



Univerzitet u Novom Sadu
Medicinski fakultet
Centar za medicinsko-farmaceutska istraživanja i kontrolu
kvaliteta (CEMFIK)
Hajduk Veljkova 3, 21 000 Novi Sad
021/422-760
cemphic@mf.uns.ac.rs



MEDICINSKI FAKULTET U NOVOM SADU

IZVEŠTAJ O ISTRAŽIVANJU

Бр: 3-2-18/2

Broj 01-2400/1
13-07-2018 20 god
Novi Sad

Datum: 12. 07. 2018.

Predmet istraživanja: Određivanje glio i neuroprotektivnog potencijala preparata Karnozin EXTRA u *in vivo* animalnom modelu

Naručilac istraživanja: „CarnoMed“ D.O.O., Novi Sad

Obim ispitivanja: eksperimentalna studija

Podaci o ispitivanom uzorku: uzorak suplementa za ispitivanje dostavio naručilac

Prilozi:

1. Izveštaj o istraživanju
2. Rezultati istraživanja
3. Materijal i metode korišćene u istraživanju

Dostaviti: 1. Naručiocu istraživanja
2. Arhivi

Prof. dr Snežana Brkić

Dekan

Medicinski fakultet Novi Sad



Prof. dr Biljana Božin

Direktor CEMFIK-a

Medicinski fakultet Novi Sad

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

Prilog 1:

Izveštaj o istraživanju

Br.: 3-2-18/2

12. 07. 2018.

- Primena vodene suspenzije preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) u dnevnoj dozi od 140mg/kg i 420 mg/kg u trajanju od 25 dana nije dovela do statistički značajne promene u telesnoj masi miševa.
- Primena vodene suspenzije preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) u dnevnoj dozi od 140mg/kg trajanju od 25 dana (što je ekvivalentno dnevnoj humanoj dozi od 2 kapsule), **nije uzrokovala histološki vidljive promene i oštećenja** na tkivu bubrega, jetra, slezine, srca, pankreasa, testisa, digestivne cevi i mozga.
- Primena vodene suspenzije preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) u dnevnoj dozi od 420mg/kg u trajanju od 25 dana (što je ekvivalentno dnevnoj humanoj dozi od 6 kapsula), **nije uzrokovala histološki vidljive promene i oštećenja** na tkivu bubrega, jetre, slezine, srce, pankreasa, testisa, digestivne cevi i mozga.
- Primena vodene suspenzije preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) u dnevnoj dozi od 140mg/kg trajanju od 20 dana (što je ekvivalentno dnevnoj humanoj dozi od 2 kapsule), kod jedinki kod kojih je prethodno indukovani autoimuni encefalitis **nije ostvarila značajniji neuro i glio protektivni potencijal** u odnosu na kontrolnu grupu jedinki bez tretmana.
- Primena vodene suspenzije preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) u dnevnoj dozi od 420mg/kg trajanju od 20 dana kod jedinki kod kojih je prethodno indukovani autoimuni encefalitis **ostvarila je kalitativno značajan neuro i glio protektivni potencijal** u odnosu na kontrolnu grupu jedinki bez tretmana.

Ispitivanje izvršio:

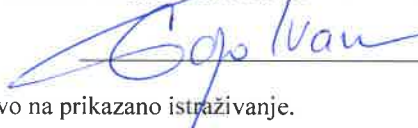
Asist dr Dejan Miljković



Rezultate odobrio:

Doc. dr Ivan Čapo

Načelnik Sektora za naučnoistraživački razvoj



Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a



Prilog 2:

Rezultati istraživanja

1. Ispitivanje uticaja hronične primene preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) na promenu telesne mase miša soja C57BL/6

Tokom trajanja eksperimenta svaki dan u 8:00 časova, neposredno pre početka tretmana, kod svake jedinke je izmerena telesna masa. Analizom utvrdili smo da je kod svih jedinki došlo do neznatnih dnevnih oscilacija od 0,5-1,2 g tako da su prosečne telesne mase za ispitivane grupe iznosile: za grupu I=23,92g; grupa II=25,84; grupa III=25,8; grupa IV=23,79; grupa V=25,93; grupa VI=23,55. Ove vrednosti nisu statistički značajne i potvrdile su da sam tretman preparatom karnozin EXTRA i model AIE nije imao uticaja na promenu telesne mase.

