

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

- Нина Букумировић, магистар фармације -

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију: 24.01.2019. Наставно-научно веће Медицинског факултета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>1. Др сц. Светлана Голочорбин-Кон, ванредни професор, Фармација, 15.7.2019., Катедра за фармацију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду;</p> <p>2. Др сц. Момир Миков, редовни професор, Фармакологија, 05.07.1999., Катедра за фармакологију, токсикологију и клиничку фармакологију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду;</p> <p>3. Др сц. Силва Добрић, редовни професор, Фармакологија и токсикологија, 22.11.2007., Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране у Београду</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Нина, Радослав, Букумировић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 05.07.1987. Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија - мастер и стечени стручни назив: Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Фармација, Магистар фармације</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2012, Академске докторске студије - Молекулска медицина</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:-</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:-</p>

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

„Хипогликемијско деловање пикногена и екстракта црног бора *Pinus nigra* на експерименталном моделу дијабетичних пацова“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторка дисертација маг. Фарм. Нине Букумировић садржи 9 поглавља: Увод (стр. 1-3); Општи део (стр. 4-21); Циљеви и радне хипотезе (стр. 22-23); Материјал и методе (стр. 24-46); Резултати (стр. 47-103); Дискусија (стр. 104-129); Закључци (стр. 130); Литература (стр. 131-142); Прилог (143-146). Дисертација је написана на 146 страна, А4 формата, садржи 9 слика, 18 графикана, 46 табела и 147 литературних навода. На почетку је дата кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Поглавље **Увод** укратко описује употребу лековитог биља у савременој медицини, а истиче бор и комерцијални производ пикногенол као добре изворе секундарних метаболита.

Општи део указује на дијабетес мелитус, хроничну незаразну болест која прети да постане епидемија светских размера. Оксидативни стрес има важну улогу у патофизиологији дијабетес мелитуса, те је превенција и ублажавање оксидативног стреса од великог значаја. Фенолна једињења изолована из разних врста бора показују значајну антиоксидативну активност. У овом поглављу се приказује хемијски састав пикногена и указује на његов потенцијал у лечењу различитих обољења повезаних са оксидативним стресом. Кора црног бора је значајно мање испитивана у односу на остале врсте бора. У Републици Србији кора црног бора је нуспроизвод дрвне индустрије, те је у овом раду истакнут значај истраживања и потенцијална искористљивост коре бора. Може се констатовати да је у Општем делу јасно и концизно дефинисан циљ истраживања који не одступа од формулација датих у пријави докторске дисертације.

Основни задатак истраживања у оквиру докторске дисертације проистекао на основу прегледа релевантне литературе, изложен је у поглављу **Циљеви**.

Основни циљ је био да се упореди хемијски састав и антиоксидативни статус екстракта коре црног бора и пикногена, а затим утврди њихов утицај на гликемију, липидни статус и биохемијске параметре у серуму здравих и дијабетичних животиња. Поред тога испитиван је и утицај екстракта коре црног бора и пикногена на фармаколошка својства метформина и гликлазида, као и њихов утицај на акутно оштећење јетре изазвано токсичном дозом парацетамола.

Радне хипотезе су директно проистекле из циљева истраживања и адекватно

су постављене. У складу са тим Комисија је мишљења да су циљеви истраживања и хипотезе јасно и прецизно формулисани.

