

СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

на гл. ас. Емилия Бориславова Петрова, доктор

Секция „Експериментална морфология”

**Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей –
БАН**

Научните приноси на **Емилия Бориславова Петрова** са в областта на експерименталната морфология, биохимията и токсикологията. В експериментални модели на патологични състояния (церебрална исхемия и хипоксия) са изследвани промените в морфо-функционалните аспекти на основни процеси – невродегенерация, хемопоеза и мъжка репродукция. В моделни системи е изследвано и влиянието на различни фактори от околната среда върху морфологията и клетъчната топография на ЦНС. Използвани са следните класически и съвременни изследователски подходи:

- експериментални модели
 - *in vivo* модел на церебрална исхемия
 - *in vivo* модели на церебрална хемична хипоксия
 - *in vivo* въздействие с метални соли (литий, кадмий, олово, кобалт)
- хистологични методи;
- ензимохистохимични методи;
- биохимични методи;
- аналитични методи – атомноабсорбционна спектроскопия (FAAS и ETAAS);
- морфометрични и статистически методи, количествен анализ.

Представените **оригинални** приноси, отразени в научните трудове на **гл. ас. Емилия Бориславова Петрова**, могат да бъдат систематизирани в две основни направления:

I. Морфо-функционални промени в мозъка, тестиса и хематологичния статус при мозъчна исхемия и хипоксия

Разработени са експериментални модели на церебрална исхемия и хемична хипоксия при полово зрели плъх и мишка с цел изследване промените в липидния

състав на мозъка, морфологията на мозъка и тестиса, хематологичните показатели и активността на някои важни за невроналните функции ензими.

Оригиналният експериментален модел на хипоксия, индуцирана чрез натриев нитрит (NaNO_2 , i.p.), дава възможност да се проследи ефекта от недостига на кислород на различни времеви интервали от третирането. Получените резултати са фундаментален принос за изясняване динамиката на настъпилите хистопатологични изменения и механизма на действие на NaNO_2 като хипоксия-индуциращ агент. Натриевият нитрит е и хранителна добавка (E250) с широко приложение в хранително-вкусовата промишленост. Получените данни са от полза за подобряване ефективността на практиките за третиране на пациенти с интоксикации, както и на терапевтичните подходи при различни заболявания, в чиято основа е метхемоглобинемията. Резултатите са от значение за клиничната практика и спортната медицина, насочена към подобряване представянето на състезатели.

Научни приноси по темата на дисертацията (Публикации 1, 2, 3, 4, 12, 13, 25, 28; Резюмета 1, 2, 3)

I.1. За първи път е проведено комплексно изследване на липидния състав на мозъка при експериментално предизвикана церебрална исхемия. Анализирани са промените в липидни класове със съществена роля при реализиране функциите на нервната система - свободни мастни киселини, фосфолипиди, холестерол и гликолипиди.

I.2. Получени са данни за липидните промени в мозъчен хомогенат и на субклетъчно ниво (ядрена, микрозомална, миелинова, митохондриална и синаптозомална фракция). Установено е, че хомогенатът и различните субклетъчни структури реагират по специфичен начин при исхемичен шок поради характера и динамичността на процесите, протичащи в тях. Резултатите показват тенденция към синтез на дълговерижни полиненаситени свободни мастни киселини, считани като невропротектори при различни патологични състояния на нервната система. Получените данни са принос към изясняване ролята на липидните промени при исхемичното мозъчно увреждане.

Научни приноси, несвързани с темата на дисертацията

I.3. Получени са оригинални данни за липидния състав на мозъка при хемична хипоксия. Изследвани са промените в свободните мастни киселини, фосфолипидите, холестерола и гликолипидите в мозъчен хомогенат и пет субклетъчни фракции: ядрена, микрозомална, миелинова, митохондриална и синаптозомална. Липидите са динамични компоненти и участват активно в мембранните процеси и поддържане на енергийния баланс. Проследяването на промените в липидния състав на мозъка на субклетъчно ниво е особено ценно, защото мембраните и свързаните с тях ензими играят решаваща роля в енергийния метаболизъм. Резултатите са принос към изясняване на биохимичните и патофизиологичните аспекти на хипоксичното мозъчно увреждане (**Публикации 5, 6, 23, 26, 29, 31, 34, 39; Резюмеа 4, 5, 6**).

I.4. Проведени са светлинно-микроскопски изследвания върху мозък на плъх и мишка след експериментално индуцирана хемична хипоксия. Още в първите часове след третирането са установени съществени хистопатологични изменения с дегенеративен характер в различни отдели на главния мозък – церебрална кора, малък мозък, продълговат и среден мозък, таламус и мост. Тези промени могат да бъдат обобщени както следва: (1) свиване на невроните, разширяване на околоклетъчните пространства и вакуолизация на тъканта; (2) дилатиране на най-малките капиляри и хиперемия и (3) увреждане на нервните влакна. Морфологичните изменения са с прогресиращ характер и се установяват включително на 20^{-ти} ден от въздействието с нитрита, като най-интензивни са в церебралната и церебеларната кора. Резултатите са оригинален принос към познанията за влиянието на хемичната хипоксия върху клетъчната морфология на мозъка и към изясняване механизмите на мозъчния отговор към недостиг на кислород (**Публикации 11, 35**).