2. Ispitivanje uticaja preparata Karnozin EXTRA (Carnomed) na histološke specifičnosti parenhimatoznih organa i sistema eksperimentalnih miševa soja C57BL/6

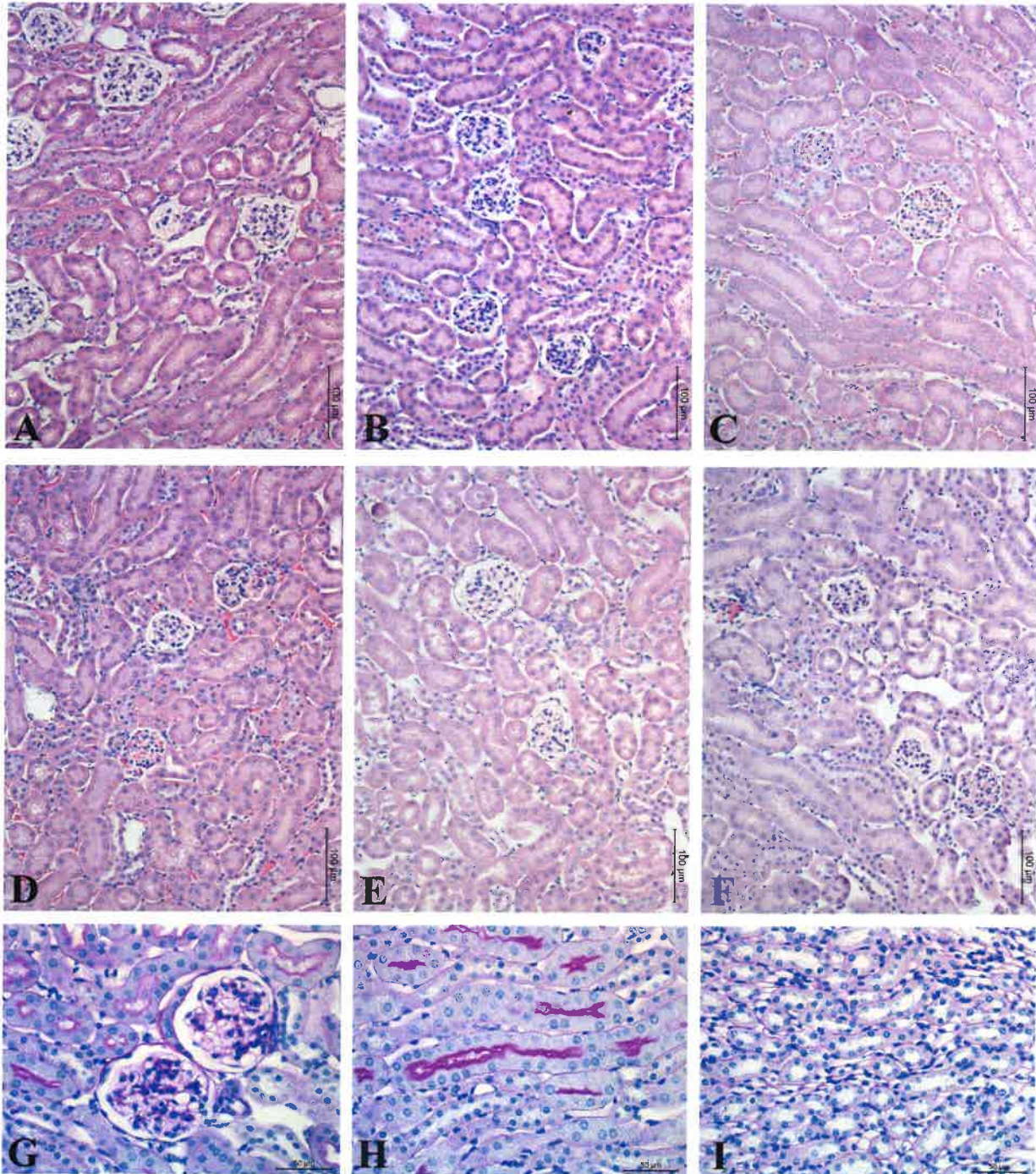
Kod svih ispitivanih grupa (1-6) primenom standardnih i specijalnih histohemijskih bojenja ispitane su histološke karakteristike i promene na sledećim organima i organskim sistemima: bubreg, jetra, pankreas, slezina, pluća, srce, testis i digestivna cev (želudac, duodenum jejunum i debelo crevo) i mozak.