У поглављу **Материјал и методе** дат је план рада и детаљан опис материјала и метода испитивања примењених у експерименталном раду. За испитивања је коришћена кора црног бора *Pinus nigra* Arnold сакупљена са два локалитета – Мокра гора и Тара, а добијена од Шумарског факултета у Београду и детерминисана до врсте (серијски број за Мокру гору: 251/15; серијски број за Тару: 258/15) и комерцијални препарат пикногенол. Прописано осушена и уситњена кора црног бора је екстрахована оригиналном методом екстракције којом је припреман комерцијални препарат пикногенол, али са друге стране и са неколико различитих растварача - метанол, етанол и ацетон. Квалитативна и квантитативна анализа вршена је методом високоефикасне течне хроматографије (HPLC) и методом UV/Vis спектрофотометрије. У добијеним екстрактима испитиван је садржај укупних фенола, флавоноида, проантоцијанидина и танина, док је антиоксидативна активност испитивана различитим методама – DPPH, FRAP, ABTS, NBT и фосфомолибденском методом. Екстракт коре бора пореклом са Мокре горе је показао најбоље резултате те је коришћен у даљим испитивањима на животињама. *In vivo* испитивање је рађено на албино лабораторијским пацовима соја *Wistar*. Све изведене експерименталне процедуре су спроведене у складу са етичким принципима рада са лабораторијским животињама и у складу су са Законом о добробити животиња и регулативама Европске Уније (86/609ЕС). Сва испитивања на животињама је одобрила Етичка комисија ЗЗДОЖ Универзитета у Новом Саду, број одобрења III-2014-02 као и Министарство пољопривреде и заштите животне средине – Управа за ветерину, број решења: 323-07-00550/2015-05. Дијабетичне и нормогликемичне животиње, претходно подељене у експерименталне групе, су примале *per os* током седам дана екстракт коре бора пореклом са Мокре горе 100 мг/кг, пикногенол 50 мг/кг, метформин 100 мг/кг, гликлазид 10 мг/кг, као и комбинације ових супстанци. За испитивање утицаја пикногенола и екстракта коре црног бора пореклом са Мокре горе на гликемију дијабетичних и нормогликемичних животиња коришћена су два фармакодинамска теста: индукција трајне хипергликемије алоксаном и тест оралног подношења глукозе. У оквиру испитивања ефеката пикногенола и екстракта коре црног бора на параметаре оксидативног стреса праћен је и утицај ових супстанци на акутно оштећење јетре експерименталних животиња након примене токсичне дозе парацетамола. Последњег дана огледа 2 часа након администрације испитиваних супстанци, односно извођења предвиђених фармакодинамских тестова, животиње су анестезиране 25% раствором уретана и након губитка рефлекса жртвоване кардиопункцијом у циљу узимања узорака крви и ткива јетре за даља испитивања. За одређивање параметара липидног статуса, функције јетре и бубрега, као и параметара оксидативног стреса коришћени су серум и узорци јетре лабораторијских животиња. Статистичка обрада добијених резултата испитивања је рађена статистичким програмом IBM SPSS Statistics, верзија 21. Изабране методе су адекватне, одговарају постављеним циљевима и

омогућавају добијање актуелних научних резултата.

Поглавља **Резултати** и **Дискусија** приказани су на јасан, прегледан и методолошки разумљив начин. Показано је да и комерцијални препарат пикногенол и екстракт коре црног бора поседују у свом саству фенолне компоненте за које се претпоставља да су заслужне за њихов антиоксидативни потенцијал, који је такође потврђен тестовима коришћеним у раду. Постоји статистички значајна разлика између антиоксидативног потенцијала коре црног бора и пикногенола у корист комерцијалног препарата пикногенола. Екстракт коре црног бора пореклом са Мокре горе је показао већи садржај идентификованих компоненти и бољи антиоксидативни потенцијал него екстракт коре црног бора пореклом са Таре, а поредећи садржај појединачних компоненти таксифолин, епикатехин и катехин су показали највећи садржај. Изазивање дијабетес мелитуса код пацова давањем алоксана потврђено је одређивањем високих статистички значајних вредности глукозе у крви пацова у односу на вредности пре давања алоксана. Показано је да примена пикногенола и екстракта коре црног бора спречава поремећај гликорегулације у серуму животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом. Резултати ОГТ теста показују да је у групи животиња које су примале пикногенол и екстракт коре црног бора нижа вредност гликемије након теста оптерећења глукозом у односу на групу животиња која је примала физиолошки раствор. Утврђен је хиполипидемијски потенцијал пикногенола и екстракта коре црног бора анализом серума животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом, као и позитивни ефекти у зеједничкој примени са метформиним и гликлазидом.

