



ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ
СТАРА ЗАГОРА

7.5.1_OD_4.2.1
unisz-iso.org
uni-sz.bg

Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

ФОРМУЛЯРИ

**КОНКУРС ЗА НАУЧНИ ПРОЕКТИ (СУБСИДИЯ МОМН)
2013 ГОД.**



ПРЕДЛОЖЕНИЕ ЗА ФИНАНСИРАНЕ НА ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТ

Конкурс		Вх. Номер	
Научно-експертна комисия		Е-код	
Тема на проекта:			
Изследване антиадипогенните ефекти на омега n-3 полиненаситени мастни киселини (PUFAs) <i>in vitro</i> върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.			
Продължителност на проекта	2 години	Обща стойност на проекта (лв.):	6 150 лв.
		Сума за първата финансова година (лв.):	3 650 лв.
Ръководител на проекта		Професор, двмн (звание, степен)	
Георгиев (фамилия)	Иван (име)	Пенчев (презиме)	
Адрес за контакти (служебен)	Стара Загора (населено място)	6 0 0 0 (пощенски код)	
ул.	Студентски град, Тракийски университет, Стара Загора		№
тел.:	042/699 629	телекс:	iv_p63@yahoo.com
факс:		E-mail:	
(подпис)			



Вх. _____
Номер: _____

Ръководител на проекта (звание, степен, фамилия, име, презиме)
ПРОФЕСОР, ДВМН, ГЕОРГИЕВ, ИВАН ПЕНЧЕВ

Тема на проекта

Проучване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситени мастни киселини (PUFAs) *in vitro* върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.

Резюме: изследователски цели, задачи, използвани методи, очаквани резултати (до 200 думи):

Основна изследователска цел на настоящия проект е разработването на *in vitro* модел върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци. В изпълнение на тази цел са поставени следните задачи:

1. Получаване на костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) от зайци. Намножаване на клетките и получаване на достатъчно количество клетъчна маса, необходима за предстоящите проучвания.

2. Индукция на заешките мезенхимни стволови клетки (MSCs) и диференциацията им в преадипоцити и адипоцити.

При пълно финансово обезпечаване на проекта следваща цел ще бъде изследване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини (PUFAs) върху диференцирани в зрели адипоцити стволови клетки. За постигането на тази цел са поставени следните задачи:

1. Разработване на експериментален модел за третиране на диференцираните клетъчни култури с различни концентрации еукозапентаенова и декозахексаенова ω -3n полиненаситени мастни киселини и установяване на момента на максимална експресия на таргетните гени-тайминг експеримент.

2. Анализ на получените резултати и оценка в сравнителен аспект на използваните за третираната омега n-3 полиненаситените мастни киселини.

3. Проучване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини при комбинираното им използване, в зависимост от момента на максимална експресия на таргетните гени и съответната концентрацията на мастните киселини, върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.

За постигане целите на проекта ще бъде въведен протокол за размножаване и поддържане на адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци. Проследяване промяната в експресията на таргетните гени в резултат на третираната ще бъдат използвани молекулярни методи като RT-PCR. Експерименталната работа ще бъде изведена изцяло в базата на ЦНИЛ към Тракийски университет.

Ключови думи: зайци, MSCs, адипоцити, антиадипогенни свойства, ω n-3 PUFAs



ОПИСАНИЕ НА ПРОЕКТА

1. Въведение

През последните 10-15 години затлъстяването и свързаните с него хронично протичащи заболявания като диабет тип 2, дислипидемия, атеросклероза и хипертензия нарастват в световен мащаб. В основата на метаболитните нарушения при тези заболявания стои едно преходно състояние известно като метаболитен синдром. Голямо значение от гледна точка на диетологията има качеството на мазнините в храната и в частност съдържанието на дълго-верижните омега 3 поли-ненаситени мастни киселини (LC-PUFAs-long-chain polyunsaturated fatty acids) - декозахексаеновата (DHA-docosahexaenoic acid; C22:6n-3) и еукозапентаеновата EPA (eicosapentaenoic acid; C20:5n-3). Тези киселини се намират в големи количества в мастната тъкан на морските и океански видове риби, както и във водораслите. Някои автори установяват, че те повлияват плазмените нива на триглицеридите (ТАГ) и липопротеините с висока плътност (HDL-high-density lipoprotein), с което до голяма степен се обяснява протективното им действие по отношение на сърдечно-съдовите заболявания, като едновременно с това стимулират противовъзпалителните свойства на организма [Ruxton et al., 2004].

