

АВТОРСКА СПРАВКА

ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ НА ТРУДОВЕТЕ

на гл. ас. Георги Стойчев Попов, дvm

(след присъждане на ОНС „Доктор“ и заемане на АД „Главен асистент“)

представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“, към катедра „Вътрешни незаразни болести, патология и фармакология“ в област на висше образование б. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление б.4. Ветеринарна медицина, научна специалност „Патология на животните“, по дисциплината „Патология (Обща патоморфология)“, обявен в Държавен вестник бр. 18/01.03.2024 год., код на процедурата: VM-AsP-0224-126

Въведение и научни направления

Основна част от проведените изследвания са в областта на патологията, предизвикана от токсични вещества, неоплазии и заразни заболявания. Проучванията, чрез съвременни и рутинни морфологични методи и анализ, са насочени към изясняване на патогенезата и морфогенезата, систематизиране на патологоанатомичната находка и диагностицирането на някои познати и нови, ставащи все по актуални интоксикации, проблемни за домашните животни.

Актуални и съвременни са изследванията за потвърждаване на фармакологична активност на лечебни растения чрез използване на патоморфологични методи. В тази връзка са проучени екстракти, сапонинови фракции и вторични метаболити за антиоксидантна, хепатопротективна, невропротективна, нефропротективна, противотуморна и антиостеопорозна активност.

Наред с това са проведени изследвания с научно-приложен характер. Те са свързани със: разработване на *in silico* протокол за предсказване на фармакологична активност, диференциално-диагностична схема на заболявания, свързани с ендокринологични нарушения, неврологични изменения и др. Извършени са базови изследвания с цел въвеждане в експлоатация на цитологични методи за диагностициране на репродуктивни изменения при продуктивни животни. Получените резултати за протективно действие на лечебни растения са основа за разработване на фитопродукти с цел приложението им в хуманната и ветеринарно-медицинската практика.

Проучванията могат да бъдат групирани в няколко научни направления:

- I. Патологоанатомична характеристика на промени в животинския организъм, предизвикана от приемане на токсични вещества и други.
- II. Патологоанатомични и фармакологични проучвания на проби от растителен произход.
- III. Клинична и патологоанатомична оценка на заразни и незаразни заболявания при домашни и отглеждани в плен животни.
- IV. Изследвания с научно-приложен характер.

Отразяване на резултатите от научните изследвания

Общият брой на научните трудове, представени в конкурса за АД „Доцент“ е 16, от които:

1. Монография – 1 бр.
2. Книга по защитен дисертационен труд – 1 бр.
3. Научни публикации в специализирани списания с импакт фактор (IF) – 8 бр.
4. Научни публикации в специализирани списания без IF, реферирани по Scopus и Web of Science – 6 бр.

Всички публикации от научните трудове са на английски език – 14 бр., от които самостоятелни – 2 бр. На български език са издадени самостоятелно една монография и една книга по защитен дисертационен труд.

Общият импакт фактор на представените научни трудове в конкурса за заемана на АД „Доцент“ е 24.115.

Забелязани цитати:

За установяване на броя на цитиранията са използвани специализирани научни и други достъпни база данни (Scopus, ICI Web of Knowledge, Google Scholar, Scirus, ICI Web of Science и др.).

- Общият брой на забелязаните цитирания на научните трудове е **19 бр.**, от които в списания, реферирани по **Scopus** и **Web of Science**, **17 бр.**

Научна активност:

- Общият брой на участията в научни форуми е **23 бр.**, от които **18 бр.** след присъждане на ОНС „Доктор“ (9 орални презентации; 9 постера).

Справка за приносите по научни направления

НАПРАВЛЕНИЕ I. Патологоанатомична характеристика на промени в животинския организъм, предизвикана от приемане на токсични вещества и други.

Монографията „Патологоанатомична характеристика на отравяния при домашните животни“ обобщава данни за патогенезата, клиничната изява, патологоанатомичната находка и диагностицирането на някои от често срещани отравяния при домашните животните. Използвани са 177 научни източника и почти десетгодишен научен и практически опит на автора в тази област, част от които са публикувани различни научни трудове. Интерпретирани са известни и нови данни, касаещи някои аспекти на токсикологичните ефекти при специфични отравяния, изразяващи се на клетъчно, тъканно и органно ниво. Акцентирано е на правдиво отразяване на патоморфологичните - макроскопските и микроскопските промени при конкретни интоксикации. Представени са систематизирано начина подбор и правилно взимане и проби, по време на патологоанатомичното изследване, за токсикологичен анализ и поставяне на дефинитивна диагноза. Разгледани са някои диференциално-диагностични варианти за съпоставка между отравянията и други заболявания.

