



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA



МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF MEDICINE

Milkica Grabež

**UTICAJ POLIFENOLA IZ EKSTRAKTA
KORE NARA NA KARDIOMETABOLIČKE
PARAMETRE KOD PACIJENATA SA
DIJABETES MELITUSOM TIP 2**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BANJA LUKA, 2022.



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA



МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF MEDICINE

Milkica Grabež

**THE EFFECTS OF POMEGRANATE PEEL
EXTRACT ON CARDIOMETABOLIC
PARAMETERS IN PATIENTS WITH
DIABETES MELLITUS TYPE-2**

DOCTORAL DISSERTATION

BANJA LUKA, 2022.

Mentor: Prof. dr Nađa Vasiljević, red. profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Komentor: doc. dr Vesna Rudić Grujić, docent, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.

Naslov doktorske disertacije: Uticaj polifenola iz ekstrakta kore nara na kardiometaboličke parametre kod pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2

Rezime: Cilj ove studije je bio da se ispita uticaj suplementacije ekstraktom kore nara (PoPEX) na kardiometaboličke parametre (tjelesna kompozicija, glikoregulacija, lipidni profil, sistolni i dijastolni krvni pritisak) kao i antiinflamatorni i antioksidativni potencijal PoPEX-a kod dijabetes melitusa tip 2 (DMT2) pacijenata. Randomizovana, dvostruko slijepa, placebo-kontrolisana studija je provedeno među 60 odraslih DMT2 predgojaznih i gojaznih pacijenata. Eksperimentalna, PoPEX grupa (n=30), je dobijala kapsule koje sadrže 250 mg PoPEX-a dva puta dnevno tokom perioda od 8 nedelja, a placebo grupa (n=30) je dobijala kapsule sa placebo. Na početku i na kraju interventnog perioda urađena su antropometrijska mjerenja i dijetetska procjena, izmjeren je krvni pritisak i uzeti su uzorci pune venske krvi u kojima su određeni: parametri glikoregulacije, lipidni profil, parametri inflamacije i biomarkeri oksidativnog stresa. Učesnici su zamoljeni da ne mijenjaju svoje navike u ishrani, fizičkoj aktivnosti i da nastave sa dotadašnjom medikoterapijom tokom perioda trajanja istraživanja. Osmosedmična suplementacija sa PoPEX-om je dovela do značajnog smanjenje obima struka i trenda smanjenja nivoa visceralne masti u PoPEX grupi, koje nije dostiglo nivo statističke značajnosti, u poređenju sa placebo grupom. Takođe, uočeno je statistički značajno sniženje sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska nakon suplementacije PoPEX-om. Nivo triglicerida, ukupnog holesterola, i odnosa holesterola lipoproteina niske gustine/holesterola lipoproteina visoke gustine (LDL-C/HDL-C) su značajno smanjeni u PoPEX grupi u poređenju sa placebo grupom. U PoPEX grupi utvrđeno je i značajno povećanje nivo HDL-C u serumu. Pored toga, suplementacija PoPEX-om je pokazala pozitivan efekt na profil masnih kiselina u ukupnim lipidima plazme. Nakon tretmana sa PoPEX-om utvrđeno je značajno smanjenje inflamatornih parametara, biomarkera oksidativnog stresa i homocisteina, dok je ukupni antioksidativni kapacitet (TAC) povećan. Dodatna analiza je pokazala postojanje, statistički značajne, negativne korelacije između promjene TAC-a i promjene vrijednosti parametara inflamacije u PoPEX grupi. Istraživanje je pokazalo da je 8-sedmična suplementacija PoPEX-om kod naših pacijenata imala povoljne efekte na

kardiometaboličke parametre, kao i povoljan uticaj na biomarkere oksidativnog stresa i inflamacije, kod pacijenata sa dijabetesom.

Ključne riječi: Ekstrakt kore nara, Dijabetes melitus, Kardiometabolički faktori, Oksidativni stres, Inflamacija.

Naučna oblast: Higijena

Naučno polje: Preventivne medicinske nauke

Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifarniku: B680

Tip odabrane licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za način korišćenja sadržaja doktorske disertacije: Autorstvo- nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima.

Mentor: Nađa Vasiljević, MD, PhD, Professor, Faculty of medicine, University of Beograd

Comentor: Vesna Rudić Grujić, Ass. Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

Doctoral thesis: The effects of pomegranate peel extract on cardiometabolic parameters in patients with diabetes mellitus type-2

Summary: The aim of this study was to evaluate the effects of pomegranate peel extract (PoPEX) supplementation on cardiometabolic parameters (body composition, glucoregulation, lipid profile, systolic and diastolic blood pressure) and the potential of PoPEX to relieve inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus type-2 (DMT2) patients. A randomized, double blind, placebo controlled clinical trial was performed in 60 overweight adult DMT2 patients. The study group (n=30) received capsules containing PoPEX (250 mg) twice a day for the period of 8 weeks, and the placebo group (n=30) received placebo capsules. Anthropometric characteristics, blood pressure, lipid profile and plasma concentration of inflammatory factors, as well as oxidative stress biomarkers were measured at baseline and at the end of the study. Participants were asked not to change their dietary habits, physical activities, and medication regimens during the study period. The eight week treatment with PoPEX resulted in a significant decrease in waist circumference and a non-significant decrease in the level of visceral fat in PoPEX group compared with the placebo group. The intake of PoPEX induced significant lowering of both, systolic and diastolic blood pressure. Levels of triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol/high density lipoprotein cholesterol ratio (LDL-C/HDL-C) were considerably decreased in the PoPEX group compared with placebo group. A significant increase of HDL-C serum level was determined in the PoPEX group. Moreover, the PoPEX treatment significantly attenuated fatty acid profile in total plasma lipids. The PoPEX treatment showed a significant reduction of inflammatory factors, oxidative stress biomarkers and homocysteine, while the TAC was increased. Additional analysis showed a significant inverse correlation between the decrements of all measured inflammatory markers and TAC in the PoPEX group. The study demonstrated that 8-week supplementation with PoPEX in DMT2 subjects had favourable effects on some metabolic parameters including blood pressure, lipid profile and plasma lipids fatty acid composition and had favourable effects on inflammatory status and oxidative stress biomarkers in diabetic patients. Therefore, it has suggested that PoPEX has abundant hypoglycaemic, hypolipemic, antioxidative, and anti-inflammatory potentials.

Keywords: Pomegranate peel extract, Diabetes mellitus, Cardiometabolic factors, Oxidative stress, Inflammation

Scientific area: Hygiene

Scientific field: Medicine

Classification code of the scientific area by CERIF codebook: B 680

Type of the selected licence of the Creative Commons how to use the content of the doctoral dissertation: Attribution-NonCommercial-ShareAlike

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Polifenoli	2
1.2 Nar (<i>Punica granatum</i> LINN.).....	3
1.2.1 Fitohemikalije u naru.....	4
1.2.2 Zdravstveni efekti nara	6
1.3 Dijabetes melitus	10
1.3.1 Klasifikacija, dijagnoza i patofiziologija dijabetesa.....	11
1.3.2 Dijabetes i gojaznost.....	13
1.3.3 Dijabetes i hipertenzija	14
1.3.4 Dijabetes i dislipidemija	15
1.3.5 Dijabetes i oksidativni stres	15
2. RADNE HIPOTEZE.....	18
3. CILJEVI.....	19
4. MATERIJAL I METODE	20
4.1 Faze istraživanja.....	20
4.2 Ispitanici i dizajn studije	22
4.3 Metode.....	26
4.3.1 Antropometrijska mjerenja	28
4.3.2 Klinička procjena.....	29
4.3.3 Dijetetska procjena	29
4.3.4 Biohemijska ispitivanja	30
4.4 Statistička analiza podataka	34
5. REZULTATI.....	35
5.1 Demografski podaci svih ispitanika	35
5.2 Interventna grupa	37
5.2.1 Demografski podaci interventne grupe.....	37

5.2.2 Životni stil i navike.....	38
5.2.3 Uticaj primjene PoPEX -a na tjelesni sastav kod pacijenata sa DMT2.....	41
5.2.4 Uticaj primjene PoPEX -a na parametre glikoregulacije kod pacijenata sa DMT2	43
5.2.5 Uticaj primjene PoPEX -a na krvni pritisak kod pacijenata sa DMT2.....	45
5.2.6 Uticaj primjene PoPEX -a na lipidni profil kod pacijenata sa DMT2.....	47
5.2.7 Uticaj primjene PoPEX -a na biomarkere oksidativnog stresa kod pacijenata sa DMT2	53
5.2.8 Uticaj primjene PoPEX -a na inflamatorne biomarkere kod pacijenata sa DMT2	61
6. DISKUSIJA	65
7. ZAKLJUČCI.....	77
8. LITERATURA	79

LISTA SKRAĆENICA

BIOGRAFIJA

IZJAVA 1

IZJAVA 2

IZJAVA 3

1. UVOD

Posljednjih dvadesetak godina, u naučnim i stručnim krugovima sve su više prisutni fitopreparati, čija je upotreba našla mjesto i u konvencionalnoj medicini. Brojne studije su ukazale na važnost polifenola u redukciji oksidativnog stresa i inflamacije, koji se smatraju glavnim činiocima rizika u patogenezi hroničnih degenerativnih oboljenja uključujući kardiovaskularne bolesti (KVB), dijabetes melitus tip 2 (DMT2) i reumatoidni artritis (1-3).

Prevalencija dijabetesa melitusa tip 2 u svijetu je visoka u svim regionima i bilježi se stalni porast. Procjena Međunarodnog udruženja za dijabetes (Eng. *International Diabetes Federation*; IDF) je da će do 2045. godine prevalencija dijabetesa u svijetu porasti od trenutnih 10.5 % populacije na 12.2 % svjetske populacije. Takođe, procjenjuje se da je jedna od dvije osobe sa dijabetesom nedijagnostikovana i da 90 % nedijagnostikovanih osoba sa dijabetesom živi u zemljama sa niskim i srednje visokim primanjima. Ovakav trend rasta prevalencije dijabetesa se povezuje sa povećanjem starosti populacije, ekonomskim razvojem i urbanizacijom koji su doveli do sedentarnog načina života i povećanog unosa "nezdrave" hrane što zajedno vodi do povećanja prevalencije gojaznosti (4).

Uprkos dostupnosti i primjeni različitih terapijskih strategija, incidenca mikrovaskularnih (nefropatija, retinopatija i neuropatija) i makrovaskularnih komplikacija DM (ateroskleroza koronarnih, cerebralnih i perifernih krvnih sudova) je i dalje u porastu (5). Najčešći uzrok mortaliteta i morbiditeta kod osoba sa DMT2 su hronične mikrovaskularne i makrovaskularne komplikacije. Komplikacije DMT2 su uzrok značajnog opterećenja pojedinca i zdravstvenog sistema, ali i povećanja indirektnih troškova zbog smanjenja radne produktivnosti (6).

Upravo zbog rasta prevalencije DMT2 i čestih komplikacija ove bolesti postoji hitna potreba za razvojem efikasne strategije prevencije i smanjenja nastanka komplikacija ovog oboljenja. Gledano kroz odnos cijena/učinak veliki potencijal postoji u pravilno osmišljenim dijetarnim intervencijama posebno ističući značaj ishrane bogate polifenolima (7-9).

1.1 POLIFENOLI

Rastuće interesovanje za polifenolna jedinjenja je posljedica opšteg interesovanja orijentisanog ka analizi sekundarnih metabolita iz hrane. Danas je naročito zastupljen koncept koji kombinuje nutritivna i "ljekovita" svojstva hrane, takozvana "funkcionalna hrana" (10,11). Rezultati epidemioloških studija posljednjih nekoliko decenija, ukazuju da je prevalencija kardiovaskularnih bolesti (KVB), malignih oboljenja i *diabetes mellitus*-a (DM), niža u populaciji u čijoj ishrani je zastupljeniji unos bioaktivnih supstanci, što ukazuje na značajan potencijal nutritivnih intervencija u prevenciji, olakšavanju i terapiji kardiometaboličkih činilaca i posljedičnih masovnih nezaraznih bolesti (12–14).

Polifenoli predstavljaju veliku, heterogenu grupu fitohemikalija koja sadrži fenolni prsten. Postoji nekoliko klasifikacija polifenola koje su u upotrebi (na osnovu porijekla ili biološke uloge), ali se najviše koristi klasifikacija na osnovu hemijske strukture. Prema strukturi polifenoli se dijele na flavonoide i non-flavonoide. Flavonoidi se dijele u šest podklasa: antocijanini, flavonoli, flavoni, isoflavoni, flavanoni i flavanoli. Non-favonoidi se dijele na fenolne kiseline, stilbene, lignine i tanine (15). Nekoliko stotina različitih polifenola se nalazi u namirnicama biljnog porijekla uključujući voće, povrće, čajeve, čokoladu, biljna ulja, žitarice i leguminoze (9).

Dijetarni unos polifenola zavisi od nutritivnih navika populacije, geografskog područja i varira u zavisnosti od godišnjeg doba (16). U evropskim zemljama se procjenjuje da dnevni dijetarni unos polifenola iznosi približno 1 g i da su najznačajniji nutritivni izvori polifenola povrće i voće (17). U zemljama zapadne Evrope, flavonoidi su najzastupljenija jedinjenja u ukupnom dnevnom unosu polifenola. Nakon ingestije, polifenoli podliježu intenzivnom metabolizmu i biotransformaciji što dovodi do stvaranja sekundarnih metabolita koji pokazuju visoku bioaktivnost (18). Apsorpcija polifenola u digestivnom traktu zavisi od bioraspoloživosti i bioiskoristljivosti. Odnosno, jednim dijelom polifenoli se apsorbuju u tankom crijevu, a drugi dio dopijeva do kolona, gdje pod uticajem mikroflora crijeva, nastaju derivati fenolnih kiselina i cimetne kiseline koji se apsorbuju. Na bioraspoloživost utiče interakcija sa hranom dok na bioiskoristljivost utiče sposobnost jedinjenja da se metabolišu i distribuiraju u organizmu (19).

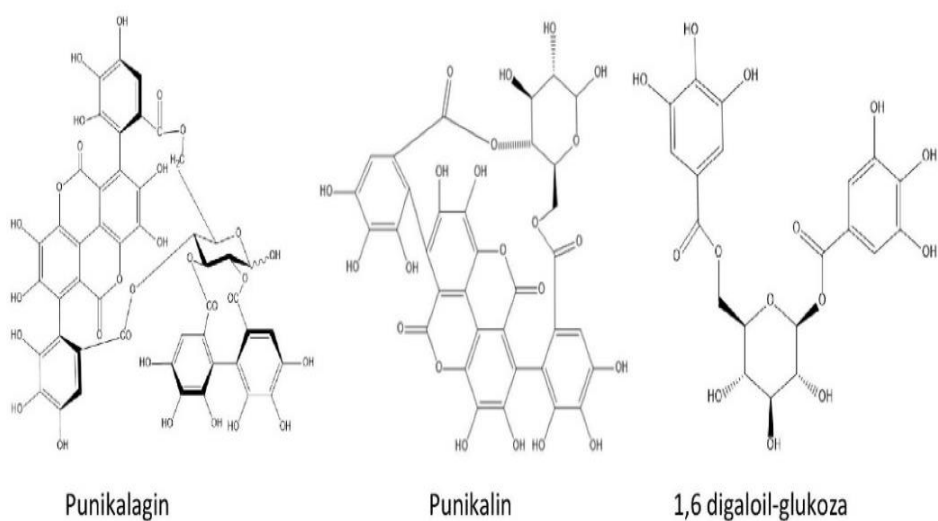
1.2 NAR (*PUNICA GRANATUM LINN.*)

Nar (*Punica granatum L.*) se od davnina upotrebljava u drevnoj medicini. Najvjerojatnije potiče iz područja Irana i Afganistana, odakle se njegov uzgoj i upotreba raširio i u druge zemlje. Danas se nar uzgaja skoro na svim kontinentima: u Africi, jugoistočnoj i centralnoj Aziji, sjevernoj i južnoj Americi i mediteranskoj regiji Evrope (20). U svakodnevnoj ishrani se koriste arilusi ploda nara ili sok dobijen njihovim cijedenjem, dok se kao dijetetski suplementi mogu koristiti ekstrakti soka ili kore nara, kao i ulje sjemenki. Plod nara je prirodan, lako dostupan izvor bioaktivnih supstanci, koji svoje potencijalne terapijske efekte ispoljavaju kroz antioksidativnu, antiinflamatornu, hipoglikemijsku, hipolipidemijsku, antineoplastičnu i antimikrobnu aktivnost (21,22).

U poređenju sa drugim sokovima i njihovim ekstraktima (crveno vino, sokovi od bobičastog voća, citrusi, čaj), u plodu nara je utvrđena najviša antioksidativna aktivnost (23). Kora nara je nejestivi dio ploda koji čini i do 40 % ukupne težine ploda (24). Novija istraživanja su pokazala da je biološka aktivnost kore nara veća od aktivnosti pulpe, te da su za 92 % ukupne antioksidativne aktivnosti ploda nara odgovorna jedinjenja iz kore nara (25). Antioksidativna aktivnost kore nara prevashodno se pripisuje aktivnosti hidrolizabilnih taninina, punikalagina, elagne i galne kiseline (26). Sadržaj aktivnih fitohemikalija, kako u plodu nara, tako i u kori ploda zavisi od geografskog područja gdje se uzgaja, zrelosti ploda i metoda obrade. Takođe, postoji velika varijabilnost u sadržaju fitohemikalija u zavisnosti od načina ekstrakcije polifenola iz kore nara (20,27). Metanolski ekstrakt kore nara iz Indijane ima dva do tri puta veći ukupni sadržaj polifenola u poređenju sa ekstraktima 70 % etanola i etil acetata (28). Sadržaj flavonida, prvenstveno antocijanina se značajno razlikuje u zavisnosti od boje kore. Orak i sar. su utvrdili da je ukupni sadržaj flavonida u kori turskog nara 12.4 puta veći nego sadržaj u ekstraktima soka nara (29).

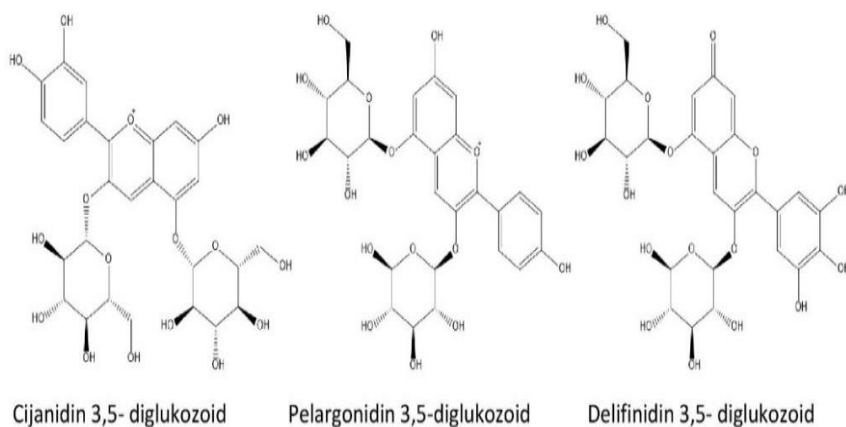
1.2.1 FITOHEMIKALIJE U NARU

Nar sadrži 124 različite bioaktivne fitoheikalije od kojih su najzastupljeniji hidrolizabilni tanini, zatim antocijanini, flavonoidi, organske kiseline, alkaloidi i lignini (30). Hidrolizabilni tanini su najzastupljeniji polifenoli nara. Oni obuhvataju elagitanine, galatanine i estre. Ova jedinjenja, koncentrisana u kori nara i membranama, su najvećim dijelom odgovorna za antioksidativnu aktivnost nara. Najvažniji hidrolizabilni tanini su punikalagin i punikalin A i B (Slika 1). U kori nara najzastupljeniji elagitanin je punikalagin, koji se jednim dijelom metaboliše u elagnu kiselinu i ponajviše doprinosi antioksidativnoj aktivnosti kore (31).



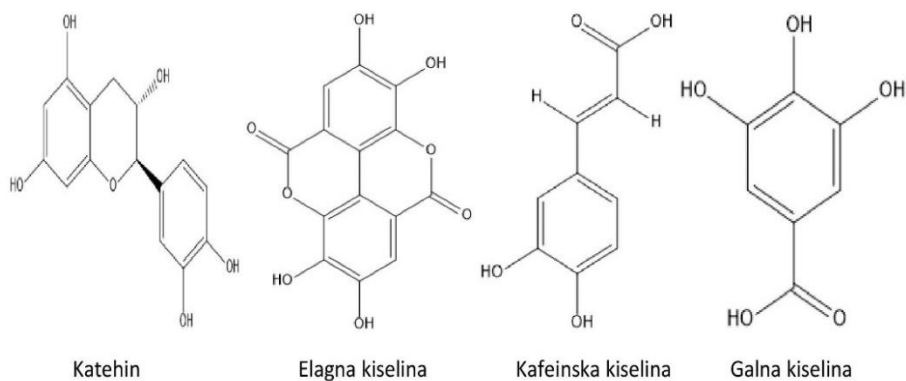
Slika 1. Hemijska struktura hidrolizabilnih tanina

Antocijanini su zbog njihove biološke aktivnosti najviše istraživani polifenoli sadržani u naru, takođe su odgovorni i za crvenu boju arilusa i kore nara. Do sada je identifikovano šest različitih molekula antocijanina, od kojih je u kori nara najzastupljeniji cijanidin (*Slika 2*)(32).



Slika 2. Hemijska struktura antocijanina

Fenolne kiseline u naru se nalaze u nekoliko subklasa. Elagna i galna kiselina se prvenstveno nalaze u kori nara i njihovo prisustvo se smatra odgovornim za antineoplastičnu aktivnost kore nara (27). Na *Slici 3* su prikazane hemijske strukture fenolnih kiselina zastupljenih u naru.



Slika 3. Hemijska struktura fenolnih kiselina zastupljenih u naru

1.2.2 ZDRAVSTVENI EFEKTI NARA

Istraživanja tokom prethodne decenije su pokazala da plod nara, kao i ekstrakti kore ploda nara kroz svoje antioksidativne, antineoplastične i antiinflamatorne aktivnosti, pokazuju značajnu preventivnu i terapijsku aktivnost kod različitih hroničnih oboljenja u čijoj osnovi postoji hronična inflamacija, kao što su reumatoidni artritis, hronična opstruktivna bolest pluća, karcinom, inflamatorne bolesti crijeva kao i metaboličke i kardiovaskularne bolesti, (21,26,30,33).

1.2.2.1 Hipoglikemijski efekti nara

Potencijalni hipoglikemijski efekti nara su pokazani u eksperimentalnim studijama u kojima je primjena ekstrakta nara uticala na smanjenje vrijednosti glikemije. Hipoglikemijski efekat nara nastaje zbog povećanja insulinske senzitivnosti i posljedičnog povećanja apsorpcije i skladištenja glukoze, kao i regulacije glikolize (34,35). Takođe, primjena kore nara u *in vitro* i observacionim studijama (36) je pokazala hipoglikemijski efekat. Rezultati primjene ekstrakta kore nara kod miševa sa indukovanim dijabetesom, su pokazala sniženje vrijednosti glikemije i aktivnosti serumske α -amilaze, kao i povećanje nivoa insulina (37). Arun i saradnici su pokazali da frakcionisani sirovi ekstrakti kore nara imaju veći inhibitorski učinak na α -glukozidazu nego metanolni ekstrakti (28). Do danas, koliko je nama poznato, nema prijavljenih rezultata interventnih studija kod ljudi, koji bi potvrdili hipoglikemijski efekat polifenola iz kore nara.

1.2.2.2 Hipotenzivni efekti nara

Rezultati studija *in vitro* i *in vivo* su ukazale na hipotenzivni efekat kore nara i usmjerile pažnju istraživača na moguću primjenu ekstrakta kore nara *per os* (38). Takođe, hipotenzivni efekat nara prijavljen je i u studijama provedenim kod hipertenzivnih pacijenata i kod zdravih osoba (39,40). Jedan od mogućih mehanizama hipotenzivnog djelovanja nara je direktna interakcija sa angiotenzin konvertujućim enzimom (ACE), smanjenjem njegove aktivnosti (41). Rezultati novijih istraživanja u kojima je korišten ekstrakt kore nara ukazuju na njegov vaskuloprotektivni učinak (42). Primjena ekstrakta kore nara tokom 3 dana, kod spontano hipertenzivnih pacova, je pokazala značajno smanjenje sistolnog krvnog pritiska (lat. *systolic tensio arterialis*; sTA), aktivnosti ACE i parametara oksidativnog stresa (43).

1.2.2.3 Hipolipemijski efekti nara

Rezultati studija, u kojima je korišten sok nara ili ekstrakt soka nara, nisu bili konzistentni u pogledu hipolipemijskog efekta (44,45). Nekonzistentnost rezultata se može objasniti različitim trajanjem interventnog perioda, primjenom različitih dijelova ploda nara i neusaglađenošću veličine doze. Eksperimentalna studija u kojoj je korišten etanolni ekstrakt kore nara u trajanju od tri sedmice, pokazala je hipolipemijski efekat kod *Wistar* pacova (46). Rezultati pilot studije, provedene kod pacijenata sa hiperholesterolemijom, ukazala su da primjena ekstrakta soka nara pozitivno djeluje na lipidni status i značajno smanjuje parametre oksidativnog stresa, ostvarujući antiaterogeni efekat (47). Pretpostavka, da je antioksidativni kapacitet nara imao centralnu ulogu u antiaterogenom potencijalu, inspirisala je na buduća istraživanja u tom smjeru (42). Takođe, pozitivan učinak nara na sadržaj masnog tkiva i tjelesnu kompoziciju kod predgojaznih pacijenata ima značajnu ulogu u poboljšavanju lipidnog statusa (48).

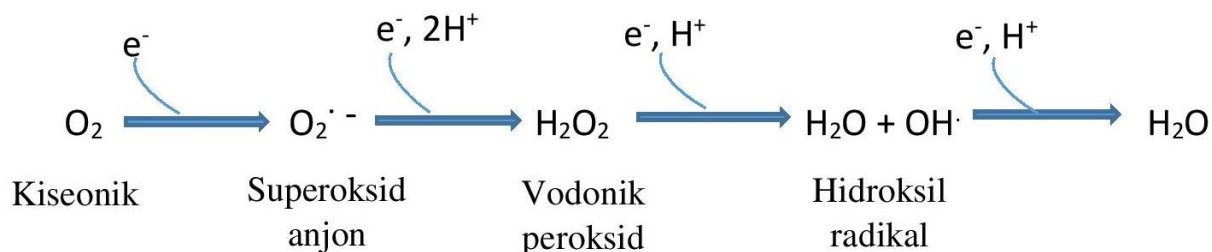
1.2.2.4 Antioksidativni efekti nara

Početak 21. vijeka, pažnja istraživačke javnosti je usmjerena na potencijalno pozitivne, zdravstvene učinke nara, zasnovane na antioksidativnoj sposobnosti nara (49). Sing i saradnici su među prvima ukazali na antioksidativna svojstva ekstrakta kore nara (50).

Oksidativni stres je stanje koje nastaje usljed postojanja neravnoteže između stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (Eng. *Reactive oxygen species*; ROS) i reaktivnih azotnih vrsta (Eng. *Reactive nitrogen species*; RNS) sa jedne strane i antioksidativnih mehanizama zaštite sa druge strane. Usljed viška ROS i RNS dolazi do oštećenja ćelijskih molekula, kao što su dezokisiribonukleinska kiselina (DNK), proteini i lipidi (51). Takođe, oksidativni stres predstavlja poremećaj redoks-zavisnih signalnih puteva i procesa koje oni kontrolišu (52).

Termini ROS i RNS obuhvataju slobodne radikale i druge neradikalske vrste poznate kao oksidanti, koji se u organizmu stvaraju u procesu ćelijskog disanja i u stanju hipoksije. ROS i RNS su proizvod normalnog metabolizma ćelije i učestvuju u regulaciji različitih procesa kao što su transdukcija signala, genska ekspresija i aktivacija receptora. Slobodni radikali su visoko reaktivni atomi ili molekuli koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona i oni mogu biti endogenog ili egzogenog porijekla (49). Najveći fiziološki značaj pokazuju superoksid anjon

radikal ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikal (OH^{\cdot}) i vodonik-peroksid (H_2O_2) (53) i proces njihovog nastanka u mitohondriji prikazan je na *Slici 4*.



Slika 4. Nastanak reaktivnih oblika kisoničnih vrsta u mitohondriji

Rezultati studije na pacovima sa DM su pokazali da antioksidativna aktivnost ekstrakta nara i mehanizam kojim utiču na smanjenje oksidativnog stresa može biti direktan, neutrališući stvorene reaktivne kiseonične vrste i indirektan, povećavajući aktivnost antioksidativnih enzima: paraoksonaze 1 (PON1), superoksid dismutaze (SOD) i katalaze (CAT) (54). Dijetarne interventne studije su pokazale da dugotrajna konzumacija soka od nara ili svježeg ploda nara, dovodi do povećanja antioksidativnog kapaciteta plazme kod zdravih ispitanika (22). Aviram i sar. su objavili rezultate istraživanja provedenog među 13 zdravih muškaraca (u dobi od 20-35 godina) i među apolipoprotein E-deficitnim miševima sa aterosklerozom. Ispitanici su tokom dvije sedmice, svakodnevno unosili 50 mL soka nara i nakon interventnog perioda primjećen je rast serumske PON₁ za 20 % kod zdravih ljudi, dok je kod miševa zabilježeno smanjenje ćelijske lipidne peroksidacije za 90 % i aterosklerotskog plaka za 40 % (55). Rezultati kasnijih istraživanja koja su provedena među pacijentima sa DM su potvrdila potencijalnu ulogu nara u poboljšanju ukupnog antioksidativnog kapaciteta i smanjenje lipidne peroksidacije (56,57). Antioksidativna aktivnost ekstrakta kore nara raste linearno sa sadržajem ukupnih fenola (58).

1.2.2.5 Antiinflamatorni efekti nara

Antiinflamatorni mehanizam djelovanja nara je usko povezan sa crijevnom florom (20). Elagitanini, punikalagin i punikalin, kao najvažnije aktivne komponente kore nara, sa jedne strane djeluju inhibitory na rast nekih patogenih bakterija kao što su *Clostridia spec.*, *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, a sa druge povećavaju stvaranje kratkolančanih masnih kiselina (Eng. *Short chain fatty acids*; SCFA) u crijevima, koje mogu

modifikovati inflamatorni odgovor. SCFA aktivira peroksizomalne proliferator aktivirajuće receptore (Eng. *Peroxisome proliferator-activated receptors*; PPARs) koji blokiraju proinflamatorne molekule, kao što je nuklearni faktor kapa B (NF- κ B) (59). Primjena ekstrakta kore nara obogaćenog elagitaninom i elagnom kiselinom kod pacova sa indukovanim kolitisom dovela je do smanjenja faktora nekroze tumora alfa (TNF- α), aktivacije mitogenom aktivirane protein kinaze (MAPK), fosforilacije i NF- κ B translokacije, što ukazuje na sposobnost ekstrakta kore nara da utiče na inflamaciju kolona (60). Placebo kontrolisana studija, koju su proveli Kamali i sar. kod pacijenta sa inflamatornom bolesti crijeva, je pokazala antiinflamatorno dejstvo ekstrakta kore nara. Nakon interventnog perioda od 4 sedmice, utvrđeno je smanjenje indeksa aktivnosti kolitisa (Eng. *Lighter Colitis Activity Index*; LCAI) (61).