Мастната тъкан е сложна и динамична система, чиято основна функция от една страна е складирането на енергия, а от друга, оказва значително влияние върху метаболитните процеси в целия организъм чрез секретиранията от нея биологично-активни вещества, наречени адипокини [Wozniak et al., 2009]. Тази тъкан се поддържа чрез добре контролиран баланс между процесите на пролиферация на клетките (хиперплазия) и нарастването на размера им (хипертрофия). Хипертрофията на адипоцитите е резултат от поглъщането екстра-целуларни мастни киселини и складирането под формата на богати на триацилглицероли мастни капчици в цитозола на клетката. През последните години са проведени редица изследвания, които показват главната роля на мастната тъкан в развиването на метаболитния синдром [Laclaustra et al., 2007; Slawik and Vidal-Puig, 2007; Dodson et al., 2011]. Това от своя страна дава възможност за намаляване негативните последици от затлъстяването чрез модулиране секреторната функция на тази тъкан посредством n-3 LC-PUFAs.

Мезенхимните стволови клетки (MSCs) са хетерогенна подгрупа на стромални стволови клетки, които могат да бъдат изолирани от различни тъкани при възрастните. Костния мозък



съдържа хемопоетични стволови клетки, а също така е и доказан източник на мезенхимни стволови клетки. Тези клетки са мултипотентни, и следователно могат да се диференцират в родове от мезодермално естество като адипоцитите, остеоцити, миоцити и нервните клетки [Minguell et al., 2001; Zandstra and Nagy, 2001; Ballas et al., 2002; Jiang et al., 2002; Gronthos et al., 2003; Winter et al., 2003; Barry and Murphy, 2004; Huang et al., 2005; Uccelli и др., 2008]. Стволови клетки, получени от костния мозък се намират в стромата на костно-мозъчното вещество и са обещаващ алтернативен източник на клетки за инженеринг на мастната тъкан. Тези стволови клетки могат да бъдат лесно получени, лесно пречистени и лесно да се манипулират в лабораторни условия. Стволовите клетки са потенциално неизчерпаем източник на клетки за тъканно инженерство, като по този начин, изследванията в използването на стволови клетки за производство на мастната тъкан става все по-популярна [Choi et al., 2005; Mauney et al., 2005; Neubauer et al., 2005]. Използването на стволови клетки също така увеличава възможността на изследователите да определят и контролират клетъчните елементи. Отгледани *in vitro* стволовите клетки от костен мозък проявяват морфология на фибробласти. В допълнение към способността им да се диференцират в множество родове клетки, използването на стволови клетки от костен мозък е изгодно, защото броят на клетките може да бъде значително увеличен чрез рекултивиране на една малка извадка от донорска тъкан [Minguell et al., 2001; Barry and Murphy, 2004].

Предимството на изолирането и диференцирането на зрели адипоцити от костно-мозъчни стволови клетки е в това, че могат да се обхванат **видово-специфичните** особености в динамиката на метаболитните процеси на мастната тъкан на клетъчно ниво. Това е предпоставка за по-адекватен и по-обективен анализ при съпоставяне на данните от *in vitro* и *in vivo* експерименти.