В книгата „Патоморфологични и фармакологични проучвания за протективно действие на биологичноактивни вещества на видове род *Astragalus*“ са представени и някои утвърдени и широко използвани модели на интоксикация при различни *in vitro* и *in vivo* експериментални постановки. На базата на фармакологичните и патоморфологичната ефекти в състояние на интоксикация са охарактеризирани протективните свойства на два флавоноида, изолирани от *Astragalus monspessulamus*, пречистени сапонинова фракция и смес, получени от *Astragalus glycyphyllos* и *Astragalus glycyphylloides*. Част от проучванията

са онагледени с 62 авторски макроскопски и микроскопски снимки. За интерпретацията са използвани 281 научни източника.

НАПРАВЛЕНИЕ II. Патологоанатомични и фармакологични проучвания на проби от растителен произход.

‡ Оригинални научни приноси

1. Доказано е, че в *in vivo* модел на експериментално индуциран диабет тип 2 върху спонтанно хипертензивни плъхове пречистена сапонинова смес (ПСС) от *A. glycyphylloides* подобряват гликемичния, чернодробния и антиоксидантния статус на животните. Чрез *in silico* методи се установява, че ПСС могат да бъдат източник на потенциални водещи структури за PPAR γ -опосредствана превенция и лечение на метаболитен синдром [Публ. №2: Al Sharif et al., 2019].
2. Установени са невропротективни и антиоксидантни ефекти *in vitro* на пречистена сапонинова смес, получена от *Astragalus glycyphylloides*, сравнима с тази на силибин, при модел на интоксикация с 6-OHDA [Публ. №3: Kondeva-Burdina et al., 2019].
3. Оценена е *in vitro/in vivo* антипролиферативна/антитуморна активност на пречистена сапонинова смес (PSM), получена от *Astragalus glycyphyllos*. Жизнеспособността и пролиферативната активност на миелоидните туморни клетки на Graffi е оценена чрез МТТ тест. Морфологичните изменения са установени и анализират чрез флуоресцентна микроскопия след двойно интравитално оцветяване. *In vivo* модел на хамстери, с индуциран тумор на Graffi, е използван за изследване на влиянието на PSM върху трансплантируемостта, туморния растеж, преживяемостта и смъртността, както и за проследяване на патоморфологични промени. Третирането с PSM предизвиква статистически значимо намаляване на жизнеспособността/пролиферацията на туморните клетки на Graffi, като тези ефекти са зависими от концентрацията и времето. Изследванията с флуоресцентна микроскопия показват, че антипролиферативни ефекти

са свързани с индуцирането на апоптоза. Проучването показва, че PSM показва *in vitro/in vivo* антипролиферативни/антитуморни ефекти [Публ. №4: Georgieva et al., 2021].

4. Доказано е, че екстракта от плодовете на *Sophora japonica* (FSE) потенциира възстановяването на засегнатите кости по начин, подобен на золедроновата киселина (ZA) при новозеландски бели зайци в състояние на експериментално индуцирана остеопороза чрез овариохистеректомия. Установено е, че FSE стимулира остеобластогенезата и образуването на костна тъкан чрез поддържане на калциево-фосфорната хомеостаза и чрез увеличаване на костната минерализация. Въз основа на резултатите от *in silico* изследване, се предполага, че свързващия афинитет на съставките на FSE, генистин и даидзин, с естрогенни рецептори (ER) също може да бъде причина за подобряващи естроген-подобни ефекти на екстракта от плодовете на *Sophora japonica* [Публ. №7: Chakuleska et al., 2022].
5. Установени са *in vitro* и за първи път *in vivo* антиоксидантните и хепатопротективните ефекти на алцесефолонин (AF), получен от *Astragalus monspessulanus*. Доказа се, че AF притежава антиоксидантна активност в *in vitro* модел на Fe²⁺/AA-индуцирана липидна пероксидация в изолирани чернодробни микрозомни и *in vivo* хепатопротективна активност срещу CCl₄-индуцирано чернодробно увреждане при плъхове. На базата на неговата фенолна природа, AF е способен да стабилизира свободните радикали чрез даруване на електрони и по този начин да поддържа целостта на хепатоцитната мембрана и да възпрепятства навлизането на токсични вещества или ксенобиотици. Изследваното вещество, подобно на силимарина, може също да повлияе на вътреклетъчния глутатион, който предотвратява липидната пероксидация на мембранните структури [Публ. №8: Kondeva-Burdina et al., 2022].
6. Установена е общата инхибиторна активност върху човешкия рекомбинантен MAO-B (hMAO-B) ензим на 2,5-дизаместените 1,3,4-оксадиазоли 3a-3k и хидразонови аналози 5a-5m. Определени са техните биохимични параметри като производство на малондиалдехид (MDA) и ниво на редуциран глутатион (GSH) в мозъчен хомогенат на мишка в модел на Паркинсон-подобно увреждане чрез експозиция на Rotenone.