Применом метформина и гликлазида снижена је вредност ензима јетре код испитиваних животиња у поређењу са контролном групом животиња, док је заједничка примена са пикногенолом и екстрактом коре црног бора додатно снизила вредности ензима показатеља оштећења јетре. Овим резултатом се указује на потенцијално хепатопротективно деловање екстракта коре црног бора и пикногенола. Код животиња код којих је токсична доза парацетамола изазвала оксидативни стрес применом пикногенола и екстракта коре црног бора показано је значајно антиоксидативно деловање и повећан оксидативни капацитет јетре лабораторијских животиња.

Утврђено је да примена пикногенола и екстракта коре црног бора спречава поремећај биохемијских параметара показатеља функције бубрега у серуму животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом.

У поглављу **Закључци**, на основу добијених резултата и дискусије, закључци су јасно и концизно изведени, те се могу сматрати поузданим и научно заснованим и одговарају постављеном циљу дисертације.

Поглавље **Литература**, садржи списак 147 референци цитираних на уобичајен и правилан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

Поглавље **Прилог**, садржи 4 слике хроматограма етанолних и метанолних екстраката коре црног бора *Pinus nigra* пореколом са Мокре горе и Таре.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

Рад објављен у међународном часопису – M21

1. Rašković A, **Bukumirović N**, Paut Kusturica M, Milić N, Čabarkapa V, Borišev I, Čapo I, Miljković D, Stilinović N, Mikov M (2018). Hepatoprotective and antioxidant potential of Pycnogenol® in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* [Epub ahead of print].

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу - M34

1. Stilinovic N, Raskovic A, Sabo A, Vukmirovic S, **Bukumirovic N**. Antidiabetic properties of aqueous suspension of commercial preparation of *Coprinus comatus*. Book of Abstracts of 6th European Congress of Pharmacology, Granada, Spain, 17-20 July 2012, Proceedings of the British Pharmacological Society. E-journal of British Pharmacological Society 2012. Vol: 10, Issue: 3, Page: 579.
2. Stilinović N, Rašković A, Vukmirović S, **Bukumirović N**, Vasović V. The influence of seven-day treatment with fungus *Cordyceps sinensis* on rat organism, 2nd CEFSE Workshop "Persistent organic pollutants in food and environment", 26th Symposium on Recent Developments in Dairy Technology, BIOXEN seminar "Novel approaches for environmental protection", Novi Sad, 8-10 September, 2011, pp. 76-76, ISBN: 978-86-80995-93-9.
3. Perić D, Milijašević D, Tomić N, Knežević A, **Bukumirović N**, Milijašević B. Use of ACE-Inhibitors in Serbia in 2009 and 2010. *Hospital Pharmacology*. 2014; 1(3):122-129.
4. **Bukumirović N**, Prvulović D, Radulović Z, Kostić I, Rašković A, Milić N. Antioxidant activity and phenolic content of black pine in Serbia. 18th DKMT Conference on Environment and Health, 2-4 Jun 2016, Faculty of Technology Novi

Sad, Serbia.

5. **Bukumirović N**, Stilinović N, Rašković A, Milijašević B. Uticaj vodene suspenzije komercijalnog preparata gljive *Coprinus comatus* na metabolizam pacova. Kongres VI nedelja bolničke kliničke farmakologije (6; Beograd; 2014), Sekcija za kliničku farmakologiju Srpskog lekarskog društva. Zbornik sažetaka ISBN: 978-86-6061-071-5. Str. 62-63.
6. **Bukumirović N**, Stilinović N, Rašković A, Milijašević B. Uticaj vodene suspenzije komercijalnog preparata gljive *Cordyceps sinensis* na metabolizam pacova. Kongres VI nedelja bolničke kliničke farmakologije (6; Beograd; 2014), Sekcija za kliničku farmakologiju Srpskog lekarskog društva. Zbornik sažetaka ISBN: 978-86-6061-071-5. Str. 64-65.

