, Gong J, Wang Q, Cui S, Yu H, Huang B. In vitro assessment of the effects of dietary fibers on microbial fermentation and communities from large intestinal digesta of pigs. *Food Hydrocolloids* 2001; 25: 180-188.
51. Ellegard L, Andersson H. Oat bran rapidly increases bile acid excretion and bile acid synthesis: an ileostomy study *Eur J. Clin Nutr.* 2007; 61: 938-945.
52. Reid D, Montoya M, Taylor P, Borrow P, Gordon S, Brown G, Simon, Wong S. Expression of the β -glucan receptor, Dectin-1, on murine leukocytes in situ correlates with its function in pathogen recognition and reveals potential roles in leukocyte interactions. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 86-94.
53. Blackwell J. The macromolecular organization of cellulose and chitin. In *Cellulose and other natural polymer systems* (R. M. Brown, Jr., ed.). New York: Plenum Press 1982.
54. Blackwell J, Marchessault RH. Infrared spectroscopy of cellulose. In *Cellulose and cellulose derivatives* (N. Bikales and L. E. Segal, eds) New York: Wiley-Interscience 1971.
55. Nakaji S, Ishiguro S, Iwane S, Ohta M, Sugawara K, Sakamoto J et al. The prevention of colon carcinogenesis in rats by dietary cellulose is greater than the promotive effect of dietary lard as assessed by repeated endoscopic observation. *J Nutr* 2004; 134: 935–939.
56. Mastutik G, Putra ST, Martoprawiro SS. The effect of cellulose on apoptosis of colon epithelial cells of balb/c mice that induced by 9,10-dimethyl- 1,2-benz(a)anthracene. *Folia Medica Indonesiana* 2004; 40: 90–98.
57. Vardakou M, Katapodis P, Topakas E, Kekos D, Macris BJ, Christakopoulos P. Synergy between enzymes involved in the degradation of insoluble wheat flour arabinoxylan. *Innov Food Sci Emerg* 2004; 5: 107-112.

58. Ring SG, Selvendran RR. Isolation and analysis of cell wall material from beeswing wheat bran (*Triticum aestivum*). *Phytochemistry* 1980; 19: 1723–1730.
59. Maires DJ, Stone BA. Studies on wheat endosperm. I. Chemical composition and ultrastructure of the cell walls. *Aust J Biol Sci* 1973; 26: 793–812.
60. Selvendran RR, Robertson JA. In: *Dietary Fibre: Chemical and Biological Aspects*. Southgate DAT, Waldron K, Johnson IT, Fenwick GR, editor. Cambridge: Royal Society of Chemistry Special Publication No 83. Royal Society of Chemistry; 1990. The chemistry of dietary fibre: a holistic view of the cell wall matrix; pp. 27–43.
61. Anderson R, Aman P. Cereal arabinoxylan: occurrence, structure and properties. In: *Advanced Dietary Fibre Technology* (edited by B.V. McCleary & L. Prosky). 2000; 301–314. Oxford: Blackwell Science.
62. Lu ZX, Walker KZ., Muir JG, Mascara T, O’Dea K. Arabinoxylan fiber, a byproduct of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1123–1128.
63. Broekaert WF, Courtin CM, Verbeke K, Van de Wiele T, Verstraete W, Delcour JA. Prebiotic and other health-related effects of cereal-derived arabinoxylans, arabinoxylan-oligosaccharides, and xylooligosaccharides. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011; 51: 178–94.
64. Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: A pilot study. *Eur J of Clin Nutr* 2006; 60: 567–572.
65. Van den Heuvel EG, Muys T, van Dokkum W, Schaafsma G. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Am J of Clin Nutr*, 1999; 69: 544–548.
66. Brighenti F. Dietary fructans and serum triacylglycerols: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Nutr* 2007; 137: 2552S–2556S.
67. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004; 17: 259–275.
68. Tokunaga T, Nakada Y, Yasuhito T, Hirayama M, Hidaka H. Effects of Fructooligosaccharides Intake on the Intestinal Microflora and Defecation in Healthy Volunteers. *Bifidus* 1993; 6: 143-150.
69. Gidenne T. Effect of fibre level, particle size and adaptation period on digestibility and rate of passage as measured at the ileum and in the faeces in the adult rabbit. *Br J Nutr* 1992; 67: 133-146.