Istraživanje iz 2014. godine je bilo jedno od prvih istraživanja, u kome su se pratili efekti konzumacije soka od nara na medijatore zapaljenja kod pacijenata sa DM. Ispitanici oba pola (n=25) su tokom 12 sedmica svakodnevno unosili 250 mL soka od nara. Primjećeno je značajno sniženje interleukina 6 (IL-6) i visoko-senzitivnog C reaktivnog proteina (hsCRP), dok je vrijednost TNF- α ostala nepromijenjena (62). *Shishebor* i sar. su dvije godine kasnije objavili rezultate slične studije kod pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2 (DMT2), ali je interventni period bio kraći (četiri sedmice). Rezultati dobijeni za vrijednosti IL-6 i TNF- α su bili u skladu sa dosadašnjim rezultatima, dok se vrijednost hsCRP nije značajno mijenjala (63), što se može objasniti različitim interventnim periodom. U prilog ove teorije govore i rezultati iranske studije kod koje je interventni period trajao 8 sedmica, u kome je primjećen trend sniženje vrijednosti hsCRP, ali promjena nije dostigla nivo statističke značajnosti (64). Randomizirana klinička studija u trajanju od 30 dana pokazala je konzistentne rezultate sa istraživanjem *Sohrab-a* i sar. (62), uz značajan hipolipemijski efekat i smanjenje insulinske rezistencije kao i smanjenje parametara oksidativnog stresa (65).

1.2.2.6 Ostali zdravstveni efekti nara

Upotreba nara kroz istoriju ukazuje da nar ima i antineoplastičnu aktivnost, uključujući tumorsku proliferaciju ćelija, ćelijski ciklus, invaziju i angiogenezu (66). Antiproliferativna aktivnost ekstrakta kore nara je opisana u različitim humanim malignim ćelijama (A 549 humanim ćelijama karcinoma pluća, PC-3 ćelijama karcinoma prostate, SKOV3 ćelijama

karcinoma jajnika i MCF7 ćelijama adenokarcinoma dojke) (67). *Adhami* i sar. su u svojoj studiji ukazali na to da ekstrakt nara *in vitro* i *in vivo* ima preventivnu ulogu razvoju karcinoma dojke, prostate, kolona i pluća, tako što inhibitorno utiče na tumorski rast (68). Istraživanje prevencije karcinoma dojke ukazuje na mogući antiinflamatorni mehanizam i sposobnost ekstrakta kore nara da smanji dva međusobno povezana molekularna puta NF-κB i Nrf2 (Eng. *Nuclear factor E2-related factor 2*) (69).

1.3 DIJABETES MELITUS

Diabetes mellitus je globalni javnozdravstveni problem, čija prevalencija pokazuje stalnu tendenciju rasta. Prema posljednjim podacima IDF iz 2021. godine, 537 miliona odraslih osoba, što čini 10.5 % svjetske populacije, živi sa dijabetesom. Procjenjuje se da će taj broj 2030. godine porasti na 643 miliona (4). Prevalencija DMT2 raste i u nerazvijenim i razvijenim zemljama i značajnu ulogu ima savremeni stil života, koga karakteriše niska fizička aktivnost, uz istovremeno visok unos masti i šećera kroz ishranu (70).

Prema podacima Instituta za javno zdravstvo Republike Srpske (IZJZ RS) i Registra za dijabetes, prevalencija DM u Republici Srpskoj 2017. godine je bila 5.5 %, sa naznakom da zbog nepotpunih podataka, ova procjena ne odgovara stvarnoj prevalenciji DM (71). U odnosu na trend prevalencije DM u Evropi i regionu, IDF procjenjuje da je stvarna prevalencija DM u Bosni i Hercegovini u 2021. godini iznosila 12.2 % odrasle populacije (4).

DM predstavlja jedan od vodećih uzroka mortaliteta i IDF procjenjuje da je zbog DM i njegovih komplikacije u toku 2021. godine, umrlo 6.7 miliona odraslih ljudi, što čini 12.2 % svih smrtnih ishoda (4). Porast mortaliteta od DM i njegovih komplikacija predstavlja značajnu prepreku za ispunjavanje cilja 3.4 Održivih ciljeva razvoja Ujedinjenih Nacija (Eng. *Sustainable Development Goals*; SDG), da se broj prijevremenih smrti od nezaraznih bolesti smanji za jednu trećinu do 2030. godine (4).

Kardiovaskularne bolesti su usko povezane sa postojanjem DMT2. Kardiometabolički činioci su prediktori nastanka kardiovaskularnih bolesti. Tradicionalnim kardiometaboličkim činiocima se smatraju: dob, pol, pušenje, smanjena fizička aktivnost, gojaznost, hipertenzija,

dislipidemija i disglukemija (72,73). Povećanje obima struka, odnosno postojanje visceralne gojaznosti, smatra se novim, nezavisnim kardiovaskularnim činiocem rizika (74).

Epidemiološke studije su pokazale da je relativni rizik za morbiditet i mortalitet od KVB viši kod osoba sa DM i to kod muškaraca 1 do 3 puta, a kod žena 2 do 5 puta u odnosu na osobe koje nemaju DM (75). U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) smrtnost odraslog stanovništva od KVB je 1.7 puta veća kod osoba sa DMT2 nego kod osoba koje nemaju dijabetes (6). Najčešći uzrok mortaliteta i morbiditeta kod osoba sa DMT2 su hronične mikrovaskularne i makrovaskularne komplikacije.

Komplikacije DMT2 su uzrok značajnog opterećenja pojedinca i zdravstvenog sistema, ali i povećanja indirektnih troškova zbog smanjenja radne produktivnosti (76). Prema procjenama IDF-a, ukupni troškovi za liječenje i prevenciju komplikacija DMT2 su se učestvostručili u periodu od 2007. do 2021. godine (4). Pored toga, pandemija COVID-19 je pokazala da su osobe sa DM bile visoko zastupljene među hospitalizovanim sa teškim oblikom COVID-19 (77).

1.3.1 KLASIFIKACIJA, DIJAGNOZA I PATOFIZIOLOGIJA DIJABETESA

Diabetes mellitus je hronični progresivni metabolički poremećaj koji se prema etiološkoj klasifikaciji može podijeliti u četiri osnovne kategorije: dijabetes melitus tip 1 (DMT1), dijabetes melitus tip 2, gestacijski dijabetes melitus (GDM) i drugi specifični oblici dijabetesa (78,79). Najzastupljeniji oblik je DMT2 i čini oko 90 % svih oboljelih od dijabetesa, a karakteriše ga relativno smanjenje sinteze insulina u β -ćelijama pankreasa i/ili postojanje insulinske rezistencije, što rezultira nastankom hiperglikemije. DMT2 odlikuje multifaktorijalna etiologija, u kojoj postoji interakcija između genetske predispozicije i činilaca iz životne sredine. Učestalost DMT2 se povećava sa godinama života i najčešće se javlja nakon 35. godine (6). Dijagnoza dijabetes melitus tip 2 se postavlja prema preporuci Američke dijabetesne organizacije (Eng. *American Diabetes Association*; ADA) iz 2021. godine na osnovu dijagnostičkih kriterijuma prikazanih u *Tabeli 1* (78).

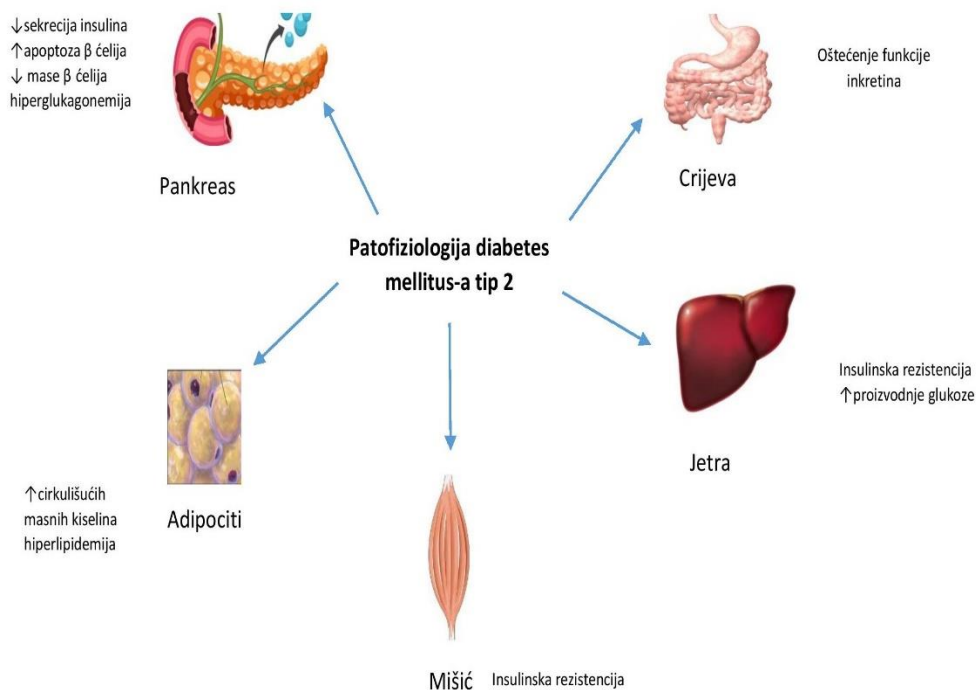
Tabela 1. Kriterijumi za postavljanje dijagnoze *diabetes mellitus* tip 2 (ADA, 2021)

Vrsta testiranja	Vrijednosti testa
Glikemija našte (<i>Fasting plasma glucose</i> ; FPG) <small>*gladovanje se definiše kao ne uzimanje hrane najmanje 8 h</small>	≥ 7.0 mmol/L
ili	
2 h nakon testa oralnog opterećenja glukozom (<i>Oral glucose tolerans test</i> ; OGTT)	≥ 11.1 mmol/L
ili	
Vrijednost glikoziliranog hemoglobina; HbA1c	≥ 6.5 %
ili	
Slučajni nalaz hiperglikemije kod pacijenata sa hiperglikemijskim simptomima ili sa simptomima hiperglikemijske krize	≥ 11.1 mmol/L

Izvor: American Diabetes Association; 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care* 2021; 44 (Suppl 1): S15–S33.

DMT2 je progresivno oboljenje čiji simptomi se razvijaju sporo. Na početku postoji smanjenje insulinske senzitivnosti i kao odgovor na hiperglikemiju povećava se stvaranje insulina u β -ćelijama pankreasa. Viši nivo cirkulišućeg insulina u početku uspijeva da održi normoglikemiju, međutim tokom razvoja oboljenja, povećanje sekrecije insulina ne može da kompenzuje smanjenje osjetljivosti tkiva na insulin i dolazi do rasta glikemije. Postepeno se smanjuje i funkcija β -ćelija pankreasa, što dovodi do nedostatka insulina. Na *Slici 5* prikazane su patofiziološke promjene u DMT2. Pankreas stvara insulin, koji normalno smanjuje proizvodnju glukoze u jetri, omogućava preuzimanje glukoze od strane skeletnih mišića i suprimuje oslobađanje masnih kiselina iz masnog tkiva. Međutim u DM postoji istovremeno smanjenje sekrecije insulina i oštećenje njegove aktivnosti, što dovodi do povećanja cirkulišućih masnih kiselina i hiperglikemije. Kao odgovor na hiperglikemiju i povećanje cirkulišućih masnih kiselina pogoršava se i sekrecija insulina i razvija se insulinska rezistencija (IR) (80,81). Insulinska rezistencija je osnovno obilježje DMT2, koja je često udružena sa skupom metaboličkih poremećaja (gojaznost, visceralna gojaznost, dislipidemija, hipertenzija i endotelijalna disfunkcija). Svaki činitelj ponaosob, predstavlja nezavisan činitelj rizika za razvoj

KVB, a zajedno imaju kumulativni efekat i mogu biti prediktori nastanka koronarne bolesti srca (82).



Slika 5. Patofiziološke promjene u *Diabetes Mellitus* tip 2

Preuzeto i adaptirano: Baynes HW. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab* 2015; 6:541.

1.3.2 DIJABETES I GOJAZNOST

Gojaznost proistekla iz povećanog energetskeg unosa i/ili smanjenja energetske potrošnje, pozitivna porodična anamneza i nedovoljna fizička aktivnost su značajni činioci rizika za nastanak DMT2 (83). Posljednjih godina je primjećen ubrzan rast incidencije dijabetesa, što je praćeno i porastom broja gojaznih osoba u svjetskoj populaciji. Većina pacijenata sa DMT2 je gojazno, a kod ostatka oboljelih, kojima indeks tjelesne mase (Eng. *Body Mass Index*; BMI) nije u kategoriji gojaznih, postoji povećanje sadržaja masnog tkiva u organizmu i to naročito prisustvo visceralne gojaznosti (84). Masno tkivo, ne predstavlja samo depo masti, nego se ponaša kao metabolički aktivan organ i povezuje se sa razvojem insulinske rezistencije, ali ima i značajnu ulogu u razvoju inflamacije niskog stepena (85).

Pretpostavljeni patofiziološki mehanizmi koji povezuju razvoj insulinske rezistencije sa gojaznošću, obuhvataju defekt na nivou pre-receptora, receptora i post-receptora. Na početku dolazi do hipertrofije adipocita i posljedične hipoksije, koja je okidač nekroze adipocita i oslobađanja monocitnog hemoatraktnog proteina 1 (Eng. *Monocyte chemoattractant protein 1*; MCP1) što dovodi do infiltracije monocita u masno tkivo (86). Migracijom monocita u masno tkivo dolazi do diferencijacije u proinflamatorne makrofage koji oslobađaju bioaktivne komponente: slobodne masne kiseline (Eng. *Free fatty acids*; FFA) i proinflamatorne citokine. Povećanje nivoa cirkulišućih FFA smanjuje osjetljivost tkiva na insulin (pre-receptorski defekt) uslijed čega dolazi do hiperinsulinemije, koja vodi do nishodne regulacije insulinskih receptora (receptorski defekt) i istovremeno aktivira signalne puteve preko NF- κ B i dovodi do povećanja ekspresije medijatora inflamacije IL-6 i TNF- α i smanjenja adipokinina (post-receptorski defekt) (87). U daljem razvoju inflamacije, IL-6 stimuliše stvaranje CRP-a u hepatocitima i doprinosi nastanku hronične inflamacije (88). Povišen nivo medijatora inflamacije inhibira sintezu i sekreciju adiponektina koji se smatra antiinflamatornim adipokininom. Tako nastala inflamacija niskog stepena doprinosi daljem napretku insulinske rezistencije (86).

1.3.3 DIJABETES I HIPERTENZIJA

Povišen sistolni krvni pritisak (*hypertensio arterialis*; HTA) je najčešći pojedinačni uzrok smrtnosti (19.2 % svih smrti) u svijetu i prvi uzrok nesposobnosti, odgovoran za 235 miliona izgubljenih godina života (Eng. *Disability Adjusted Life Years*; DALYs) (89). Procjena je da 70-80 % pacijenata sa DMT2 ima hipertenziju, međutim rezultati evropske studije su pokazali da samo 50 % pacijenata sa dijabetesom postiže ciljne vrijednosti krvnog pritiska (90).

Jedan od predloženih patofiziološki mehanizama nastanka HTA kod pacijenata sa DMT2 je poremećaj renin-angiotenzin sistema (RAS) (91). Naime, gojaznost, a naročito prisustvo visceralne gojaznosti, dovodi do razvoja hronične inflamacije niskog stepena, koja udružena sa prisustvom oksidativnog stresa povećava stvaranje angiotenzina II, uslijed čega dolazi do poremećaja aktivacije RAS (92). HTA udružen sa dijabetesom je snažan, promjenljivi činilac rizika za nastanak makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija dijabetesa, povećavajući četiri puta rizik za nastanak KVB (92), a tri puta rizik za nastanak arterijske bolesti srca u poređenju sa zdravim osobama (93). Preporuke zasnovane na dokazima podupiru snižavanje

krvnog pritiska kod dijabetičara na vrijednosti < 140 mmHg za sTA, odnosno na < 90 mmHg za dijastolni krvni pritisak (dTA) (94).

1.3.4 DIJABETES I DISLIPIDEMIJA

Dislipidemija predstavlja poremećaj metabolizma lipida i 60 - 70 % pacijenata sa DMT2 ima dislipidemiju koja se karakteriše povećanim nivoom triglicerida, smanjenim nivoom lipoproteina visoke gustine (HDL-C) i umjerenim povećanjem ukupnog holesterola (Uk.Hol) i lipoproteina niske gustine (LDL-C) (95). Smatra se da prisustvo insulinske rezistencije ima najznačajniju ulogu u razvoju hipertrigliceridemije. Naime, poremećaj metabolizma lipoproteina postoji godinama prije dijagnoze DM (96,97). Kao što smo već rekli, prisustvo insulinske rezistencije povećava nivo cirkulišućih FFA, koje utiču na smanjenje aktivnosti enzima lipoproteinske lipaze i dovodi do povećanja vrijednosti triglicerida (TG). Povećane vrijednosti TG povećavaju katabolizam HDL-C i dolazi do smanjenja nivoa HDL-C, a istovremeno se povećava nivo LDL-C (98).

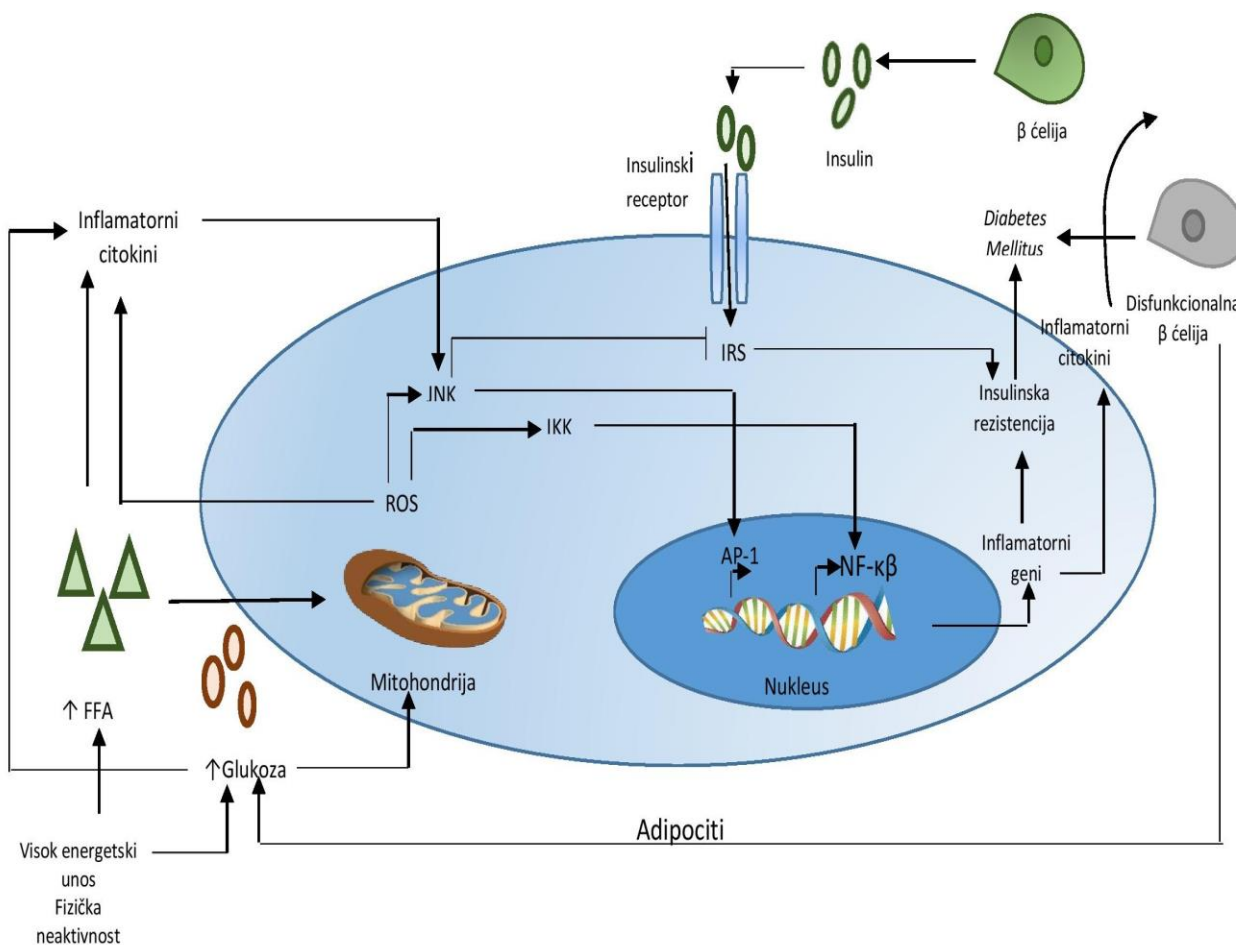
Prisustvo dislipidemije dva puta povećava rizik za nastanak KVB u poređenju sa osobama sa normalnim lipidnim profilom (99). Preko 50 % smrtnosti pacijenata sa DMT2 povezuje se sa komplikacijama arterijske bolesti srca (100). Istovremeno prisustvo hipertenzije, gojaznosti, sniženog nivoa fizičke aktivnosti kao i dužina trajanja DM su glavni činioci za nastanak dislipidemije kod pacijenata sa DM (101).

1.3.5 DIJABETES I OKSIDATIVNI STRES

Podaci dobijeni eksperimentalnim i kliničkim studijama ukazuju na ulogu oksidativnog stresa u nastanku DMT2 i daljoj progresiji bolesti i nastanku dijabetičnih komplikacija (102). Stalno prisutna hiperglikemija povećava stvaranje ROS intracelularnim i ekstracelularnim mehanizmima. Ekstracelularna hiperglikemija indukuje procese glikacije i autooksidacije DNK, proteina i lipida, te dolazi do povećanja krajnjih produkata glikooksidacije (Eng. *advanced glycation end products*; AGEs) (103). Povećanje nivoa AGEs aktivira nikotin-amid-dinukleotid-fosfat (NADPH) oksidazu, što dovodi do povećanog stvaranja ROS. Intracelularna hiperglikemija djeluje na nivou elektron-transportnog sistema u mitohondriji i doprinosi prekomjernom stvaranju ROS. Iako postoji više izvora ROS u ćeliji, smatra se da povećanje

aktivnosti NADPH oksidaze ima centralnu ulogu u produkciji ROS (104,105). Tako nastale ROS djeluju na insulinske receptore, naročito na β -subjedinicu i dovode do poremećaja transdukcije signala na insulinskim receptorima. U β -ćelijama pankresa postoji nizak nivo antioksidativnih enzima (CAT, glutation peroksidaze; GPx i SOD), što ove ćelije čini naročito osjetljivim na djelovanje ROS. Dodatno se pogoršava funkcija β -ćelija i smanjuje lučenje insulina, a prekomjerno nakupljanje ROS može dovesti i do apoptoze (102,103).

Kada se razvije oksidativni stres indukovani prekomjernim stvaranjem ROS u ćeliji, dolazi do promjene genske ekspresije transmembranskih proteina i daljeg pogoršanja IR u DMT2. Kao odgovor na oksidativni stres i povećan nivo cirkulišućih FFA, uz istovremenu hiperglikemiju aktivira se C-Jun-terminal kinaza (JNK) signalni put. Aktivirani JNK djeluje na transkriptorne faktore: aktivator proteina-1 (AP-1), i Nf- κ B koji povećavaju dalje stvaranje inflamatornih faktora (106). Sve ove promjene dovode do nastanka hiperglikemije koja je glavna karakteristika DMT2, ali i do daljeg razvoja oksidativnog stresa i nastanka hronične inflamacije niskog stepena, koji su neraskidivo povezani u patofiziologiji dijabetes melitusa što je prikazano na *Slici 6 (1)*.



Slika 6. Patofiziološki mehanizmi inflamacije i oksidativnog stresa u *Diabetes Mellitus*-u

Preuzeto i adaptirano: Islam MA, Alam F, Solayman M, Khalil MI, Kamal MA, Gan SH. Dietary Phytochemicals: Natural swords combating Inflammation and oxidation-mediated degenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016:5137431.

Upotreba biljnih lijekova u terapiji DM (fitoterapeutika) sve više nalazi svoju primjenu u terapiji DM. Polifenoli su, upravo zbog svoje sposobnosti da djeluju na više različitih patofizioloških mehanizama, perspektivni kandidati u razvoju novih terapijskih pristupa u savremenoj terapiji DM (107).

2. RADNE HIPOTEZE

1. Osnovna pretpostavka istraživanja je bila da peroralna primjena 500 mg ekstrakta kore nara utiče na kardiometaboličke parametre kod pacijenata sa tip 2 dijabetesom.
2. Peroralna primjena ekstrakta kore nara utiče na smanjenje parametara oksidativnog stresa kod pacijenata sa tip 2 dijabetesom.
3. Peroralna primjena ekstrakta kore nara utiče na smanjenje parametara inflamacije kod pacijenata sa tip 2 dijabetesom.

3. CILJEVI

1. Ispitati uticaj polifenola iz ekstrakta kore nara na metaboličke parametre kod pacijenata sa tip 2 dijabetesom:
 - 1a). na tjelesni sastav pacijenata sa DMT2 određivanjem antropometrijskih pokazatelja (BMI, obim struka; OS, procenat masnog tkiva);
 - 1b). na kvalitet glikoregulacije određivanjem vrijednosti glikoziliranog hemoglobina u krvi, homeostatskog modela insulinske rezistencije; Indeksa insulinske senzitivnosti i triglicerid-glukoza indeksa;
 - 1c). na vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska;
 - 1d). na biomarkere lipidnog statusa (ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol, trigliceridi) i profil masnih kiselina.
2. Ispitati uticaj polifenola iz ekstrakta kore nara na biomarkere oksidativnog stresa i homocisteina kod pacijenata sa tip 2 *diabetes mellitus*-om.
3. Ispitati uticaj polifenola iz ekstrakta kore nara na biomarkere inflamacije kod pacijenata sa tip 2 *diabetes mellitus*-om.

4. MATERIJAL I METODE

4.1 FAZE ISTRAŽIVANJA

Istraživanje se odvijalo u 5 faza.

Faza I- odabir kontrolne grupe

Kontrolnu grupu je činilo 10 zdravih ispitanika/ca, životne dobi od 40-65 godina, što podrazumjeva odsustvo medicinski definisanih bolesti i nesposobnosti (nemaju metabolički sindrom i nemaju pozitivnu ličnu anamnezu za KVB, maligna oboljenja, hronična degenerativna oboljenja). Svi ispitanici/ce koji ispunjavaju kriterijume su usmeno i pismeno informisani o protokolu studije i cilju istraživanja i svojim potpisom na informisanom pristanku su potvrdili saglasnost o dobrovoljnom učešću u istraživanju.

Faza II- odabir eksperimentalne grupe

Eksperimentalnu grupu je činilo 60 ispitanika/ca koji su ispunjavali kriterijume uključivanja u studiju. Svi ispitanici/ce koji ispunjavaju kriterijume su usmeno i pismeno informisani o protokolu studije i cilju istraživanja i svojim potpisom na informisanom pristanku su potvrdili saglasnost o dobrovoljnom učešću u istraživanju.

Faza III- randomizacija

U fazi randomizacije ispitanici/ce su blok randomizacijom podijeljeni u dvije grupe u odnosu 1:1, usklađene po dobi i polu: interventnu grupu PoPEX i grupu Placebo, pri čemu ni istraživač, a ni pacijenti/ce nisu znali da li se nalaze u interventnoj ili placebo grupi.

Faza IV- interventni period

Na početku interventnog perioda svi ispitanici/ce su intervjuisani od strane istraživača, popunjen je anketni upitnik, trodnevni dnevnik ishrane, izvršena su antropometrijska mjerenja i klinička procjena i određene su vrijednosti biohemijskih parametara. Prva grupa (PoPEX) ispitanika/ica je svakodnevno, tokom 8 sedmica uzimala 500 mg ekstrakta kore nara, podijeljeno u dvije doze (kapsula sa 250 mg ekstrakta kore nara). Druga grupa (Placebo) ispitanika/ica je u istom periodu, uzimala dva puta dnevno kapsule koje sadrže 250 mg placeba. Na kraju interventnog perioda

ponovljen je intervju i ponovo popunjeni upitnici i izvršena antropometrijska mjerenja i klinička procjena, kao i određene vrijednosti bihemijskih parametara.

Faza V- Prikupljanja i obrada podataka

Prikupljene podaci su uneseni u program za obradu podataka koji su statistički obrađeni, nakon čega je istraživaču otključana randomizacija.

4.2 ISPITANICI I DIZAJN STUDIJE

Istraživanje je provedeno na Univerzitetском kliničkom centru Republike Srpske; UKC RS (Klinika za unutrašnje bolesti - Odjeljenje centra za dijabetes sa endokrinologijom). Istraživanje se sastojalo iz dva odvojena ciklusa.

U prvom ciklusu je posmatrana kontrolna grupa, kod koje su se posmatrali mogući neželjeni efekti ekstrakta kore nara. Drugi ciklus je proveden kao monocentrična, dvostruko slijepa, randomizovana, placebo-kontrolisana studija, u periodu od maja do novembra 2018. godine. Ukupan uzorak je činilo 70 ispitanika/ca koji su podijeljeni u dvije osnovne grupe:

Prvu, kontrolnu grupu je činilo 10 zdravih ispitanika/ica, životne dobi od 40-65 godina, što podrazumjeva odsustvo medicinski definisanih bolesti i nesposobnosti (nemaju metabolički sindrom i nemaju pozitivnu ličnu anamnezu za KVB, maligna oboljenja, hronična degenerativna oboljenja). Kontrolna grupa je tokom interventnog perioda, u trajanju od 8 sedmica dva puta dnevno, pola sata prije obroka, dobijala kapsule sa 250 mg PoPEX-a.

Drugu, eksperimentalnu grupu je činilo 60 pacijenata/ica sa prekomjernom tjelesnom masom, oboljelih od DMT2, životne dobi od 40 do 65 godina, kojima je dijagnoza DMT2 postavljena najkraće godinu dana prije početka istraživanja, na osnovu kriterija Svjetske zdravstvene organizacije (Eng. *World Health Organization*; WHO) i ADA (108,109). Pacijenti/ce su blok randomizacijom, od strane trećeg lica podijeljeni u dvije podgrupe, usklađene po dobi i polu:

1. Interventna grupa "PoPEX grupa" (n=30) koja je tokom interventnog perioda u trajanju od 8 sedmica dobijala kapsule sa 250 mg PoPEX, dva puta dnevno, pola sata prije obroka.
2. Placebo grupa (n=30) koja je dobijala vizuelno identične kapsule sa 250 mg placeba, dva puta dnevno, pola sata prije obroka.

Svi ispitanici/ce su savjetovani da tokom interventnog perioda od 8 sedmica, nastave sa stalnom terapijom, uobičajenom ishranom i fizičkom aktivnošću. Preliminarni dizajn studije je planiran u skladu sa Helsinškom deklaracijom i odobren od strane Etičkog odbora Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci (Broj: 18/4.37/17) i Etičkog odbora UKC RS (Broj: 01-9-604-2/17). Svi ispitanici/ce su dobili usmenu i pisanu informaciju o protokolu istraživanja i svaki

ipitanik/ca je svojim potpisom na obrascu informativnog pristanka za ispitanike/ce, potvrdio/la saglasnost za dobrovoljno učešće u ispitivanju.

Kriterijumi za uključivanje pacijenata/ica u eksperimentalnu grupu:

- Potpisan informisani pristanak
- Životna dob od 40 do 65 godina
- Postavljena dijagnoza DMT2, najkraće jednu godinu od početka interventnog perioda
- Terapija oralnim hipoglikemicima (Metformin) u poslednja tri mjeseca od početka istraživanja, sa HbA₁C vrijednostima ≥ 6.5 %
- Prekomjerna tjelesna masa ili gojaznost (indeks tjelesne mase $\geq 25\text{kg/m}^2$)
- Lipidni status TG ≥ 1.7 mmol/L; HDL-C < 1.03 mmol/L muškarci, < 1.29 mmol/L žene
- Visina arterijskog krvnog pritiska $\geq 130/85$ mmHg

Kriterijumi za neuključivanje pacijenata/ica u studiju:

- Terapija insulinom poslednja tri mjeseca prije početka interventnog perioda
- Promjena terapije poslednja tri mjeseca prije početka interventnog perioda
- Primjena mineralno-vitaminskih suplemenata poslednja tri mjeseca prije početka interventnog perioda
- Primjena sistemskih kortikosteroda poslednja tri mjeseca prije početka interventnog perioda
- Primjena atipičnih antipsihotika poslednja tri mjeseca prije početka terapije
- Pozitivna anamneza za KVB (infarkt miokarda, moždani udar)
- Pozitivna anamneza za maligna oboljenja
- Ispitanici sa infektivnim oboljenjem
- Trudnice i dojilje

Kriterijumi za isključivanje pacijenata/ica iz istraživanja:

- Nepoštovanje protokola istraživanja (propušteno više od 10 % doze)
- Uvođenje nove terapije u toku interventnog perioda
- Neadekvatno uzet i pripremljen uzorak za analizu
- Promjena načina ishrane u toku interventnog perioda
- Promjena navike pušenja u toku interventnog perioda

- Neželjena reakcija/događaj (gastrointestinalna nepodnošljivost, alergija)
- Na lični zahtjev

Primjenjena intervencija

Ekstrakt kore nara. U studiji je korišten ekstrakt kore nara koji je dobijen iz kore ploda nara uzgojenog u Istočnoj Hercegovini (Bosna i Hercegovina). Nar (*Punica granatum* L.) je deponovan u Botaničkoj Bašti "Jevremovac" Univerziteta u Beogradu vaučer br. BEOU 17742. PoPEX je pripremljen u Institutu za proučavanje ljekovitog bilja „dr Josif Pančić“ Beograd, Srbija prema sljedećoj metodologiji.