Доказано е, че съединения, 3a и 3d притежават ефективни статистически значими инхибиторни ефекти върху hMAO-B. Съединение 3a има по-голям ензимен инхибиращ ефект в сравнение с 3d, проявявайки полуинхибиторна концентрация (IC_{50}) от 0,55 μ M след 2 часа експозиция. Ефектът му е много близък до този на сelegилин (IC_{50} е 0.32 μ Mq), поради което е тестван *in vivo*, при модел на Ротенон-индуциран паркинсонизъм при мишки. Установи се, че 1,3,4-оксадиазоловото производно 3a притежава статистически значим невропротективен ефект. Въз основа на патохистологичната находка се констатира, че 3a има изразен невропротективен ефект, изразяващ се в запазване на хистоархитектониката на средния мозък и липса на дегенеративно-некротични изменения. [Публ. №10: Karabelyov et al., 2023]

7. Доказано е, че *in vitro/in vivo* обезмасленият екстракт и фенолната фракция от *Phlomis tuberosa* не водят до хепатотоксичност и притежават хепатопротективни свойства, приложени съответно самостоятелно и в модел на метаболитна биоактивация, индуцирана с тетрахлорметам (CCl_4). Установени са няколко флавоноида, както и вербаскозид в екстракта и фенолната фракция чрез три различни HPLC анализа. Приложени самостоятелно, вещества не притежават концентрационно-зависима токсичност върху хепатоцитите. В състояние на комбинация с CCl_4 , както екстрактът, така и фенолната фракция показват зависим от концентрацията, статистически значим цитопротективен ефект *in vitro*. При *in vivo* изследванията с CCl_4 -индуциран модел на хепатотоксичност при плъхове както биохимично, така и патохистологично се установи статистически значим хепатопротективен ефект на екстракта, съизмерими с тези на силимарина [Публ. №11: Kondeva-Burdina et al., 2023].
8. Доказано е, че мауритианинът, получен от надземните части на *Astragalus monspessulanus subsp. monspessulanus*, при *in vivo* експериментални постановки, чрез самостоятелно приложени и в модел на интоксикация с тетрахлорметан (CCl_4), притежава хепатопротективни, невропротективни и нефропротективни ефекти. Патологоанатомичната оценка констатира по-добър протективен ефект сравним с този на силимарина, на базата на липса на токсични изменения в хепатоцитите, както и на

алтернативни и хемодинамични промени в мозъка и бъбреците [Публ. №12: *Manov et al.*, 2023].

НАПРАВЛЕНИЕ III. Клинична и патоморфологична оценка на заразни и незаразни заболявания при домашни и отглеждани в плен животни.

‡ Оригинални научни приноси

1. За първи път е установен и описан едностранен семином в дифузна форма при танцуваща Евроазиатска кафява мечка (*Ursus arctus*). Подобно на повечето домашни животни, се касае за доброкачествено образуване, което не води до клинични признаци на заболяване и промени в общото състояние на животното. Орхиектомията в настоящия случай при мечка се явява достатъчна интервенция за предотвратяване на последващи усложнения на неопластичното заболяване [Публ. №5: *Popov*, 2021].
2. Доказано е, на базата на следсмъртно хистологично изследване, че надбъбречната жлеза на възрастна мъжка кафява мечка (*Ursus arctus*) притежава съобщества от ендокринни клетки в капсулата, която е описана само в надбъбречната жлеза на кон. Установено е също, че във външната кортикална зона на паренхима жлезните клетки образуват дъги, които наподобяват формата и височината при жлезите на кучето. Останалите вътрешни кортикални зони и медулата са разположени подобно на тези на говежди, конски, свински, кучешки и човешки надбъбречни жлези и не показват структурни особености [Публ. №6: *Sapundzhiev et al.*, 2021].
3. Чрез патоморфологични, образни и микробиологични изследвания са установени лобуларна ексудативна пневмония и зонална интерстициална фиброза със супрамилиарни калцификации и единични обширни осифицирани зони при 58-годишен женски индийски слон (*Elephas maximus indicus*), отглеждан в зоопарк. В мускулатурата на матката е констатиран неопластичен процес, а на ендометриума

катарално-гнойно възпаление. Резултатите от направените микробиологични изследвания показват вероятно развитие на микоза в белите дробове и матката на слоницата, с причинител *Penicillium oxalicum*. Получените резултати не са описани в наличната световна литература за диви, циркови и зоопаркови представители на семейство Слонови [Публ. №13: *Popov et al.*, 2023].