70. Cherbut C, Barry JL, Lairon D, Durand M eds. Dietary fibre – Mechanisms of action in human physiology and metabolism. 1995 Paris, France: John Libbey Eurotext.

71. Kelsay JL, Behall KM, Prather ES. Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. I. Bowel transit times, number of defecations, fecal weight, urinary excretions of energy and nitrogen, and apparent digestibilities of energy, nitrogen and fat. *Am J Clin Nutr* 1978; 31, 1149-1153.

72. Topping DL, Bird AR. Food, nutrients and digestive health. *Aust J Nutr Dietet* 1999; 56: S22-S34.

73. Bennett P, Knowler W. Definition, Diagnosis, and Classification of Diabetes Mellitus and Glucose Homeostasis. In: Kahn R, Weir G, King G, Jacobson A, Moses A, Smith R, eds. *Joslin's Diabetes Mellitus selected Chapters*. 14th ed. Boston: Lippincott Williams and Wilkins 2005; p: 105-113.

74. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse Diabetes mellitus, Beograd, 2012

75. Hribal ML, Oriente F, Accili D. Mouse models of insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 doi: 10.1152/ajpendo.00561.2001.

76. Blaton V, Korita I, Bulo A. Kako je metabolički sindrom povezan s dislipidemijom? *Biochemia Medica* 2008; 18: 14-24.

77. Bloomgarden TZ. Diabetes and obesity. *Diabetes care* 2000; 23: 118-124.

78. Guyton A, Hall J. *Textbook of Medical Physiology*, Mississippi, USA, 2001.

79. Vega, GL. Cardiovascular outcomes for obesity and metabolic syndrome. *Obes Res* 2002; 10: 27S-32S.

80. Vener RM, Segal TY, Lichtarovitz-Krynska E, Hindmarsh P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child* 2005; 90: 10–14.

81. Pi-Sunyer X, Blackburn G, Brancati LF et al. Reduction in weight and cardiovascular disease risk factors in individuals with type 2 diabetes: one-year results of the look AHEAD trial. *Diabetes Care* 2007; 30: 1374–1383.

82. Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med* 2004; 1: 210-217.

83. Cheskin LJ. The pathogens are speaking: are we listening? *J Nutr* 2001; 131: 2809S–10S.

84. Kavanagh K, Jones KL, Sawyer J, Kelley K, Carr JJ, Wagner JD, Rudel LL. Trans fat diet induces abdominal obesity and changes in insulin sensitivity in monkeys. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15: 1675–84.
85. Oken E, Gillman MW. Fetal origins of obesity. *Obes Res* 2003; 11: 496 – 506.
86. Thomas DE, Elliott EJ, Baur L. Low glycaemic index or low glycaemic load diets for overweight and obesity. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 18: 1-38.
87. Bahceci M, Gokalp D, Bahceci S, Tuzcu A, Atmaca S , Arikan S. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 210–4.
88. De Ferranti S, Mozaffarian D. The Perfect Storm: Obesity, Adipocyte Dysfunction, and Metabolic Consequences. *Clin Chem* 2008; 54: 945–955.
89. Avram MM, Avram AS, James WD. Subcutaneous fat in normal and diseased states 3. Adipogenesis: from stem cell to fat cell. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 472–92.
90. Drolet R, Richard C, Sniderman AD, Mailloux J, Fortier M, Huot C, et al. Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32: 283–91.
91. Larsen TM, Toubro S, Astrup A. PPARgamma agonists in the treatment of type II diabetes: is increased fatness commensurate with long-term efficacy? *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 147–61.
92. Hirsch J, Fried SK, Edens NK, Leibel RL. The fat cell. *Med Clin North Am* 1989; 73: 83–96.
93. Harman-Boehm I, Bluher M, Redel H, Sion-Vardy N, Ovadia S, Avinoach E, et al. Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2240 –7.
94. Prabhakaran (Babu) Balagopal, Chair; Sarah D. de Ferranti, MPH, Co-Chair; Stephen Cook, Stephen R. Daniels, Samuel S. Gidding, Laura L. Hayman, Brian W. McCrindle, Michele L. Mietus-Snyder; Julia Steinberger. *Nontraditional Risk Factors*

and Biomarkers for Cardiovascular Disease: Mechanistic, Research, and Clinical Considerations for Youth. *Circulation* 2011; 123: 2749-2769.