VII ZAKЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Постоји статистички значајна разлика хемијског састава коре црног бора и комерцијалног препарата пикногенола због чега се и потенцијал њиховог антиоксидативног деловања значајно разликује.

Примена пикногенола и екстракта коре црног бора спречава поремећај гликорегулације, пораст триглицерида и снижење HDL холестерола у серуму животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом.

Примена комерцијалног препарата пикногенола и екстракта коре црног бора статистички значајно потенцира антихипергликемијско деловање метформина и хипогликемијски ефекат гликлазида код животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом.

Примена комерцијалног препарата пикногенола и екстракта коре црног бора спречава поремећај биохемијских параметара показатеља функције јетре и бубрега у серуму животиња са хемијски изазваним дијабетес мелитусом.

Примена комерцијалног препарата пикногенол испољава значајно *in vitro* антиоксидативно деловање и повећава антиоксидативни капацитет јетре лабораторијских животиња код којих је оксидативни стрес изазван применом токсичне дозе парацетамола. С обзиром на приказане резултате у истраживању, пикногенол и кора црног бора су исказали значајан хипогликемијски и антиоксидативни потенцијал, и може бити предмет даљих истраживања.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидат **Нина Букумировић**, маг. фарм., успешно је у потпуности обавила истраживања која су била предвиђена планом у пријави докторске дисертације. Добијени резултати истраживања проистекли су из оригинално постављених лабораторијских експеримената у циљу утврђивања утицаја пикногенола и екстракта коре црног бора на гликемију експерименталних животиња, као и антиоксидативне и хепатопротективне особине пикногенола и екстракта коре црног бора. Добијени резултати истраживања су систематично и прегледно приказани, логичним редоследом. Дискусија је заснована на добром познавању истраживане научне области и метода одређивања. Интерпретирани резултати и тумачења су у складу са релевантним наводима из литературе, повезани су у целину са теоријским поставкама рада, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује **позитивно**.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Дисертација је написана у потпуности у складу са предложеним испитивањима и образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада неопходне за разумевање обрађене теме и добијених резултата.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

У оквиру докторске дисертације је утврђен антидијабетички и хиполипидемијски потенцијал комерцијалног препарата пикногенол и екстракта коре црног бора *Pinus nigra* са територије Републике Србије, као и веома позитивни ефекти при заједничкој примени са метформином и гликлазидом. Код животиња са изазваним оксидативним стресом, комерцијални препарат пикногенол и екстракт коре црног бора су спречили оштећења реактивним кисеоничним врстама. Резултати овог истраживања употпуњују податке претклиничких студија у којима је процењивана безбедност и ефикасност пикногенола и екстракта коре црног бора *Pinus nigra*

што доприноси њиховој сигурнијој и ефикаснијој примени код људи.
4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања Недостаци дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Нине Букумировић, магистра фармације, под називом „Хипогликемијско деловање пикногена и екстракта црног бора <i>Pinus nigra</i> на експерименталном моделу дијабетичних пацова“ и предлаже да се ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ прихвати, а кандидату одобри одбрана рада.

25.02.2019.

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др сц. Светлана Голочорбин-Кон, ванредни професор
Медицински факултет
Универзитет у Новом Саду
председник

Др сц. Момир Миков, редовни професор
Медицински факултет
Универзитет у Новом Саду
члан

Др сц. Силва Добрић, редовни професор
Медицински факултет ВМА,
Универзитет одбране у Београду
члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.

ИЗВЕШТАЈ СЕ ПОДНОСИ У 10 ПРИМЕРАКА

(два извештаја са оригиналним потписима)

КАНДИДАТ ЈЕ ОБАВЕЗАН ДА ДОСТАВИ ИЗВЕШТАЈ И У ЕЛЕКТОРНСКОЈ ФОРМИ

У PDF формату на ЦД-у

НАПОМЕНА: Уз извештаје студенти морају да предају и попуњен образац бр. 7 у два примерка и на ЦД-у у PDF формату