a. Histološke karakteristike tkiva bubrega

Histološkom analizom bubrežnog tkiva u kontrolnoj grupi jedinki (grupa 6) utvrđena je pravilnost u građi nefronskih struktura kao što su glomerul i bubrežni tubuli. Primenom tretmana preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) nisu uočene razlike i morfološka odstupanja u odnosu na poređenu kontrolnu grupu jedinki. U eksperimentalnim grupama u kojima je indukovano AIE takođe nisu uočene promene u bubrežnom parenhimu koje su se mogle pripisati samo modelu (grupa 1) ili tretmanu doze 140 mg/kg (grupa 2) i doze 420 mg/kg (grupa 3) doze preparata karnozin EXTRA (Slika 1).

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a



Slika 1. Histološke karakteristike bubrežnog tkiva. Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI, G,H,I – PAS bojenje u grupi VI

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

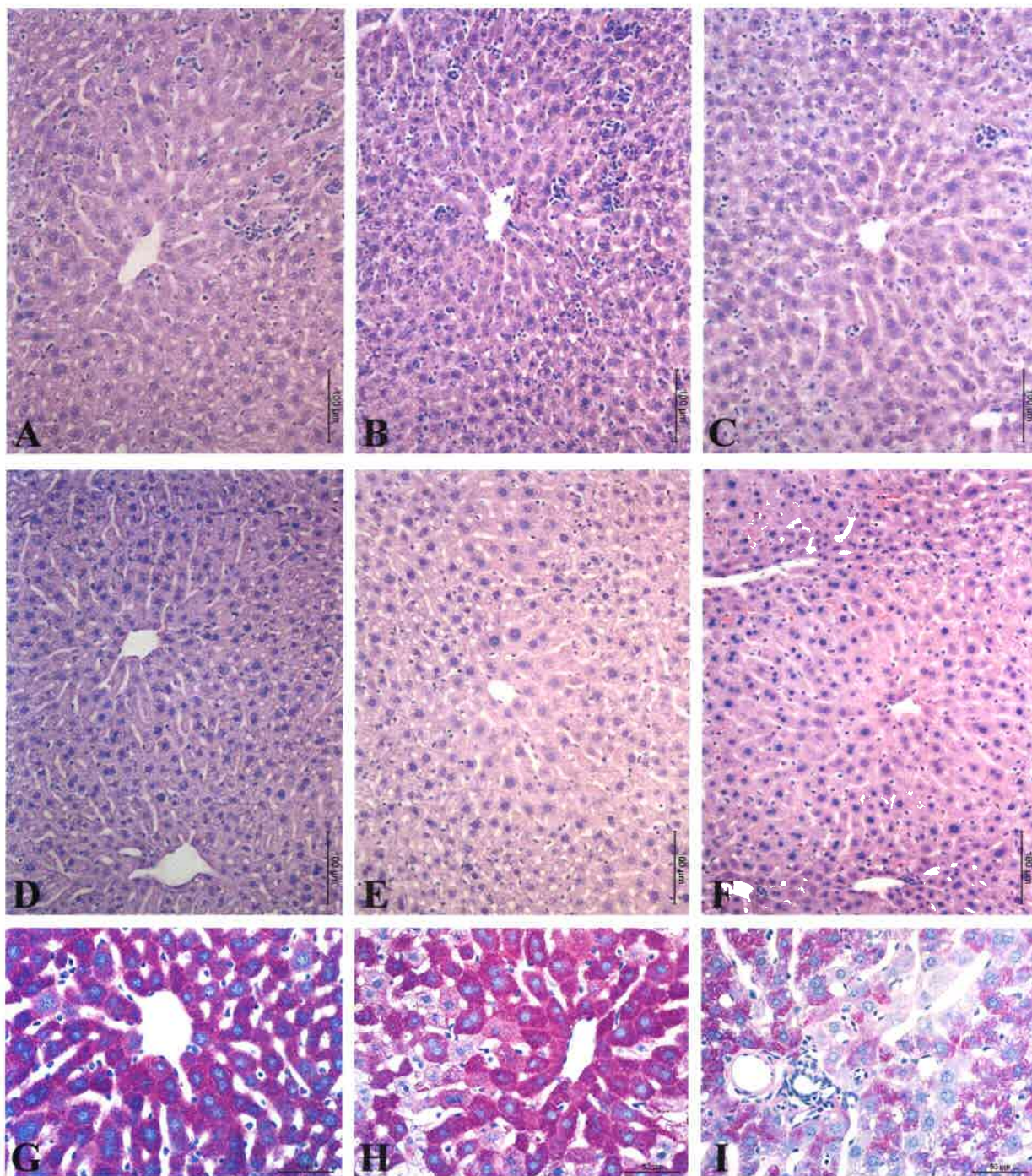
Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