Ключов момент в процеса на диференциация на пре-адипоцитите в зрели адипоцити е формирането на мастни капчици в цитоплазмата на клетките. Този процес се иницира и регулира от един основен адипогенен транскрипционен фактор, какъвто е peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) [Schoonjans et al., 1996], които спадат към групата на хормоналните ядрени рецептори [Feige et al., 2006] и са ключови регулатори в липидния и карбохидратен метаболизъм. Поддържането на мастните капчици в зрелите адипоцити е ензимно-зависим процес, чиито резултат е балансът между активността от една страна на липопротеинлипазата (LPL), детерминираща навлизането на ТАГ в клетките, а от друга на преобладаващите ензими, имащи отношение към извеждането на ТАГ от нея като мастната



триглицерид-липаза (adipose triglyceride lipase - ATGL известна още като деснутрин и Pnpla2) и хормон-зависимата липаза (hormone sensitive lipase-HSL, известна още като Lipe) [Lafontan and Langin, 2009; Ahmadian et al., 2009; Zimmermann et al., 2004]. Активността на липолитичните ензими, отговорни за извеждането на ТАГ от клетката, е субординирано на взаимодействието им с един протеин, изграждащ скелето на мастните капчици - Perilipin A (a lipid droplet scaffold protein) [Brasaemle et al., 2000]. Докато промените в експресия на HSL имат ограничено влияние върху размера на мастните капчици, то активността на ATGL е пряко свързана с тяхната големина, независимо от активността на Perilipin A [Miyoshi et al., 2008]. Проследяването на RNAi неочаквано разкри зависимостта на размера на мастните капчици от експресията на протеин, свързан с апоптозата на клетките (cell death-inducing DFF45-like effector domain containing protein-Cidea)[Puri et al., 2008]. При мишките Cidea, описан като свързан с митохондриите протеин, имащ негативно регулиращо влияние върху липолизата, засилвайки нарастването на размера на мастните капчици. Както Perilipin A, така и Cidea се регулират на транскрипционно ниво от PPAR γ , демонстрирайки важността на този механизъм в процесите на формиране и нарастване на мастните капчици в адипоцитите [Arimura et al., 2004; Viswakarma et al., 2007]. В зависимост от дължината и степента на ненаситеност на мастните киселини се предполага, че те оказват влияние върху експресията на регулираните от PPAR γ гени, като по този начин имат отношение и към формирането на мастните капчици в хода на диференциацията на адипоцитите [Bernlohr et al., 1997; Takahashi et al., 1999]. За EPA е известно, че е агонист и регулатор за експресията на гена за PPAR γ [Chambrier et al., 2010], а също така и че продължителното третиране с EPA изглежда потиска експресията му в някои мастни депа.

Богата на EPA храна понижава количеството на мастната тъкан и потиска развиването на затлъстяване при плъхове [Rustan et al., 1993]. По отношение на самите адипоцити за EPA е известно, че индуцира експресията на гени, свързани с биосинтетичните процеси в митохондриите и оксидативния метаболизъм, повишавайки катаболизма на липидите [Flachs et al., 2005; Flachs et al., 2009]. Освен това, EPA има отношение и към синтеза на някои противовъзпалителни адипокини [Flachs et al., 2009]. Такива адипокини са лептина и адипонектина. Те се секретират от мастните клетки, постъпват в кръвообращението и през последните години са окачествявани дори като хормони. Те подобряват инсулиновата чувствителност [Kamohara et al., 1997; Yamauchi et al., 2001], въпреки, че данните относно плазмените им концентрации и отлагането им в адипоцитите са противоречиви. Така например



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

нивата на лептина се повишават при затлъстяване, а на адипонектина се понижават [Arita et al., 1999]. Нещо повече, адипонектина действа против развитието на склероза на артериалните съдове и се определя като „добър” хормон [Kumada et al., 2003]. В последните години се установи, че съотношението лептин/адипонектин (L/A) би могло да се използва като добър маркер за метаболитно заболяване [Satoh et al., 2004; Kotani et al., 2005]. Установено е, че в действителност, съотношението лептин/адипонектин корелира в много по-голяма степен с инсулиновата резистентност, отколкото нивата на двата хормона поотделно [Inoue et al., 2005; Inoue et al., 2006]. Съотношението L/A е важен индикатор за затлъстяване и би могло да бъде използвано като маркер за напредването на артериалната склероза, защото нивата на двата хормона се менят в противоположна посока и зависят от количеството на телесната мазнина [Oda et al., 2008]. Най-нови изследвания разкриват, че в клетъчни култури от човешки адипоцити, на 48-я час след началото на третирането EPA и DHA покачват секрецията на адипонектин с 88% и 47% респективно [Tishinsky et al., 2011].