4. На базата на ретроспективен анализ на орални лезии при кучета и котки за периода 2018 – 2022 год. е установено, че при изследваните кучета преобладават неопластичните формации, като съотношението между доброкачествени и злокачествени е приблизително еднакво. Фиброматозен епулис е най-честият доброкачествен тумор, наблюдаван главно при кучета на средна възраст до възрастни. От злокачествените тумори при кучетата е установено, че преобладава злокачественият меланом, който се наблюдава предимно при кучета над 10 години. Вторите по честота злокачествени орални тумори при кучета са фибросаркомите, които се диагностицират главно при кучета в напреднала възраст, но под 10 години. Констатирано е, че доброкачествените неоплазии при кучета са преобладавали при мъжките, а злокачествените тумори при котките са преобладавали при женските. При котките туморите и тумороподобните лезии са с приблизително еднаква честота. Лимфоплазмоцитният гингивит е основната неопластична лезия, която може да се наблюдава в широк възрастов диапазон. Плоскоклетъчният карцином е най-честата неоплазия в устната кухина при изследваните котки, която е установено главно при възрастни представители [Публ. №14: *Popov*, 2024].

‡ Приноси с потвърдителен характер

5. Установени са патоморфологични изменения, в сърцето, белите дробове и бъбреците при кучета с високостепенна сърдечна диروفилария. Макроскопски е констатирано дясностранно разширение на сърцето, дилатация на белодробни артерии и единични петехиални кръвоизливи в белите дробове. При патохистологично изследвания основните изменения, които бяха констатирани, а именно дегенеративни промени в белодробните артерии, удебеляване на

белодробните клапи, интерстициални реакции в белите дробове и отлагания на протеинови преципитати в бъбреците, потвърдиха резултатите от предишни изследвания на други автори [Публ. №9: *Rafailov et al.*, 2022].

6. Чрез ретроспективен анализ на 206 случая на лезии на устната кухина при съответно 126 кучета и 80 котки, изследвани цитопатологично и патохистологично, за периода от 2018 до 2022 год., са оценени разпространението, предразположението към възрастта, пола и породата на оралните тумори и тумороподобни лезии. Констатирано е, че при кучетата преобладават злокачествените тумори, главно меланоми и фибросаркоми, а при котките туморите и тумороподобните образувания в устната кухина са с приблизително еднакво разпространение, като преобладават съответно лимфоплазмоцитният гингивит и плоскоклетъчният карцином, потвърждаващо изследванията на други автори [Публ. №14: *Popov*, 2024].

НАПРАВЛЕНИЕ IV. Изследвания с научно-приложен характер.

1. Разработеният комбиниран *in silico* протокол позволява в ранен етап да се предскаже потенциалът за антидиабетно действие на сапонини от *A. glycyphylloides* чрез модулиране на активността на протеина PPAR γ . Изследването позволява да бъде направена предварителна оценка на фармакологичната активност на сапонини от олеананов тип и техните възможни метаболити, което спомага за по-ефективната приоритизация на потенциални терапевтични молекули за последващи анализи [Публ. №10: *Al Sharif et al.*, 2019].
2. Проведените фармакологични и патологоанатомични изследвания с биолгичноактивни вещества от растителен произход, доказващи добре изразена протективна активност, са предпоставка за разработване на фитопродукти в бъдеще и приложението им в хуманната и ветеринарно-медицинската практика [№№1-3; №5, №№8-13, №15, №33].

3. Чрез вагиноскопия, която е бърза и проста техника, е получен клетъчен материал от крави, порода Холщайн. Приложеният цитологично диагностичен подход е полезен, както при изследване на интактно, така и при инфектирано влагалище (матка). Резултатите показват ясна връзка между цитологично установеното възпаление (повишен брой неутрофилни левкоцити) и нарушената репродуктивната функция. Получената информация може да бъде от полза на ветеринарния гинеколог и патоморфолог за бърза цитологична диагностика на репродуктивния тракт [Публ. №1: *Dimitrov et al., 2016*].

4. Установените благоприятни ефектите на екстракта от пловете на *Sophora japonica* (FSE) върху загубата на костна тъкан, при експериментално индуцирана остеопороза при зайци, чрез овариохистеректомия, предполагат, че той може да бъде доразвит като потенциално средство за превенция на постменопаузални остеопоротични усложнения [Публ. №7: *Chakuleska et al., 2022*].

5. Установените невропротективни ефекти в модел на Ротенон-индуциран паркинсонизъм при мишки и извършените докинг проучвания разкриват, че новите синтетични структури 3a и 3d са добре приспособими към рекомбинантния MAO-B ензимен рецептор и могат да бъдат полезни при разработването на лекарства за неврологични разстройства. [Публ. №10: *Karabelyov et al., 2023*]

29.04.2024

Изготвил:


/гл. ас. Георги Попов, двм/