b. Histološke karakteristike tkiva jetre

Analiza histološke specifičnosti jetrenog tkiva u kontrolnoj grupi (grupa 6) i grupama u kojima je primenjena doza 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) preparata karnozin EXTRA uočava se pravilna citoarhitektonika i očuvanost jetrenog parenhima. Hepatociti su uobičajenog oblika, centralno postavljenog jedra i svetle lako granulirane acidofilne citoplazme, aranžirani u tzv. Remakove gredice koje se od centralne vene (*vena centralis* - v.c.) pružaju radijalno ka periferiji jetrenog lobulusa. Sinusoidalni kapilari nisu dilatirani a unutar Kiernanovog trougla mogu se uočiti interlobularna arterija (*arteria interlobularis* - a.i.), interlobularna vena (*vena interlobularis* - v.i.), i žučni kanalić (*ductus biliferi* - d.b.) uobičajenih karakteristika. Primena specijalnog histohemijskog bojenja - PAS (Periodic acid-Schiff) detektuje se difuzno, homogeno prisustvo glikogenih granula unutar svih hepatocita ispitivanih pomenutih grupa. U eksperimentalnim grupama sa primarno indukovanim AIE mogli smo uočiti znake inflamatorne aktivnosti u jetrenom parenhimu kod sve tri grupe: kontrolne sa AIE (grupa 1) i eksperimentalnih sa 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) preparata karnozin EXTRA. Kod svih jedinki ispitivanih grupa mogao se uočiti mešoviti zapaljenski infiltrat limfocita, plazmocita, eozinofila i neutrofila prisutan fokalno u jetrenim sinusima i dominantno u Kiernanovim prostorima. Primena PAS histohemijskog bojenja ukazala je na fokalni, grupno nespecifični gubitak glikogena dominantno u područjima oko Kiernanovih prostora što se može pripisati uticaju gore navedenih zapaljenskih promena (Slika 2).