2. Изследователски опит на ръководителя на проекта в областта:

Изследователският колектив има предварителни данни от текущ научен проект, в който се изследва ефекта на омега-3 мастните киселини и рестриктивното хранене върху някои показатели на липидния метаболизъм и глюкозната хомеостаза при зайци с експериментално провокирано затлъстяване. Омега-3 мастните киселини се дават под формата на рибено и крилово масло. Получените до този момент резултати по проекта показват, че третирането с рибено и крилово масло води до значително редуциране на живата маса и в по-малка на мастната тъкан. Намерено е също така, че добавянето на рибено и крилово масло води до известно подобряване на глюкозния толеранс и до намаляване на концентрацията на глюкозата в кръвта на гладно. Предстои да бъде проучен техният ефект върху липидния метаболизъм, вкл. и по отношение влиянието на рибеното и криловото масло върху експресията на някои гени в черния дроб и мастната тъкан, кодиращи синтезата на ензими, ангажирани в липогнезата, липолизата и β -оxygenието. Освен това, в секцията имат друг текущ индивидуален проект с ръководител д-р Екатерина Вачкова, чиято цел е разработване на методика за диференциране на адипоцити от фибробластни клетки и използването им като *in vitro* модел за изследване на антиадипогенните свойства на омега-3 PUFAs. Поради твърде ограниченото финансиране на този проект и в зависимост от получените резултати, в сътрудничество с д-р Дарко Бошнаковски от Медицинския факултет на Университета „Гоце Делчев”, в гр. Шип, Македония са предвидени изследвания в следните направления: 1) прилагане на протокол за изолиране на



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

мезенхимни стволови клетки от костен мозък на зайци; 2) валидиране на методи за размножаване и диференциране на мезенхимни стволови клетки в зрели адипоцити и използването им в заложените и описани подробно по-долу в настоящия проект изследвания. Тези изследвания ще бъдат в рамките на краткосочна научна визита по линия на COST акция TD-1101 – RGB-NET, в която с д-р Вачкова сме избрани за членове на Управителния съвет (Management Committee).

В други наши изследвания върху затлъстели зайци сме установили, че третирането с антиоксиданти води до подобряване както на липидния профил (намаляване концентрацията на триглицеридите и общия холестерол), така и на някои аспекти от глюкозната хомеостаза – подобряване на глюкозната толеранс и инсулиновата чувствителност.

Независимо от многобройните изследвания през последните години все още молекулните механизми, чрез които ЕРА и ДНА повлияват размера на адипоцитите и образуването на мастните капчици в тях както и ефекта им върху секрецията на адипокините са все още твърде слабо проучени. Ето защо се налага необходимостта от провеждането на експеримент, чрез който да се изясни и обобщи ефектът от прилагането на n-3 LC-PUFAs върху адипоцитите, главно като основа за по-добро разбиране на механизма на тяхното действие, както и за използването им в превенцията и лечението на метаболитен синдром.

3. Цел и задачи на проекта

Основна цел на настоящия проект е въвеждането на *in vitro* модел върху заешки адипоцити. В изпълнение на тази цел са поставени следните задачи:

1. Получаване и размножаване на стволовите клетки и диференцирането им в преадипоцити.
2. Диференциране на преадипоцитите в адипоцити.

При пълно финансово обезпечаване на проекта следваща цел ще бъде изследване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини (PUFAs) върху диференцирани в зрели адипоцити стволови клетки. За постигането на тази цел са поставени следните задачи:

1. Разработване на експериментален модел за третиране на диференцираните клетъчни култури с различни концентрации еукозапентаенова и декозахексаенова ω -3n полиненаситени мастни киселини и установяване на момента на максимална експресия на таргетните гени-тайминг експеримент.