I.5. В условия на остра хемична хипоксия се установяват съществени хематологични и хемореологични промени (**Публикации 10, 15, 16, 40**). Повлияват се и трите групи формени елементи на кръвта:

а) при еритроцитите се индуцира анемия, понижавайки техния брой, количеството хемоглобин, хематокрита, MCV и RDW, докато стойностите на параметрите, свързани с хемоглобина – MCH и MCHC, се повишават. Тези резултати кореспондират с оригиналните данни за понижените стойности на общия и плазмения вискозитет, което

показва, че хемичната хипоксия повлиява, както еритропоезата, така и белтъчния синтез;

б) намалява броят на гранулоцитите и моноцитите;

в) повишава се броят на тромбоцитите и намалява техният обем. Наблюдаваните промени несъмнено ще окажат влияние върху коагулацията на кръвта и имунната защита на организма, което е принос в медицината, в частност спортната медицина, за евентуалните странични ефекти от прилагането на нитритите за подобряване физическата издръжливост на спортистите.

I.6. В модела на хипоксия чрез ензимохистохимични методи е изследвана активността на трипептидил пептидазата I (TPPI) – протеолитичен ензим с ключово значение за функционирането на нервните клетки. За първи път е установено понижаване активността на TPPI в мозъка при условия на недостатъчно снабдяване с кислород. Получените резултати дават основание да се допусне, че ниската активност на ензима има отношение към загубата на неврони. Тези данни кореспондират с проведените биохимични изследвания. Резултатите са фундаментален принос към познанията за механизмите на увреждане на мозъка при хипоксия (**Публикация 11**).

I.7. В условия на остра хемична хипоксия се установяват промени в тестикуларната морфология и редукция в броя сперматозоиди, складирани в епидидимиса. Хистопатологичните изменения засягат организацията на семенния епител като предизвикват отпадане на недиференцирани полови клетки в лумена на семенните каналчета. Това е съпроводено с повишаване на гонадо-соматичния индекс и обема на тестикуларния флуид още в първите часове след третирането. Получените оригинални данни допускат хипотезата за дисфункция на хипоталамо-хипофизо-гонадалната ос и водно-солевия баланс, тъканна аноксия и нарушена съдова пропускливост. Резултатите обогатяват оскъдните данни за ефекта на хемичната хипоксия върху сперматогенезата при бозайници и са принос за изясняване влиянието на недостига на кислород върху мъжкото репродуктивно здраве (**Публикации 14, 17, 20, 36**).

Приносите по т. I са в резултат на изследвания, финансирани от следните проекти към Фонд „Научни изследвания” - МОН:

1. Договор № МУ-ЛІ-1512/2005 г., *„Промени в липидите в субклетъчни фракции от мозък на плъх при експериментални модели на церебрална исхемия, хипоксия и различни хранителни режими”*

2. Договор № ДМУ 03/18/2011 г., „Морфологична характеристика на хипоксичното въздействие при експериментални модели”

II. Ефекти на въздействие на химични агенти (литий, кадмий, олово) върху морфологията и клетъчната топография на ЦНС

В експериментални *in vivo* модели е проучено влиянието на различни метални соли (природни замърсители, лекарствени препарати) върху морфологията на мозъка при субакутно, остро и хронично третиране. Представени са оригинални научни приноси, които наред с фундаменталния си характер, имат и практическо значение за: 1) оптималното приложение на литиевия хлорид за лечение на различни психични разстройства на нервната система; 2) клиничното приложение на салиномицина, монензина и деферипрона като потенциални антидоти при интоксикации с кадмий и/или олово.

II.1. Литий (Li)

Разработени са оригинални експериментални модели на остро и хронично интраперитонеално третиране с литиев хлорид при половозрели и възрастни мишка и плъх с цел изясняване механизма на въздействие върху нервната система.

II.1.1. Острата и хронична интоксикация с литиев хлорид при половозрели и възрастни експериментални животни индуцират невродегенеративни промени в различни отдели на главния мозък – церебрална кора, малък мозък, продълговат и среден мозък, таламус и мост. Установяват се увредени невронални израстъци и спонгиформни изменения в резултат на интензивна вакуолизация, най-силно изразени в церебралната кора и продълговатия мозък. Получените оригинални резултати доказват на морфологично ниво невротоксичното действие на лития (**Публикации 7, 8, 30, 32, 37**).

II.1.2. Хроничната интоксикация с литиев хлорид индуцира по-интензивни невродегенеративни промени в изследваните отдели на главния мозък в сравнение с острото третиране с реагента (**Публикация 8**).

II.1.3. Литият предизвиква сходни, но различни по интензитет морфологични промени при плъх и мишка, което е принос в разработването на подходящи

експериментални модели за изследване на хистопатологичните изменения, индуцирани в резултат на приложението на метала (**Публикация 37**).