Kora nara je odvojena od ploda i sušena 4-6 dana, a nakon toga je samljevena u laboratorijskom mlinu. Za pripremu ekstrakta, kao rastvarač je korišten etanol. Sadržaj polifenola je kvantifikovan tečnim hromatografom visokih performansi (Eng. *high performance liquid chromatography*; HPLC) *Slika 7*. U ekstraktu je određen sadržaj elagne i galne kiseline, punikalagina i punikalina i izraženi su u mg/g suve težine.

Dobijeni ekstrakt sadrži:

punikalagin 69.67 ± 0.72 mg/g,

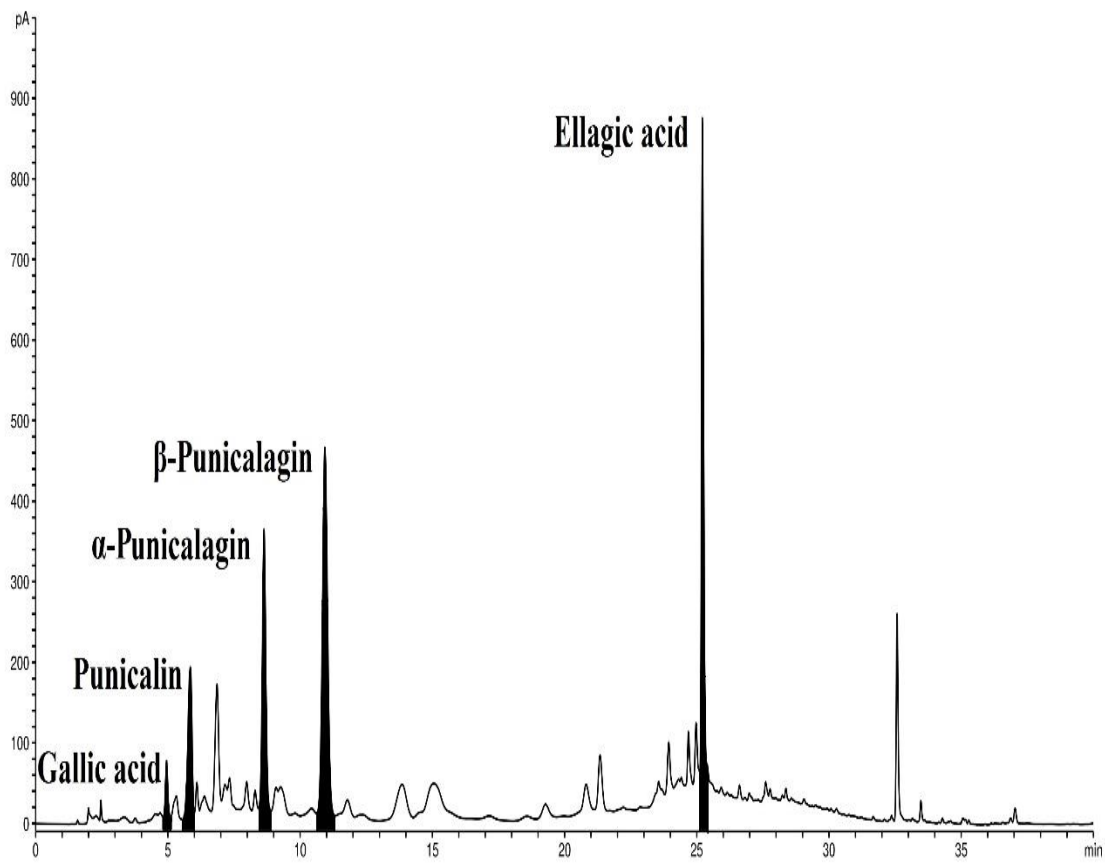
punikalin 30.41 ± 0.11 mg/g,

elagnu kiselinu 23.83 ± 0.07 mg/g i

galna kiselina 10.46 ± 0.04 mg/g,

Takođe, u ekstraktu je utvrđeno i prisustvo flavonoida: kvercetin, rutin i kempferol, kao i cijanidin-3-glikozid. Spektrofotometrijski (prema Evropskoj Farmakopeji 8.0) je utvrđeno prisustvo ukupnih tanina u količini od 11.8 %, što je u skladu sa Monografijom WHO (110,111). Svaka kapsula je sadržala 250 mg ekstrakta kore nara.

Placebo kapsule. Placebo kapsule su sadržavale ekscipijens, laktozu, skrob i magnezijum-stearat. Energetska vrijednost PoPEX kapsula i kapsula sa placeboom je iznosila manje od 50 kJ/12 kcal.



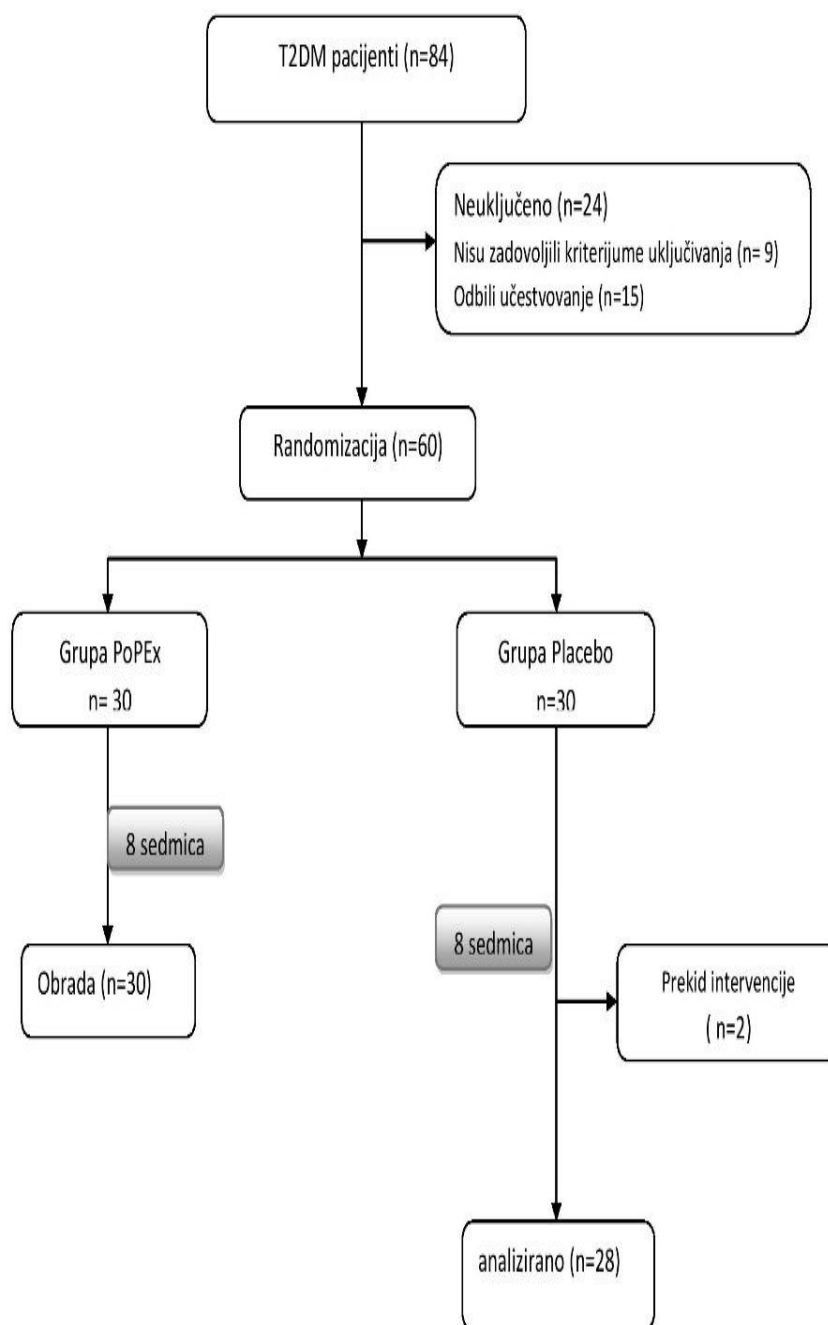
Slika 7. Sadržaj polifenola u ekstraktu kore nara

4.3 METODE

Nakon pristupa Nacionalnom registru za dijabetes identifikovano je 84 pacijenta/ica koja su ispunjavala kriterijume za uključivanje u studiju od kojih je 60 pacijenata prihvatilo učešće. Na početku interventnog perioda od svih pacijenata/ica su prikupljeni sljedeći podaci: godina rođenja, pol, zanimanje, pušački status, upotreba lijekova. Takođe, kod svih pacijenata/ica su na početku i na kraju interventnog perioda uzeti uzorci pune venske krvi i izvršena antropometrijska mjerenja i klinička procjena, kao i dijetetska procjena na osnovu trodnevnog dnevnika ishrane.

Svim pacijentima/cama su uručene kutijice sa kapsulama ekstrakta kore nara/placeba, sa količinom dovoljnom za interventni period od 8 sedmica i skrenuta im je pažnja da ne mijenjaju dosadašnji stil života i navike u ishrani. Provjera redovnosti uzimanja kapsula je vršena tako što je istraživač, na sedmičnom nivou, telefonski provjeravao uzimanje kapsula, a na kraju interventnog perioda su prebrojane eventualno neupotrebljene kapsule. Iz studije su isključena dva pacijenta iz "Placebo grupe" koja nisu redovno uzimala kapsule (više od 10 % doze).

Prikaz odabira ispitanika/ica prikazan je na *Slici 8*. Od ispitanika/ica je traženo da zabilježe tegobe, koje su se mogle javiti u toku interventnog perioda.



Slika 8. Shematski prikaz toka istraživanja

4.3.1 ANTROPOMETRIJSKA MJERENJA

Antropometrijska mjerenja su vršena u jutarnjim časovima i obuhvatala su mjerenje tjelesne visine (TV), tjelesne mase (TM), obim struka (OS) i izračunavanje indeksa stanja uhranjenosti. Primjenom BMI procjenjivano je stanje uhranjenosti ispitanika.

- TV je mjerena prenosivim visinometrom sa pokretnom glavom „SECA 206“, a izražavana je u centrimetrima. Ispitanik/ica stoji uspravno, bez obuće, na ravnoj podlozi. Težina tijela je ravnomjerno raspoređena na oba stopala koja su sastavljena. Glava, lopatica, zadnjica i pete dodiruju zid, a glava se nalazi u položaju u kome se Franfurtska linija (linija koja spaja donji rub orbite sa gornjim rubom ušnog tragusa) nalazi u horizontalnoj ravni. Pokretni dio visinomjera se naslanja na najizraženiji dio glave sa dovoljnim pritiskom na kosu. Mjerenje se vrši do najbližih 0.1 cm (112). Tjelesna visina je mjerena na dan anketiranja i nakon perioda od 8 sedmica.
- TM je mjerena prenosnom digitalnom vagom sa tegovima „SECA 877“, a izražavana je u kilogramima. Mjerena osoba stoji na srednjem dijelu vage sa sastavljenim petama, težinom ravnomjerno raspoređenom na oba stopala i skinutim „težim“ dijelom odjeće. Mjerenje se vrši do najbližih 100 grama (112). Tjelesna masa je mjerena na dan anketiranja i nakon perioda od 8 sedmica.
- OS je mjereno prenosnim plastičnim neelastičnim centimetrom „SECA 201“ i izražavao se u centrimetrima prema WHO STEPS protokolu (*WHO STEPwise Approach to Surveillance*). Mjerena osoba stoji sa opuštenim rukama pored tijela, stopala su spojena, težina tijela ravnomjerno raspoređena. Mjerenje se vrši na sredini rastojanja između donje ivice poslednjeg rebra i kriste ilijake (na srednjoj aksilarnoj liniji) u horizontalnoj ravni. Osoba koja mjeri obim struka sjedi ispred ispitanika, pričvrsti centimetar tako da ne izvrši pritisak na meka tkiva. Ispitanik nekoliko puta udahne i na kraju normalnog ekspirijuma vrši se mjerenje. Mjerenje se vrši do najbližih 0.1 cm (113). Prema WHO i IDF rezultati su tumačeni u skladu sa polom, ali i geografskim i populacijskim specifičnostima ispitanika/ica.

- BMI se računao iz izmjerenih vrijednosti za tjelesnu masu (kg) i tjelesnu visinu (m), tako što se tjelesna masa podijeli sa kvadratom tjelesne visine i izražava se u kg/m². Dobijene vrijednosti će se interpretirati prema klasifikaciji stanja uhranjenosti WHO (114).
- Tjelesna kompozicija (tjelesna mast %, visceralni nivo masti i fazni ugao) određeni su pomoću Tanita analizatora bioelektrične impedance (BIA), (Model 5x5; *Tanita Corporation Tokyo, Japan*). Korišten je i Harpenden kaliper za mjerenje debljine kožnih nabora. Mjerenja se vršena u tripletu, sa desne strane tijela i korištena je srednja vrijednost na osnovu čega je određen procenat masnog tkiva.

4.3.2 KLINIČKA PROCJENA

- Mjerenje arterijskog krvnog pritiska sfingomanometrom sa živom „diplomat-presametar“ firme Reister, CE 0124; *Germany*, sa tri dimenzije manžetni i stetoskopom, duplex firme *Reister*. Svakom ispitaniku je nakon odmora od 10 minuta, tri puta izmjeren arterijski krvni pritisak u vremenskom razmaku od 5 minuta. Korištena je srednja vrijednost mjerenja. Za vrijeme mjerenja ispitanik je u sjedećem položaju, manžeta manometra je obavijena oko lijeve ruke, a njena donja ivica se nalazi 2,5 cm iznad sredine lakatne jame.

4.3.3 DIJETETSKA PROCJENA

- Dijetetska ispitivanja: Svi ispitanici/ce su na početku i na kraju interventnog perioda vodili trodnevni dnevnik ishrane da bi se procijenio energetske unos i unos makronutrijenata. Dnevnik ishrane je kontrolisan od strane istraživača i kada je to bilo moguće, uz pomoć fotografija procijenjena je veličina porcije. Za preračunavanje energetske unosa i unosa makronutrijenata korištena je regionalna baza podataka (Eng. *Serbian Food Composition Database*) o sastavu namirnica koja je kreirana u Centru izuzetnih vrednosti u oblasti proučavanja ishrane i metabolizma (softverski program „NutPlan“) i usklađena sa EuroFIR standardom i objedinjena u Balkansku platformu hrane (Eng. *EuroFIR Food Platform and Balkan Food Platform*) (115).

4.3.4 BIOHEMIJSKA ISPITIVANJA

Uzorak krvi ispitanika/ica je uzet venepunkcijom 12-14 časova nakon posljednjeg obroka, u jutarnjim časovima (od 07:00 do 09:00 časova), a pacijent je predhodno upoznat sa terminom uzimanja uzorka. Nakon uzimanja uzorka krvi u laboratoriji UKC RS određeni su sljedeći parametri (glikemija, insulinemija, % HbA_{1C}, lipidni status i hsCRP) a u laboratoriji Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci određen je ukupni antioksidativni kapacitet. Uzorci za određivanje koncentracije parametara inflamacije, oksidativnog statusa i sadržaja masnih kiselina su centrifugirani i zamrznuti na -80 °C u laboratoriji Medicinskog fakulteta u Banjaluci, do konačne analize.

4.3.4.1 Biomarkeri glikemijskog statusa

Određivanje % HbA_{1C} i glikemije na tašte (mmol/L) vršeno je standardnom biohemijskom metodom *Cobas 6000 analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)*.

Određivanje koncentracije insulina u serumu (μIU/mL) je vršeno na *ADVIA Centaur XPT immunoassay analyzer (Simens Healthineers, Tarrytown, NY, USA)*.

Procjena insulinska rezistencije je vršena računanjem indeksa homeostatskog modela insulinske rezistencije (Eng. *Homeostatic model of insulin resistance*; HOMA-IR indeks) i izračunavanjem triglicerid-glukoza indeksa (TyG) prema sljedećim formulama:

$$\text{HOMA IR: } \frac{\text{Insulin našte } \mu\text{IU} / \text{mL} * \text{Glikemija našte mmol} / \text{L}}{22.5}$$

$$\text{TyG: } \ln [\text{Trigliceridi (mg/dL} = \text{mmol/l} * 88.57) * \text{glikemija (mg/dL} = \text{mmol/L} * 18.182)] / 2$$

Indeks insulinske senzitivnosti (Eng. *Quantitative insulin sensitivity check index*; QUICKI) je računat prema sljedećoj formuli:

$$\frac{1}{\log \text{ insulinemija } (\mu\text{IU} / \text{mL}) + \log \text{ glikemija (mg/dL} = \text{mmol/l} * 18.182)}$$

4.3.4.2 Biomarkeri lipidnog statusa i profil masnih kiselina

Određivanje lipidnog statusa u serumu vršeno je standardnom biohemijском metodom *Cobas 6000 analyzer* (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Vršeno je određivanje Uk.Hol (mmol/L), LDL-C (mmol/L), HDL-C (mmol/L) i TG (mmol/L).

Za određivanje masnih kiselina (MK) u ukupnim lipidima plazme korištena je modifikovana metoda *Glaser-a* i saradnika (116). Metoda je djelimično modifikovana na sljedeći način: 100 mL plazme je pomiješano sa 1.5 mL hlorovodonične kiseline u metanolu (3M HCL u MetOH). Dobijena mješavina je zagrijana na 85 °C u trajanju od 45 minuta. Nakon hlađenja do sobne temperature dodat je 1 mL heksana, a zatim centrifugirana na 1800 xg u trajanju od 10 min. Sloj sa heksanom se odvaja i upari do suvog u struji azota. Uzorak je rastvoren u 10 µL Heksana i 1 µL rastvora i injektovan u gasni hromatograf (Shimadzu 2014), sa kapilarnom kolonom RESTEK, Rtc 2330, dužine 60 m, prečnika 0.25 mm, a debljina filma stacionarne faze 0.2 µm. Protok nosećeg gasa 34 (helijuma) bio je 5 mL/min, protok vazduha 320 mL/min, a vodonika 30 mL/min. Temperatura kolone se kretala od 140 °C - 210 °C, tokom 3 minute. Masne kiseline su indentifikovane poređenjem sa retencionim vremenom komercijalnog standarda masnih kiselina PUFA-2 (Supelco, Inc., Belleforte, Pennsylvania, USA). Rezultati su izraženi u procentima masnih kiselina.

4.3.4.4 Biomarkeri oksidativnog stresa i analiza homocisteina

U uzorcima plazme, spektrofotometrijski je utvrđen nivo prooksidativnih parametara, nivo lipidne peroksidacije, nitriti (NO_2^-), O_2^- , H_2O_2 (Shimadzu UV 1800 spektrofotometar, Japan).

- Nivo lipidne peroksidacije u plazmi. Korištena je indirektna metoda određivanjem koncentracije produkata reakcije tiobarbiturne kiseline (Eng. *Tiobarbituric acid reactive substances*; TBARS) miješanjem 0.8 mL plazme sa 0.4 mL 1 % tiobarbiturne kiseline u 0.05 NaOH. Korištena metoda se temelji na određivanju nivoa lipidne peroksidacije u reakciji malondialdehida s tiobarbiturnom kiselinom. Indeks lipidne peroksidacije mjeren je u uzorcima plazme na 530 nm. Za slijepu probu je korištena destilovana voda (117).

- Određivanje nitrita (NO_2^-). Korištena je indirektna metoda u uzorcima plazme, s obzirom da je azot monoksid nestabilno jedinjenje i brzo se razgrađuje stvarajući stabilne metabolite kao što su nitriti/nitrati. Metoda se temelji se na *Griess*-ovoj reakciji. Metoda se izvodi tako što se 0.2 mL plazme pomiješa sa 0.1 mL 3N perhlorne kiseline i doda se 0.4 mL etilendiamintetraacetatne kiseline (20 mM EDTA). Nakon miješanja i inkubacije na ledu (15 minuta), uzorci se centrifugiraju na 6000 obrtaja/minutu u trajanju od 15 minuta. U talog se dodaje 220 μL kalijum karbonata (K_2CO_3). Nitriti su mjereni na 550 nm. Za slijepu probu je korištena destilovana voda (118)
- Određivanje superoksid anjona (O_2^-). Određivanje O_2^- se temelji se na reakciji O_2^- s nitro-tetrazolijem plavim, pri čemu se stvara nitro-formazon plavi. U 50 μL plazme dodato je 950 μL esejne smjese *ex tempore*. Mjerenje je vršeno u tripletu, svakih 60 sekundi na 550 nm. Za slijepu probu je korištena destilovana voda (119).
- Određivanje vodonik peroksida (H_2O_2). Određivanje H_2O_2 se temelji se na oksidaciji fenol crvenog sa H_2O_2 . Ovu reakciju katalizuje peroksidaza, enzim iz hrena (HRPO). U 800 μL rastvora fenol crvenog i 10 μL peroksidaze se dodaje 200 μL plazme. Nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi, mjerena je koncentracija H_2O_2 na 610 nm. Za slijepu probu je korištena destilovana voda (120).
- Određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta (Eng. *Total antioxidant capacity*; TAC) u serumu je vršen komercijalno dostupnim kitom (Eng. *Antioxidant Assay Kit*, Sigma-Aldrich). Određivanje je vršeno spektrofotometrijskom metodom koja se zasniva na stvaranju feril mioglobin oblika methemoglobina i H_2O_2 koji oksiduju ABTS+ (2,2-azobis (3-etilbenzotiazolidin-6-sulfonat)) katjon i koji pri tome mijenja boju. Promjena boje je srazmjerna koncentraciji prisutnih ukupnih antioksidanasa u serumu, a apsorpcija je mjerena na 405 nm.
- Koncentracija homocisteina (Hcy) je izmjerena u serumu pomoću HPLC metode, odvajanjem reverzne faze i fluorescentne detekcije, kao što je ranije opisano. Fluorescencija je izmjerena na 390 nm, dok je emisija izmjerena na 470 nm (121).

4.3.4.5 Biomarkeri inflamacije (hsCRP, IL-6, TNF- α)

- Određivanje koncentracije citokina je vršeno pomoću humanog citokin-specifičnog ELISA eseja (Human IL-6 DUOSET ELISA Development kit, R & amp; D Systems, USA; Human TNF- α /TNFSF1A DUOSET ELISA Development kit, R & amp; D Systems, USA) prema uputstvu proizvođača. Nakon dodavanja 100 μ L vezujućeg antitijela u bunarčiće polistirenskih mikrotitar ploča (Eng. *Micro-titer plates*; MTP), ploče su ostavljene na sobnoj temperaturi tokom noći. Nakon toga je dodat blokirajući pufer (Eng. *block buffer*) do volumena 300 μ L i MTP su inkubirane na sobnoj temperaturi u trajanju od 60 minuta. Razrjeđeni standardi su dodati u epruvete koje su ostavljene na sobnoj temperaturi tokom 2 sata. Zatim je 100 μ L detekcionog antitijela dodato u svaki bunarčić i bunarčići su ostavljeni na sobnoj temperaturi u trajanju od 2 sata. U sljedećem koraku MTP su isprane i dodato je 100 μ L streptavidin HRP (Eng. *Streptavidin horseradish peroxidase*). Inkubacija je prekinuta nakon 20 minuta, te je dodato 100 μ L rastvora supstrata (*Color reagent A + Color reagent B*, 1:1). Nakon 20 minuta dodaje se 50 mL stop rastvora (2 N H₂SO₄) i mjeri se apsorbancu na talasnoj dužini od 450 nm pomoću Microplate Reader-a (Zenyth, Anthos, UK). Sve dobijene vrijednosti su umanjene prema vrijednostima slijepe probe koja je vršena na dejonizovanoj vodi. Standardna kriva je napravljena prema vrijednostima izmjerenih standarda i pomoću nje su određene vrijednosti za uzorke. Svi uzorci su mjereni u triplikatu (117).
- Određivanje hsCRP u serumu je vršeno na dan uzimanja uzorka enzimatskom metodom na aparatu *Cobas 6000 (c501 module) analyzer* (Roche Diagnostics, Basel Switzerland) i kolorimetrijski esej koristeći komercijalni kit prema uputstvu proizvođača.

4.4 STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Podaci koji su prikupljeni u istraživanju su obrađeni statistički u softverskom paketu IBM SPSS (Verzija 20; IBM Chicago, IL, USA). Podaci koji su se koristili prilikom statističke obrade su iz domena deskriptivne statistike, statističkog zaključivanja i dinamičke statistike.

Prikupljeni podaci za kategoričke varijable su statistički sumirani kao frekvencije i procenti, dok su numeričke varijable predstavljene odgovarajućim mjerama centralne tendencije: aritmetička sredina (*Mean*; M), standardna devijacija (SD), medijana (Med) interkvartilni raspon (IQR), minimalni i maksimalni skor. Nakon ispitivanja raspodjele varijabli *Shapiro-Wilk's* testom normalnosti, korišteni su odgovarajući parametrijski ili neparametrijski testovi.

Za upoređivanje razlika u učestalosti kategoričkih varijabli, prema ispitivanoj grupi korišten je Pearsonov χ^2 test kontingencije.

U cilju utvrđivanja postojanja statističke značajnosti između grupa i upoređivanja srednje vrijednosti posmatranih varijabli, na početku studije korišten je *Student's t* test za nezavisne uzorke, ako posmatrana obilježja imaju normalnu raspodjelu i *Mann-Whitney U* test za nezavisne uzorke ukoliko je postojalo odstupanje od normalne raspodjele. Za upoređivanje srednjih vrijednosti posmatranih obilježja u različitom vremenskom intervalu, za analizu razlike unutar grupe, nakon interventnog perioda korišteni su t-test za povezane uzorke (*paired sample t-test*) ili *Wilcoxon Signed Rang test* u zavisnosti od normalnosti raspodjele podataka. U cilju utvrđivanja postojanja statističke razlike između srednjih vrijednosti različitih grupa, nakon interventnog perioda korišten je *mixed-model analysis of variance (mixed ANOVA)*, a kao neparametrijska alternativa testa korišten je *Bruner i Langer* test.

Za ispitivanje snage statističke značajnosti korišten je Cohen's test.

Snaga povezanosti između numeričkih varijabli je izražena Pearson-ovim koeficijentom korelacije, odnosno Spearman-ovim koeficijentom rank korelacije u zavisnosti od raspodjele podataka.

Vrijednost statističke značajnosti je smatrana značajnom ako je *p* vrijednost < 0.05.

Za tabelarno i grafičko predstavljanje rezultata istraživanja korišteni su sljedeći softveri: *MS Office Word 2010* i *MS Office Excel 2010*.

5. REZULTATI

5.1 DEMOGRAFSKI PODACI SVIH ISPITANIKA

U istraživanju je učestvovalo 70 ispitanika/ca, dobi od 40 do 65 godina, prosječne dobi od 55.79 ± 7.23 (Žene $M = 57.51 \pm 7.22$; Muškarci $M = 54.06 \pm 6.91$). Polovinu uzorka $n = 35$ ili 50 % su činile žene. Uzorak je podijeljen u dvije osnovne grupe. Kontrolnu grupu $n = 10$ su činili zdravi ispitanici/ce, dok su interventnu grupu ($n = 60$) činili pacijenti/ce sa DMT2.

U kontrolnoj grupi svi ispitanici su u trajanju od 8 sedmica dobijali PoPEX. Nakon obrade podataka kontrolne grupe i posmatranja mogućih sporednih efekata PoPEX-a, pristupilo se provođenju placebo-kontrolisane dvostruko slijepe studije u interventnoj grupi.

Poređenje između ove dvije grupe nije rađeno, jer se radilo o zdravim osobama i pacijentima sa DMT2. U *Tabeli 2* su prikazani osnovni demografski podaci svih ispitanika/ica na početku interventnog perioda, u *Tabeli 3* su prikazane bazalne antropometrijske karakteristike ispitanika/ca obe grupe, dok su u *Tabeli 4* prikazani metabolički parametri ispitanika/ca prije početka interventnog perioda.

Tabela 2. Osnovni demografski podaci ispitanika/ica na početku studije

Varijable	Kontrolna grupa n=10	Interventna grupa n=60
Pol n (%)		
Ženski	5 (50.00)	30 (50.00)
Dob		
Godine Mean \pm SD	46.10 ± 2.32	55.79 ± 7.23
Pušački status n (%)		
Pušač	2 (20.00)	15 (25.00)
Nepušači	8 (80.00)	45 (75.00)
Nivo obrazovanja		
VSS	10 (100.00)	18 (30.00)
SSS	0 (0.00)	35 (58.33)
OŠ	0 (0.00)	7 (12.67)

Visoka stručna sprema, VSS; srednja stručna sprema, SSS; osnovna škola (OŠ).

Tabela 3. Antropometrijske karakteristike ispitanika/ica kontrolne i interventne grupe na početku studije

Varijable	Kontrolna grupa n=10	Interventna grupa n=60
	Mean ± SD	Mean ± SD
TM kg (Mean ± SD)	77.49 ± 15.43	91.60 ± 16.25
BMI kg/m ² (Mean ± SD)	24.88 ± 2.64	31.34 ± 4.61
OS cm (Mean ± SD)	86.71 ± 12.30	107.48 ± 10.71
FM % (Mean ± SD)	21.17 ± 3.43	30.33 ± 8.54
Nivo visceralne masti (Mean ± SD)	6.00 ± 3.02	11.62 ± 7.64
Fazni ugao ° (Mean ± SD)	6.37 ± 0.70	5.86 ± 0.73

Tjelesna masa, TM; indeks tjelesne mase, *body mass index* BMI; obim struka, OS; Sadržaj masti u organizmu, *fat mass* FM.

Tabela 4. Metabolički parametri ispitanika/ica kontrolne i interventne grupe na početku studije

Varijable	Kontrolna grupa n=10	Interventna grupa n=60
	Mean ± SD	Mean ± SD
Glikemijski status		
FBG mmol/L	5.37 ± 0.36	8.83 ± 2.69
HbA _{1c}	5.60 ± 0.19	7.63 ± 1.32
Insulin μIU/ L	7.65 ± 2.89	13.03 ± 7.73
HOMA – IR	4.93 ± 0.63	5.12 ± 3.80
QUICKI indeks	0.15 ± 0.01	0.31 ± 0.03
Lipidni status		
Uk.Hol	4.93 ± 0.63	5.33 ± 1.11
LDL-C	3.09 ± 0.54	3.57 ± 0.97*
HDL-C	1.64 ± 0.44	1.08 ± 0.22**
TG	0.84 ± 0.22	2.55 ± 1.80***
Krvni pritisak		
sTA	119.80 ± 12.32	137.42 ± 16.14
dTA	76.50 ± 7.09	86.55 ± 9.22

Glikemija na tašte, *Fasting blood glucose* FBG; glikozilirani hemoglobin, HbA_{1c}; indeks homeostatskog modela insulinske rezistencije, HOMA - IR; indeks insulinske senzitivnosti, QUICKI indeks; ukupni kolesterol, Uk.Hol; kolesterol niske gustine, LDL-C; Holesterol visoke gustine, HDL-C; trigliceridi, TG; sistolni krvni pritisak, sTA; dijastolni krvni pritisak, dTA.