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

2. Анализ на получените резултати и оценка в сравнителен аспект на използваните за третираната омега n-3 полиненаситените мастни киселини.

3. Проучване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини при комбинираното им използване, в зависимост от момента на максимална експресия на таргетните гени и съответната концентрация на мастните киселини, върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.

За постигане целите на проекта ще бъде въведен протокол за размножаване и поддържане на адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци. Проследяване промяната в експресията на таргетните гени в резултат на третираната ще бъдат използвани молекулярни методи като RT-PCR. Експерименталната работа ще бъде изведена изцяло в базата на ЦНИЛ към Тракийски университет.

4. Дизайн и структура на проекта.

За постигане целите на проекта, експерименталната дейност ще бъде разделена на три последователни и взаимосвързани етапа.

През първия етап стволовите клетки ще се изолират от костен мозък на зайци и ще се размножат. Този етап е задължителен за добиване на достатъчно количество клетъчна маса, необходима за реализацията на целите на проекта. Въвеждането на методиката за работа с клетъчни култури, включва установяване и затвърждаване на основни протоколи за препасиране, приготвяне на среди за поддържане и третиране, разделяне в контейнери с различна повърхност, замразяване, изолиране на total РНК. В края на този етап, стволовите клетки ще са преминали през не повече от два цикъла на препасиране. Част от размножените клетки ще бъдат дълбоко замразени (при -80°C), и при необходимост ще бъдат използвани на по-късен етап. Останалата част от ще бъдат култивирани в продължение на няколко дни, до достигане на стадий на задържане на растежа (growth arrest), след което, ще се инициира диференциацията им в пре-адипоцити и зрели адипоцити. Така получените адипоцити ще бъдат използвани в следващия етап от експеримента.

Вторият етап на проекта е свързан с изпълнението на задачите, имащи отношение към постигането на основната му цел - изследване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини (PUFAs) върху диференцираните в зрели адипоцити костно-мозъчни стволови клетки. Предварително подготвените по описаният начин клетки ще бъдат третирани с ЕРА и ДНА в различни концентрации съответно от $50\ \mu\text{mol/l}$, $100\ \mu\text{mol/l}$, 125



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

$\mu\text{mol/l}$ и $250 \mu\text{mol/l}$. Проби от третираната ще бъдат събирани на 12-ти, 24-ти, 36-ти, 48-и, 60-ти и 72-ри час след началото на третирането. Клетките ще бъдат подложени на процедура по екстракция на обща RNA. Получените проби ще бъдат съхранени при -80°C до момента на получаване на с DNA. Получените проби ще бъдат анализирани чрез RT-PCR, за да се установи момента на максимална експресия на гените за липолитичните ензими (LPL, HSL и ATGL), факторите свързани с формирането на мастните капчици (PPAR γ 1 и 2, GLUT4, Perilipin A и Cidea) и някои адипокини (adiponectin, leptin и L/A ratio). Така предложения модел на експерименталната постановка дава възможност да се установи едновременно в кой момент след началото на третирането и при коя концентрация на съответната PUFA ефектът ще е най-добре изразен.

След анализ и преценка на резултатите от втория етап на проекта, ще се премине към изследване на комбинирано действие на EPA и DHA. Така ще се реализира и неговият последен, трети етап. По този начин ще бъде изяснено дали двете омега 3n полиненаситени киселини взаимно биха потенциирали антиадипогенните си свойства. В зависимост от резултатите от втория етап на проекта ще бъдат подбрани и съответните концентрации и продължителност на третиране на адипоцитите с EPA и DHA. От третираните клетки ще бъде екстрахирана обща RNA, която ще бъде използвана за проследяване експресията на гените за липолитичните ензими, факторите свързани с формирането на мастните капчици и адипокините, описани по-горе.