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a



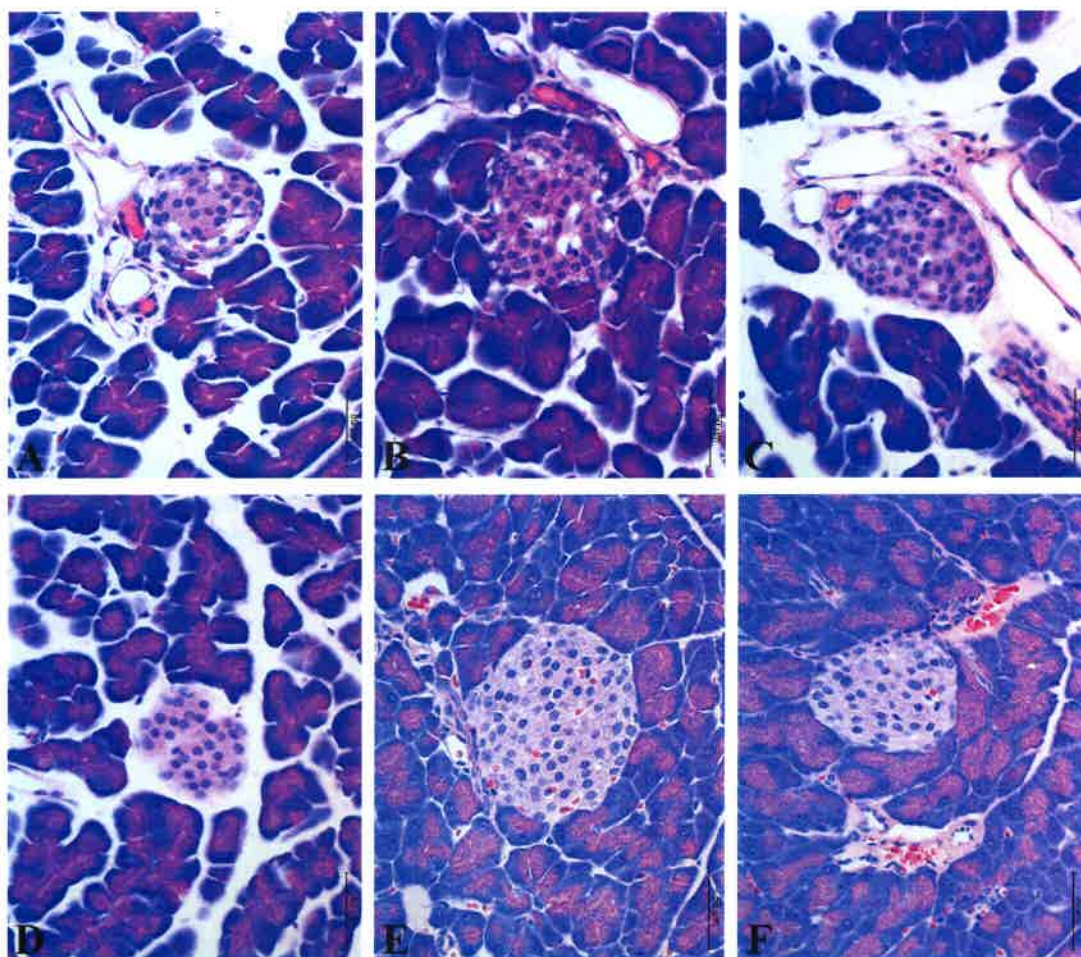
Slika 2. Histološke karakteristike tkiva jetre. Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI, G,H,F – PAS bojenje u grupi VI

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

c. Histološke karakteristike tkiva pankreasa

Analizom pankreasnog tkiva kod svih kontrolnih i eksperimentlanih grupa (grupa 1-6) nije uočeno odstupanje od normalne građe kako egzokrinog tako i endokrinog dela ove žlezde. Naime, Langerhansova ostrvca bila su uobičajenih karakteristika izgrađena od centralno postavljenih, acidofilnih, beta ćelija međusobno odvojenih lako dilatiranim kapilarima (arteficijalno zbog perfuzione fiksacije) i periferno, u vidu venca postavljenih alfa ćelija koje je karakterisala nešto svetlija citoplazma. Ostrvca su bila okružena egzokrinim delom pankreasnog tkiva ko gradi acinarne formacije.



Slika 3. Histološke karakteristike pankreasnog tkiva.