95. Gregor MF, Hotamisligil GS. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J Lipid Res* 2007; 48: 1905–14.

96. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature (Lond)* 2002; 420: 333–6.

97. Aguirre V, Uchida T, Yenush L, Davis R, White MF. The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem* 2000; 275: 9047–54.

98. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 102–10.

99. Kaneto H, Nakatani Y, Kawamori D, Miyatsuka T, Matsuoka TA, Matsuhisa M, Yamasaki Y. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic betacell dysfunction and insulin resistance. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 782–93.

100. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752–61.

101. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev* 2008; 29: 42–61.

102. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23: 599–622.

103. Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev* 2007; 21: 1443–55.

104. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science (Wash DC)* 2003; 300: 1140–2.

105. Imoto K, Kukidome D, Nishikawa T, Matsuhisa T, Sonoda K, Fujisawa K, et al. Impact of mitochondrial reactive oxygen species and apoptosis signal-regulating kinase 1 on insulin signaling. *Diabetes* 2006; 55: 1197–204.
106. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature (Lond)* 2006; 440: 944–8.
107. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595–9.
108. Schaffer JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 281–7.
109. Boden G. Fatty acid-induced inflammation and insulin resistance in skeletal muscle and liver. *Curr Diab Rep* 2006; 6: 177– 81.
110. Lupi R, Dotta F, Marselli L, Del Guerra S, Masini M, Santangelo C, et al. Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes* 2002; 51: 1437– 42.
111. Berson SA, Yalow RS. Insulin antagonists and insulin resistance. In: Ellenberg M., Rifkin H. (eds.). *Diabetes Mellitus: Theory and Practice*. New York: McGraw-Hill 1970; 388–412.
112. Anderson JW, Kendall CWC, Jenkins DJA. Importance of weight management in type 2 diabetes: review with metaanalysis of clinical studies. *J Am Coll Nutr* 2003; 22: 331–339.
113. Maggio CA, Pi-Sunyer FX. Obesity and type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003; 32: 805–822.
114. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344: 1343-1350.
115. Penn L, White M, Oldroyd J, Walker M, Alberti K, Mathers JC. Prevention of type 2 diabetes in adults with impaired glucose tolerance: the European Diabetes Prevention RCT in Newcastle upon Tyne, UK. *BMC Public Health* 2009; 9: 342-7.
116. Kontogianni MD, Liatis S, Grammatikou S, Perrea D, Katsilambros N, Makrilakis K. Changes in dietary habits and their association with metabolic markers

after a non-intensive, community-based lifestyle intervention to prevent type 2 diabetes, in Greece. The DEPLAN study. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 95: 207–214.

117. Lindstrom J, Peltonen M, Eriksson JG et al. High-fibre, lowfat diet predicts long-term weight loss and decreased type 2 diabetes risk: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia*. 2006; 49: 912–920.

118. D'Alessio D. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in diabetes and aging. *J Anti-Aging Med* 2000; 3: 329-333.

119. Lattimer MJ, Haub DM. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Nutrients* 2010; 2: 1266-1289.

120. Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F, Laczano-Burciaga L. Lipid- and glucose-lowering efficacy of plantago psyllium in type II diabetes. *J Diabetes Complicat* 1998; 12: 273–278.

121. Anderson JW. Diabetes mellitus: medical nutrition therapy. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Philadelphia: Lea & Febiger; 2006: 1043–1066.

122. Hexberg S, Hexberg E, Willumson N, Berge R. A study on lipid metabolism in heart and liver of cholesterol and pectin fed rats. *Br J Nutr* 1994; 71: 181-192.

123. Presannakumar G, Sudheesh S, Vijayalakshmi NR. Hypoglycemic effect of *Coccinia indica*. Mechanism of action. *Planta Medica* 1993; 57: 330-332.

124. Jackson KG, Taylor GR, Clohessy AM, Williams CM. The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. *Br J Nutr* 1999; 82: 23-30.

125. Luo J, Rizkalla SW, Alamowitch C, Boussairi A, Blayo A, Barry JL, Laffitte A, Guyon F, Bornet FR, Slama G. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides by healthy subjects decreased basal hepatic glucose production but had no effect on insulin-stimulated glucose metabolism. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 939-45.

126. Pan XR, Li GW, Hu YH et al. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and diabetes study. *Diabetes Care* 1997; 20: 537-544.