5.2 INTERVENTNA GRUPA

5.2.1 DEMOGRAFSKI PODACI INTERVENTNE GRUPE

Interventnu grupu (n = 60) su činili ispitanici/ce oba sa prethodno dijagnostikovanim DMT2, koji su blok randomizacijom podijeljeni u dvije grupe PoPEx grupu (n = 30) i Placebo grupu (n = 30) usklađene prema polu. Osnovni podaci ispitanika/ica na početku studije interventne grupe su prikazani u *Tabeli 5*. Nakon provjere raspodjele podataka urađena je provjera razlika između dvije grupe. Na početku istraživanja nije bilo razlike između dvije grupe u dobi, kao i na dobi u kojoj je dijagnostikovan DMT2. Prosječna dob ispitanika (Medijana ± IQR) u PoPEx grupi je bila 59.00 ± 8.00 godina, dok je u Placebo grupi bila 59.00 ± 4.50 godina (Z = -.319, p = .750). Dob u kojoj je dijagnostikovan DMT2 (Medijana ± IQR), u PoPEx grupi je bila 53.00 ± 7.25 godina, dok je u Placebo grupi dijabetes dijagnostikovan sa 51.00 ± 10.50 godina (Z = -.156, p = .876). Takođe, nije bilo razlike u pogledu trajanja dijabetesa između dvije posmatrane grupe. Dužina trajanja dijabetesa u PoPEx grupi (Medijana ± IQR) je bila 60.00 ± 91.50 mjeseci, dok je u Placebo grupi iznosila 48.00 ± 84.0 mjeseci (Z = -.052, p = .959).

Tabela 5. Osnovni podaci ispitanika/ica na početku studije

Grupa	Dob (godine)	Dob početka DMT2 (godine)	Trajanje Th DMT2 (mjeseci)
PoPEx grupa (n=30)			
M ± SD	57.87 ± 6.08	51.93 ± 6.82	74.00 ± 49.19
Mdn	59.00	53.00	60.00
Q1	55.00	48.75	28.50
Q3	63.00	58.00	120.00
Min	44.00	38	12.00
Max	65.00	63	186.00
Placebo grupa (n=30)			
M ± SD	56.93 ± 6.67	50.77 ± 7.23	74.80 ± 53.01
Mdn	59.00	51.00	48.00
Q1	57.50	46.00	36.00
Q3	62.00	55.50	120.00
Min	41.00	35.00	12.00
Max	65.00	63.00	192.00
p	.750	.876	.959

Prosječna vrijednost, M; standardna devijacija, SD; medijana, Mdn; prvi kvartil, Q1; treći kvartil, Q3; p, Mann Whitney U test

5.2.2 ŽIVOTNI STIL I NAVIKE

U okviru studije analiziran je životni stil i navike ispitanika/ca koji mogu imati uticaj na posmatrane metaboličke faktore. Na početku istraživanja procijenjene su navike u ishrani i dnevni energetske unos, tjelesna kompozicija, kao i navika pušenja i zloupotreba alkohola.

Energetski unos je procijenjen na osnovu trodnevnog dnevnika ishrane i rezultati su pokazali da nije bilo razlike između procijenjenog dnevnog energetske unosa između PoPEX grupe i Placebo grupe (2333.58 ± 307.93 kcal vs 2265.62 ± 343.41 kcal; $t(58) = .809, p = .422$) Uočeno je da je prosječni unos masti u obe grupe činio oko 40 % od ukupnog dnevnog energetske unosa (920.24 ± 99.32 kcal vs 881.10 ± 83.83 kcal; $t(58) = .954, p = .243$) dok je unos zasićenih masti u obe grupe bio preko 10 % od ukupnog energetske unosa (289.57 ± 31.49 kcal vs 296.72 ± 30.56 kcal; $t(58) = -1.054, p = .178$). Procijenjeni dnevni energetske unosa i unos makronutrijenata u obe grupe prikazan je u *Tabeli 6*.

Tabela 6. Procijenjeni dnevni unos energije i makronutrijenata na početku istraživanja kod pacijenata sa DMT2 u odnosu na grupu

	PoPEX grupa (n=30)		Placebo grupa (n=30)		<i>p</i> vrijednost
	Mean	SD	Mean	SD	
Dnevni energetske unos (kcal)	2333.58	307.93	2265.62	343.41	.422
Energija iz proteina (kcal)	495.32	48.63	471.19	46.44	.737
Energija iz masti (kcal)	920.24	99.32	881.10	83.83	.243
Energija iz zasićenih masti (kcal)	289.57	31.49	296.72	30.56	.178
Energija iz ugljenih hidrata (kcal)	1181.89	131.42	913.34	101.21	.578

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; Prosječna vrijednost, Mean; standardna devijacija, SD; *p*, student T test za nezavisne uzorke.

U ispitivanom uzorku su na početku interventnog perioda posmatrane i antropometrijske karakteristike pacijenata/ica sa DMT2 i tjelesna kompozicija u odnosu na pripadnost istraživačkoj grupi. Nakon provjere raspodjele varijabli urađeno je poređenje između dvije grupe, u zavisnosti od distribucije. Na početku interventnog perioda nije bilo statistički značajne razlike između dvije posmatrane grupe u pogledu antropometrijskih karakteristika. Rezultati su prikazani u *Tabeli 7*.

Tabela 7. Antropometrijske karakteristike pacijenata/ica sa DMT2 PoPEX i Placebo grupe na početku interventnog perioda

Antropometrijske karakteristike	PoPEX grupa (N = 30)	Placebo grupa (N = 30)	<i>p</i> vrijednost
*Tjelesna masa (kg)	91.95 ± 24.65	93.20 ± 25.15	.287 ^a
*Obim struka (cm)	105.65 ± 11.50	107.35 ± 12.85	.460 ^a
*BMI (kg/m ²)	30.96 ± 5.90	31.25 ± 4.60	.482 ^a
Masno tkivo (%)	29.85 ± 7.19	30.73 ± 8.59	.669 ^b
Nemasno tkivo (%)	66.88 ± 6.61	65.90 ± 8.24	.612 ^b
Visceralna mast (nivo)	11.53 ± 3.69	11.67 ± 9.91	.878 ^b
Fazni ugao	5.85 ± 0.67	5.88 ± 0.77	.881 ^b

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; index tjelesne mase, BMI; međukvartilni raspon, IQR; standardna devijacija, SD. Vrijednosti su izražene kao Medijana ± IQR za parametre koji nisu imali normalnu distribuciju (*) i srednja vrijednost ± SD za parametre sa normalnom distribucijom; *p*, ^a Mann-Whitney U test, ^b student T test za nezavisne uzorke.

Na početku istraživanja analizirana je i navika pušenja u grupama. U PoPEX grupi se 33.33 % ispitanika/ca izjasnilo kao pušači, dok su se u Placebo grupi 17.86 % ispitanika/ca izjasnilo kao pušači. Međutim, razlika između broja pušača u ispitivanim grupama nije dosegla nivo statističke značajnost $p = .176$. Rezultati su prikazani u *Tabeli 8*.

Tabela 8. Navika pušenja u ispitivanom uzorku u odnosu na pripadnost istraživačkoj grupi

Pušački status	PoPEX grupa			Placebo grupa			<i>p</i>
	N	%	95% IP	N	%	95% IP	
Nepušač	20	66.66	47.19-82.71	25	83.33	65.28-94.36	.176
Pušač	10	33.33	17.29-52.81	5	66.67	5.64-36.72	

Ekstrakt kore nara, PoPEX; $p =$ egzaktini proračun vjerovatnoće χ^2 testom.

Nakon interventnog perioda trodnevni dnevnik ishrane nije pokazao statistički značajne promjene unutar grupa u pogledu procijenjenog dnevnog energetskeg unosa, kao ni unosa makronutrijenata. Rezultati trodnevnog dnevnika ishrane su prikazani u *Tabeli 9*.

Tabela 9. Procijenjeni dnevni unos energije i makronutrijenata na početku i na kraju istraživanja kod pacijenata sa DMT2 u odnosu na grupu

	Bazalna vrijednost		Nakon 8 sedmica		<i>p</i>
	Mean	SD	Mean	SD	
PoPEX grupa (N=30)					
Dnevni energetskeg unos (kcal)	2333.58	307.93	2342.82	298.74	0.422
Energija iz proteina (kcal)	495.32	48.63	524.78	51.22	0.568
Energija iz masti (kcal)	920.24	99.32	904.32	91.18	0.356
Energija iz zasićenih masti (kcal)	289.57	31.49	294.73	28.34	0.751
Energija iz ugljenih hidrata (kcal)	1181.89	131.42	913.44	111.18	0.532
Placebo grupa (N=28)					
Dnevni energetskeg unos (kcal)	2265.62	343.41	2284.33	346.56	0.492
Energija iz proteina (kcal)	471.19	46.44	484.22	47.33	0.588
Energija iz masti (kcal)	881.10	83.83	890.21	88.74	0.411
Energija iz zasićenih masti (kcal)	296.72	30.56	287.80	29.32	0.682
Energija iz ugljenih hidrata (kcal)	913.34	101.21	909.88	91.27	0.512

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; srednja vrijednost, Mean; standardna devijacija, SD; *p* = T test za povezane uzorke

5.2.3 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA TJELESNI SASTAV KOD PACIJENATA SA DMT2

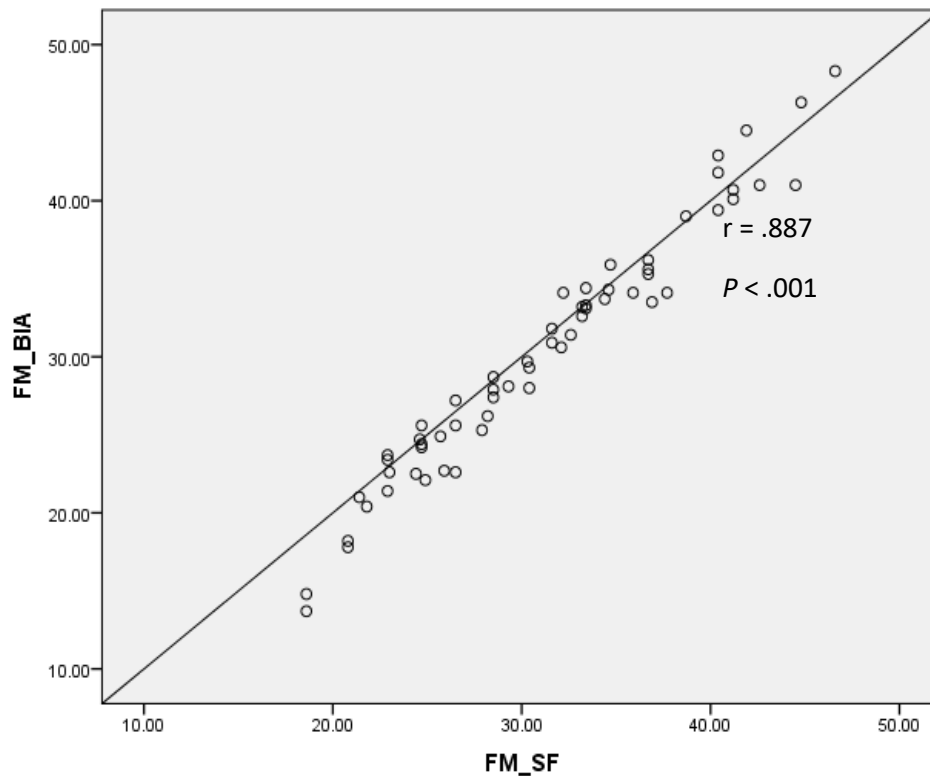
Iako promjena procijenjenog dnevnog energetskeg unosa nije dostigla nivo statističke značajnosti, nakon interventnog perioda utvrđeno je značajno povećanje TM (0.48 ± 0.93 kg) i BMI (0.18 ± 0.30 kg/m²) u PoPEX grupi ($Z = -2.391$, $p = .016$; $k=0.30$ i $Z = -2.646$, $p = .008$; $k = .34$, za navedene parametre). U isto vrijeme, suplementacija PoPEX-om je dovela do statistički značajnog smanjenje OS ($Z = 4.613$, $p < .001$; $k = 0.60$), i smanjenje nivoa visceralne masti u PoPEX grupi koja nije dostigla nivo statističke značajnosti. Da bi se utvrdila značajnost efekta u odnosu na veličinu uzorka korišten je Koenov kapa koeficijent (*Cohen k*). U Placebo grupi nisu uočene statistički značajne promjene u pogledu antropometrijskih karatkeristika ispitanika, na kraju interventnog perioda. Promjene posmatranih antropometrijskih parametara u obe grupe su prikazane u *Tabeli 10*.

Tabela 10. Promjene antropometrijskih parametara (Δ vrijednost) kod pacijenata sa *diabetes mellitus* tip 2 u odnosu na grupu

Antropometrijski parametri	PoPEX group (N = 30)		Placebo group (N = 28)		p
	Mean	SD	Mean	SD	
Tjelesna masa (kg)	0.48	0.43	-0.32	1.52	.016^a
Obim struka (cm)	-2.17	1.82	-0.97	2.71	< .001^a
BMI (kg/m ²)	0.18	0.30	-0.10	0.51	.008^a
Masno tkivo (%)	-0.58	2.21	0.14	1.24	.132 ^b
Nemasno tkivo (%)	0.61	2.50	-0.21	1.31	.126 ^b
Visceralna mast (nivo)	-0.20	0.92	0.11	0.50	.125 ^b
Fazni ugao	0.08	0.24	-0.01	0.24	.204 ^b

Ekstrakt kore nara, PoPEX; index tjelesne mase, BMI; srednja vrijednost promjene, Mean; standardna devijacija, SD; p, ^a Mann-Whitney U test, ^b student T test za nezavisne uzorke.

Za procjenu procenta tjelesne masti u organizmu korištene su dvije metode u svrhu provjere tačnosti podataka: Tanita analizator bioelektrične impedance i mjerenje kožnih nabora kaliperom. Korelacija između dobijenih vrijednosti procenta tjelesne masti u organizmu i vrijednosti dobijenih mjerenjem kožnih nabora prikazana je na *Slici 9*. Faktor korelacije u ukupnom uzorku je bio visok ($r = .887$; $p < .001$), međutim uočeno je da je korelacija između dvije metode bila niža kod žena u odnosu na muške ispitanike ($r = .844$ vs $r = 0.930$).



Slika 9. Korelacija između dvije metode za procjenu sadržaja masnog tkiva u organizmu (FM) kod pacijenata sa diabetes mellitus-om tip 2, analizator bioelektrične impedance (BIA) i debljina kožnih nabora.

5.2.4 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA PARAMETRE GLIKOREGULACIJE KOD PACIJENATA SA DMT2

U interventnoj grupi su na početku istraživanja posmatrani parametri glikoregulacije kod pacijenata sa DMT2. U *Tabeli 11* je prikazana deskriptivna statistika karakteristika parametara glikoregulacije u obe grupe, PoPEX grupu i Placebo grupu. U zavisnosti od raspodjele podataka urađena je provjera razlika između dvije grupe. Nije postojala statistički značajna razlika na početku istraživanja u posmatranim parametrima.

Tabela 11. Deskriptivna statistika parametara glikoregulacije na početku studije kod pacijenata sa DMT2 u PoPEX i Placebo grupi

Parametri glikoregulacije	PoPEX grupa (N=30)						Placebo grupa (N=30)						p
	M	SD	Mdn	Min	Max	IQR	M	SD	Mdn	Min	Max	IQR	
FBG mmol/L	8.83	2.21	8.20	5.60	14.20	3.15	9.01	3.01	8.65	5.60	19.40	2.98	.767 ^a
HbA1c %	7.55	1.12	7.20	6.50	10.00	1.15	7.67	1.36	7.25	6.50	10/0	1.33	.882 ^a
Insulin μ IU/mL	11.63	6.30	9.83	4.25	27.28	8.38	13.68	6.82	12.96	2.88	26.25	12.05	.178 ^a
QUICKI indeks	0.314	0.023	0.31	0.27	0.35	.03	0.307	0.026	0.305	0.026	0.360	0.03	.219 ^b
HOMA-IR	4.50	2.69	3.99	1.64	12.52	3.15	5.45	3.51	4.71	1.41	15.25	3.15	.243 ^a
TyG index	9.69	0.63	9.70	8.54	11.78	0.60	9.52	0.57	9.43	8.57	11.24	0.37	.284 ^a

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; glikemija natašte, FBG; glikozilirani hemoglobin, HbA1c; indeks insulinske senzitivnosti, QUICKI; indeks homeostatskog modela insulinske rezistencije, HOMA-R; trigliceridi-glukoza indeks, TyG; srednja vrijednost, M; Standardna devijacija, SD; Medijana, Mdn; interkvartilni raspon, IQR.

p vrijednost: ^a Mann Whitney U test (neparametrijski); ^b, Student T test za nezavisne uzorke.

Nakon interventnog perioda, koji je trajao 8 sedmica, utvrđena je statistički značajna promjena glikoziliranog hemoglobina (Mean \pm SD: 7.55 ± 1.12 % vs 7.32 ± 1.12 %, Wilcoxon Signed Rank test, $p1 < .001$) i TyG indeksa (Mean \pm SD: 9.69 ± 0.63 vs 9.44 ± 0.66 , Student T test za povezane uzorke, $p1 < .001$) unutar PoPEX grupe u odnosu na početne vrijednosti, dok promjene ostalih parametara nisu dostigle nivo statističke značajnosti. Nisu utvrđene statistički značajne promjene ni u jednom od parametara glikoregulacije unutar Placebo grupe. Nakon što je urađena *mixed-model analysis of variance (mixed ANOVA)*, utvrđena je statistički značajna razlika između srednjih vrijednosti HbA1c % i TyG indeksa između PoPEX i Placebo grupe imajući u vidu bazalne vrijednosti za posmatrani parametar (*mixed ANOVA*, $p2 < .001$). Rezultati uticaja primjene PoPEX na parametre glikoregulacije kod pacijenata sa DMT2 su prikazani u *Tabeli 12*.

Tabela 12. Efekat primjene PoPEX na parametre glikoregulacije kod pacijenata sa DMT2

Parametri glikoregulacije	PoPEX grupa (N=30)			Placebo grupa (N=28)			
	Bazalna vrijednost	Nakon 8 sedmica	<i>p1</i>	Bazalna vrijednost	Nakon 8 sedmica	<i>p1</i>	<i>p2</i>
FBG mmol/L	8.83 \pm 2.21	8.80 \pm 2.21	.795 ^a	9.01 \pm 3.01	8.91 \pm 3.06	.691 ^a	.825 ^c
HbA _{1c} %	7.55 \pm 1.12	7.32 \pm 1.02	< .001 ^a	7.67 \pm 1.36	7.65 \pm 1.36	.758 ^a	< .001 ^c
Insulin μ IU/mL	11.63 \pm 6.30	11.23 \pm 6.37	.629 ^a	13.68 \pm 6.82	12.84 \pm 7.03	.453 ^a	.137 ^c
QUICKI indeks	0.31 \pm 0.03	0.32 \pm 0.02	.342 ^b	0.31 \pm 0.03	0.31 \pm 0.02	.901 ^b	.754 ^c
HOMA-IR	4.50 \pm 2.69	4.14 \pm 2.35	.181 ^a	5.45 \pm 3.51	5.46 \pm 3.61	.924 ^a	.739 ^c
TyG indeks	9.69 \pm 0.63	9.44 \pm 0.66	< .001 ^a	9.52 \pm 0.57	9.63 \pm 0.59	.051	< .001 ^c

Vrijednosti su izražene kao M \pm SD

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; glikemija natašte, FBG; glikozilirani hemoglobin, HbA_{1c}; indeks insulinske senzitivnosti, QUICKI; indeks homeostatskog modela insulinske rezistencije, HOMA-R; trigliceridi-glukoza indeks, TyG; srednja vrijednost srednja vrijednost, M; Standardna devijacija, SD;

p1 vrijednost razlika unutar grupe, ^aWilcoxon Signed Rank test (neparametrijski); ^bStudent T test za povezane uzorke;

p2 vrijednost razlika između grupa, ^cMixed ANOVA model

5.2.5 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA KRVNI PRITISAK KOD PACIJENATA SA DMT2

U *Tabeli 13* prikazana je deskriptivna statistika sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska u posmatranim grupama, PoPEX i Placebo, na početku istraživanja. Na početku interventnog perioda vrijednosti sistolnog krvnog pritiska u PoPEX grupi su bile $M = 135.67$ mmHg; $SD = 16.49$, a u Placebo grupi $M = 139.66$ mmHg; $SD = 15.25$, dok su vrijednosti dijastolnog krvnog pritiska bile $Mdn = 85.00$ mmHg; $IQR = 10.00$ u PoPEX grupi, a $Mdn = 90.00$ mmHg; $SD = 15.00$ u Placebo grupi. Nije uočena statistički značajna razlika između vrijednosti sistolnog krvnog pritiska u posmatranim grupama, na početku istraživanja ($t(58) = -.975$, $p = .333$), kao ni za vrijednosti dijastolnog pritiska ($Z = -1.23$, $p = .144$).

Tabela 13. Deskriptivna statistika za sistolne i dijastolne vrijednosti krvnog pritiska, na početku studije kod pacijenata sa DMT2 u PoPEX i Placebo grupi

	M	SD	Mdn	Q1	Q3	Min	Max	IQR
PoPEX grupa								
sTA mmHg	135.67	16.49	135.00	128.75	145.00	90.00	170.00	16.00
dTA mmHg	84.60	8.55	85.00	80.00	90.00	60.00	105.00	10.00
Placebo grupa								
sTA mmHg	139.66	15.25	137.50	128.75	155.00	110.00	160.00	26.00
dTA mmHg	88.17	9.14	90.00	80.00	90.00	70.00	110.00	15.00

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; prosječna vrijednost, M; standardna devijacija, SD; medijana, Mdn; prvi kvartil, Q1; treći kvartil, Q3; interkvartilni raspon, IQR.

Nakon isteka interventnog perioda, u trajanju od 8 sedmica utvrđene su statistički značajne promjene sTA u PoPEX grupi (Mean \pm SD: 135.67 ± 8.80 mm Hg vs 129.83 ± 12.76 mm Hg, *t paired test* $t(29) = 3.279$, $p = .003$) i dTA (Mean \pm SD: 84.67 ± 8.55 mm Hg vs 81.83 ± 6.88 , *Wilcoxon Signed Rank test* $Z = 2.731$, $p = .006$). U Placebo grupi, nakon 8 sedmica uočen je statistički značajan rast sTA (Mean \pm SD: 139.66 ± 15.25 mm Hg vs 143.04 ± 15.53 mm Hg, *t-paired test* $t(27) = -2.294$, $p = .030$), dok promjena vrijednosti dTA nije bila statistički značajna. Takođe, utvrđena je statistički značajna razlika između srednjih vrijednosti sTA i dTA između PoPEX i Placebo grupe imajući u vidu bazalne vrijednosti za sTA ($F(1,56) = 4.623$, $p =$

.036) i dTA ($F(1,28) = 6.469, p = .014$). Rezultati uticaja primjene PoPEX na vrijednosti sTA i dTA kod pacijenata sa DMT2 su prikazani u *Tabeli 14*.

Tabela 14. Efekat primjene PoPEX na vrijednosti sTA i dTA kod pacijenata sa DMT2

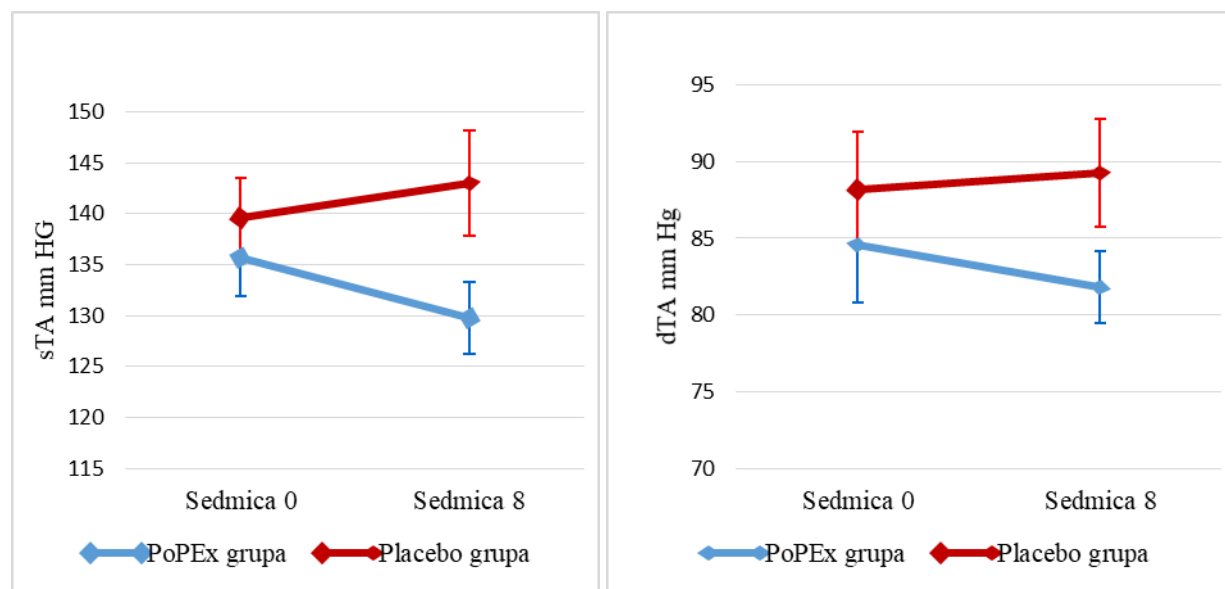
Krvni pritisak	PoPEX grupa (N=30)		$p1$	Placebo grupa (N=28)		$p1$	$p2$
	Bazalna vrijednost	Nakon 8 sedmica		Bazalna vrijednost	Nakon 8 sedmica		
sTA mm Hg	135.67 ± 8.80	129.83 ± 12.76	.003^a	139.66 ± 15.25	143.04 ± 15.53	.030^a	.036^c
dTA mm Hg	84.60 ± 8.55	81.83 ± 6.88	.006^b	88.17 ± 9.14	89.29 ± 9.59	.414 ^b	.014^d

Vrijednosti su izražene kao $M \pm SD$; Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; srednja vrijednost, M; Standardna devijacija, SD; sistolni krvni pritisak, sTA; dijastolni krvni pritisak, dTA;

$p1$ vrijednost razlika unutar grupe. ^a Student T test za povezane uzorke ; ^b Wilcoxon Signed Rank test

$p2$ vrijednost razlika između grupa, ^c Mixed ANOVA model, ^d Bruner i Langer test

Na *Slici 10* grafički su prikazane vrijednosti za sistolni i dijastolni krvni pritisak na početku i na kraju interventnog perioda u PoPEX i Placebo grupi.



Slika 10. Promjene vrijednosti sTA i dTA kod pacijenata sa DMT2 u odnosu na grupu

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; Sistolni krvni pritisak, sTA; dijastolni krvni pritisak, dTA; * p vrijednost < .05 Mixed ANOVA model, Bruner i Langer test (neparametrijski)

5.2.6 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA LIPIDNI PROFIL KOD PACIJENATA SA DMT2

Nakon provjere raspodjele podataka za date parametre lipidnog profila urađena je deskriptivna statistika i u zavisnosti od raspodjele, analizirana je razlika između posmatranih grupa na početku interventnog perioda. *Tabela 15* prikazuje deskriptivnu statistiku na početku interventnog perioda u PoPEX i Placebo grupi. Prosječna izmjerena vrijednost \pm SD za ukupni holesterol bila je 5.46 ± 1.36 mmol/L u PoPEX grupi, dok je u Placebo grupi bila 5.22 ± 0.76 mmol/L ($p = .397$). Takođe, na početku interventnog perioda, nije bilo statistički značajne razlike ni za ostale parametre lipidnog profila između posmatranih grupa. Vrijednosti parametara lipidnog profila u PoPEX i Placebo grupi su bile: LDL-C (3.62 ± 1.13 mmol/L vs 3.53 ± 0.79 mmol/L; $p = .712$), HDL-C (1.11 ± 0.21 mmol/L vs 1.06 ± 0.24 mmol/L; $p = .403$), TG (2.83 ± 2.13 mmol/L vs 2.27 ± 1.24 mmol/L; $p = .697$) kao ni za odnos LDL-C /HDL-C (3.36 ± 1.09 vs 3.48 ± 1.09 ; $p = .672$) (*Tabela 15*).

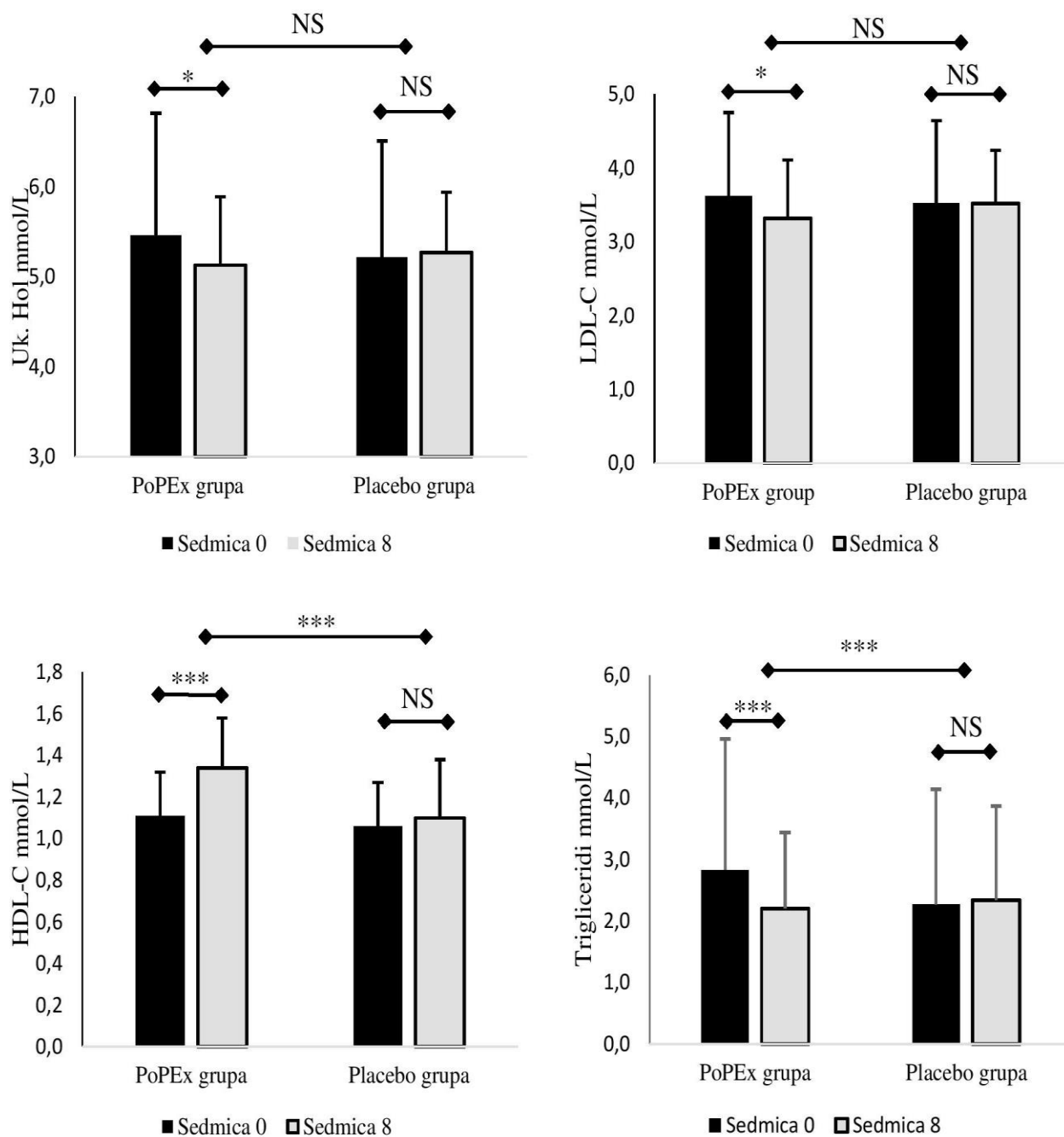
Tabela 15. Deskriptivna statistika za parametre lipidnog profila, na početku studije kod pacijenata sa DMT2 u PoPEX i Placebo grupi

	M	SD	Mdn	Q1	Q3	Min	Max	IQR
PoPEX grupa								
Uk.Hol mmol/L	5.46	1.36	5.45	4.60	6.43	2.90	8.10	1.83
LDL-C mmol/L	3.62	1.13	3.60	2.82	4.55	1.40	6.00	1.72
HDL-C mmol/L	1.11	0.21	1.00	1.00	1.20	0.80	2.00	0.20
TG mmol/L	2.83	2.13	1.80	1.70	3.30	0.90	11.50	1.60
LDL-C/HDL-C	3.36	1.14	3.32	2.50	4.09	1.08	5.30	1.59
Placebo grupa								
Uk. Hol mmol/L	5.22	0.76	5.25	4.70	5.90	3.80	7.00	1.20
LDL-C mmol/L	3.53	0.79	3.55	2.80	4.20	2.20	5.50	1.40
HDL-C mmol/L	1.06	0.24	1.00	1.00	1.20	0.70	2.00	0.20
TG mmol/L	2.27	1.24	1.90	1.90	2.45	0.80	6.50	0.75
LDL-C/HDL-C	3.48	1.09	3.50	2.59	4.22	1.30	5.75	1.64

Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; prosječna vrijednost, M; standardna devijacija, SD; medijana, Mdn; prvi kvartil, Q1; treći kvartil, Q3; interkvartilni raspon, IQR; ukupni holesterol, UkHol; holesterol niske gustine, LDL-C; holesterol visoke gustine, HDL-C, Trigliceridi, TG.