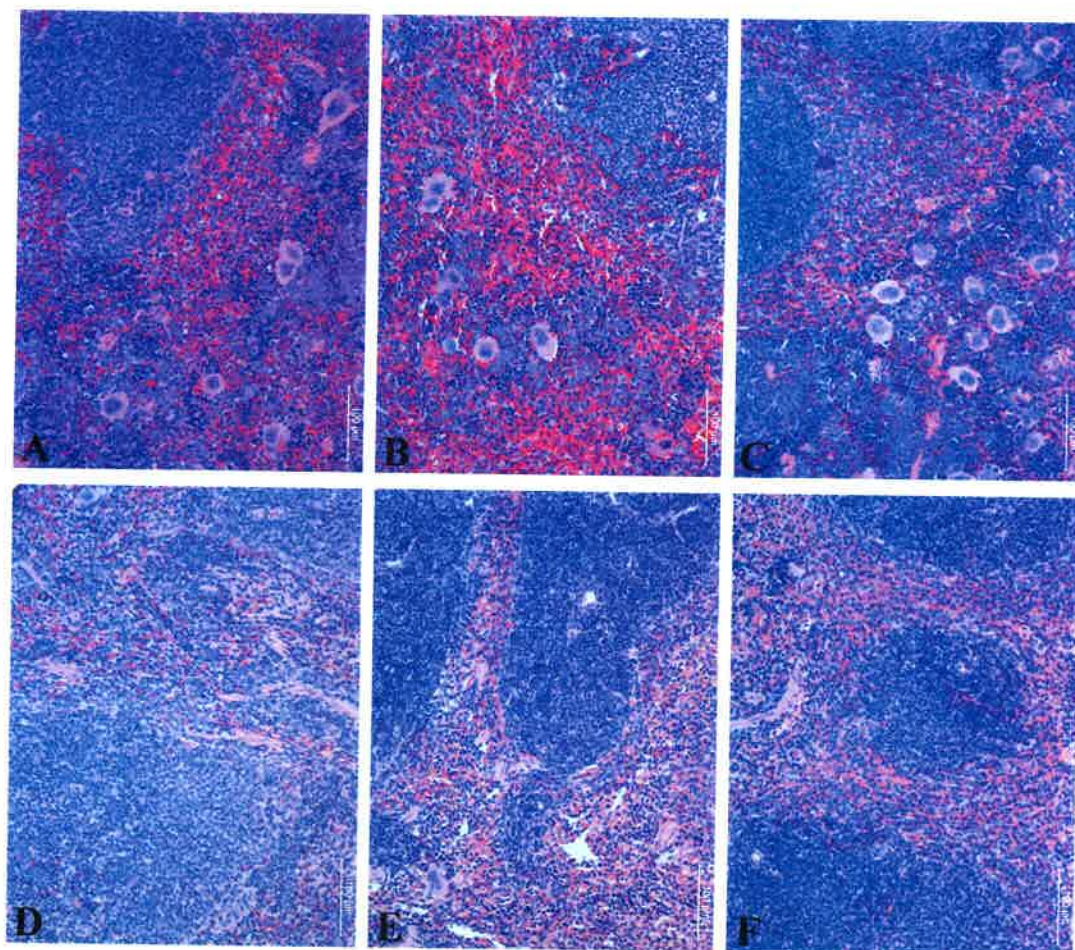
Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI.

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

d. Histološke karakteristike tkiva slezine

Analizom histološke građe tkiva slezine u kontrolnoj grupi (grupa 6) i eksperimentalnim grupama sa primenom preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) nisu uočene bitnije promene u građi slezine. U pregledanim preparatima se jasno mogla uočiti bela pulpa sa okružujućom crvenom pulpom. Međutim, u grupi samo AIE (grupa 1) kao i u grupama AIE sa primenom preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 2) i 420 mg/kg (grupa 3) pored naglašene bele pulpe jasno se mogao uočiti veći broj blastnih ćelija trombocitne loze tzv. megakariocita. Ovom prilikom se jasno može primetiti kako AIE ima imunomodulatorni efekat na ovaj limforetikularni organ.



Slika 4. Histološke karakteristike tkiva slezine:

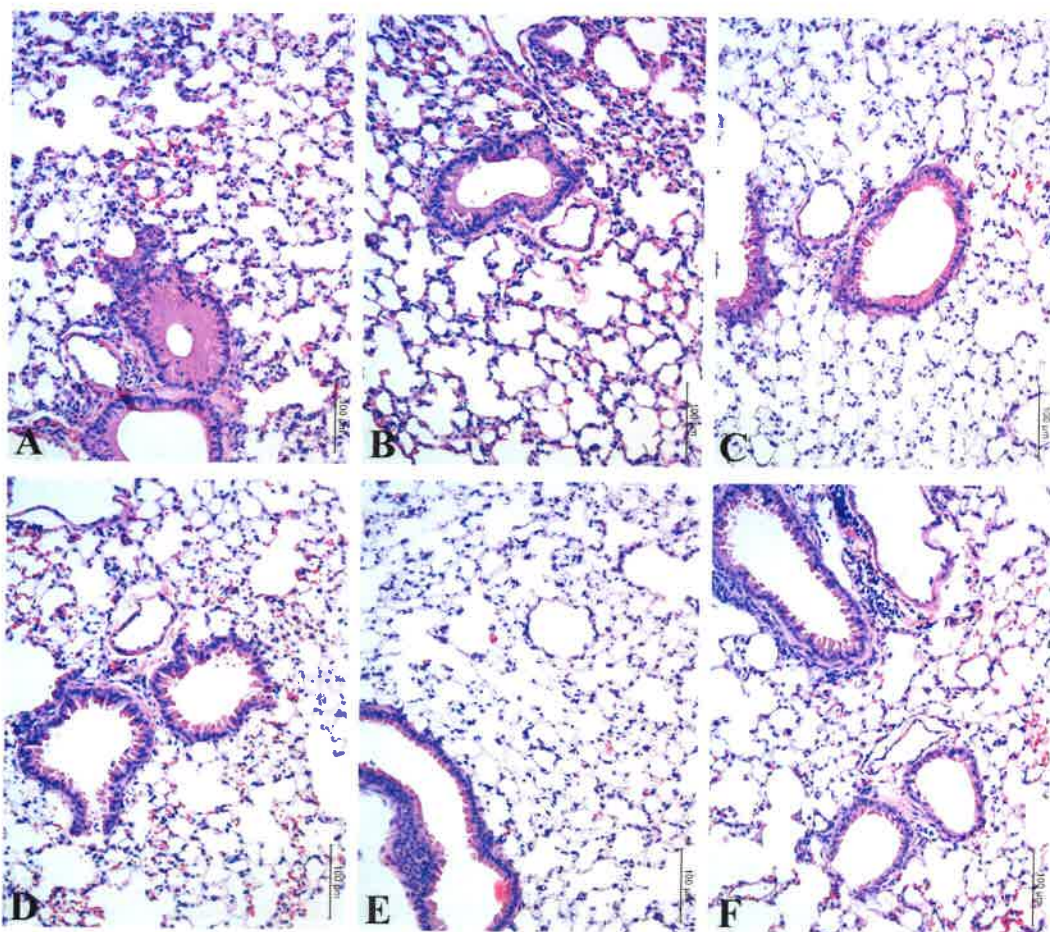
Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI.

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

e. *Histološke karakteristike tkiva pluća*

Plućni parenhim je u kontrolnoj grupi (grupa 6) kao i u eksperimentalnim grupama sa primenom preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) bio u potpunosti očuvan i pravilan. Plućne bronhiole su bile obložene pravilnim Klara ćelijama dok su okolne alveole bile tankih pravilnih alveolarnih septi. Sa druge strane u grupama AIE bez (grupa 1) i sa primenom preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 2) i 420 mg/kg (grupa 3) moglo se uočiti prisustvo manje količine sluzi smeštene unutar bronhiola kao i oskudan fokalni hronični zapaljenski infiltrat smešten peribronihijalno i unutar alveolarnih septi (Slika A,B,C).



Slika 5. Histološke karakteristike plućnog tkiva.