II.1.4. Острата и хронична интоксикация с литиев хлорид ускоряват появата на невродегенеративните изменения, съпътстващи нормалното стареене на мозъка (**Публикация 8**).

Разработените от нас модели на остро и хронично третиране с литиев хлорид са от полза за клиничните изпитвания при определяне терапевтичните дози на лития за лечение на психични разстройства.

II.2. Кадмий (Cd)

В експериментален модел е изследвано влиянието на субхроничното третиране на половозрели мишки с кадмий чрез орален прием на металните йони под формата на кадмиев ацетат. Изследвано е действието на различни хелатни агенти (мезо-2,3-димеркаптосукцинилова киселина (DMSA) и йонофорните антибиотици монензин и салиномицин) като потенциални антидоти за лечение на интоксикация с кадмий.

II.2.1. Субхроничният прием на кадмий предизвиква екстензивни хистопатологични промени в церебралната кора с признаци на некроза. Установяват се увредени неврони със смалени перикариони, пикнотични ядра и увеличено периневронално пространство. Наблюдават се кръвоносни съдове с реактивни ендотелни клетки и разширени периваскуларни пространства. Получените данни са оригинален принос в разработването на подходящи експериментални модели за изследване на хистопатологичните изменения, индуцирани в резултат на интоксикация с метала (**Публикация 21**).

II.2.2. След третиране на интоксикирани мишки с хелатния агент DMSA се установяват не малък брой пикнотични неврони. Тези резултати показват, че DMSA не подобрява съществено хистологичната картина и не е подходящ антидот при интоксикация с кадмий. Третирането с монензин и салиномицин значително понижава броя на пикнотичните неврони и периваскуларните пространства са с близък до нормалния изглед. Получените хистологични резултати кореспондират с данните от електротермичния атомно-абсорбционен анализ за концентрацията на кадмий в мозъка на интоксикирани мишки след терапия с трите хелатни агента (**Публикация 21**). Резултатите показват, че монензинът и салиномицинът са по-ефективни при извличане

на токсичния метален йон от клетките и така потискат индуцираната от метала невротоксичност. Тези оригинални данни разкриват потенциалното приложение на хелатните агенти монензин и салиномицин като антидоти при лечението на интоксикации с кадмий.

II.3. Олово (Pb)

В експериментален модел е изследвано влиянието на субхроничното третиране на половозреели мишки с олово чрез орален прием на металните йони под формата на оловен нитрат. Изследвано е действието на различни хелатни агенти (мезо-2,3-димеркаптосукцинилова киселина (DMSA), монензин, салиномицин и деферипрон) като потенциални антидоти за лечение на интоксикация с олово.

II.3.1. В мозъка на интоксикирани с оловен нитрат мишки са установени хистопатологични промени с дегенеративно-некротичен характер. В церебралната кора се наблюдават голям брой увредени неврони – смалени, с пикнотични ядра и добре изразено периневронално пространство. Установяват се глиални клетки с разширено околочлетъчно пространство, както и кръвоносни съдове с увеличено периваскуларно пространство. В церебеларната кора се наблюдава дезорганизация в ганглионарния слой поради липсващи или нетипично разположени в прилежащия грануларен слой клетки на Пуркиние. Установяват се голям брой клетки на Пуркиние с неправилна форма, смалени, с еозинофилна цитоплазма и пикнотични ядра. В подкоровото бяло вещество се наблюдава интензивна вакуолизация. Получените резултати са оригинален принос към изясняване морфологичните аспекти на невротоксичния ефект на оловото (Резюме 7).

II.3.2. След третиране с хелатни агенти (DMSA, монензин, салиномицин и деферипрон) на интоксикирани мишки се наблюдава подобряване на хистологичната картина. В церебралната кора се установяват по-малък брой увредени неврони. Този ефект е най-добре изразен след третиране с деферипрон, а най-слабо – след въздействие с DMSA. Хистологичните анализи при всички тествани хелатни агенти показват увеличено периваскуларно пространство и интензивна васкуларизация, която е най-добре демонстрирана при третираните с деферипрон мишки. Може да се допусне, че образуването на по-гъста капилярна мрежа е свързано с процеси на възстановяване на тъканта и е компенсаторен и адаптивен отговор на мозъчната микроциркулация в

условия на интоксикация. В церебеларната кора е установен по-малък брой некротични клетки на Пуркиние, което е най-добре изразено след третиране със салиномицин и деферипрон. В бялото вещество все още се наблюдава вакуолозация. Тези оригинални резултати са принос към доказване потенциала на салиномицина и деферипрона за терапевтично приложение при интоксикация с олово (**Резюме 7**).

Приносите по т. II са в резултат на изследвания, финансирани от следните проекти към Фонд „Научни изследвания” на СУ „Св. Климент Охридски”:

1. Договор 5/2016 г., *„Сравнително разглеждане на потенциалното приложение на салиномицин, монензин и DMSA като антидоти при интоксикации с кадмий“*
2. Договор 80.10-102/20.04.2017 г., *„Изследване на острата и подострата токсичност на тетраетиламониевата сол на салиномицин киселина“*