Suplementacija sa ekstraktom kore nara u trajanju od osam sedmica je dovela do značajnog snižavanja pojedinačnih parametara lipidnog statusa (Uk. Hol., LDL-C, TG) i do povećanja vrijednosti HDL-C. Takođe uočeno je snižavanje odnosa LDL-C i HDL-C u PoPEX grupi, dok u Placebo grupi nije bilo statistički značajnih promjena.

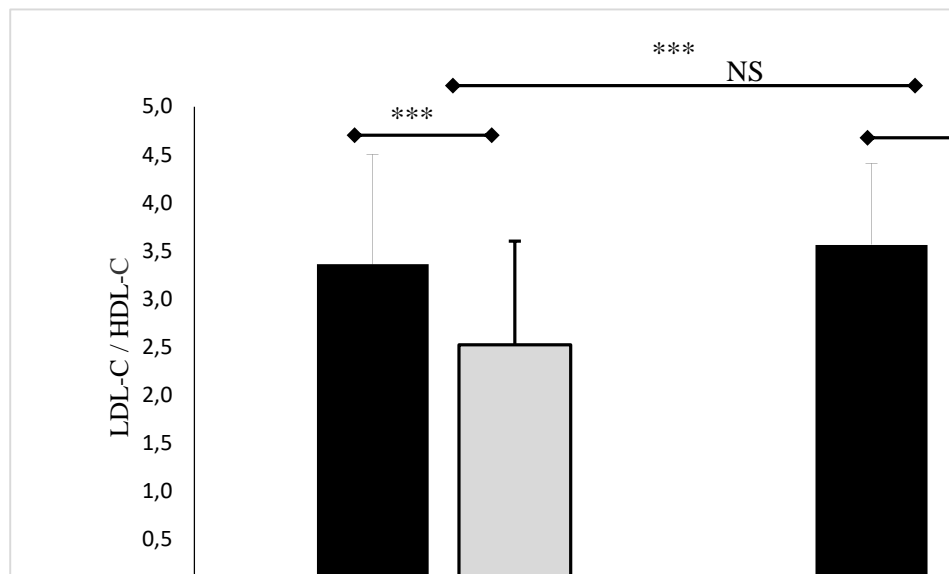
Slika 11 prikazuje vrijednosti parametara lipidnog profila na početku i na kraju interventnog perioda prema grupama. Uočene su statistički značajne promjene Uk. Hol u PoPEX grupi (5.46 ± 1.36 mmol/L vs 5.13 ± 1.29 mmol/L, t test za povezane uzorke $t(29) = 2.075$, $p = .049$) LDL-C (3.62 ± 1.13 mmol/L vs 3.32 ± 1.11 , t test za povezane uzorke $t(29) = 2.094$, $p = .045$) HDL-C (1.11 ± 0.21 mmol/L vs 1.34 ± 0.21 , *Wilcoxon Signed Rank test* $Z = -4.633$, $p < .001$) i TG (2.83 ± 2.13 mmol/L vs 2.20 ± 1.87 , *Wilcoxon Signed Rank test* $Z = -3.671$, $p < .001$) Pored toga, kada je analizirana razlika između grupa, u odnosu na bazalne vrijednosti, postoje statistički značajne razlike u nivoima TG i HDL-C (*mixed ANOVA* $F(1,56) = 4.623$, $p = .036$) i dTA ($F(1,56) = 6.469$, $p = .014$).



Slika 11. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na pojedinačne parametre lipidnog profila kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazane kao Mean \pm SD. Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; lipoproteini niske gustine, LDL-C; lipoproteini visoke gustine, HDL-C; nije statistički značajno, NS; *, $p < .05$; *** $p < .001$. $p1$ vrijednost razlika unutar grupe Student T test za povezane uzorke i Wilcoxon Signed Rank test (neparametrijski), $p2$ vrijednost razlika između grupa Mixed ANOVA model, Bruner i Langer test (neparametrijski)

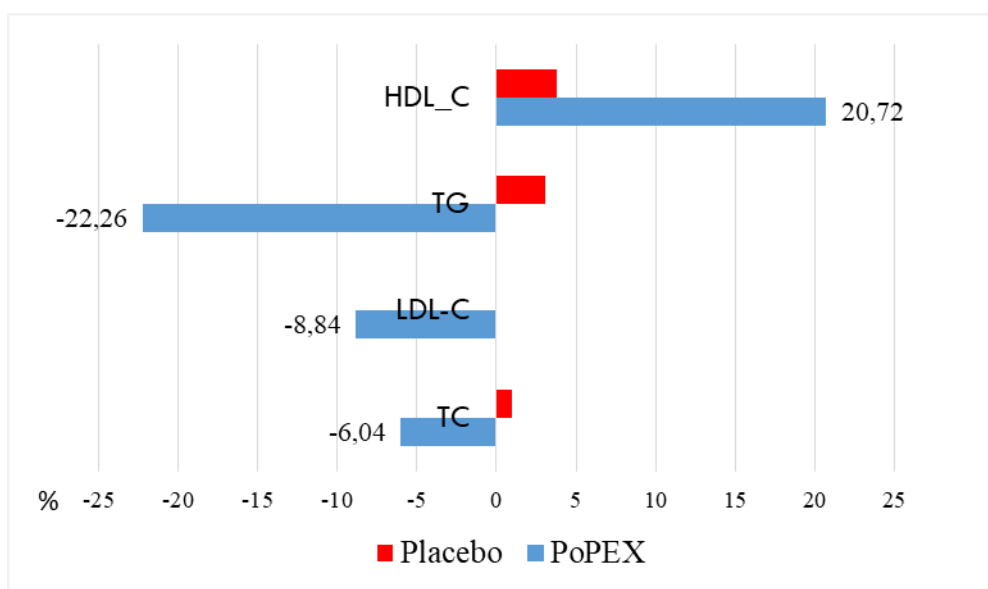
Takođe, nakon interventnog perioda utvrđeno je statistički značajno snižavanje odnos između LDL-C i HDL-C unutar PoPEx grupe (3.36 ± 1.14 mmol/L vs 2.52 ± 0.85 , t test za povezane uzorke $t(29) = 6.443$, $p < .001$), Slika 12. Promjena vrijednosti odnosa LDL-C/HDL-C je bila značajna i između grupa, kada su se uzele u obzir bazalne vrijednosti u obe grupe (*mixed ANOVA* $F(1,56) = 4.922$, $p < .001$).



Slika 12. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEx na odnos LDL-C/HDL-C kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEx; odnos holesterola niske gustine i holesterola visoke gustine, LDL-C/HDL-C; nije statistički značajno. NS; *** $p < .001$.

Ukoliko utvrđene promjene izrazimo u procentima, što je prikazano na *Slici 13*, vidi se da su najveće promjene u PoPEX grupi utvrđene za vrijednosti TG i HDL-C, odnosno nivo TG je smanjen za 22.6 %, dok je nivo HDL-C porastao za 20.72 % u navedenoj grupi.



Slika 13. Promjene parametara lipidnog statusa nakon interventnog perioda u PoPEX i Placebo grupi

Ekstrakt kore nara, PoPEX; holesterol visoke gustine, HDL-C; trigliceridi TG; holesterol niske gustine, LDL-C; ukupni holesterol, TC.

U Tabeli 16 je prikazan profil masnih kiselina u ukupnim lipidima plazme kod pacijenata sa DMT2, prije i nakon interventnog perioda. Rezultati pokazuju da je u grupi koja je tokom 8 sedmica dobijala PoPEX došlo do smanjenja sadržaja palmitinske (16:0) i stearinske (18:0) kiseline, kao i smanjenja ukupnih zasićenih masnih kiselina ($p < .05$, $p < .05$, $p < .01$). Takođe, uočena je promjena i u sadržaju polinezasićenih masnih kiselina (polyunsaturated fatty acid; PUFA), odnosno povećanje nivoa arahidonične kiseline (AA) 20:4n-6 je bilo statistički značajno ($p < .05$). U placebo grupi nisu primjećene promjene u profilu masnih kiselina, prije i nakon interventnog perioda.

Tabela 16. Uticaj primjene ekstrakta kore nara (PoPEX) i primjene placeba na sastav masnih kiselina plazme kod pacijenata sa diabetes mellitus tip 2

Masne kiseline	PoPEX grupa (n=19)		Placebo grupa (n=18)	
	0 sedmica	8 sedmica	0 sedmica	8 sedmica
SFA	43.22 ± 1.14	41.84 ± 1.49**	42.66 ± 1.36	42.11 ± 1.34
16:0	30.37 ± 1.71	29.79 ± 1.80*	29.18 ± 1.25	28.55 ± 1.42
18:0	12.85 ± 1.31	12.05 ± 1.31**	13.48 ± 0.83	13.56 ± 0.76
MUFA	14.78 ± 1.59	15.33 ± 2.41	15.50 ± 1.42	16.04 ± 2.15
16:1	1.07 ± 0.42	1.08 ± 0.36	1.17 ± 0.43	1.23 ± 0.53
18:1 n-7	1.17 ± 0.36	1.24 ± 0.25	1.65 ± 0.40	1.72 ± 0.65
18:1 n-9	12.54 ± 1.44	13.00 ± 2.11	12.67 ± 1.48	13.08 ± 1.88
PUFA	42.03 ± 2.01	42.83 ± 2.24	41.84 ± 1.77	41.85 ± 2.38
18:2	23.87 ± 3.42	23.67 ± 3.26	23.59 ± 2.54	23.38 ± 3.06
18:3 n-3	0.15 ± 0.05	0.27 ± 0.37	0.18 ± 0.09	0.19 ± 0.14
18:3 n-6	0.25 ± 0.12	0.25 ± 0.14	0.20 ± 0.10	0.21 ± 0.09
20:3	2.44 ± 0.58	2.46 ± 0.68	2.91 ± 0.80	3.02 ± 0.64
20:4	11.15 ± 2.34	11.99 ± 2.48*	10.79 ± 2.18	10.80 ± 2.03
20:5	0.26 ± 0.17	0.28 ± 0.18	0.40 ± 0.35	0.44 ± 0.28
22:4	1.40 ± 0.43	1.45 ± 0.50	1.01 ± 0.61	1.09 ± 0.58
22:5	0.49 ± 0.19	0.48 ± 0.11	0.49 ± 0.13	0.53 ± 0.14
22:6	2.03 ± 0.69	1.98 ± 0.54	2.26 ± 0.52	2.19 ± 0.54
n-3	2.93 ± 0.93	3.01 ± 0.97	3.34 ± 0.88	3.35 ± 0.83
n-6	39.10 ± 2.21	39.82 ± 2.37	38.50 ± 1.98	38.50 ± 2.59
n-6/n3	13.34 ± 0.93	13.22 ± 0.97	11.53 ± 0.98	11.50 ± 0.79

Vrijednosti su prikazani kao mean ± SD. ekstrakt kore nara, PoPEX; zasićene masne kiseline, SFA; mononezasićene masne kiseline, MUFA; polinezasićene masne kiseline, PUFA; * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

5.2.7 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA BIOMARKERE OKSIDATIVNOG STRESA KOD PACIJENATA SA DMT2

Na početku istraživanja, kod svih pacijenata su određivani markeri oksidativnog stresa, homocisteina i nivo ukupnog antioksidativnog kapaciteta. U *Tabeli 17* prikazana je deskriptivna statistika markera oksidativnog stresa i homocisteina, kod svih ispitanika prema grupi PoPEX i Placebo, na početku istraživanja. Nakon provjere raspodjele varijabli, utvrđeno je da su parametar O_2^- i TAC imali normalnu distribuciju, dok su vrijednosti parametara Hcy, TBARS, NO_2^- i H_2O_2 odstupali od normalne distribucije.

U odnosu na normalnost raspodjele urađena je provjera razlika između grupa na početku interventnog perioda t-testom za nepovezane uzorke i *Mann Whitney* testa. Dobijeni rezultati su pokazale da vrijednosti O_2^- i TAC u PoPEX grupi i Placebo grupi, nisu bile statistički značajne na početku interventnog perioda ($t(58) = .801, p = .427$ i $t(58) = -1.157, p = .252$). Takođe, nakon primjene *Mann Whitney* testa kod varijabli koje nisu imale normalnu distribuciju nije utvrđena statistički značajna razlika između posmatranih grupa za utvrđene vrijednosti parametara TBARS, NO_2^- i H_2O_2 ($Z = -.710, p = .478$; $Z = -1.050, p = .294$ i $Z = -.172, p = .864$). Vrijednosti Hcy su na početku studije bile statistički značajno više u PoPEX grupi u odnosu na Placebo grupu ($Z = 3.35, p = .038$).

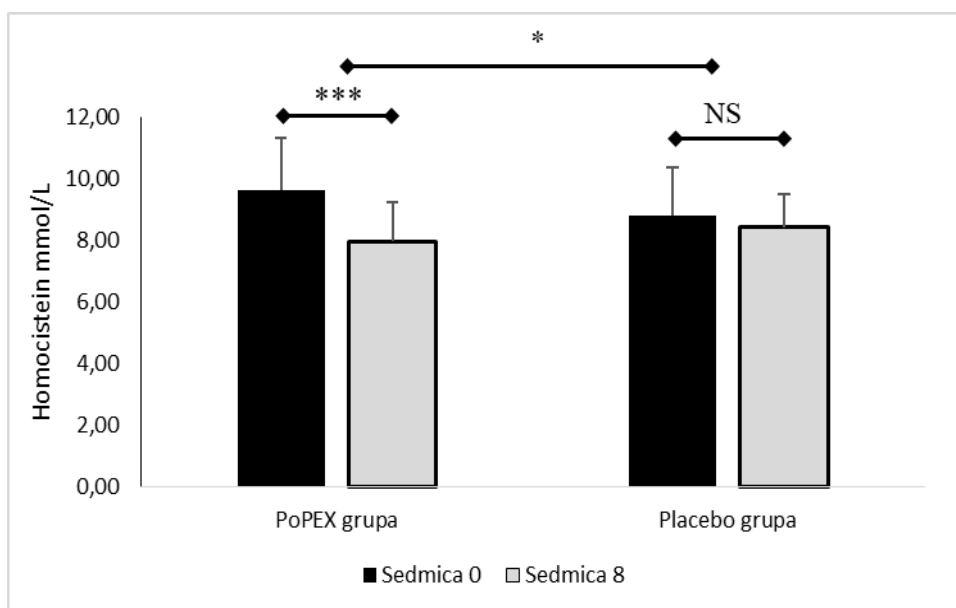
Tabela 17. Deskriptivna statistika za markere oksidativnog stresa i homocisteina

Markeri oksidativnog stresa	M	SD	Mdn	Q1	Q3	Min	Max	IQR
PoPEX grupa								
*Homocistein mmol/L	9.63	1.59	9.64	8.48	10.15	7.04	13.71	1.66
*TBARS μ mol/mL	1.60	0.29	1.50	1.46	1.58	1.34	2.46	0.12
O ₂ ⁻ nmol/ml	5.81	1.09	5.98	5.23	6.65	2.98	7.58	1.42
*NO ₂ ⁻ nmol/mL	14.08	2.17	14.45	13.19	15.37	7.52	16.41	2.18
*H ₂ O ₂ nmol/mL	2.95	0.28	2.86	2.76	3.08	1.08	5.30	0.37
TAC μ mol/L	149.93	69.00	144.00	83.00	211.00	29.00	268.00	128.00
Placebo grupa								
Homocistein mmol/L	8.30	1.19	7.96	7.42	8.98	6.83	11.81	1.56
TBARS μ mol/mL	1.56	0.17	1.51	1.49	1.60	1.40	2.14	0.11
O ₂ ⁻ nmol/ml	5.54	1.36	5.97	4.97	6.64	4.28	7.99	1.67
NO ₂ ⁻ nmol/ml	14.59	1.87	14.54	13.24	16.08	11.15	16.37	2.84
H ₂ O ₂ nmol/ml	3.00	0.39	2.86	2.79	3.00	2.74	4.10	0.20
TAC μ mol/L	171.22	75.27	172.00	109.00	245.00	35.00	338.00	136.00

Ekstrakt kore nara, PoPEX; produkti reakcije tiobarbituratne kiseline, TBARS; ukupni antoksidativni kapacitet, TAC; prosječna vrijednost, M; standardna devijacija, SD; medijana, Mdn; prvi kvartil, Q1; treći kvartil, Q3; interkvartilni raspon, IQR;

(*) parametri kod kojih je utvrđeno odstupanje od normalne distribucije

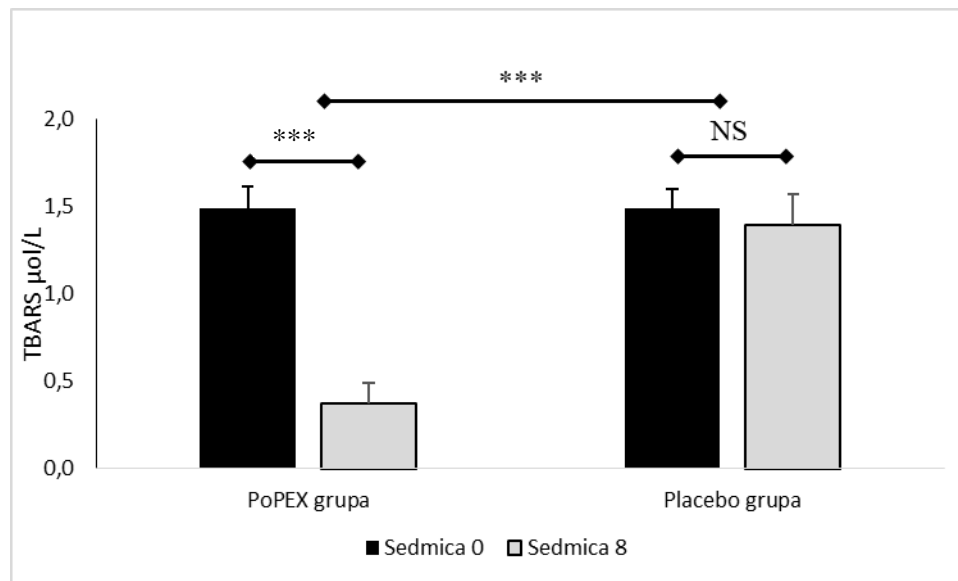
Nakon interventnog perioda u PoPEX grupi utvrđeno je statistički značajno snižavanje vrijednosti homocisteina u odnosu na bazalne vrijednosti homocisteina (Med ± IQR 9.64 ± 1.66 mmol/L vs 7.96 ± 1.56 mmol/L; Z= -3.458, $p < .001$), dok u Placebo grupi promjena vrijednosti homocisteina nije bila statistički značajna (8.41 ± 1.28 mmol/L vs 8.41 ± 1.06 mmol/L; Z= 1.156, $p < .248$). Takođe, kada smo uzeli u obzir početne vrijednosti razlika između grupa je bila statistički značajna (F (1,56) = 4.631, $p = 0.037$) Slika 14.



Slika 14. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti homocisteina kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao medijana ± IQR. Interkvartilni raspon, IQR; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; nema statističke značajnosti, NS; * $p < 0.05$ *** $p < 0.001$

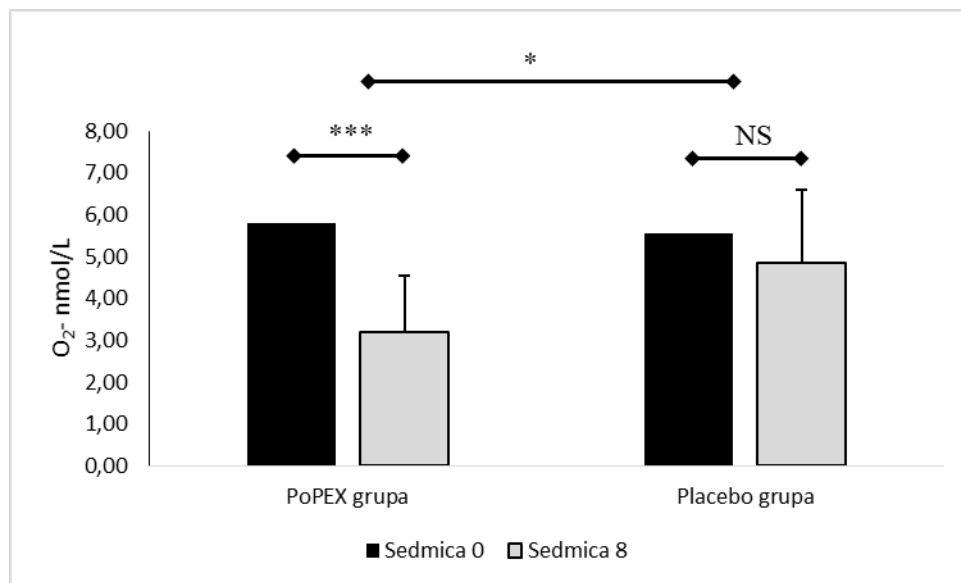
Slika 15 prikazuje vrijednosti parametra TBARS kod pacijenata sa DMT2 u PoPEX grupi i Placebo grupi, na početku i na kraju interventnog perioda. Utvrđeno je statički značajno smanjenje vrijednosti TBARS u PoPEX grupi (Med \pm IQR 1.50 \pm 0.10 $\mu\text{mol/L}$ vs 0.39 \pm 0.12 $\mu\text{mol/L}$; $Z = -3.458$, $p < .001$), dok u Placebo grupi nije bilo promjena (Med \pm IQR 1.51 \pm 0.10 $\mu\text{mol/L}$ vs 1.39 \pm 0.18 $\mu\text{mol/L}$; $Z = -1.180$, $p < .067$). Kada samo uzeli u obzir početne vrijednosti utvrđena je i statistički značajna razlika između grupa ($F(1,56) = 177.909$, $p < 0.001$).



Slika 15. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti TBARS kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao medijan \pm IQR. Interkvartilni raspon, IQR; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; produkti reakcije tiobarbituratne kiseline, TBARS; nema statističke značajnosti, NS; *** $p < 0.001$.

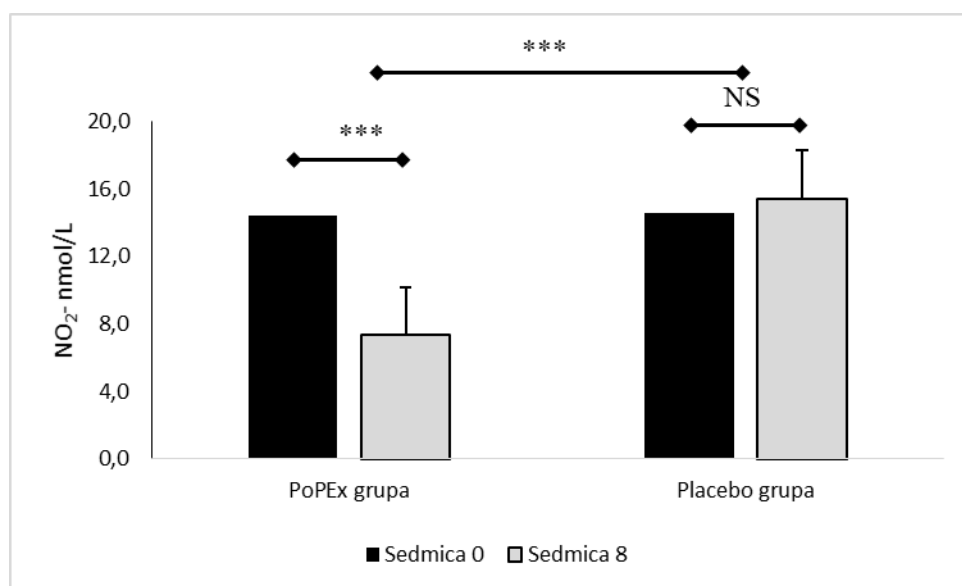
Vrijednosti superoksid anjon radikala kod pacijenata koji su bili tretirani sa PoPEX-om je nakon 8 sedmica bila statistički značajno niža u odnosu na početne vrijednosti ($Mean \pm SD$ 5.81 \pm 1.09 nmol/L vs 3.19 \pm 1.40 nmol/L; t test (28) = 8.725, $p < .001$), dok promjena vrijednosti O_2^- u Placebo grupi nije dostigla nivo statističke značajnosti ($Mean \pm SD$ 5.54 \pm 1.36 nmol/L vs 4.84 \pm 1.75 nmol/L; t test (27) = 1.882, $p = .071$). Takođe, na kraju interventnog perioda je utvrđena statistički značajna razlika između grupa ($F(1,55) = 5.838$, $p = .019$).



Slika 16. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti superoksid anjon radikala kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao mean \pm SD. Standardna devijacija, SD; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; ; nema statističke značajnosti, NS; * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

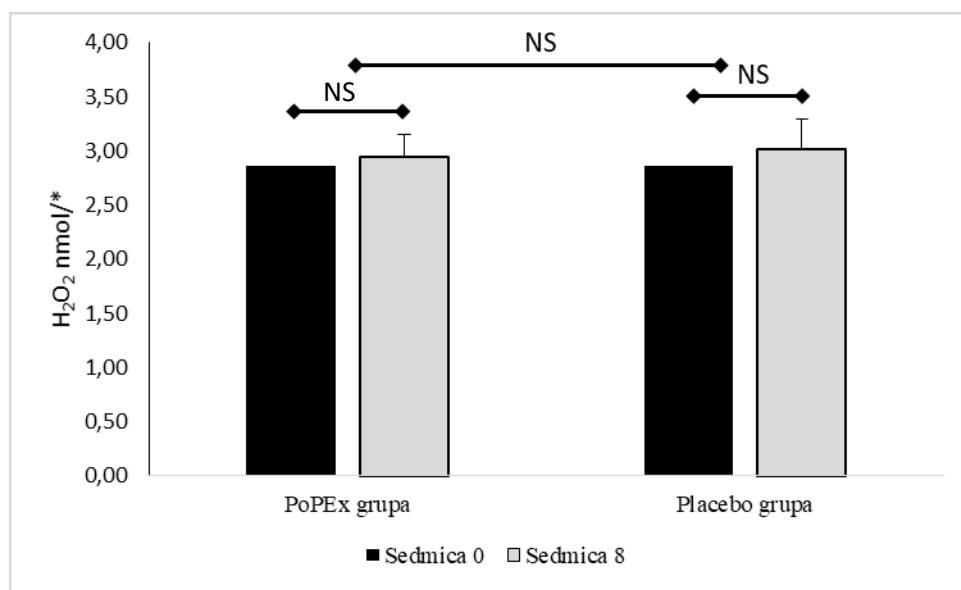
Vrijednosti NO_2^- kod pacijenata koji su bili tretirani sa PoPEX-om je nakon 8 sedmica bila statistički značajno niža u odnosu na početne vrijednosti (Med \pm IQR 14.45 ± 2.18 nmol/L vs 7.35 ± 3.67 nmol/L; $Z = -4.660$, $p < .001$), dok promjena vrijednosti NO_2^- u Placebo grupi nije dostigla nivo statističke značajnosti (Med \pm IQR 14.59 ± 2.84 nmol/L vs 15.16 ± 3.09 nmol/L; $Z = 1.503$, $p < .133$). Takođe, upotrebom *mixed ANOVA* testa za ponovljena mjerenja, na kraju interventnog perioda je utvrđena statistički značajna razlika između grupa ($F(1,55) = 186.985$, $p < .001$), kada se uzmu u obzir početne vrijednosti NO_2^- . Slika 16 prikazuje vrijednosti NO_2^- prije i nakon interventnog perioda.



Slika 17. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti NO_2^- kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao medijana \pm IQR. Interkvartilni raspon, IQR; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; nema statističke značajnosti, NS; *** $p < 0.001$.

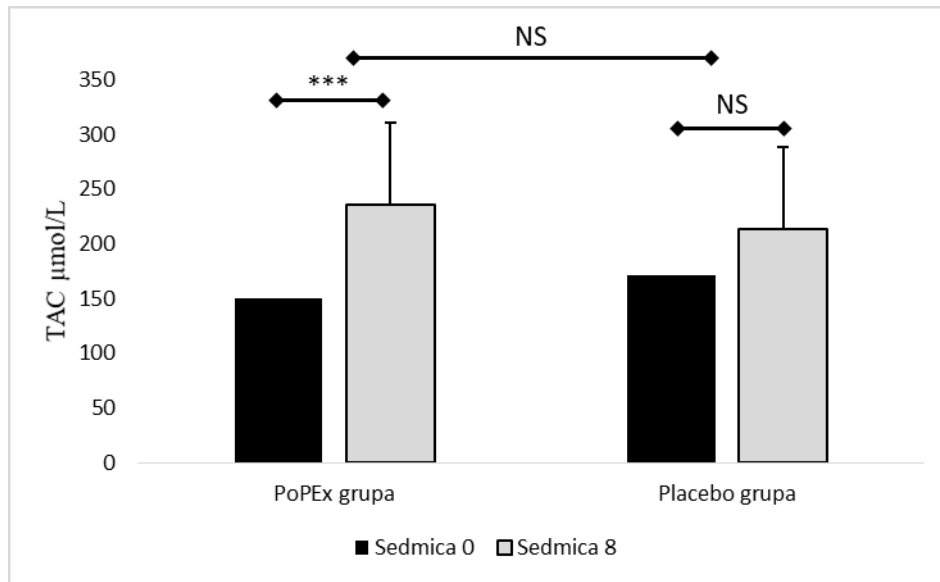
Vrijednosti markera oksidativnog stresa H_2O_2 , kod pacijenata koji su bili tretirani sa PoPEX-om, (Med \pm IQR $2.86 \pm .37$ nmol/L vs $2.95 \pm .48$ nmol/L; $Z = .487$, $p = .627$), kao i kod pacijenata u Placebo grupi (Med \pm IQR $2.86 \pm .20$ nmol/L vs $3.02 \pm .28$ nmol/L; $Z = 2.142$, $p = .088$) nije se statistički značajno mijenjala nakon 8 sedmica. Takođe, upotrebom *mixed ANOVA* testa za ponovljena mjerenja, na kraju interventnog perioda nije utvrđena statistički značajna razlika između grupa ($F(1,55) = 1.009$, $p = .320$), kada se uzmu u obzir početne vrijednosti H_2O_2 . Slika 18 prikazuje vrijednosti H_2O_2 prije i nakon interventnog perioda u obe grupe pacijenata.



Slika 18. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti H_2O_2 kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao medijana \pm IQR. Interkvartilni raspon, IQR; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; nema statističke značajnosti, NS.