127. Beta cell biology consortium (<http://www.betacell.org/>)

128. Djordjevic P, Dimitrijevic Sreckovic V, Gostiljac D Canovic F, Raketec N, Djukanovic B, Tasic N, Slijepcevic D, Grabez M, Raca B, Colak E, Stojanovic J, Nikolic D & Popovic S. Association of findrisk 478 (FDR) questionnaire values with the risk factors for cardiovascular disease (CVD). 11th Meeting 479 of the Mediterranean Group for the Study of Diabetes April 2009; 23-26; Malta, Abstract book, 87.

129. Dimitrijevic-Sreckovic V. Adequate nutrition principles for the prevention of chronic diseases. Food and Nutrition (Belgrade) 2007; 4: 22-31

130. Rave K, Roggen K, Dellweg S et al. Improvement of insulin resistance after diet with a wholegrain based dietary product: results of a randomized, controlled cross-over study in obese subjects with elevated fasting blood glucose. Br J Nutr 2007; 98: 929-936.

131. Prosky L, Asp N-G, Schweizer TF, DeVries JW, Furda I (1992) Determination of insoluble and soluble dietary fibre in foods and food products: Collaborative study. J. AOAC Int. 75:360-367.

132. McCleary BV, Monaghan DA. Measurement of resistant Starch. J Assoc Off Anal Chem 2002; 85: 665-75.

133. McCleary BV, Codd R. Measurement of (1 → 3),(1 → 4)-β-D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure. J Sci Food Agric 1991; 55: 303-312.

134. McCleary BV, Rossiter P. Measurement of novel dietary fibres. J. AOAC International 2004; 87: 707-711.

135. Horwitz W. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg MD, Maryland, USA, 2000.

136. Dodevska MS, Djordjevic BI, Sobajic SS, Miletic ID, Djordjevic PB, Dimitrijevic-Sreckovic VS. Characterisation of dietary fibre components in cereals and legumes used in Serbian diet. Food Chem 2013; 141: 1624-9.

137. Li BW, Andrews KW, Pehrsson PR. Individual sugars, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 70 high consumption foods. Journal of Food Composition and Analysis 2002; 15: 715–723.

138. Tisovski S, Trbovic B, Rodic B. Presence of plant foods in nutrition of different socio-economic population categories in Yugoslavia in the period 1991–1998. Food and Nutrition (Belgrade) 2000; 41: 61–76.

139. Zivic S, Golubovic E, Zivic M. Structure of the Serbian population nutrition in the previous period of time. *Acta Meadica Medianae* 2000; 3: 29–37.
140. Hiller B, Schlörmann W, Gleis M, Lindhauer MG. Comparative study of colorectal health related compounds in different types of bread: Analysis of bread samples pre and post digestion in a batch fermentation model of the human intestine. *Food Chem* 2011; 125: 1202–1212.
141. Lappi J, Selinheimo E, Schwab U, Katina K, Lehtinen P, Mykkänen H, Kolehmainen M, Poutanen K. Sourdough fermentation of wholemeal wheat bread increases solubility of arabinoxylan and protein and decreases postprandial glucose and insulin responses. *J Cereal Sci* 2010; 51: 152–158.
142. Grastena S, Juntunenb K, Mättöc J, Mykkänen O, El-Nezamid H, Adlercreutz H, Poutanen K, Mykkänen H. High-fiber rye bread improves bowel function in postmenopausal women but does not cause other putatively positive changes in the metabolic activity of intestinal microbiota. *Nutr Res* 2007; 27: 454–461.
143. Juntunen KS, Laaksonen DE, Autio K, Niskanen LK, Holst JJ, Savolainen KE, Liukkonen KH, Poutanen KS, Mykkänen H. Structural differences between rye and wheat bread but not total fiber content may explain the lower postprandial insulin response to rye bread. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 957–964.
144. Kallio P, Kolehmainen M, Laaksonen DE, Pulkkinen L, Atalay M, Mykkänen H, Uusitupa M, Poutanen K, Niskanen L. Inflammation markers are modulated by responses to diets differing in postprandial insulin responses in individuals with the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1497–1503.
145. Maki KC, Beiseigel JM, Jonnalagadda SS, Gugger CK, Reeves MS, Farmer MV, Kaden VN, Rains TM. Whole-Grain Ready-to-Eat Oat Cereal, as Part of a Dietary Program for Weight Loss, Reduces Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Adults with Overweight and Obesity More than a Dietary Program Including Low-Fiber Control Foods. *J Am Diet Assoc* 2010; 110: 205-14.
146. Schroeder N, Gallaher DD, Arndt EA, Marquart L. Influence of wholegrain barley, whole grain wheat, and refined rice-based foods on short-term satiety and energy intake. *Appetite* 2009; 53: 363–369.
147. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. Resistant starch – A review. *Compr Rev Food Sci F* 2006; 5: 1–17.