Заклучителният момент при изпълнение на задачите на проекта ще бъде насочен към вариационно-статистическата обработка на получените резултати, анализ и преценка в сравнителен аспект на антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини (PUFAs) върху диференцираните зешки адипоцити. Разработването и затвърждаването на този модел ще даде възможност и за реализация на бъдещи изследователски проекти, при които ще се стабилизират клетъчни култури от първични биопсични изолати на адипоцити от мастни депа с различна локализация и метаболизъм като кафявата и бяла мастна тъкан.

5. Съдържание на експерименталната работа

За изпълнение на поставените задачи на проекта ще бъде използвано наличното оборудване ЦНИЛ – Ректорат към ТрУ, Стара Загора. Лабораторията е високо технологично оборудвана и разполага с UV ламинарен бокс и CO 2 инкубатор, където ще бъдат изпълнявани основните протоколи по размразяване, препасиране и третиране на клетъчните култури.



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

Концентрацията на изолираната total RNA ще бъде измервана на спектрофотометър за определяне концентрациите на НК. Лабораторията разполага с RT-PCR, който ще бъде използван за получаване на cDNA. Освен това, разположението на оборудването в лабораторията, предвид последователността на протоколите за отглеждане и третиране на клетъчните култури, могат да осигурят висока степен на стерилност на работната среда, абсолютно необходима за успешното провеждане на подобен експеримент.

Във финансовия план на настоящият проект не са предвидени средства за закупуване на лабораторно оборудване.

5.3. Работни програми (РП)

5.3.1. Работна програма на проф. Иван Пенчев – ръководител на проекта

Авторът на проекта ще бъде основно ангажиран с всички етапи от провеждането на експерименталната част и обработката на резултатите, което включва:

5.3.1.1. Въвеждане на протокол за получаване на стволони клетки от костен мозък на зайци, размразяване, размножаване и замразяване на клетките.

5.3.1.2. Изготвяне на протокол за индуциране диференциацията на стволовите клетки в пре-адипоцити и адипоцити.

5.3.1.3. Изготвяне на протокол за третиране с различни концентрации на ЕРА, ДНА, ЕРА+ДНА след диференциацията на клетките.

5.3.1.4. Протокол по екстракция на total RNA – съобразно инструкциите на фирмата производител.

5.3.1.5. Протокол за RT-PCR и праймери: Съобразно методиката по която се работи в ЦНИЛ – Ректорат към ТрУ, Стара Загора.

Предложените (в таблица по-долу) праймери ще бъдат обработени чрез web-базирани програмни продукти за установяване на предвижданата дължина на PCR-продукта и препоръчителна температура на топене, след което ще бъде тествана (температурен градиент) и тяхната ефективност чрез гел-документационна система за заснемане на електрофоретичните профили. Ще бъде избран (от предложените три) и най-подходящ референтен ген (house keeping) за конкретния експеримент.

5.3.1.6. Статистическа обработка на получените резултати:

Получените първични резултати ще бъдат обработени вариационно статистически чрез софтуерния продукт Statistica v. 6.1 (StatSoft Inc., 2002). За определяне на средните стойности



(mean) и грешките на стандартните им отклонения (\pm SEM) ще бъдат използвани методите на дескриптивната статистика. При отчитане антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситените мастни киселини (PUFAs) върху върху средните стойности на наблюдаваните показатели при диференцираните заешки адипоцити ще бъде използван Post hoc анализ и LSD test, като ще бъдат взети под внимание следните три нива на статистическа достоверност: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$.

За да се определят взаимоотношенията между измененията в стойностите на експресия проследяваните гени в следствие на третиранията ще бъде използван корелационен анализ.

5.3.2. Работна програма на д-р Жения Стоянова Иванова, редовен докторант към секция „Физиология на животните” на катедра „Фармакология, Физиология на животните и Физиологична Химия, ВМФ

Участва в получаването и първичната обработка на пробите и в усвояването на протоколи за работа с клетъчни култури, изолирането на общата РНК и синтезата на комплиментарна ДНК. Отговаря за събиране и обобщаване на необходимата литература по темата, както и за обработката и анализа на получените резултати и тяхното разпространение.