Analiza vrijednosti TAC kod pacijenata koji su bili tretirani sa PoPEX-om je pokazala da je kod pacijenata u PoPEX grupi utvrđeno statistički značajno povećanje TAC nakon perioda od 8 sedmica (Mean \pm SD: 149.93 \pm 69.44 μ mol/L vs 235.81 \pm 74.71 μ mol/L; t test (29) = -4.248, p < .001), dok povećanje vrijednosti TAC u Placebo grupi nije dostigla statističku značajnost nakon 8 sedmica (Mean \pm SD: 171.22 \pm 75.27 μ mol/L vs 213.25 \pm 74.74 μ mol/L; t test (28) = -1.847, p = .076). Takođe, upotrebom *mixed ANOVA* testa za ponovljena mjerenja, na kraju interventnog perioda nije utvrđena statistički značajna razlika između grupa (F (1,55) = .003, p = .959), kada se uzmu u obzir početne vrijednosti TAC. Slika 19 prikazuje vrijednosti TAC prije i nakon interventnog perioda u PoPEX i Placebo grupi.



Slika 19. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti ukupnog antioksidativnog kapaciteta kod pacijenata sa DMT2

Vrijednosti su prikazani kao mean \pm SD. Standardna devijacija, SD; dijabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; ukupni antioksidativni kapacitet, TAC; nema statističke značajnosti, NS; *** p < 0.001.

5.2.8 UTICAJ PRIMJENE PoPEX-a NA INFLAMATORNE BIOMARKERE KOD PACIJENATA SA DMT2

Kod svih pacijenata koji su učestvovali u istraživanju određivani su parametri inflamacije u serumu (hsCRP, IL-6 i TNF- α) na početku istraživanja (nulta sedmica). U *Tabeli 18* prikazana je deskriptivna statistika parametara inflamacije, kod svih ispitanika prema grupi PoPEX i Placebo, na početku istraživanja.

Nakon provjere raspodjele varijabli, utvrđeno je da su parametri IL-6 i TNF- α imali normalnu distribuciju, dok parametar hsCRP nije imao normalnu distribuciju. U odnosu na normalnost raspodjele urađena je provjera razlika između grupa na početku interventnog perioda t-testom za nepovezane uzorke i *Mann Whitney U* testa. Među ispitivanim grupama nije utvrđena statistički značajna vrijednost između bazalnih vrijednosti za parametre inflamacije IL-6 i TNF- α ($t(58) = .492, p = .625$ i $t(58) = -.137, p = .891$). Takođe, upotrebom *Mann Whitney* testa za parametar hsCRP utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između posmatranih grupa ($Z = -.570, p = .569$).

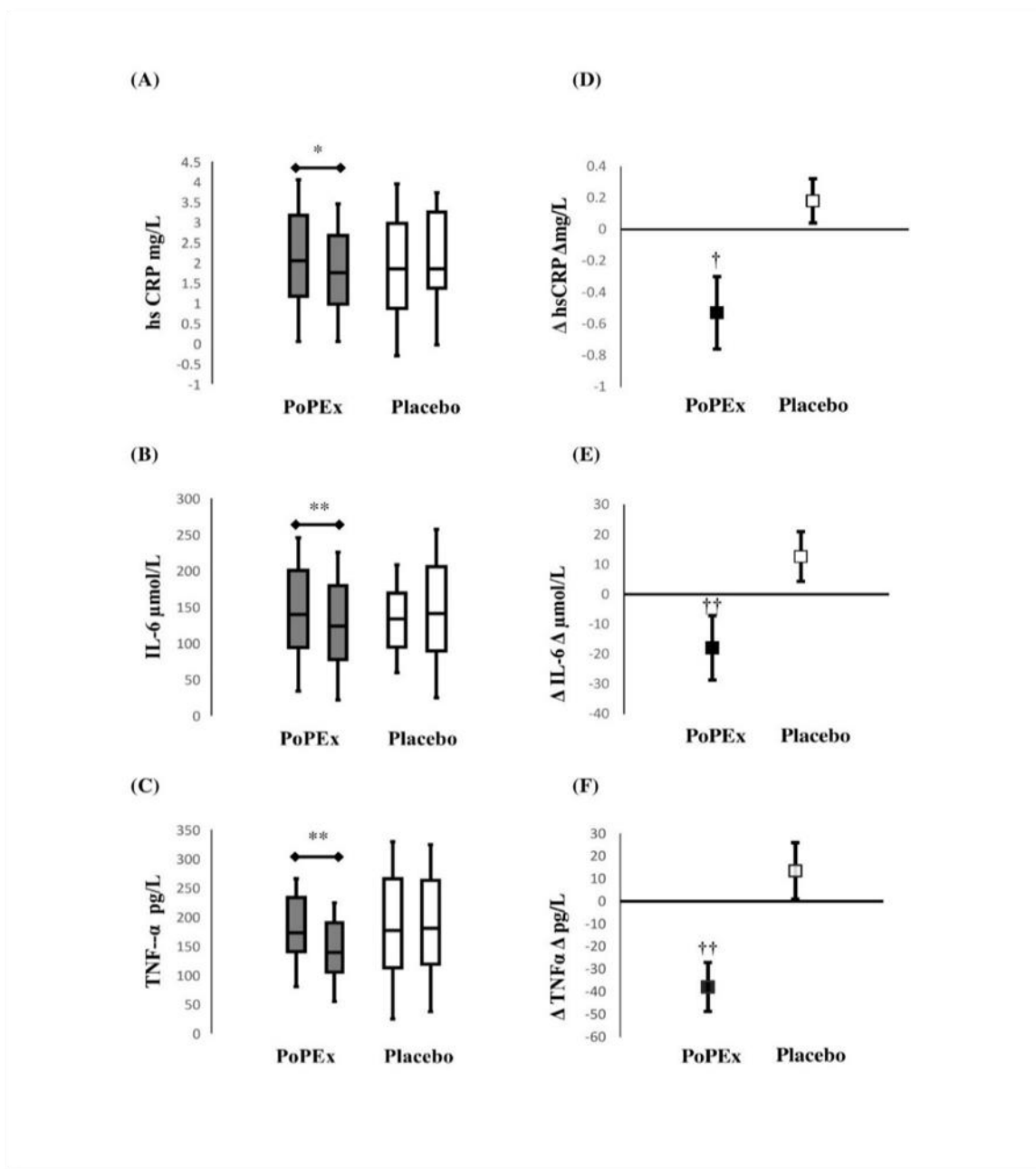
Tabela 18. Deskriptivna statistika za parametre inflamacije na početku interventnog perioda

Parametri inflamacije	M	SD	Mdn	Q1	Q3	Min	Max	IQR
PoPEX grupa								
*hsCRP mg/L	2.73	2.33	2.05	1.18	3.18	0.30	11.40	2.00
IL-6 $\mu\text{mol/L}$	144.80	73.85	139.50	94.04	199.95	14.00	345.50	105.92
TNF- α pg/L	181.60	76.41	172.80	140.30	233.15	37.20	376.80	92.85
Placebo grupa								
*hsCRP mmo/L	2.23	1.48	2.00	1.23	3.03	0.30	6.50	1.80
IL-6 $\mu\text{mol/L}$	136.65	52.63	135.50	95.04	186.25	26.50	241.00	91.21
TNF- α pg/L	184.49	86.06	185.10	121.30	265.05	18.00	380.00	143.75

ekstrakt kore nara, PoPEX; visoko senzitivni C reaktivni protein, hsCRP; interleukin 6, IL-6; tumor nekrozis faktor alfa, TNF- α ; prosječna vrijednost, M; standardna devijacija, SD; medijana, Mdn; prvi kvartil, Q1; treći kvartil, Q3; interkvartilni raspon, IQR; (*) odstupanje od normalne distribucije

Suplementacija PoPEX-om u trajanju od osam sedmica rezultovala je značajnim smanjenjem inflamatornih parametara kod DMT2 pacijenata u poređenju sa bazalnim vrijednostima. Vrijednosti hsCRP su u PoPEX grupi, nakon interventnog perioda bile niže u odnosu na bazalne vrijednosti i ta razlika je bila statistički značajna (hsCRP: median \pm IQR 2.05 \pm 2.00 mg/L vs 1.75 \pm 1.70 mg/L; Z= -2.565, $p = .010$) dok su se vrijednosti hs CRP u Placebo grupi povećale nakon interventnog perioda (hsCRP: median \pm IQR 2.00 \pm 1.80 mg/L vs 2.15 \pm 1.88 mg/L; Z= -1.483, $p = .138$). Takođe, utvrđeno je značajno sniženje parametara IL-6 i TNF- α u PoPEX grupi (IL-6: mean \pm SD 144.80 \pm 73.85 μ mol/L vs 123.50 \pm 66.84 μ mol/L; t (29) = 2.509, $p = .018$) i (TNF- α : mean \pm SD 181.60 \pm 76.41 pg/L vs 143.68 \pm 61.57 pg/L; t (29) = 3.507, $p = .002$). Vrijednosti za pomenute parametre inflamacije su se povećale u Placebo grupi, ali to povećanje nije dostiglo nivo statističke značajnosti (IL-6: mean \pm SD 136.65 \pm 52.63 μ mol/L vs 149.78 \pm 70.01 μ mol/L; t (27) = -1.518, $p = .141$) i (TNF- α : mean \pm SD 184.49 \pm 86.06 pg/L vs 197.15 \pm 61.57 pg/L; t (27) = -1.077, $p = .291$), *Slika 20 A-C*.

Kada su se poredile razlike između bazalnih vrijednosti vrijednosti parametara i konačnih vrijednosti na kraju interventnog perioda (delta vrijednost) između dvije istraživačke grupe je bila statistički značajna. Korišten je *mixed ANOVA* test za ponovljena mjerenja, na kraju interventnog perioda utvrđena je statistički značajna razlika između grupa. *Slika 20 D-F* prikazuje delta vrijednost za parametre inflamacije u PoPEX i Placebo grupi.



Slika 20. Uticaj osmosedmične suplementacije PoPEX na vrijednosti parametara inflamacije kod pacijenata sa DMT2

Diabetes melitus tip 2, DMT2; ekstrakt kore nara, PoPEX; (A-C) visoko senzitivni C reaktivni protein, hsCRP; interleukin 6, IL-6; Tumor nekrozis faktor alfa, TNF- α ; interkvartilni raspon, IQR; srednja vrijednost, Mean; standardna devijacija, SD. Vrijednosti su prikazani kao Medijana \pm IQR za IL-6 i TNF- α i mean \pm SD za hsCRP na početku i na kraju interventnog perioda kod pacijenata sa DMT2. Razlike unutar grupe su označene sa * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. (D-F) Delta vrijednosti parametara inflamacije (hsCRP, IL-6 i TNF- α) u PoPEX grupi i Placebo grupi. Razlike između grupa su testirane sa mixed ANOVA i znak (†) pokazuje statistički značajnu razliku između grupa, nakon kontrole početnih vrijednosti † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$.

Konačno, u *Tabeli 19* je prikazana Spirman-ova korelacija između promjena markera oksidativnog stresa i promjena parametara inflamacije (delta vrijednost) u odnosu na grupu. Možemo zaključiti da postoji umjerena, statistički značajna negativna korelacija između Δ TAC i promjena vrijednosti parametara inflamacije (Δ hsCRP: $p = .002$; Δ IL-6;: $p = .029$ i Δ TNF- α : $p = .034$). Pored toga promjena Δ IL-6 je negativno korelirala sa Δ H₂O₂ ($p = .006$), a pozitivno sa Δ NO⁻ ($p = .008$).

Tabela 19. Korelacija parametara zapaljenja sa markerima oksidativnog stresa

Grupa	Δ TBARS mmol/L	Δ O ₂ - μ mol/L	Δ NO ⁻ mmol/L	Δ H ₂ O ₂ mmol/L	Δ TAC μ mol/L
	<i>r/p</i>	<i>r/p</i>	<i>r/p</i>	<i>r/p</i>	<i>r/p</i>
PoPEX					
Δ IL-6 μ mol/L	0.108 / 0.577	-0.032 / 0.868	0.483 / 0.008	-0.494 / 0.006	-0.552 / 0.002
Δ TNF- α pg/L	0.064 / 0.740	0.250 / 0.192	0.339 / 0.072	-0.368 / 0.05	-0.399 / 0.029
Δ hsCRP mg/L	-0.159 / 0.409	-0.104 / 0.591	-0.242 / 0.206	0.116 / 0.550	-0.387 / 0.034
Placebo					
Δ IL-6 μ mol/L	-0.205 / 0.295	-0.332 / 0.084	0.167 / 0.397	-0.184 / 0.348	0.156 / 0.438
Δ TNF- α pg/L	0.300 / 0.120	0.184 / 0.297	-0.109 / 0.582	0.034 / 0.864	0.341 / 0.082
Δ hsCRP mg/L	-0.139 / 0.481	0.005 / 0.979	0.012 / 0.950	-0.165 / 0.402	0.137 / 0.497

Ekstrakt kore nara, PoPEX; visoko senzitivni C reaktivni protein, hsCRP; interleukin 6, IL-6; tumor nekrozis faktor alfa, TNF- α ; produkti reakcije tiobarbituratne kiseline, TBARS; ukupni antoksidativni kapacitet, TAC; vrijednost Spearman's rank korelacije, r.

6. DISKUSIJA

Osnovni cilj provedenog istraživanja bio je da se ispita uticaj osmosedmične primjene PoPEX-a na metaboličke parametre kod pacijenata/ica sa prekomjernom tjelesnom masom, a kojima je dijagnostikovana DMT2 i koji su bili na kontinuiranoj terapiji metforminom. Poseban naglasak je stavljen na lipidni profil i biomarkere glikoregulacije, oksidativnog stresa i inflamacije.

Za potrebe ovog istraživanja napravljen je suvi ekstrakt kore nara u odnosu 8:1 (kora : ekstrakt). Određena je adekvatna doza za terapijski efekat na osnovu preporuka WHO (111). U prvom dijelu studije pratili smo moguće neželjene efekte suplementacije ekstraktom kore nara u kontrolnoj grupi, koju su činili zdravi ispitanici/ce. Nije bilo prijavljenih neželjenih efekata kod zdravih osoba, u toku i nakon primjene PoPEX-a.

Nakon završenog prvog perioda od osam sedmica, u drugom eksperimentalnom dijelu studije, analizirali smo uticaj ekstrakta kore nara na kardiometaboličke parametre kod pacijenata/ica sa DMT2. Dobijeni rezultati su ukazali da je primjena PoPEX-a na posmatrane metaboličke parametre kod pacijenata/ica sa DMT2 bila značajna.

Posljednjih 20-ak godina primjećen je porast broja istraživanja koja se odnose na zdravstvene efekte polifenola. Dosadašnja saznanja se uglavnom zasnivaju na rezultatima observacionih i *in vitro* studija koja su ukazala na potencijalne mehanizme djelovanja polifenola (122). Mnogo manji broj je kliničkih studija, a među njima najučestalija su istraživanja koja su ispitivala učinke soka nara. Pored toga, primjećene su razlike u vremenu primjenjene intervencije, kao i dozi (123). Koliko je nama poznato, ovo je prva studija u kojoj je ispitivan uticaj PoPEX-a kod pacijenata/ica sa DMT2.

S obzirom da postoje jasni dokazi koji govore o povezanosti između dužine trajanja bolesti i dobi početka dijabetesa sa nastankom komplikacija bolesti (124), na početku istraživanja ispitano je da li postoji razlika između grupa u pogledu ovih karakteristika. Ispitanici/ce posmatranih grupa, PoPEX i Placebo, nisu se razlikovali u pogledu trajanja DMT2, kao ni u dobi u kojoj je bolest počela.

Stil života koji uključuje balansiranu ishranu i redovnu fizičku aktivnost, ima veoma značajnu ulogu u poboljšanju vrijednosti glikemije u kontekstu samokontrole DMT2 (125). Imajući to u vidu, na početku studije svi ispitanici su vodili trodnevni dnevnik ishrane i data im je usmena preporuka da u toku studije ne mijenjaju način ishrane koji su imali do tada. Nakon analize podataka iz dnevnika ishrane na početku interventnog perioda, utvrđeno je da nije bilo razlike u procentualnoj zastupljenosti unosa makronutrijenata u obe posmatrane grupe. Takođe, unos makronutrijenata kod pacijenata sa DMT2 nije se razlikovao od procijenjenog populacionog unosa, što je u skladu sa izvještajem iz 2019. godine (126).

Oko 40 % procijenjenog dnevnog energetskeg unosa, činila je energija iz masti, što je više od preporučenog dnevnog unosa, a takođe i procijenjeni dnevni unos zasićenih masti je bio viši od preporučenog (126). Danas postoje jasni dokazi iz epidemioloških studija o pozitivnoj povezanosti između unosa zasićenih masti i nivoa holesterola u plazmi (127). Takođe, meta-analiza randomizovanih kliničkih studija koja je posmatrala kako masti iz ishrane mogu da utiču na rizik od razvoja KVB sugeriše da smanjenje unosa energije porijeklom iz zasićenih masti može da smanji nastanak kardiovaskularnih događaja kod pacijenata/ica sa DMT2 za 17 % (128). Promjena ishrane kod pacijenata/ica sa dijabetesom, u smislu zamjene 2 % unosa energije iz zasićenih masti sa energijom porijeklom PUFA je praćena i smanjenjem mortaliteta od KVB za 12 % (129). Nakon završenog interventnog perioda, analiza rezultata trodnevne ankete ishrane je pokazala da nije bilo statistički značajnih promjena ni u ukupnom dnevnom energetskeg unosu, ni u proporcionalnoj zastupljenosti makronutrijenata u dnevnom unosu ni u jednoj od posmatranih grupa.

Aterosklerotične KVB su najčešći uzrok morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa DMT2. Iako brojni činioci imaju značajnu ulogu u razvoju KVB kod pacijenata sa DMT2, gojaznost je činilac rizika na koji se može uticati jednostavnom promjenom načina ishrane (130). Prekomjerna tjelesna masa i gojaznost su dokazani činioci rizika za razvoj DMT2 (131). Novija istraživanja ukazuju na značaj tjelesne kompozicije i distribucije masnog tkiva u organizmu i njihovu povezanost sa nastankom kardiovaskularnih komplikacija (132). Svi ispitanici/ce koji su bili uključeni u studiju su imali prekomjernu tjelesnu masu. Praćenjem antropometrijskih parametara, na početku studije nije utvrđena statistički značajna razlika između PoPEX grupe i Placebo grupe.

Rezultati naše studije su pokazali da je suplementacija PoPEX-om kod predgojaznih i gojaznih pacijenata/ica sa DMT2 uticala na tjelesnu kompoziciju i antropometrijske karakteristike. Osmosedmična primjena PoPEX-a je pokazala pozitivan efekat na vrijednosti obima struka u poređenju sa Placebo grupom, dok rezultati uticaja na tjelesnu masu i antropometrijske karakteristike nisu bili konzistentni. U poređenju sa Placebo grupom, utvrđeno je statistički značajno povećanje BMI i smanjenje obima struka u PoPEX grupi. Međutim, iako je u PoPEX grupi utvrđeno povećanje BMI, procenat masnog tkiva se smanjio (-0.58 %), ali ta promjena nije dostigla nivo statističke značajnosti.

Dosadašnji rezultati studija koje su istraživale učinak unosa nara na BMI i tjelesni sastav nisu bili konzistentni. Rezultati studije provedene kod gojaznih ispitanika, je pokazala da primjena ekstrakta lista nara ili soka od nara u trajanju od mjesec dana, dovodi do značajnog smanjenja tjelesne mase kod gojaznih osoba, što se ne podudara sa našim rezultatima (133). Takođe, rezultati studije provedene na gojaznim miševima, u kojoj je korišten ekstrakt lista nara su pokazali značajno smanjenje tjelesne mase, procenta masnog tkiva i smanjenje intestinalne apsorpcije masti. Lei i sar. su ukazali na mogućnost da ekstrakt lista nara ima sličnost sa mehanizmom djelovanja orlistata (*Xenical*), odnosno smanjenje tjelesne mase nastaje zbog smanjenja aktivnost crijevne lipaze i apsorpcije masti, a da se povećava ekskrecija masti (134). Primjena ekstrakta cijelog nara (1000 mg/dan) kod gojaznih osoba, u trajanju od mjesec dana je pokazala statistički značajno smanjenje tjelesne mase u eksperimentalnoj grupi u poređenju sa placebo grupom (65). Slične rezultate su prikazali *Ghefalti* i sar. (135). Studija u kojoj je korišten sok nara (120 mL/dan) kod zdravih osoba, u trajanju od 30 dana nije pokazala statistički značajno smanjenje tjelesne mase, ali je primjećeno smanjenje procenta masti u organizmu (136). Diskrepancija u rezultatima navedenih studija mogla bi se objasniti različitim protokolima studija (različiti dizajn studije, različito trajanje interventnog perioda, različitost ispitanika/ica, različitost doze i oblika korištenog nara) (137), ali i nedostatkom praćenja nutritivnog unosa.

Takođe, *in vivo* i *in vitro* studije ukazuju da upotreba nara ima regulatorni učinak i na dislipidemiju i metabolizam masnog tkiva kako kod ljudi, tako i u životinjskim modelima (138). Polifenoli kao komponenta funkcionalne hrane pokazuju potencijalni antigojazni učinak utičući na adipocite, odnosno oni stumulišu transformaciju bijelih adipocita u mrke adipocite i aktiviraju mrko masno tkivo. Indukcija mrkog masnog tkiva može biti posredovana preko receptora

adrenergičke membrane, što dovodi do stimulacije lipolize i termogeneze (139).

Povećanje obima struka je nezavisni činitelj rizika za razvoj hroničnih oboljenja, uključujući i DMT2 (140). Prema rezultatima istraživanja *Lou* i sar., smanjenje obima struka može smanjiti rizik za nastanak i razvoj komplikacija DMT2, čak iako se BMI ne promijeni (141). Kako je kod pacijenata/ica u PoPEX grupi u našoj studiji utvrđeno značajno smanjenje vrijednosti obima struka, a pri tome su vrijednosti BMI rastle, ovaj nalaz predstavlja zanimljivo pitanje za buduća istraživanja.

Vrijednost faznog ugla je povezana sa sadržajem masnog tkiva u organizmu i smatra se biomarkerom nemasnog tkiva (142). Promjena vrijednosti faznog ugla i povećanje nemasnog tkiva u PoPEX grupi bi se mogla posmatrati u skladu sa tom pretpostavkom (143).

Obzirom da su utvrđene promjene tjelesne kompozicije u PoPEX grupi, odnosno na kraju interventnog perioda uočeno je povećanje tjelesne mase za 0.48 ± 0.9 kg, a smanjenje procenta masnog tkiva za 0.58 ± 2.2 %, da bi se smanjila mogućnost greške za procjenu tjelesne kompozicije korištene su dvije različite metode BIA i mjerenje debljine kožnih nabora. Poređenje rezultata dobijenih različitim metodama pokazalo je visoku statistički značajnu korelaciju ($p < 0.001$, $r = 0.887$).

Kontrola glikemije i dalje predstavlja značajan izazov za pacijente sa DMT2. Loša kontrola glikemije je jedan od najčešćih uzoka dugotrajnih makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija kod ovih pacijenata (144). Svi ispitanici/ice koji su bili uključeni u studiju su imali neregulisanu glikemiju, odnosno vrijednosti HbA1c su bile iznad 6.5 %. Na početku studije nije utvrđena statistički značajna razlika između PoPEX grupe i Placebo grupe u pogledu parametara glikoregulacije.

Rezultati naše studije su pokazali da primjena PoPEX-a u trajanju od 8 sedmica, statistički značajno smanjuje nivo HbA1c, dok su vrijednosti glikemije na tašte, serumske koncentracije insulina i insulinska senzitivnost ostali nepromijenjeni. Djelomično slični rezultati, u pogledu glikoregulacije, su prikazani i u studiji koja je koristila ekstrakt nara u trajanju od 30 dana kod gojaznih pacijenata (65), ali je u ovoj studiji utvrđeno i značajno smanjenje glikemije na tašte i serumske koncentracije insullina. Međutim, rezultati naše studije nisu bili konzistentni sa

rezultatima studija koje su koristile sok nara (133,145,146), što se može objasniti i sadržajem ugljenih hidrata u soku nara. Svi ispitanici/ce koji su učestvovali u studiji su bili na kontinuiranoj terapiji metforminom, što može da bude razlog zbog kojeg primjena PoPEX-a nije uticala na vrijednosti glikemije na tašte. Iako se glikozilirani protein HbA1c smatra standardnom mjerom dugotrajne kontrole glikemije, on ne ukazuje na dnevnu glikemijsku varijabilnost. Postoji snažna povezanost između povišenih vrijednosti HbA1c i nastanka hroničnih/dugotrajnih komplikacija dijabetesa (145). Kod pacijenata sa DMT2 povećanje vrijednosti HbA1c za 1 %, dovodi do povećanja rizika za KVB za 7.5 % (147). Rezultati animalnih studija u kojima je korišten ekstrakt kore nara, takođe ukazuju na značajan hipoglikemijski efekat (36). Mogući mehanizam kojim polifenoli iz ekstrakta kore nara ostvaruju hipoglikemijski učinak je inhibicija aktivnosti α -glukozidaze i α -amilaze (28).

Nekoliko prethodnih studija je pokazalo da je loša glikemijska kontrola povezana sa povećanim rizikom za razvoj komplikacija dijabetesa i povećanjem smrtnosti kod osoba sa dijabetesom, dok dnevne varijacije glukoze, mjerena kao glikemija na tašte nisu uticale na rizik od kardiovaskularnih komplikacija (148). Bolja glikoregulacija i u isto vrijeme antioksidantna i antiinflamatorna aktivnost polifenola iz nara doprinosi boljem menadžmentu dijabetesa (149).

Insulinska rezistencija i hiperinsulinemija su osnovne karakteristike DMT2 (81). U našem istraživanju utvrđeno je prisustvo insulinske rezistencije mjereno HOMA-IR i TyG indeksom. Nakon osmosedmične primjene PoPEX-a, stepen insulinske rezistencije, mjereno TyG indeksom bio je značajno niži u PoPEX grupi, dok su vrijednosti HOMA-IR pokazale tendenciju pada, ali promjena vrijednosti nije dostigla nivo statističke značajnosti. Povećanje vrijednosti TyG indeksa se smatra pouzdanim markerom insulinske rezistencije i povezuje se sa progresijom kalcifikacije koronarnih arterija, ukazujući na povećanje kardiovaskularnog rizika (150). Takođe, postoji značajna povezanost između visine TyG indeksa i nastanka kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa DMT2 (151). Statistički značajno smanjenje TyG indeksa u PoPEX grupi ukazuje na potencijalni učinak polifenola ekstrakta kore nara na smanjenje rizika za razvoj kardiovaskularnih komplikacija kod pacijenata sa DMT2.

S jedne strane, osobe koje imaju DMT2 imaju dva puta češće hipertenziju u odnosu na opštu populaciju, dok sa druge strane DMT2 se dva i po puta češće, razvija kod hipertenzivnih

osoba u odnosu na normotenzivne osobe, što su pokazali i rezultati prospektivne kohortne studije (152,153). Svaki činitelj ponaosob, predstavlja nezavisan činitelj rizika za nastanak KVB, a zajedno imaju kumulativni efekat i mogu biti prediktor nastanka koronarne bolesti srca (82). Na početku studije, svi ispitanici/ice koji su bili uključeni u studiju su imali povišene vrijednosti krvnog pritiska i/ili su bili na terapiji sa ACE inhibitorima. Posmatrajući razlike između grupa, na početku studije, nije utvrđena statistički značajna razlika između PoPEX grupe i Placebo grupe u pogledu vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska..

U našoj studiji, primjena PoPEX-a u trajanju od 8 sedmica utvrđeno je statistički značajno sniženje vrijednosti i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska. Prethodne studije u kojima je korišten sok kore nara su prikazali slične rezultate kod pacijenata sa dijabetesom, hipertenzivnih pacijenata, ali i kod zdravih odraslih osoba (39,40,154). U studiji koju su proveli *Stocton* i sar. pokazano je da je primjena ekstrakta cijelog nara, u trajanju od 8 sedmica kod zdravih odraslih osoba, dovela do statistički značajnog sniženja dijastolnog krvnog pritiska, dok smanjena vrijednost sistolnog pritiska nije dostigla statističku značajnost (136). Poznato je da povišene vrijednosti angiotenzina II dovode do vazokonstrukcije, ali i do proliferacije glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova, što zajedno podstiče proces ateroskleroze (155). Kao jedan od mogućih mehanizama, kojim polifenoli iz nara ostvaruju hipotenzivni efekat, smatra se upravo redukcija aktivnosti adenozin konvertujućeg enzima i smanjena vrijednost angiotenzina II (41,43). Takođe, sok nara može dovesti i do vazodilatacije krvnih sudova, tako što povećava aktivnost azot oksid sintaze i na taj način povećava bioraspodivnost NO (156). Vrijednosti sistolnog krvnog pritiska, nakon primjene PoPEX-a kod naših pacijenata/ica su bile niže za približno 6 mm Hg, a nedavno objavljena studija je pokazala da snižavanje sistolnog krvnog pritiska za 5 mm Hg dovodi do smanjenja rizika za nastanak kardiovaskularnih događaja za 10 % (157).

Dislipidemija kod pacijenata/ica sa DMT2 se karakteriše povišenim vrijednostima TG i LDL-C i sniženim vrijednostima HDL-C (158). Ovakav tip dislipidemije je prisutan i kod pacijenata/ica sa metaboličkim sindromom što ukazuje, da do poremećaja transporta lipida kod dijabetičnih pacijenata/ica prije dovodi postojanje insulinske rezistencije, nego prisutna hiperglikemija (98). Vrijednost odnosa LDL-C/HDL-C ima važniju prediktivnu ulogu za progresiju debljine intime medije karotidnih arterija, nego kada se njihove vrijednosti posmatraju odvojeno (159).

Pokazali smo da osmosedmična suplementacija PoPEX-om dovodi do statistički značajnog poboljšanja lipidnog profila kod pacijenata/ica sa DMT2. Na kraju interventnog perioda u PoPEX grupi je utvrđeno statistički značajno snižavanje vrijednosti Uk.Hol, LDL-C, TG i odnosa LDL-C/HDL-C, dok je istovremeno došlo do statistički značajnog rasta vrijednosti HDL-C u ovoj grupi.

Rezultati naše studije se podudaraju sa rezultatima studije koju su proveli *Hosseini* i sar., kod gojaznih osoba, a koji su koristili 1000 mg ekstrakta nara u trajanju od četiri sedmice (65). Međutim, kada se kao suplementacija koristio sok nara, rezultati nisu bili konzistentni. Tako da su rezultati nekih od studija u kojima je korišten sok nara pokazali poboljšanje lipidnog profila (39,44,47,160), dok druge studije nisu pokazale pozitivan učinak suplementacije soka nara na lipidni profil (45,154). Uzrocima razlika između rezultata kod ovih istraživanja, mogu se smatrati različita dužine interventnog perioda, različit sadržaj ugljenih hidrata i sadržaj polifenola u soku nara (137).

Prema podacima *in vivo* i *in vitro* studija, različite komponente ekstrakta nara dovode do pozitivnih učinaka na metabolizam lipida u humanom i životinjskom masnom tkivu (138). Osmosedmična primjena ekstrakta kore nara kod pacova sa DM, pokazala je značajan hipolipemijski efekat, koji je pripisan njegovoj snažnoj antioksidativnoj aktivnosti (43). Mogući mehanizmi koji dovode do prevencije skladištenja masnog tkiva i insulinske rezistencije mogu biti inhibicija sinteze lipida i inhibicija lipolize. Odnosno, predložena su dva molekularna mehanizma koji posreduju u adipogenezi. Jedan je aktivacija PPAR γ koji poboljšava metabolizam lipida u LO2 ćelijama (161), a drugi je smanjenje nivoa informacione ribonukleinske kiseline (iRNK) za sintezu sterolnog regulatornog vezujućeg proteina (SREBP-1) (162). Najvažnije komponente ekstrakta kore nara, punikalagin i elagna kiselina pokazuju dozno-zavisni hipolipidemijski efekat (163).

