



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013  
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА  
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ“

BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

**ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ  
НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ,  
СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ  
В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ  
И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ.**

*Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд“*

**ПРИЛОЖЕНИЕ № 18**

**Бенефициент:**

Институт по биология и имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов"

Адрес: София 1113, бул. Цариградско шосе, № 73

Телефон: +359 2 971 13 95

Факс: +359 2 872 00 22

Мейл: [doktoranti.biotech@gmail.com](mailto:doktoranti.biotech@gmail.com)

Уеб адрес: [www.esf.ibir.bas.bg](http://www.esf.ibir.bas.bg)

**Партньори:**

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“, Биологически Факултет,

Химикотехнологичен и металургичен университет, катедра „Биотехнология“

Проген ООД

**Индивидуална учебна програма/план за представителите на целевата група<sup>1</sup>**

Веселин Петров Василев

Ръководител на дейност – доц. Павел Рашев

1. Цели на учебната програма/план

ЦЕЛ:

**Биохимичен анализ на някои показатели от змийска отрова от двата подвида пепелянка – *Vipera ammodytes ammodytes* и *Vipera ammodytes meridionalis* и влиянието им върху репродуктивните функции (процес) и ембриогенезата при мишки.**

В България се срещат няколко вида отровни змии като най голям интерес от медицинска и биологична гледна точка представляват двата подвида на шипоносата пепелянка, а именно *Vipera ammodytes ammodytes* и *Vipera ammodytes meridionalis*. Според последни

---

<sup>1</sup> Учебната програма/план е индикативна и може да бъде променяна според целите на проекта

изследвания от екипи на БАН и Софийския университет се изясни, че освен фенотипно, двата подвида се различават и по своите токсикологични характеристики. Отровата на първия подвид е основно хемотоксична, докато на втория притежава подчертано невротоксично действие, благодарение на еволюционно по – съвършения комплекс от ензими и белтъци – Випоксин. В световен мащаб змийските ухапвания представляват сериозен проблем, както при хората, така и при домашните животни. За съжаление отровата като биологичен феномен е все още не добре проучен и разработен проблем при повечето видове отровни змии. Проблемът се състои в това, че фармакологичното действие се дължи от една страна на букета от биологично активни субстанции, съдържащи се във всяка една отрова, и от друга в обстоятелството, че едни от тях са еволюирали до степен да атакуват конкретна система, орган или тяхна функция, а други оказват системно въздействие върху целия организъм, освобождавайки биологично активни вещества с ендегенен произход водещи до натрупване на продукти от междинната обмяна и до разстройства в съдовия тонус, функцията на сърцето и развитието на анафилактичен шок.

Основен интерес и акцент на настоящите изследвания е ембриотоксичното действие на отровите и влиянието им върху репродуктивния процес при мишки като модел за стандартизиране на този аспект на токсичност при двата подвида на пепелянката. Поради факта, липсват задълбочени медицински изследвания, касаещи токсичността на нашите видове отровни змии, се наложи да бъдат проучени основните биохимични аспекти на фармакологично и имунологично действие на отровата, както и патоморфологичните нарушения, наблюдавани при опитните животни, третирани с отрова от двата подвида.

Идеята на настоящото проучване е да разгледа въпросите като например как отровата от двата подвида на пепелянката, както и някои компоненти от цяла отрова, в различни концентрации, въздействат върху фетусите в различните фази от ембрионалното им развитие, преминават ли основните токсични съставки плацентарната бариера, а също ефективно ли ще е прилагането на противозмийски серум за предотвратяване тератотоксичните ефекти и на ембрионалната смъртност, като от фундаментално значение също е и зависимостта на манифестираните нарушения от дозата на токсина и каква част като концентрация от  $DL_{50}$  на цялата отрова е количеството на биологично активната субстанция при което се регистрират описваните ефекти.