148. De Almeida Costa GE, da Silva Queiroz-Monici K, Pissini Machado Reis SM, de Oliveira AC. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chem* 2006; 94: 327-330.

149. Mihailović V, Mikić A. Novel directions of breeding annual feed legumes in Serbia. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2010; 1: 81-90.

150. Schwartz JG, Guan D, Green GM, Phillips WT. Treatment with an oral proteinase inhibitor slows gastric emptying and acutely reduces glucose and insulin levels after a liquid meal in type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1994; 17: 255–262.

151. Jenkins DJA, Kendall CWC, Axelsen M, Augustin LSA, Vuksan V. Viscous and nonviscous fibers, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11: 49-56.

152. Zhang D, Hamazu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry* 2004; 88: 503–509.

153. Cummings JH, Beatty ER, Kingman SM, Bingham SA, Englyst HN. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *Br J Nutr* 1996; 75: 733–747.

154. Stea TH, Mansoor MA, Wandel M, Uglem S, Frølich W. Changes in predictors and status of homocysteine in young male adults after a dietary intervention with vegetables, fruits and bread. *Eur J Clin Nutr* 2008; 47: 201–209.

155. Johnsen SP, Overvad K, Stripp C, Tjønneland A, Husted SE, Sorensen HT. Intake of fruit and vegetables and the risk of ischemic stroke in a cohort of Danish men and women. *Am J Clin Nutr* 2003;78: 57-64.

156. Huiyun Wu, Dwyer K, Fan Z, Shircore A, Fan J, Dwyer J. Dietary fiber and progression of atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1085-1091.

157. Bazzano LA, He J, Orden LJ, Loria CM, Whelton PK. Dietary fiber intake and reduced risk of coronary heart disease in US men and women: the National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1897–904.

158. Heidemann C, Schulze MB, Franco OH, van Dam RM, Mantzoros CS, Hu F. B. Dietary patterns and risk of mortality from cardiovascular disease cancer, and all causes in a prospective cohort of women. *Circulation* 2008; 118: 230–237.

159. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Eng J Med* 1994; 336: 1117–24.

160. Bays HE. Safety considerations with omega-3 Fatty Acid therapy. *Am J Cardiol* 2007; 99: S35-43.

161. Agundo A. Measuring intake of fruit and vegetables. Blackground paper for the joint FAO/WHO workshop on fruit and vegetables for health. 1-3 september 2004. Kope, Japan.

162. Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Mitchell S i sar. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2012; 172: 1653-60.

163. G. Niketic-Aleksic. Tehnologija voca i povrca. Poljoprivredni fakultet, Beograd, 1982.

164. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Food and Nutrition Board. The National Academies Press, Washington DC, 2002.

165. Maki KC, Carson ML, Kerr Anderson WH, Geohas J, Reeves MS, Farmer MV, Turowski M, Miller M, Kaden VN, Dicklin MR, Rains TM. Lipid-altering effects of different formulations of hydroxypropylmethylcellulose. *J Clin Lipidol* 2009; 3: 159-166.

166. Lee CD, Folsom AR, Blair SN. Physical activity and stroke risk: a meta-analysis. 2003; 34: 2475-2481.

167. Endres M, Gertz K, Lindauer U, Katchanov J, Schultze J, Schröck H, Nickenig G, Kuschinsky W, Dirnagl U, Laufs U. Mechanisms of stroke protection by physicalactivity. *Ann Neurol* 2003; 54: 582-590.

168. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostifikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, Beograd, 2011.

169. Catapano A, Reiner Z, Backer G, et al. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Atherosclerosis* 2011; 217:3–46

170. Ulmius M, Johansson A, Onning G. The influence of dietary fibre source and gender on the postprandial glucose and lipid response in healthy subjects. *Eur J Nutr* 2009; 48: 395–402.

171. World Health Organization. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva, Switzerland: World Health Organization 1995. WHO Technical Report Series.