Nakon osmosedmične primjene PoPEX-a, kod naših pacijenata/ica utvrđene su promjene u sastavu masnih kiselina u lipidima plazme. Uočen je statistički značajno niži nivo palmitinske i stearinske masne kiseline, kao i manji sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina. SFA, od kojih posebno palmitinska kiselina, se smatraju proaterogenim kiselinama (164,165). Saznanja dobijena epidemiološkim studijama su pokazala da postoji pozitivna korelacija između

nutritivnog unosa SFA i nivoa LDL-C (127,166). Aterogeni i trombogeni potencijal SFA se ogleda preko povećanog stvaranja lipoproteina veoma niske gustine (VLDL) i Apo A, povećanja agregacije trombocita i smanjenja specifične aktivnosti LDL receptora (167). Pored toga, dokazano je da povećanje palmitinske kiseline povećava insulinsku rezistenciju i na taj način dovodi do pogoršanja kliničke slike DMT2. SFA aktiviraju serin kinazu i inhibiraju kaskadu fosforilacije insulina i na taj način ometaju preuzimanje glukoze u tkiva i doprinose rastu glikemije (168). Palmitinska kiselina, u isto vrijeme aktivira protein kinazu C, što takođe dovodi do povećanja insulinske rezistencije i smanjenog preuzimanja glukoze od strane ćelija skeletnih mišića (169).

Takođe, u PoPEX grupi je utvrđena statistički značajno manja zastupljenost SFA u ukupnom sadržaju lipida plazme, što govori u prilog antiaterogenog i kardioprotektivnog učinka PoPEX-a kod pacijenata/ica sa DMT2. Punična kiselina, jedna od osnovnih sastojaka nara se vezuje i aktivira PPAR α , i dovodi do aktivacije gena, a među njima i transkripcije Stearoil-KoA-desaturaze 1 (SCD-1) (59). Upravo ovaj mehanizam aktivacije SCD-1, može biti odgovoran za smanjenje SFA kod naših pacijenata/ica. Aktivacija SCD-1 povećava sintezu mononezasićenih masnih kiselina, a u našoj studiji je primjećen rast vakenične i oleične masne kiseline, ali ova promjena nije dostigla nivo statističke značajnosti.

Istovremeno, pored smanjenja SFA, primjena PoPEX-a je uticala i na povećanje vrijednosti arahidonične kiseline. AA je prekursor širokog spektra snažnih proinflamatornih eikosanoida, uključujući prostoglandine serije 2 i leukotriene serije 4, te se u inflamatornim stanjima uočavaju visok nivo AA (170, 171). Međutim, kod naših pacijenata/ica koji su uzimali PoPEX, povećanje vrijednosti AA nije bilo praćeno smanjenjem linolne kiseline (LA, 18:2n-6), koja je prekursor AA. Što ukazuje da je primjena PoPEX-a, dovela do zaustavljanja konverzije AA u eikosenoide, a posljedično do povećanja vrijednosti AA. Ovakav odnos AA i LA govori i o mogućem uticaju PoPEX-a na stanje inflamacije, a ta pretpostavka je potvrđena i smanjenjem parametara inflamacije (IL-6 i TNF- α). Punična kiselina, aktivni sastojak nara, aktivira PPAR i na taj način inhibira stvaranje prostoglandina, a tim i stepen inflamacije sa posljedičnom akumulacijom AA. Dejstvo PoPEX-a se može takođe pripisati puničnoj kiselini koja se vezuje za PPARs. PPARs su receptori za endogene lipidne molekule (npr. prostoglandini ili hidroksil sadržavajuće polinezasićene masne kiseline) i ciljne molekule za djelovanje lijekova u DMT2

(172). Upravo ovaj mehanizam predstavlja novu metu za prevenciju i terapiju inflamatornih poremećaja (173,174).

Promjene u sastavu masnih kiselina u lipidima plazme u PoPEX grupi su dovele do smanjenja odnosa n-6/n-3 PUFA koji predstavlja značajan marker stanja inflamacije. Prema preporukama WHO odnos n-6/n-3 PUFA u ishrani treba da bude 4:1, međutim u većini razvijenih zemalja taj odnos je 15-20:1 (175). Wall i sar., su ukazali da nutritivna intervencija, koja bi smanjila ovaj odnos može smanjiti incidenciju hroničnih inflamatornih bolesti, kao što su KVB, autoimune bolesti i neurodegenerativne bolesti (176).

U progresiji i nastanku komplikacija DMT2 značajnu ulogu igra interakcija oksidativnog stresa i inflamacije niskog stepena (177). Poremećen metabolizam lipida i oksidativno oštećenje lipida dovode do razvoja inflamacije koja je prisutna kod komplikacija dijabetesa (178). Poremećaj metabolizma lipida kod pacijenata sa DMT2 može dovesti do prekomjernog stvaranja proizvoda lipidne peroksidacije i povećanja oksidativnog stresa (179).

Naša studija, koliko je nama poznato je jedna od prvih studija koje su ispitivale učinak primjene PoPEX-a na oksidativni status i stanje inflamacije kod pacijenata/ica sa DMT2. Dobijeni rezultati su pokazali da je konzumacija PoPEX-a u trajanju od 8 sedmica, značajno uticala na biomarkere oksidativnog stresa.

Homocistein je aminokiselina koja sadrži sumpor i predstavlja nezavisni činiac rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti (121). Povišene vrijednosti homocisteina dovode do poremećaja mitohondrijalne funkcije, preko povećanja ROS (180) i promocije oksidativnog oštećenja vaskularnih ćelija (181). Rezultati studije koju su proveli *Malaguarnera* i sar., ukazuju da umjereno povećanje vrijednosti homocisteina i biomarkera oksidativnog stresa u dijabetesu pospješuje razvoj ateroskleroze (181). Međutim, rezultati dosadašnjih studija u pogledu vrijednosti homocisteina, među oboljelim od dijabetesa su različiti. Nekoliko studija je pokazalo da su pacijenti/ce sa dijabetesom imali povišene vrijednosti homocisteina (182,183), dok rezultati drugih studija pokazuju da je nivo homocisteina nepromijenjen (184) ili čak snižen (185) kod oboljelih od dijabetesa. Na početku istraživanja nije bilo statistički značajne razlike između posmatranih grupa, ali je nakon isteka interventnog perioda utvrđeno značajno snižavanje vrijednosti homocisteina u PoPEX grupi. Snižavanje nivoa homocisteina za 3 $\mu\text{mol/L}$,

snižava rizik za nastanak ishemijske bolesti srca za 16 %, dok se rizik za nastanak infarkta smanjuje za 24 % (186).

Vrijednosti TBARS u plazmi se često koristi kao indirektni pokazatelj indeksa lipidne peroksidacije. Kod naših pacijenata/ica je primjećen pozitivan efekat osmosedmične primjene PoPEX-a na lipidnu peroksidaciju preko značajnog smanjenja vrijednosti TBARS-a za 75 %. Rezultati naše studije su u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima, među zdravim osoba (55), osobama sa metaboličkim sindromom (187) i osobama sa dijabetesom (188). Prethodne studije su pokazale da je antioksidativna aktivnost ekstrakta kore nara, značajno viša od antioksidativne aktivnosti pulpe, sjemena ili ekstrakta soka (29,189). Studija provedena kod pacova sa metotreksat-indukovanim oksidativnim stresom ukazala je da su elagitanini iz ekstrakta kore nara imali značajnu ulogu u "hvatanju" slobodnih radikala (superoksid anjon radikala i peroksil-radikal) (190).

Pored značajnog snižavanja vrijednosti TBARS u plazmi, primjena PoPEX-a je uticala na značajno snižavanje vrijednosti NO^- i O_2^- , te do statistički značajnog povećanja TAC-a kod DMT2 pacijenata/ica. Ranije studije su pokazale da su flavonidi iz soka nara djeluju dvojakom, sa jedne strane su odgovorni za poboljšanje antioksidativnog kapaciteta, a istovremeno ograničavaju oksidativno oštećenje (191,192). U prilog ovim rezultatima govore i rezultati studija provedenih kod žena sa sindromom policističnih jajnika i pacijenata sa DM (57,193). Kod DMT2 pacijenata/ica su pokazane povišene vrijednosti NO u serumu (194,195). Takođe, rezultati meta-analize su pokazali da kod pacijenata sa DMT2 postoji povećana vrijednost NO produkata (nitrita i nitrata) koji su direktno povezani sa razvojem endotelne disfunkcije i IR (196). Hronična hiperglikemija prisutna u DMT2 može dovesti do povećanog stvaranja NO (194). Povišen nivo NO, kombinovan sa povećanim stvaranjem O_2^- vodi ka stvaranju peroksinitrata koji je veoma reaktivan oblik ROS i koji oštećuje, proteine, lipide, nukleinske kiseline i doprinosi oksidaciji LDL i razvoju aterosklerotičnog plaka (197,198). Antioksidativno dejstvo PoPEX-a se zasniva na smanjenom stvaranju ROS mehanizmom "hvatanja" slobodnih radikala sa jedne strane, a sa druge strane dolazi do povećanja antioksidativne odbrane i povećanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta (20,199). Iako nekoliko prethodnih studija nisu uspjele pokazati smanjenje kardiovaskularnih komplikacija nakon suplementacije vitamina E, kao poznatog antioksidansa (200,201), pozitivni efekti polifenola su opisani u prethodnim studijama (202).

Postoji velika varijabilnost i sezonske razlike, u zavisnosti od geografskog područja, u dijetarnom unosu polifenola. Najznačajniji nutritivni izvor polifenola su povrće i voće (16). Stanovništvo koje živi u geografskom području, koga karakterišu četiri godišnja doba, ima najveći unos povrća i voća u toku proljeća i ljeta (203). Kako je naše istraživanje provedeno u periodu od juna do novembra (ljeto i početak jeseni), upravo način ishrane može objasniti povećanje vrijednosti TAC, koje je primjećeno i u Placebo grupi.

Kod pacijenata sa DMT2 se opisuje stanje hronične inflamacije niskog stepena i povećanje nivoa biomarkera inflamacije, kao što su IL-6, TNF- α i hsCRP (204). Opisana je pozitivna korelacija između povišenog nivoa IL-6 i TNF- α i stepena insulinske rezistencije što doprinosi razvoju kliničke slike DMT2 (205,206). Takođe, u kohortnoj studiji koja je obuhvatila 3500 pacijenata sa DMT2, utvrđena je povezanost između vrijednosti CRP i IL-6 i povećanja rizika za razvoj makrovaskularnih događaja i smrti kod ovih pacijenata (207). Pored toga, hsCRP kao medijator aterosklerotske bolesti je snažno povezan sa rizikom za nastanak KVB kod pacijenata sa DMT2 (100). Rezultati populacione studije su pokazali da su pacijenti/ice sa DMT2 imali više vrijednosti CRP u odnosu na opštu populaciju (208). U prospektivnoj studiji kod zdravih muškaraca, koja je trajala oko 7 godina, utvrđeno je da su ispitanici koji su imali vrijednost hsCRP iznad 3 mg/L imali dvostruko viši rizik od ukupne smrtnosti, a rizik je bio naročito povišen za smrtnost od KVB (209). Na osnovu vrijednosti hsCRP kardiovaskularni rizik se može podijeliti u tri kategorije (210). U našoj studiji vrijednosti hsCRP za obe posmatrane grupe se nalazila u kategoriji umjerenog rizika za KVB.

Rezultati naše studije su pokazali da je primjena ekstrakta kore nara, kod pacijenata sa DMT2 u PoPEX grupi dovela do značajnog sniženje biomarkera inflamacije i to IL-6 za 21 %, hsCRP za 20% i TNF- α za 12 %. Antiinflamatorni učinak nara i njegovih dervata su opusani i u prethodnim studijama. Veoma značajno sniženje IL-6 i hsCRP za oko 30 % je opisano u studiji kod pacijenata sa dijabetesom, u kojoj je korišten sok nara u trajanju od 12 sedmica (62). Takođe, Boldaji i sar., su pokazali da osmosedmična primjena sok nara kod pacijenata na hemodijalizi, pokazuje antiinflamatorni efekat i dovodi do snižavanja vrijednosti IL-6 i CRP (211). Povoljni rezultati eksperimentalne studije provedene na modelu reumatskog arttrisa kod Wistar pacova su ukazali da primjena ekstrakta nara značajno smanjuje biomarkere inflamacije TNF- α , IL-6 i inhibira NF- κ B. Pretpostavljeni mehanizam antiinflamatornog dejstva nara je upravo inhibicija

NF- κ B (212). *Mastrogiovanni* i sar. su ukazali da je punikalagin, kao bioaktivna supstanca u naru, odgovorn za antiinflamatorni učinak PoPEx-a, tako što inhibiše stvaranje prostglandina (213). Ovaj zaključak su podržali i rezultati skorašnje *in vitro* studije koja je pokazala da punikalagin i elagna kiselina, bioaktivne supstance kore nara, imaju potentan antiinflamatorni i antioksidativni učinak (214). Pretpostavljeni mehanizam kojim bioaktivne supstance kore nara dovode do smanjenja stvaranja prostglandina je smanjenje ekspresije ciklooksigenaze 2 (COX-2) preko inhibicije NF- κ B i MAPK (69,215). Rezultati naše studije takođe govore u prilog antiinflamatornog učinka i smanjenog stvaranja proinflamatornih faktora, jer je kod pacijenata/ica koji su koristili PoPEx došlo do inhibicije konverzije arahidonične kiseline u proinflamatorne eikosanoide.

Rezultati naše studije su pokazali da je osmosedmična primjena polifenola imala pozitivan učinak na kardiometaboličke faktore kod pacijenata sa DMT2 koji su na kontinuiranoj terapiji metforminom. Tokom trajanja studije nisu primjećeni neželjeni efekti tokom primjene PoPEx-a.

Iako se radi o randomizovanoj, placebo-kontrolisanoj dvostruko-slijepoj studiji, studija je imala i nekoliko ograničenja. Naime, studija je provedena u jednoj klinici i potrebna su buduća multicentrična istraživanja, sa većim brojem ispitanika da bi se potvrdili rezultati studije. Drugo ograničenje je nedostatak podataka o nutritivnom unosu polifenola tokom interventnog perioda. Pored toga, buduće randomizovane studije su potrebne da bi se ispitali efekti polifenola iz kore nara i njihov potencijalni učinak na ulogu adipokina i adipocita kod gojaznih osoba, a takođe i da bi se dobio jasniji uvid u molekularne mehanizme hipoglikemijskog, hipolipemijskog, hipotenzivnog, antioksidativnog i antiinflamatornog učinka PoPEx-a.

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu prikazanih rezultata naše studije, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Osmosedmična suplementacija PoPEX-om, dozirana prema preporukama WHO, dovodi do značajnog smanjenja kardiometaboličkih parametara kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom.
2. Rezultati studije su pokazali da je suplementacija PoPEX-om u trajanju od osam sedmica rezultovala značajnim smanjenjem OS i nivoa visceralne masti kod pacijenata sa DMT2.
3. Osmosedmična suplementacija PoPEX-om, pokazala je povoljne efekte na procenat HbA1c i sniženje IR mjereno TyG indeksom kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom.
4. Osmosedmična suplementacija PoPEX-om je dovela do značajnog snižavanja vrijednosti sTA i dTA kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom.
5. Osmosedmična suplementacija PoPEX-om je pokazala povoljan efekat na sve posmatrane parametre lipidnog statusa kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom.
6. Kada je posmatran masnokiselinski sastav lipida plazme, suplementacija PoPEX-om je dovela do smanjenja odnosa n-6/n-3 PUFA, koji je značajan marker stanja inflamacije, a u prilog ove teorije govori i utvrđeno smanjenje biomarkera inflamacije.
7. Osmosedmična suplementacija PoPEX-om dovodi do značajnog poboljšanja oksidativnog statusa kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom.

8. Rezultati našeg istraživanja su pokazali antioksidativni potencijal PoPEX-a jer je osmosedmična primjena PoPEX-a ispoljila povoljan efekat na parametre oksidativnog stresa (TBARS, O₂ i NO), kao i na poboljšanje TAC kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom. Istovremeno je, nakon osmosedmične primjene PoPEX-a, utvrđeno i smanjenje vrijednosti homocisteina, čije povišene vrijednosti dovode do poremećaja mitohondrijalne funkcije, preko povećanja ROS.
9. Osamosedmična suplementacija PoPEX-om dovodi do povoljnog efekta na biomarkere inflamacije (hsCRP, IL-6 i TNF- α) kod predgojaznih i gojaznih pacijenata sa DMT2 koji su na stalnoj terapiji metforminom. Promjena vrijednosti parametara inflamacije, kod naših pacijenata je nakon primjene PoPEX-a, negativno korelirala sa promjenom TAC a pozitivno sa promjenom NO⁻.

8. LITERATURA

1. Islam MA, Alam F, Solayman M, Khalil MI, Kamal MA, Gan SH. Dietary Phytochemicals: Natural Swords Combating Inflammation and Oxidation-Mediated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:5137431
2. Lüscher TF. Ageing, inflammation, and oxidative stress: find pathways of cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2015;36(48):3381-3.
3. Odegaard AO, Jackobs DR, Sanchez OA, Goff DC, Reiners AP, Gross MD. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2016;15(1):1-12.
4. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas 10th* [Internet]. 10th ed. Brussels Belgium: International Diabetes Federation, 2021. [cited 2021 Nov 19]; Available from: www.diabetesatlas.org
5. Rivellese AA, Riccardi G, Vaccaro O. Cardiovascular risk in women with diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20(6):474-80.
6. Leon BM, Maddox TM. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World J Diabetes* 2015;6(13):1246–58.
7. Zhang P, Zhang X, Brown J, Vistisen D, Sicree R, Shaw J, et al. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;87(3):293-301.
8. Thomas T, Pfeiffer AF. Foods for the prevention of diabetes: How do they work? *Diabetes Metab Res Rev* 2012; 28(1):25-49.
9. Kim YA, Keogh JB, Clifton PM. Polyphenols and glycémie control. *Nutrients* 2016;8(1):17.
10. Williamson G. Dietary flavonoids. In: Erdman WJ, Macdonald AI, Zeisel HS, Editors. *Present Knowledge in Nutrition*. 10th ed. Washington, DC: International Life Science Institute; 2012. p. 419–34.

11. Jovičić Bata J, Grabež M, Novaković B. Funkcionalna hrana. U: U Novaković B, Torović L, Editors. *Bromatologija- Nutritivna vrednost i bezbednost hrane*. Novi Sad: Medicinski fakultet Univerzitet u Novom Sadu; 2014. p. 256–60.
12. Grosso G, Godos J, Currenti W, Micek A, Falzone L, Libra M, et al. The Effect of Dietary Polyphenols on Vascular Health and Hypertension: Current Evidence and Mechanisms of Action. *Nutrients* 2022;14(3):545.
13. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med* 2015;128(3):229–38.
14. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: An updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr* 2014;17(12):2769–82.
15. Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazzo E, Izzo AA, et al. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phyther Res* 2019;33(9):2221–43.
16. Del Bo C, Bernardi S, Marino M, Porrini M, Tucci M, Guglielmetti S, et al. Systematic Review on Polyphenol Intake and Health Outcomes: Is there Sufficient Evidence to Define a Pattern, Health-promoting Polyphenol-rich Dietary. *Nutrients* 2019;11(6):1355.
17. Zamora-Ros R, Knaze V, Rothwell JA, Hémon B, Overvad K, Tjønneland A, et al. Europe PMC Funders Group Dietary polyphenol intake in Europe: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur J Nutr* 2016;55(4):1359–75.
18. Luca SV, Macovei I, Bujor A, Miron A, Skalicka-Woźniak K, Aprotosoiaie AC, et al. Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2020;60(4):626–59.
19. Câmara JS, Albuquerque BR, Aguiar J, Corrêa RCG, Gonçalves JL, Granato D, et al. Food bioactive compounds and emerging techniques for their extraction: Polyphenols as a case study. *Foods* 2021;10(1):37.
20. Vučić V, Grabež M, Trchounian A, Arsić A. Composition and Potential Health Benefits of Pomegranate: A Review. *Curr Pharm Des* 2019;25(16):1817–27.

21. Melgarejo-Sánchez P, Núñez-Gómez D, Martínez-Nicolás JJ, Hernández F, Legua P, Melgarejo P. Pomegranate variety and pomegranate plant part, relevance from bioactive point of view: a review. *Bioresour. Bioprocess* 2021;8(2):29.
22. Viuda-Martos M, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez J. Pomegranate and Its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2010;9(6):635–54.
23. Drózdź P, Šežienė V, Pyrzynska K. Phytochemical Properties and Antioxidant Activities of Extracts from Wild Blueberries and Lingonberries. *Plant Foods Hum Nutr* 2017;72(4):360–4.
24. Çam M, İçyer NC, Erdoğan F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Sci Technol.* 2014;55(1):117–23.
25. Magangana TP, Makunga NP, Fawole OA, Opara UL. Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (*punica granatum L.*) peel waste: A review. *Molecules* 2020;25(20):1–34.
26. Abid M, Yaich H, Cheikhrouhou S, Khemakhem I, Bouaziz M, Attia H, et al. Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC–MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels. *J Food Sci Technol* 2017;54(9):2890–901.
27. Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum L.*) peel: A review. *Food Chem* 2018;261:75–86.
28. Arun KB, Jayamurthy P, Anusha C V., Mahesh SK, Nisha P. Studies on Activity Guided Fractionation of Pomegranate Peel Extracts and Its Effect on Antidiabetic and Cardiovascular Protection Properties. *J Food Process Preserv* 2017;41(1):1–12.
29. Orak HH, Yagar H, Isbilir SS. Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum L.*) and inter-relationships with total phenolic, Tannin, anthocyanin, and flavonoid contents. *Food Sci Biotechnol* 2012;21(2):373–87.
30. Akhtar S, Ismail T, Fraternali D, Sestili P. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chem* 2015;174:417–25.

31. Cao K, Xu J, Pu W, Dong Z, Sun L, Zang W, et al. Punicalagin, an active component in pomegranate, ameliorates cardiac mitochondrial impairment in obese rats via AMPK activation. *Sci Rep* 2015;5:14014.
32. Bar-Ya'akov I, Tian L, Amir R, Holland D. Primary metabolites, anthocyanins, and hydrolyzable tannins in the pomegranate fruit. *Front Plant Sci* 2019;10:620.
33. Eghbali S, Askari SF, Avan R, Sahebkar A. Therapeutic Effects of *Punica granatum* (Pomegranate): An Updated Review of Clinical Trials. *J Nutr Metab* 2021;2021:5297162.
34. Nguyen Thanh H, Thi Huyen N, Van Khanh N, Kim Thu D, Thanh Tung B. Phytochemicals and antidiabetic activity of the aqueous extract of the *Punica granatum* fruit in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2019;30(4):10.1515/jbcpp-2019-0061.
35. Gharib E, Kouhsari SM. Study of the antidiabetic activity of *Punica granatum* L. Fruits aqueous extract on the alloxan-diabetic wistar rats. *Iran J Pharm Res* 2019;18(1):358–68.
36. Middha SK, Usha T, Pande V. Pomegranate peel attenuates hyperglycemic effects of alloxan-induced diabetic rats. *EXCLI J.* 2014;13(2008):223–4.
37. Parmar HS, Kar A. Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice. *BioFactors* 2007;31(1):17–24.
38. Barathikannan K, Venkatadri B, Khusro A, Al-Dhabi NA, Agastian P, Arasu MV, et al. Chemical analysis of *Punica granatum* fruit peel and its in vitro and in vivo biological properties. *BMC Complement Altern Med* 2016;16(1):264.
39. Asgary S, Sahebkar A, Afshani MR, Keshvari M, Haghjooyjavanmard S, Rafieian-Kopaei M. Clinical evaluation of blood pressure lowering, endothelial function improving, hypolipidemic and anti-inflammatory effects of pomegranate juice in hypertensive subjects. *Phyther Res* 2014;28(2):193–9.
40. Lynn A, Hamadeh H, Leung WC, Russell JM, Barker ME. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Pulse Wave Velocity and Blood Pressure in Healthy Young and Middle-aged Men and Women. *Plant Foods Hum Nutr* 2012;67(3):309–14.
41. Aviram M, Dornfeld L. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis* 2001;158(1):195–8.

42. Wang D, Özen C, Abu-Reidah IM, Chigurupati S, Patra JK, Horbanczuk JO, et al. Vasculoprotective effects of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Front Pharmacol* 2018;9:544.
43. Dos Santos RL, Dellacqua LO, Delgado NTB, Rouver WN, Podratz PL, Lima LCF, et al. Pomegranate peel extract attenuates oxidative stress by decreasing coronary angiotensin-converting enzyme (ACE) activity in hypertensive female rats. *J Toxicol Environ Heal - Part A Curr Issues* 2016;79(21):998–1007.
44. Fenercioglu AK, Saler T, Genc E, Sabuncu H, Altuntas Y. The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in Type 2 diabetes mellitus without complications. *J Endocrinol Invest* 2010;33(2):118–24.
45. Manthou E, Georgakouli K, Deli CK, Sotiropoulos A, Fatouros IG, Kouretas D, et al. Effect of pomegranate juice consumption on biochemical parameters and complete blood count. *Exp Ther Med* 2017;14(2):1756–62.
46. Sadeghipour A, Eidi M, Ilchizadeh Kavgani A, Ghahramani R, Shahabzadeh S, Anissian A. Lipid lowering effect of punica granatum L. Peel in high lipid diet fed male rats. *Evid Based Complement Altern Med* 2014;2014:432650.
47. Hamoud S, Hayek T, Volkova N, Attias J, Moscoviz D, Rosenblat M, et al. Pomegranate extract (POMx) decreases the atherogenicity of serum and of human monocyte-derived macrophages (HMDM) in simvastatin-treated hypercholesterolemic patients: A double-blinded, placebo-controlled, randomized, prospective pilot study. *Atherosclerosis* 2014;232(1):204–10.
48. AlMatar M, Islam MR, Albari O, Var I, Koksai F. Pomegranate as a Possible Treatment in Reducing Risk of Developing Wound Healing, Obesity, Neurodegenerative Disorders, and Diabetes Mellitus. *Mini Rev Med Chem* 2017;18(6):507–26.
49. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* 2018;13:757–72.
50. Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem* 2002;50(1):81–6.
51. Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:7432797.

52. Dennis KK, Go YM, Jones DP. Redox systems biology of nutrition and oxidative stress. *J Nutr* 2019;149(4):553–65.
53. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9–19.
54. Banihani S, Swedan S, Alguraan Z. Pomegranate and type 2 diabetes. *Nutr Res* 2013;33(5):341–8.
55. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000;71(5):1062–76.
56. Betanzos-Cabrera G, Guerrero-Solano JA, Martínez-Pérez MM, Calderón-Ramos ZG, Belefant-Miller H, Cancino-Diaz JC. Pomegranate juice increases levels of paraoxonase1 (PON1) expression and enzymatic activity in streptozotocin-induced diabetic mice fed with a high-fat diet. *Food Res Int* 2011;44(5):1381–5.
57. Sohrab G, Angoorani P, Tohidi M, Tabibi H, Kimiagar M, Nasrollahzadeh J. Pomegranate (*Punica granatum*) juice decreases lipid peroxidation, but has no effect on plasma advanced glycated end-products in adults with type 2 diabetes: A randomized double-blind clinical trial. *Food Nutr Res* 2015;59(8):28551.
58. Derakhshan Z, Ferrante M, Tadi M, Ansari F, Heydari A, Hosseini MS, et al. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food Chem Toxicol* 2018;114:108–11.
59. Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P, Bassaganya-Riera J. Preventive and Prophylactic Mechanisms of Action of Pomegranate Bioactive Constituents. *Evidence-Based Complement Altern Med* 2013;2013:1–18.
60. Rosillo MA, Sánchez-Hidalgo M, Cárdeno A, Aparicio-Soto M, Sánchez-Fidalgo S, Villegas I, et al. Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. *Pharmacol Res* 2012;66(3):235–42.
61. Kamali M, Tavakoli H, Khodadoost M, Daghighzadeh H, Kamalinejad M, Gachkar L, et al. Efficacy of the *Punica granatum* peels aqueous extract for symptom management in ulcerative colitis patients. A randomized, placebo-controlled, clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2015;21(3):141–6.

62. Sohrab G, Nasrollahzadeh J, Zand H, Amiri Z, Tohidi M, Kimiagar M. Effects of pomegranate juice consumption on inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: A randomized, placebo-controlled trial. *J Res Med Sci* 2014;19(3):215-20.
63. Shishehbor F, Shahi MM, Zarei M, Saki A, Zakerkish M, Shirani F, et al. Effects of concentrated pomegranate juice on subclinical inflammation and cardiometabolic risk factors for type 2 diabetes: A quasi-experimental study. *Int J Endocrinol Metab* 2016;14(1):e33835.
64. Babaeian S, Ebrahimi-Mameghani M, Niafar M, Sanaii S. The Effect of Unsweetened Pomegranate Juice on Insulin Resistance, High Sensitivity C-Reactive Protein and Obesity among Type 2 Diabetes Patients. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2013;13(1):7–15.
65. Hosseini B, Saedisomeolia A, Wood LG, Yaseri M, Tavasoli S. Effects of pomegranate extract supplementation on inflammation in overweight and obese individuals: A randomized controlled clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2016;22:44–50.
66. Bassiri-Jahromi S. *Punica granatum* (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. *Oncol Rev* 2018;12(1):345.
67. Modaeinama S, Abasi M, Abbasi MM, Jahanban-Esfahlan R. Anti Tumoral Properties of *Punica Granatum* (Pomegranate) Peel Extract on Different Human Cancer Cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(14):5697–701.
68. Adhami VM, Khan N, Mukhtar H. Cancer chemoprevention by pomegranate: laboratory and clinical evidence. *Nutr Cancer* 2009;61(6):811–5.
69. Mandal A, Bhatia D, Bishayee A. Anti-Inflammatory Mechanism Involved in Pomegranate-Mediated Prevention of Breast Cancer: the Role of NF- κ B and Nrf2 Signaling Pathways. *Nutrients* 2017;9(5):436.
70. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol* 2018;14(2):88–98.
71. Šiljak S, Štrkić D, Janjić B, Vranješ S, Vukmir Rodić N, Jandrić Lj, et al. Zdravstveno stanje stanovništva Republike Srpske, 2018. Banja Luka: Institut za javno zdravstvo Republike Srpske; 2018. 1–300 p.
72. Łoboz-Rudnicka M, Jaroch J, Kruszyńska E, Bociąga Z, Rzyckowska B, Dudek K, et al.

- Gender-related differences in the progression of carotid stiffness with age and in the influence of risk factors on carotid stiffness. *Clin Interv Aging* 2018;13:1183–91.
73. Golabi S, Ajloo S, Maghsoudi F, Adelipour M, Naghashpour M. Associations between traditional and non-traditional anthropometric indices and cardiometabolic risk factors among inpatients with type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *J Int Med Res* 2021;49(10):3000605211049960.
 74. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després J-P, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2021;143(21):e984–1010.
 75. World Health Organization. Global Report on Diabetes [Internet]. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2016. [cited 2021 Nov 19]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf?sequence=1
 76. Gjelsvik B, Tran AT, Berg TJ, Bakke Å, Mdala I, Nøkleby K, et al. Exploring the relationship between coronary heart disease and type 2 diabetes: a cross-sectional study of secondary prevention among diabetes patients. *BJGP Open* 2019;3(1):bjgpopen18X101636.
 77. World Health Organization. The Global Diabetes Compact: what you need to know [Internet]. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2021. [cited 2022 Jan 03]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/country-profiles/diabetes/gdc_need_to_know_web.pdf?sfvrsn=dddcb962_1&download=true
 78. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care* 2021;44(Suppl 1):S15–33.
 79. World Health Organization. Classification of Diabetes Mellitus [Internet]. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2019. [cited 2022 Jan 06]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/classification-of-diabetes-mellitus>
 80. Baynest HW. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab* 2015;6:541.
 81. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci* 2020;21(17):6275.

82. DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: The missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia* 2010;53(7):1270–87.
83. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS One* 2018;13(3):e0194127.
84. Banday MZ, Sameer AS, Nissar S. Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna J Med* 2020;10(4):174–88.
85. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, et al. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol* 2020;10:1607.
86. Barbu E, Popescu MR, Popescu AC, Balanescu SM. Inflammation as A Precursor of Atherothrombosis, Diabetes and Early Vascular Aging. *Int J Mol Sci* 2022;23(2):963.
87. Castro AVB, Kolka CM, Kim SP, Bergman RN. Obesity, insulin resistance and comorbidities? Mechanisms of association. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014 58(6):600–9.
88. Ellulu MS, Samouda H. Clinical and biological risk factors associated with inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *BMC Endocr Disord* 2022;22(16):2022.
89. Abbafati C, Abbas KM, Abbasi-Kangevari M, Abd-Allah F, Abdelalim A, Abdollahi M, et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2020;396(10258):1223–49.
90. Gyberg V, Bacquer D, Backer G, Jennings C, Kotseva K, Mellbin L, et al. Patients with coronary artery disease and diabetes need improved management: A report from the EUROASPIRE IV survey: A registry from the EuroObservational Research Programme of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Diabetol* 2015;14(1):133.
91. Boustany CM, Bharadwaj K, Daugherty A, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(4):R943–9.
92. Pavlou DI, Paschou S, Anagnostis P, Spartalis M, Spartalis E, Vryonidou A, et al. Hypertension in patients with type 2 diabetes mellitus: Targets and management. *Maturitas*. 2018;112:71–7.

93. Sreedevi A, Krishnapillai V, Menon VB, Mathew MM, Nair RR, Pillai GS, et al. Uncontrolled Blood Pressure and Associated Factors Among Persons With Diabetes: A Community Based Study From Kerala, India. *Front Public Health* 2022;9:778235.
94. De Boer IH, Bangalore S, Benetos A, Davis AM, Michos ED, Muntner P, et al. Diabetes and hypertension: A position statement by the American diabetes association. *Diabetes Care* 2017;40(9):1273–84.
95. Abdissa D, Hirpa D. Dyslipidemia and its associated factors among adult diabetes outpatients in West Shewa zone public hospitals, Ethiopia. *BMC Cardiovasc Disord* 2022;22(1):39.
96. Schofield JD, Liu Y, Rao-Balakrishna P, Malik RA, Soran H. Diabetes Dyslipidemia. *Diabetes Ther* 2016;7(2):203–19.
97. Low Wang CC, Hess CN, Hiatt WR, Goldfine AB. Atherosclerotic Cardiovascular Disease and Heart Failure in Type 2 Diabetes – Mechanisms, Management, and Clinical Considerations. *Circulation* 2016;133(24):2459–502.
98. Parhofer KG. Interaction between glucose and lipid metabolism: More than diabetic dyslipidemia. *Diabetes Metab J* 2015;39(5):353–62.
99. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update a report from the American Heart Association. *Circulation* 2016;133(4):e38–e360.
100. Martín-timón I, Sevillano-collantes C, Segura-galindo A, Cañizo-gómez FJ, Martín-timón I, Sevillano-collantes C. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: Have all risk factors the same strength ? *World J Diabetes* 2014;5(4):444–70.
101. Haile K, Timerga A. Dyslipidemia and Its Associated Risk Factors Among Adult Type-2 Diabetic Patients at Jimma University Medical Center, Jimma, Southwest Ethiopia. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020;13:4589-4597.
102. Pasupuleti VR, Arigela CS, Gan SH, Salam SKN, Krishnan KT, Rahman NA, et al. A review on oxidative stress, diabetic complications, and the roles of honey polyphenols. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:8878172.
103. Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, Mikolajczyk TP. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *J Physiol Pharmacol* 2019;70(6):809–24.

104. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules* 2015;5(1):194–222.
105. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced Glycation end Products and Diabetic Complications. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014;18(1):1–14.
106. Feng J, Lu S, Ou B, Liu Q, Dai J, Ji C, et al. The role of JNK signaling pathway in obesity-driven insulin resistance. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020;13:1399–406.
107. Nie T, Cooper GJS. Mechanisms Underlying the Antidiabetic Activities of Polyphenolic Compounds: A Review. *Front Pharmacol* 2021;12:798329.
108. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. Report of a WHO/IDF consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2006.
109. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl 1):S11–24.
110. Council of Europe. European Pharmacopoeia 8.0. In: 8th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2013. p. 275–6.
111. World Health Organization. Pericarpium Granati. In: WHO monographs on selected medicinal plants. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2009. p. 117–26.
112. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of WHO Expert Committee, Technical Report Series No. 854. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 1995.
113. World Health Organization. Waist Circumference and Waist–Hip Ratio. Report of a WHO Expert Consultation, December 2008. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2008.
114. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2000.
115. Gurinović M, Milešević J, Kadvan A, Djekić-Ivanković M, Debeljak-Martačić J, Takić M, et al. Establishment and advances in the online Serbian food and recipe data base harmonized with EuroFIR™ standards. *Food Chem* 2016;193:30–8.

116. Glaser C, Demmelmair H, Koletzko B. High-throughput analysis of total plasma fatty acid composition with direct in situ transesterification. *PLoS One* 2010;5(8):e12045.
117. Pesic G, Jeremic J, Nikolic T, Zivkovic V, Srejovic I, Vranic A, et al. Interleukin-6 as possible early marker of stress response after femoral fracture. *Mol Cell Biochem* 2017;430(1–2):191–9.
118. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126(1):131–8.
119. AuClair C, Voisin E. Nitro bluetetrazolium reduction. In: Greenwald RA, editor. *Handbook of methods for oxigen radical research*. Boca Raton: CRP Press; 2018. p. 123–32.
120. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980;38(1-2):161-170.
121. Turnic Nikolic T, Jakovljevic VL, Djuric DM, Jeremić NS, Jeremić JN, Milosavljević IM, et al. Efficiency of atorvastatin and simvastatin in improving cardiac function during the different degrees of hyperhomocysteinemia. *Can Physiol Pharmacol* 2018;96(10):1040–9.
122. Marino M, Del Bo C, Martini D, Porrini M, Riso P. A review of registered clinical trials on dietary (poly)phenols: Past efforts and possible future directions. *Foods* 2020;9(11):1606.
123. Kandyliis P, Kokkinomagoulos E. Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives. *Foods* 2020;9(2):122.
124. Ramanathan RS. Correlation of duration, hypertension and glycemic control with microvascular complications of diabetes mellitus at a tertiary care hospital. *Integr Mol Med* 2017;4(1):1–4.
125. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the european association for the study of diabetes (EASD). *Diabetes Care* 2018;41(12):2669–701.
126. Evert AB, Dennison M, Gardner CD, Timothy Garvey W, Karen Lau KH, MacLeod J, et al. Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: A consensus report. *Diabetes Care* 2019;42(5):731–54.

127. van Dijk S, Feskens E, Bos M, Hoelen D, Heijligenberg R, Bromhaar M, et al. A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr* 2009;90(6):1656–64.
128. Hooper L, Martin N, Jimoh OF, Kirk C, Foster E, Abdelhamid AS. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;8(8):CD011737.
129. Jiao J, Liu G, Shin HJ, Hu FB, Rimm EB, Rexrode KM, et al. Dietary fats and mortality among patients with type 2 diabetes: Analysis in two population based cohort studies. *BMJ*. 2019;366:l4009.
130. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM [published erratum appears in *Diabetes* 1997 Mar;46(3):536]. *Diabetes* 1997;46(1):3–10.
131. Piché ME, Tchernof A, Després JP. Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Circ Res* 2020;126(11):1477–500.
132. González N, Moreno-Villegas Z, González-Bris A, Egido J, Lorenzo. Regulation of visceral and epicardial adipose tissue for preventing cardiovascular injuries associated to obesity and diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2017;16(1):44.
133. González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Espinel-Bermúdez MC, Pérez-Rubio KG. Effect of pomegranate juice on insulin secretion and sensitivity in patients with obesity. *Ann Nutr Metab* 2011;58(3):220–3.
134. Lei F, Zhang XN, Wang W, Xing DM, Xie WD, Su H, et al. Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *Int J Obes* 2007;31(6):1023–9.
135. Gheflati A, Mohammadi M, Ramezani-Jolfaie N, Heidari Z, Salehi-Abargouei A, Nadjarzadeh A. Does pomegranate consumption affect weight and body composition? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Phytother Res* 2019;33(5):1277–88.
136. Stockton A, Farhat G, McDougall GJ, Al-Dujaili EAS. Effect of pomegranate extract on blood pressure and anthropometry in adults: a double-blind placebo-controlled randomised clinical trial. *J Nutr Sci* 2017;6(11):e39.

137. Sahebkar A, Simental-Mendía LE, Giorgini P, Ferri C, Grassi D. Lipid profile changes after pomegranate consumption: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytomedicine* 2016;23(11):1103–12.
138. El-Hadary AE, Ramadan MF. Phenolic profiles, antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *J Food Biochem* 2019;43(4):e12803.
139. Silvester AJ, Aseer KR, Yun JW. Dietary polyphenols and their roles in fat browning. *J Nutr Biochem* 2019;64:1–12.
140. Amato MC, Guarnotta V, Giordano C. Body composition assessment for the definition of cardiometabolic risk. *J Endocrinol Invest* 2013;36(7):537–43.
141. Luo W, Guo Z, Hu X, Zhou Z, Wu M, Zhang L, et al. 2 Years Change of Waist Circumference and Body Mass Index and Associations With Type 2 Diabetes Mellitus in Cohort Populations. *Obes Res Clin Pract* 2013;7(4):e290–6.
142. Yamada Y, Buehring B, Krueger D, Anderson RM, Schoeller DA, Binkley N. Electrical Properties Assessed by Bioelectrical Impedance Spectroscopy as Biomarkers of Age-related Loss of Skeletal Muscle Quantity and Quality. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2017;72(9):1180–6.
143. Jun MH, Kim S, Ku B, Cho J, Kim K, Yoo HR, et al. Glucose-independent segmental phase angles from multi-frequency bioimpedance analysis to discriminate diabetes mellitus. *Sci Rep* 2018;8:648.
144. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas* [Internet]. 8th editio. International diabetes federation, Brussels Belgium; 2017. [cited 2021 dec 23]. Available from: <https://idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html>
145. Huang H, Liao D, Chen G, Chen H, Zhu Y. Lack of efficacy of pomegranate supplementation for glucose management, insulin levels and sensitivity: Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Nutr J* 2017;16(1):67.
146. Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, Daubenmier JJ, Chew MH, Marlin R, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2005;96(6):810–4.

147. Juutilainen A, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Similarity of the impact of type 1 and type 2 diabetes on cardiovascular mortality in middle-aged subjects. *Diabetes Care* 2008;31(4):714–9.
148. Mata-Cases M, Rodríguez-Sánchez B, Mauricio D, Real J, Vlachos B, Franch-Nadal J, et al. The association between poor glycemic control and health care costs in people with diabetes: A population-based study. *Diabetes Care* 2020;43(4):751–8.
149. Blahova J, Martiniakova M, Babikova M, Kovacova V, Mondockova V, Omelka R. Pharmaceutical drugs and natural therapeutic products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Pharmaceuticals* 2021;14(8):1–32.
150. Park K, Ahn CW, Lee SB, Kang S, Nam JS, Lee BK, et al. Elevated TYG index predicts progression of coronary artery calcification. *Diabetes Care* 2019;42(8):1569–73.
151. Wang L, Cong HL, Zhang JX, Hu YC, Wei A, Zhang YY, et al. Triglyceride-glucose index predicts adverse cardiovascular events in patients with diabetes and acute coronary syndrome. *Cardiovasc Diabetol* 2020;19(1):80.
152. Jia G, Sowers JR. Hypertension in Diabetes: An Update of Basic Mechanisms and Clinical Disease. *Hypertension* 2021;78(5):1197-1205.
153. Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Can J Cardiol* 2018;34(5):575–84.
154. Sohrab G, Roshan H, Ebrahimof S, Nikpayam O, Sotoudeh G, Siasi F. Effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A single-blind randomized clinical trial. *Clin Nutr ESPEN* 2019;29:30–5.
155. Moreno PR, Fuster V. New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(12):2293–300.
156. Sahebkar A, Ferri C, Giorgini P, Bo S, Nachtigal P, Grassi D. Effects of pomegranate juice on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res* 2017;115:149–61.
157. Adler A, Agodoa L, Algra A, Asselbergs FW, Beckett NS, Berge E, et al. Pharmacological blood pressure lowering for primary and secondary prevention of cardiovascular disease across different levels of blood pressure: an individual participant-level data meta-analysis. *Lancet* 2021;397(10285):1625–36.

158. Matheus AS, Tannus LR, Cobas RA, Palma CC, Negrato CA, Gomes MB. Impact of Diabetes on Cardiovascular Disease: An Update. *Int J Hypertens* 2013;2013:653789.
159. Enomoto M, Adachi H, Hirai Y, Fukami A, Satoh A, Otsuka M, et al. LDL-C/HDL-C Ratio Predicts Carotid Intima-Media Thickness Progression Better Than HDL-C or LDL-C Alone. *J Lipids* 2011;2011:549137.
160. Esmailzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, Alavi-Majd H, Azadbakht L. Concentrated Pomegranate Juice Improves Lipid Profiles in Diabetic Patients with Hyperlipidemia. *J Med Food* 2004;7(3):305–8.
161. Lv O, Wang L, Li J, Ma Q, Zhao W. Effects of pomegranate peel polyphenols on lipid accumulation and cholesterol metabolic transformation in L-02 human hepatic cells: Via the PPAR γ -ABCA1/CYP7A1 pathway. *Food Funct* 2016;7(12):4976–83.
162. Hou C, Zhang W, Li J, Du L, Lv O, Zhao S, et al. Beneficial Effects of Pomegranate on Lipid Metabolism in Metabolic Disorders. *Mol Nutr Food Res* 2019;63(16):e1800773.
163. Zhao W, Li J, He X, Lv O, Cheng Y, Liu R. In vitro steatosis hepatic cell model to compare the lipid-lowering effects of pomegranate peel polyphenols with several other plant polyphenols as well as its related cholesterol efflux mechanisms. *Toxicol Rep* 2014;1:945–54.
164. Vučić V, Arsić A, Petrović S, Milanović S, Gurinović M, Glibetić M. Trans fatty acid content in Serbian margarines: Urgent need for legislative changes and consumer information. *Food Chem* 2015;185:437–40.
165. Micha R, Mozaffarian D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: A fresh look at the evidence. *Lipids* 2010;45(10):893–905.
166. Lefevre M, Champagne CM, Tulley RT, Rood JC, Most MM. Individual variability in cardiovascular disease risk factor responses to low-fat and low-saturated-fat diets in men: body mass index, adiposity, and insulin resistance predict changes in LDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2005;82(5):957–63.
167. Iggman D, Risérus U. Role of different dietary saturated fatty acids for cardiometabolic risk. *Clin Lipidol* 2011;6(2):209–23.
168. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444(7121):860–7.

169. Snook JT, Park S, Williams G, Tsai YH, Lee N. Effect of synthetic triglycerides of myristic, palmitic, and stearic acid on serum lipoprotein metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1999;53(8):597–605.
170. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* 2018;132:41–8.
171. Ristic-Medic D, Vucic V, Takic M, Karadzic I, Glibetic M. Polyunsaturated fatty acids in health and disease. *J Serb Chem Soc* 2013;78(9):1269–89.
172. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. The Continuing Epidemics of Obesity. *J Am Med Assoc* 2001;286(10):1195–200.
173. Katayama K, Wada K, Nakajima A, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakagawa S, et al. A novel PPAR γ gene therapy to control inflammation associated with inflammatory bowel disease in a murine model. *Gastroenterology* 2003;124(5):1315–24.
174. Dubuquoy L, Å Jansson E, Deeb S, Rakotobe S, Karoui M, Colombel JF, et al. Impaired expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2003;124(5):1265–76.
175. Burdge GC, Calder PC. Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. *Nutr Res Rev* 2006;19(1):26–52.
176. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: The anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev* 2010;68(5):280–9.
177. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2019;11(3):45–63.
178. Bastos ADS, Graves DT, Paula A, Loureiro DM, Rossa C, Frizzera F, et al. Diabetes and increased lipid peroxidation are associated with systemic inflammation even in well-controlled patients. *J Diabetes Complicat* 2016;30(8):1593–9.
179. Al-rawi NH. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics. *Diab Vasc Dis Res* 2011;8(1):22–8.
180. Ma C, Chun Y, Wu C, Jou I, Tu Y. Homocysteine causes dysfunction of chondrocytes and oxidative stress through repression of SIRT1 / AMPK pathway: A possible link between hyperhomocysteinemia and osteoarthritis. *Redox Biol* 2018;15:504–12.

181. Malaguarnera G, Gagliano C, Giordano M, Salomone S, Vacante M, Bucolo C, et al. Homocysteine Serum Levels in Diabetic Patients with Non Proliferative , Proliferative and without Retinopathy. *Biomed Res Int* 2014;2014:191497.
182. Huang T, Ren J, Huang J, Li D. Association of homocysteine with type 2 diabetes : a meta-analysis implementing Mendelian randomization approach. *BMC Genomics*. 2013;14:867.
183. Li J, Zhang H, Shi M, Yan L, Xie M. Homocysteine is Linked to Macular Edema in Type 2 Diabetes. *Curr Eye Res* 2014;39(7):730-735.
184. Kumar J, Ingelsson E, Lind L, Fall T. No evidence of a causal relationship between plasma homocysteine and type 2 diabetes : a Mendelian randomization study. *Front Cardiovasc Med* 2015;2:11.
185. Platt DE, Hariri E, Salameh P, Merhi M, Sabbah N, Helou M, et al. Type II diabetes mellitus and hyperhomocysteinemia : a complex interaction. *Diabetol Metab Syndr* 2017;9:19.
186. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease : evidence on causality from a meta-analysis. *Br Med J* 2002;325(7374):1202.
187. Kojadinovic MI, Arsic AC, Debeljak-Martacic JD, Konic-Ristic AI, Kardum ND, Popovic TB, et al. Consumption of pomegranate juice decreases blood lipid peroxidation and levels of arachidonic acid in women with metabolic syndrome. *J Sci Food Agric* 2017;97(6):1798–804.
188. Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis* 2006;187(2):363–71.
189. Orgil O, Schwartz E, Baruch L, Matityahu I, Mahajna J, Amir R. The antioxidative and anti-proliferative potential of non-edible organs of the pomegranate fruit and tree. *LWT - Food Sci Technol* 2014;58(2):571–7.
190. Doostan F, Vafafar R, Zakeri-Milani P, Pouri A, Afshar RA, Abbasi MM. Effects of pomegranate (*punica granatum L.*) seed and peel methanolic extracts on oxidative stress and lipid profile changes induced by methotrexate in rats. *Adv Pharm Bull* 2017;7(2):269–74.

191. Guo C, Wei J, Yang J, Xu J, Pang W, Jiang Y. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutr Res* 2008;28(2):72–7.
192. Petrovic S, Arsic A, Glibetic M, Cikiriz N, Jakovljevic V. The effects of polyphenol-rich chokeberry juice on fatty acid profiles and lipid peroxidation of active handball players: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Can J Physiol Pharmacol* 2016;94(10):1058-1063.
193. Esmailinezhad Z, Barati-Boldaji R, Brett NR, de Zepetnek JOT, Bellissimo N, Babajafari S, et al. The effect of synbiotics pomegranate juice on cardiovascular risk factors in PCOS patients: a randomized, triple-blinded, controlled trial. *J Endocrinol Invest* 2020;43(4):539–48.
194. Adela R, Nethi SK, Bagul PK, Barui AK, Mattapally S, Kuncha M, et al. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: A study from South Indian patients. *PLoS One* 2015;10(4): e0125270.
195. Schneider MP, Ott C, Schmidt S, Kistner I, Friedrich S, Schmieder RE. Poor glycemic control is related to increased nitric oxide activity within the renal circulation of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2013;36(12):4071–5.
196. Assmann TS, Brondani LA, Bouças AP, Rheinheimer J, de Souza BM, Canani LH, et al. Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide* 2016;61:1–9.
197. Alkathiri B, El-Khadragy MF, Metwally DM, Al-Olayan EM, Bakhrebah MA, Moneim AEA. Pomegranate (*Punica granatum*) juice shows antioxidant activity against cutaneous leishmaniasis-induced oxidative stress in female BALB/c mice. *Int J Environ Res Public Health* 2017;14(12):1592.
198. Yuan T, Yang T, Chen H, Fu D, Hu Y, Wang J, et al. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis. *Redox Biol* 2019;20:247–60.
199. Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, Soylemez H, Basarılı K, Turku G. The protective effects of pomegranate extracts against renal ischemia - reperfusion injury in male rats. *Urol Ann* 2014;6(1):46–51.

200. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E Supplementation and Cardiovascular Events in High-Risk Patients. *N Engl J Med* 2000;342(3):154–60.
201. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): Randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;356(9237):1213–8.
202. Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J. The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Front Nutr* 2018;5:87.
203. Stelmach-Mardas M, Kleiser C, Uzhova I, Penalvo J, La Torre G, Palys W, et al. Seasonality of food groups and total energy intake: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2016;70(6):700–8.
204. Phosat C, Panprathip P, Chumpathat N, Prangthip P, Chantratita N. Elevated C-reactive protein, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and glycemic load associated with type 2 diabetes mellitus in rural Thais: a cross-sectional study. *BMC Endocr Disord* 2017;17(1):44.
205. Akbari M, Hassan V. IL-6 signalling pathways and the development of type 2 diabetes. *Inflammopharmacology* 2018;26(3):685–698.
206. Bashir H, Bhat SA, Majid S, Hamid R, Koul RK, Rehman MU, et al. Role of inflammatory mediators (TNF- α , IL-6, CRP), biochemical and hematological parameters in type 2 diabetes mellitus patients of Kashmir, India. *Med J Islam Repub Iran* 2020;34:5.
207. Lowe G, Woodward M, Hillis G, Rumley A, Li Q, Harrap S, et al. Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the advance study. *Diabetes* 2014;63(3):1115–23.
208. Tabák AG, Kivimäki M, Brunner EJ, Lowe GD, Jokela M, Akbaraly TN, et al. Changes in C-reactive protein levels before type 2 diabetes and cardiovascular death: The Whitehall II study. *Eur J Endocrinol* 2010;163(1):89–95.
209. Koenig W, Khuseyinova N, Baumert J, Meisinger C. Prospective Study of High-Sensitivity C-Reactive Protein as a Determinant of Mortality: Results from the MONICA / KORA Augsburg Cohort Study, 1984 – 1998. *Clin Chem* 2008;54(2):335–42.

210. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107(3):499–511.
211. Barati Boldaji R, Akhlaghi M, Sagheb MM, Esmailinezhad Z. Pomegranate juice improves cardiometabolic risk factors, biomarkers of oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients: a randomized crossover trial. *J Sci Food Agric* 2020;100(2):846–54.
212. Karwasra R, Singh S, Sharma D, Sharma S, Sharma N, Khanna K. Pomegranate supplementation attenuates inflammation, joint dysfunction via inhibition of NF- κ B signaling pathway in experimental models of rheumatoid arthritis. *J Food Biochem* 2019;43(8):e12959.
213. Mastrogiovanni F, Mukhopadhyaya A, Lacetera N, Ryan MT, Romani A, Bernini R, et al. Anti-inflammatory effects of pomegranate peel extracts on in vitro human intestinal caco-2 cells and ex vivo porcine colonic tissue explants. *Nutrients* 2019;11(3):548.
214. Du L, Li J, Zhang X, Wang L, Zhang W, Yang M, et al. Pomegranate peel polyphenols inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of TLR4/NF- κ B pathway activation. *Food Nutr Res* 2019;63:10.29219/fnr.v63.3392.
215. Xu J, Zhao Y, Aisa HA. Anti-inflammatory effect of pomegranate flower in lipopolysaccharide. *Pharm Biol* 2017;55(1):2095-101.

LISTA SKRAĆENICA

KVB	Kardiovaskularne bolesti
DMT2	Dijabetes melitus tip 2; lat. <i>Diabetes mellitus</i> -tip 2
IDF	Međunarodna organizacija za dijabetes; engl. <i>International Diabetes Federation</i>
ACE	Angiotenzin konvertujući enzim
sTA	Sistolni krvni pritisak
ROS	Reaktivne kiseonične vrste; engl. <i>Reactive oxygen species</i>
RNS	Reaktivne azotne vrste; engl. <i>Reactive nitrogen species</i>
DNK	Dezoksiribonukleinska kiselina
O ₂ •	Superoksid anjon
OH•	Hidroksil radikal
H ₂ O ₂	Vodonik peroksid
PON1	Paraoksonaza 1
SOD	Superoksid dismutaza
CAT	Katalaza
SCFA	Kratkolančane masne kiseline; engl. <i>Short chain fatty acids</i>
PPARs	Peroksizomalnim proliferatorom aktivirani receptor; engl. <i>Peroxisome proliferator-activated receptors</i>
NF-κB	Nukleusni faktor kapa B
TNF-α	Faktor nekroze tumora alfa
MAPK	Mitogenom aktivirana protein kinaza; engl. <i>Mitogen activated protein kinase</i>
LCAI	Indeks aktivnosti kolitisa engl. <i>Lighter Colitis Activity Index</i> ; LCAI
IL-6	Interleukin 6
hsCRP	Visoko-senzitivni C reaktivni proteina
DM	Dijabetes melitus; lat. <i>Diabetes mellitus</i>
Nrf2	Nukleusni faktor E2- povezani faktor; engl. <i>Nuclear factor E2-related factor 2</i>

IDF	Međunarodna dijabetesna federacija; engl. <i>International Diabetes Federation</i>
IZJZ RS	Institut za javno zdravstvo Republike Srpske
SDG	Održivi ciljevi razvoja; engl. <i>Sustainable Development Goals</i>
SAD	Sjedinjene Američke Države
DMT1	Dijabetes melitus tip 1; lat. <i>Diabetes mellitus-tip 1)</i>
GDM	Gestacijski dijabetes melitus
ADA	Američka dijabetesna organizacija; engl. <i>American Diabetes Association</i> ;
IR	Insulinska rezistencija
FPG	Glikemija našte; engl. <i>Fasting plasma glucose</i> ; FPG
OGTT	Test oralnog opterećenja glukozom; engl. <i>Oral glucose tolerans test</i>
HbA1c	Glikozilirani hemoglobin
BMI	Indeks tjelesne mase; engl. <i>Body Mass Index</i>
MCP1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>
FFA	Slobodne masne kiseline; engl. <i>Free fatty acids</i>
HTA	Povi[en krvni pritisak; lat. <i>Hypertensio arterialis</i>
DALYs	Izgubljene godine života uslijed nesposobnosti; engl. <i>Disability Adjusted Life Years</i>
RAS	Renin-angiotenzin sistema
dTA	Dijastolni krvni pritisak
HDL-C	Lipoproteini visoke gustine
LDL-C	Lipoproteini niske gustine
Uk.Hol.	Ukupni holesterol
TG	Trigliceridi
AGEs	Krajnjih produkti glikooksidacije; engl. <i>Advanced glycation end products</i>
NADPH	Nikotin-amid-dinukleotid-fosfat
GPx	Glutation peroksidazea
JNK	C-Jun-terminalna kinaza
AP-1	Aktivator proteina-1

OS	Obim struka;
PoPEx	Ekstrakt kore nara
UKC RS	Univerzitetski klinički centar Republike Srpske
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija; engl. <i>World Health Organization</i>
HPLC	Tečni hromatograf visokih performansi; engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
TV	Tjelesna visina
TM	Tjelesna masa
BIA	Bioelektrična impedanca
HOMA-IR	Indeks homeostatskog modela insulinske rezistencije; engl. <i>Homeostatic model assessment of insulin resistance</i>
TyG	Triglicerid-glukoza indeks
QUICKI	Indeks insulinske senzitivnosti; engl. <i>Quantitative insulin sensitivity check index</i>
MK	Masne kiseline
NO ₂ ⁻	Nitriti
TBARS	Produkti reakcije tiobarbiturne kiseline, engl. <i>Tiobarbituric acid reactive substances</i>
TAC	Ukupni antioksidativni kapacitet; engl. <i>Total antioxidant capacity</i>
Hcy	Homocistein
MTP	Mikrotitar ploče; engl. <i>Micro-titer plates</i>
M	Aritmetička sredina; engl. <i>Mean</i>
SD	Standardna devijacija
Med	Medijana
IQR	Interkvartilni raspon
VSS	Visoka stručna sprema
SSS	Srednja stručna sprema
OŠ	Osnovna škola
PUFA	Polinezasićene masne kiseline; engl. <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
AA	Arahidonična kiselina

MUFA	Mononezasićene masne kiseline; engl. <i>Monounsaturated fatty acid</i>
SFA	Zasićene masne kiseline; engl. <i>Saturated fatty acid</i>
iRNK	Informaciona ribounukleinska kiselina
SREBP-1	Sterolni regulatorni vezujući protein
VLDL	Lipoproteini veoma niske gustine
SCD-1	Stearoil-Koenzim A-desaturaza 1
LA	Linolna kiselina
COX-2	Ciklooksigenaza 2

BIOGRAFIJA

Milkica Grabež rođena je 15.08.1978. godine u Ključu. Osnovnu školu je pohađala u Ključu i dijelom u Beogradu, a srednju školu u Beogradu. Medicinski Fakultet Univerziteta u Banjoj Luci upisala je 1997. godine, a diplomirala 02.02.2006. godine sa prosječnom ocjenom 8,38. Od 2007. godine je zaposlena kao asistent na Katedri za higijenu na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci, a od 2013. godine je u zvanju višeg asistenta.

Postdiplomski studij “Biomedicinska istraživanja” upisala je 2005/06. godine na Medicinskom fakultetu u Banjoj Luci i tokom studija imala prosjek ocjena 9,70. Magistarski rad pod naslovom „Procjena dnevnog unosa natrijuma kod studenata Univerziteta u Banjoj Luci“-uža naučna oblast higijena, odbranila je 01.03.2013. godine..

Specijalistički ispit iz higijene-zdravstvene ekologije položila je u Banjoj Luci 29.09.2014. godine ocjenom 10 i od 2016. godine je angažovana na Institutu za javno zdravstvo Republike Srpske u službi Higijene. U svojstvu istraživača učestvovala je u nekoliko međunarodnih i domaćih projekata.

Autor je i koautor većeg broja naučnih i stručnih radova objavljenih u međunarodnim i domaćim časopisima i učesnik velikog broja međunarodnih i domaćih naučnih i stručnih skupova. Autor je tri udžbenika iz oblasti higijene, od kojih se dva koriste kao zvanična literatuta na Medicnskom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu. Posjeduje aktivno znanje engleskog i pasivno znanje ruskog jezika. Udata je i majka dvoje djece.

Izjava 1

IZJAVA O AUTORSTVU

**Izjavljujem
da je doktorska disertacija**

Naslov rada "UTICAJ POLIFENOLA IZ EKSTRAKTA KORE NARA NA KARDIOMETABOLIČKE PARAMETRE KOD PACIJENATA SA DIJABETES MELITUSOM TIP 2"

Naslov rada na engleskom jeziku "THE EFFECTS OF POMEGRANATE PEEL EXTRACT ON CARDIOMETABOLIC PARAMETERS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE-2"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada
- da doktorska disertacija, u cjelini ili dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/-la autorska prava i koristila svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, dana 08.04.2022. godine

Potpis doktoranta

Milkića Grabež



Izjava 2

Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom

UTICAJ POLIFENOLA IZ EKSTRAKTA KORE NARA NA KARDIOMETABOLIČKE
PARAMETRE KOD PACIJENATA SA DIJABETES MELITUSOM TIP 2

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

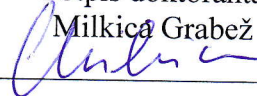
Doktorsku disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

- Autorstvo
- Autorstvo - nekomercijalno
- Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade
- Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima
- Autorstvo - bez prerade
- Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, dana 08.04.2022. godine

Potpis doktoranta
Milkica Grabež



Izjava 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora Milkica Grabež

Naslov rada UTICAJ POLIFENOLA IZ EKSTRAKTA KORE NARA NA
KARDIOMETABOLIČKE PARAMETRE KOD PACIJENATA SA
DIJABETES MELITUSOM TIP 2

Mentor Prof. dr Nađa Vasiljević
Komentor doc. dr Vesna Rudić Grujić

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predao/la za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, dana 08.04.2022. godine

Potpis doktoranta
Milkica Grabež