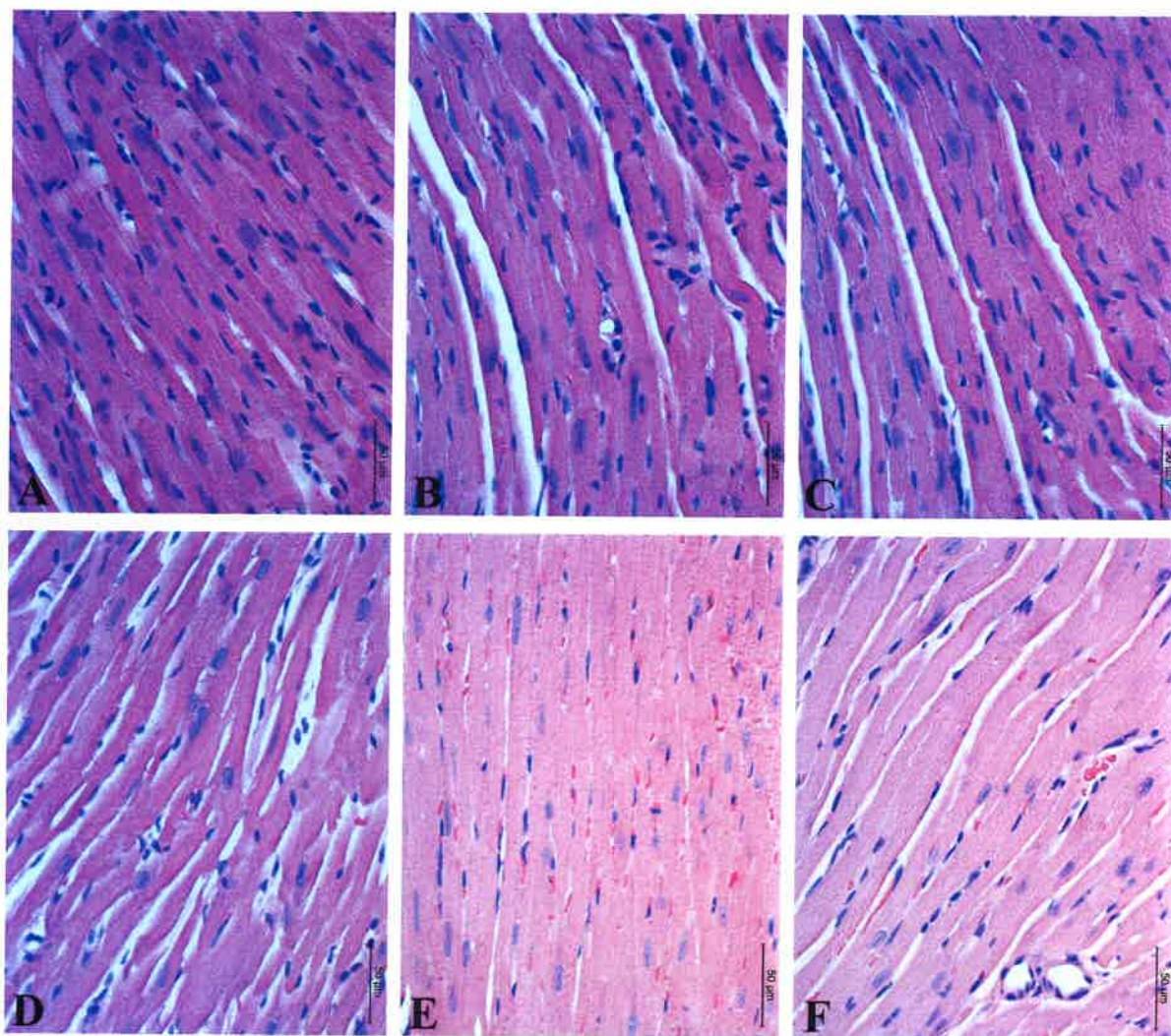
Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI.

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a

f. Histološke karakteristike tkiva srčanog mišićnog tkiva

Histološkom analizom srčanog mišićnog tkiva kod kontrolne grupe (grupa 6) kao i kod eksperimentalnih grupa sa primenom preparata karnozin EXTRA u dozi od 140 mg/kg (grupa 4) i 420 mg/kg (grupa 5) uočena je pravilnost u citoarhitektonici kardiomiocita. Ni u grupama AIE (grupa 1) bez kao i sa tretmanom preparata karnozin EXTRA (grupa 2i3) nisu uočena odstupanja u histološkoj građi srčanog mišićnog tkiva.



Slika 6. Histološke karakteristike srčanog tkiva.

Legenda: A-grupa I, B-grupa II, C-grupa III, D-grupa IV, E-grupa V, F-grupa VI.

Rezultati istraživanja se odnose isključivo na prikazano istraživanje.

Ovaj dokument se ne sme reprodukovati bez odobrenja Sektora za naučnoistraživački razvoj CEMFIK-a