172. Wing RR, Koesko RK, Epstein LH, Nowalk MP, Gooding W, Becker D. Long-term effects of modest weight loss in type II diabetic patients. *JAMA* 1987; 147: 1749-1753.

173. Pan XR, Li GW, Hu YH et al. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and diabetes study. *Diabetes Care* 1997; 20: 537-544.

174. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346: 393–403.

175. Ripsin CM, Keenan JM, Jacobs Jr DR, Elmer PJ, Welch RR, Van Horn L, et al. Oat products and lipid lowering. A meta-analysis. *JAMA* 1992; 267: 3317–25.

176. Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 30–42.

177. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2000; 342: 1392-8.

178. Kerckhoffs DA, Hornstra G, Mensink RP. Cholesterol-lowering effect of beta-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when beta-glucan is incorporated into bread and cookies. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 221–227.

179. Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WL. Hypocholesterolemic effects of high-fibre diets rich in watersoluble plant fibres. *J Can Diet Assoc* 1984; 45: 140-149.

180. Martinez-Flores HE, Yoon Kil Chang, Martinez-Bustos F, Sgarbieri V. Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. *Nutr Res* 2004; 24: 85–93.

181 Slavin J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients* 2013, 5: 1417-1435.

Biografija

Margarita Dodevska rođena je 29.11.1972. godine u Skoplju, a osnovnu i srednju školu završila je u Kumanovu. Na Prirodno matematičkom fakultetu u Skoplju, diplomirala je 1998. godine. Nakon završenog fakulteta završila je obavezan staž i položila stručni ispit 2000. godine. U periodu od 1998-2001 godine radila je kao analitičar u odeljenju za Sanitarnu hemiju u Zavodu za zaštitu zdravlja u Kumanovu.

Maja 2004. godine položila je specijalistički ispit iz Sanitarne hemije na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu. Tema rada je bila: „Analiza različitih vrsta čokolada sa našeg tržišta“.

Školske 2003/2004. godine upisala je poslediplomske magistarske studije na predmetu Bromatologija, a od oktobra 2006. godine pohađa doktorske akademske studije, modul Bromatologija.

Autor je 2 rada objavljenih u časopisima od međunarodnog značaja, kao i 15 sažetaka radova prezentovanih na domaćim i međunarodnim skupovima farmaceuta i doktora medicine.

Od 2006. godine radi u Centru za ispitivanje namirnica u Beogradu na poslovima zdravstvene ispravnosti namirnica.

Član je Saveza farmaceutskih udruženja Srbije – Sekcija za sanitarnu hemiju i Društva za ishranu Srbije.

Član je Udruženja za proučavanje dijabetesa Srbije.

Učestvovala u međulaboratorijskim uporednim ispitivanjima Centralne naučne laboratorije (Central Science Laboratory) iz Velike Britanije koja je u okviru programa FAPAS; švedske nacionalne agencije za hranu (Swedish National Food Administration), kao i u nacionalnim u okviru Farmaceutskog društva Srbije - Sekcija za sanitarnu hemiju i Instituta za prehrambene tehnologije iz Novog Sada.

Učestvovala u poslovima reakreditacije Centra za ispitivanje namirnica.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Маргарита С. Додевска

број индекса 53/06

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Испитивање утицаја укупних дијетних влакана и резистентног скроба на смањење фактора ризика за појаву дијабетес мелитуса типа 2 код гојазних пацијената са поремећеном гликорегулацијом“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 26.08.2014



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Маргарита С. Додевска

Број индекса 53/06

Студијски програм Докторске академске студије из броматологије

Наслов рада „**Испитивање утицаја укупних дијетних влакана и резистентног скроба на смањење фактора ризика за појаву дијабетес мелитуса типа 2 код гојазних пацијената са поремећеном гликорегулацијом**“

Ментори: - др сц. Брижита Ђорђевић, ванредни професор, Универзитета у

Београду, Фармацеутски факултет

- др сц. Слађана Шобајић, редовни професор, Универзитета у

Београду, Фармацеутски факултет

Потписани/а Маргарита С. Додевска

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 26.08.2014



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање утицаја укупних дијетних влакана и резистентног скроба на смањење фактора ризика за појаву дијабетес мелитуса типа 2 код гојазних пацијената са поремећеном гликорегулацијом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 26.08.2014



1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.