## 2. Теоретична подготовка

### 2.1. Тема 1 „Получаване на ембриони за експериментални цели”

Съдържание брой часове/занятия: 15 часа

### 2.2. Тема 2 „Съвременни методи за оценка на количествени и качествени показатели на сперма при животни и човека”

Съдържание брой часове/занятия: 22 часа

### 2.3. Тема 3 „Обучение за извършване на секвенционен анализ и генотипиране с автоматичен ДНК секвенатор”

Съдържание брой часове/занятия: 49 часа

### 2.4. Тема 4 „Адаптивен имунитет”

Съдържание брой часове/занятия: 21 часа

### 2.5. Тема 5 „Инфекциозен имунитет. Имуни терапии”

Съдържание брой часове/занятия: 16 часа

### 2.6. Тема 6 „Дигитални изображения – получаване, обработка, съхранение”

Съдържание брой часове/занятия: 15 часа

### 2.7. Тема 7 „Животински модели в репродуктивната биология и ендокринология”

Съдържание брой часове/занятия: 15 часа

2.8. Тема 8 „Идентифициране на биомаркери в перитонеална течност чрез DIGE”

Съдържание брой часове/занятия: 18 часа

2.9. Тема 9 „Туморна имунология”

Съдържание брой часове/занятия: 15 часа

2.10. Тема 10 „Имунохистохимични и ензимологични методи за оценка на туморите”

Съдържание брой часове/занятия: 18 часа

2.11. Тема 11 „Методи за качествено и количествено определяне на протеолитичната активност на ензимите”

Съдържание брой часове/занятия: 15 часа

2.12. Тема 12 „Пролиферация и апоптоза на туморни клетки”

Съдържание брой часове/занятия: 16 часа

### 3. Практическа подготовка/изследвания

Бяха изпълнени следните задачи:

1. Извършен бе биохимичен анализ на отровата от двата подвида по следните показатели:

а) определяне съдържание на общ белтък в единица сухо вещество [ По метода на Smith (анализ с бицинхонинова киселина – BCA)]

б) измерване съдържание на въглехидрати [ Чрез високочувствителен фенол-сърно киселинен колориметричен метод (по Takeuchi Kojo at al.)]

в) определяне на протеазната активност на цяла отрова[ Анализ с азоказеин за определяне протеазния профил в биологични екстракти.]

г) определяне на фосфолипазната активност на цяла отрова. [Воден, крайноточков анализ]

2. Направена бе токсикологична характеристика.

а) определи се LD<sub>50</sub> на отровата от двата подвида; [ Метод на Личфилд - Уилкоксон]

б) проучена бе хемотоксичната активност на отровата от двата подвида по следните показатели:

- изследвани бяха хемолитичните свойства на отрова от двата подвида in vitro при различни видове домашни животни – овца, говедо и кон:

→ пряка хемолиза;

→ непряка хемолиза;

- установи се повлияването на кръвосъсирващата система, след въздействие с отрова от двата подвида, чрез отчитане на промените в активността на факторите на кръвосъсирване in vitro при различни видове домашни животни – овца, говедо и кон:

→ промените в РТ ( протромбиново време);

→ промените в ТТ( тромбиново време);

→ промените в АРТТ (активирано парциално тромбoplastиново време)[използван бе коагулометър, едноканален, оптичен - Coatron M1, Teco Medical Instruments (Austria).]

в) направен бе патоморфологичен профил на измененията в различните органи на опитните животни, третирани с отрова от двата подвида;

3. Проведен бе имунологичен анализ с цел определяне токсикокинетиката и разпределението на субстанцията – Випоксин, характеризиращ невротоксичната активност на подвида *Vipera ammodytes meridionalis*, в различни органи и тъкани при опитни животни, чрез използване на метода имуоблот ( уестърнблот) [Натриев додецилсулфат полиакриламидна гел електрофореза (SDS-PAGE)]

Предстои да се проучи въздействието на отровата върху репродуктивния процес, ембриогенезата и да се установява наличието и степента на тератогенност чрез третиране на бременни мишки на даден етап от бременността с различни дози от двата подвида.

#### 4. Очаквани резултати (целите да са съобразени с целите на ОП РЧР)

- Ще бъдат посетени лекциите и практическите занимания, организирани по проекта;
- Получените резултати ще бъдат представени на научни форуми в България и чужбина;
- Ще бъдат подготвени научни публикации, които ще бъдат отпечатани в научни списания;
- Ще бъдат придобият нови знания и умения от посетените курсове по различните дисциплини;
- Ще се разкрият нови възможности за сътрудничество с колеги, работещи в подобни направления;

Съгласувал:.....

(доц. Павел Рашев)

Изготвил:.....

(Веселин Василев)