5.3.3. Работна програма на ас. д-р Наталия Григорова, секция „Физиология на животните” на катедра „Фармакология, Физиология на животните и Физиологична Химия, ВМФ

Участва в получаването и първичната обработка на пробите и в усвояването на протоколи за работа с клетъчни култури, ензимната активност, изолирането на общата РНК и синтезата на комплиментарна ДНК. Участва в дизайна на праймерите и извършването на количествена RT-PCR. Отговаря за обработката и анализа на получените резултати и тяхното разпространение.

5.3.4. Работна програма на гл. ас. Пенка Йонкова на катедра «Ветеринарна анатомия хистология и ембриология», ВМФ

Отговаря за детерминирането на степента на зрелост на пре- и адипоцитите по техните морфологични характеристики чрез използване на инвертиран микроскоп, което е първостепенно значение за прилагането на различните протоколи за клетъчно култивиране.



5.3.5. Работна програма на Бояна Рашкова, Никола Назимов и Камелия Демирова-студенти:

Ангажиментите на студентите ще бъдат пряко свързани с обучение в извеждане на научен експеримент върху клетъчни култури. Основните им задължения ще са свързани с подготовка на различни хранителни среди и тяхната смяна в хода на експеримента. Ще бъде обучен и да преценяват до каква степен на размножаване трябва да достигнат клетките, за да бъдат препасирани, както и да окачествява морфологичните промени в хода на диференцицията им. Студентите ще вземат активно участие в събирането на научна литература, свързана с тематиката на проекта, а също така и в техническото оформление на бъдещи публикации на получените резултати.

6. План за управление на проекта:

Ръководителят на проекта ще съблюдава стриктно за неговото изпълнение съобразно задачите, заложи в предварителния план. Своевременното анализиране на междинните резултати, както и изготвянето на периодични отчети за изпълнение на определени етапи от проекта ще повишат ефективността на неговото управление. Успоредно с това ще се следи стриктно за изпълнението на заложения финансов план на средствата, необходими за успешното реализиране на проекта, съобразно правилата за условията и реда за планиране, разпределение и разходване на средствата, отпуснати целево от Държавния бюджет за присъщата на Тракийски университет научна дейност.

При пълно финансиране на проекта получените резултати ще бъдат публикувани в поне 2 научни статии.

7. Оценка на риска

Предвид това, че с настоящия проект се въвежда нова методика за извеждане на експеримент върху специфична клетъчна линия, бихме могли да очакваме евентуални проблеми в следните насоки:

1. Преадипоцитите не нарастват.
2. Преадипоцитите не се диференцират добре.
3. Допълнителни странични ефекти, свързани с контаминация на средата, стерилност на използваните консумативи и лабораторно оборудване.



ЛИТЕРАТУРА

Ahmadian M, Wang Y, Sul HS, 2009. Lipolysis in adipocytes. *International journal of biochemistry & cell biology*, 42(5):555-559.

Arimura N, Horiba T, Imagawa M, Shimizu M, Sato R, 2004. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulates expression of the perilipin gene in adipocytes. *Journal of biological chemistry*, 279(11):10070-10076.

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*; 257:79-83.

Ballas CB, Zielske SP, Gerson SL. Adult bone marrow stem cells for cell and gene therapies: implications for greater use. *J Cell Biochem Suppl* 2002;38:20-8.

Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(4):568-84.

Bernlohr DA, Coe NR, Simpson MA, Hertzog AV, 1997. Regulation of gene expression in adipose cells by polyunsaturated fatty acids. *Advances in experimental medicine and biology*, 422:145-156.

Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Londos C., 2000. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *The Journal of biological chemistry*, 275(49):38486-38493.

Chambrier C, Bastard JP, Rieusset J, Chevillotte E, Bonnefont-Rousselot D, Therond P, Hainque B, Riou JP, Laville M, Vidal H., 2002. Eicosapentaenoic acid induces mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Obes Res*, 10(6):518-525.

Choi YS, Park SN, Suh H. Adipose tissue engineering using mesenchymal stem cells attached to injectable PLGA spheres. *Biomaterials* 2005;26(29):5855-63.

Dodson, M. V., P. S. Mir, G. J. Hausman, L. L. Guan, Min Du, Z. Jiang, M. E. Fernyhough, and W. G. Bergen, 2011. Obesity, Metabolic Syndrome, and Adipocytes. *Journal of Lipids*, Article ID 721686, doi:10.1155/2011/721686.

Feige, J.N., et al., 2006. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Prog. Lipid Res.* 45 (2), 120-159.

Flachs P, Horakova O, Brauner P, Rossmeisl M, Pecina P, Franssen-van Hal N, Ruzickova J, Sponarova J, Drahota Z, Vlcek C., 2005. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia*, 48(11):2365-2375.

Flachs P, Rossmeisl M, Bryhn M, Kopecky J., 2009. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism. *Clin Sci (Lond)*, 116(1):1-16.

Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortessidis A, et al. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 2003;116(Part 9):1827-35.

Huang JI, Kazmi N, Durbhakula MM, Hering TM, Yoo JU, Johnstone B. Chondrogenic potential of progenitor cells derived from human bone marrow and adipose tissue: a patient-matched comparison. *J Orthop Res* 2005;23(6):1383-9.

Inoue M, Maehata E, Yano M, Taniyama M, Suzuki S., 2005. Correlation between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*; 54:281-6.



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

Inoue M, Yano M, Yamakado M, Maehata E, Suzuki S., 2006. Relationship between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in subjects without hyperglycemia. *Metabolism*; 55: 1248-54.

Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418(6893):41–9.

Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ., 1997. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature*; 389:374-7.

Kotani K, Sakane N, Saiga K, Kurozawa Y., 2005. Leptin:adiponectin ratio as an atherosclerotic index in patients with type 2 diabetes: relationship of the index to carotid intima-media thickness. *Diabetologia*; 48: 2684-6.

Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, 2003. Association of hypo adiponectinemia with coronary artery disease in men. *Coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 23:85-9.

Laclaustra, M., Dolores Corella, Jose´ M. Ordovas, 2007. Metabolic syndrome pathophysiology: The role of adipose tissue. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 17, 125e139.

Lafontan M. and Langin D., 2009. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Progress in lipid research*, 48(5):275-297.

Mauney JR, Volloch V, Kaplan DL. Matrix-mediated retention of adipogenic differentiation potential by human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells during ex vivo expansion. *Biomaterials* 2005;26(31):6167–75.

Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226(6):507–20.

Miyoshi H, Perfield JW, Obin MS, Greenberg AS, 2008. Adipose triglyceride lipase regulates basal lipolysis and lipid droplet size in adipocytes. *Journal of cellular biochemistry*, 105(6):1430-1436.

Neubauer M, Hacker M, Bauer-Kreisel P, Weiser B, Fischbach C, Schulz MB, et al. Adipose tissue engineering based on mesenchymal stem cells and basic fibroblast growth factor in vitro. *Tissue Eng* 2005;11(11–12):1840–51.

Oda N, Imamura S, Fujita T, Uchida Y, Inagaki K, Kakizawa H, 2008. The ratio of leptin to adiponectin can be used as an index of insulin resistance. *Metabolism*; 57:268–73.

Puri V, Ranjit S, Konda S, Nicoloso SM, Straubhaar J, Chawla A, Chouinard M, Lin C, Burkart A, Corvera S, 2008. Cidea is associated with lipid droplets and insulin sensitivity in humans. *PNAS*, 105(22):7833-7838.

Rustan AC, Hustvedt BE, Drevon CA, 1993. Dietary supplementation of very long-chain n-3 fatty acids decreases whole body lipid utilization in the rat. *Journal of lipid research*, 34(8):1299-1309.

Ruxton, C. H., Reed, S. C., Simpson, M. J. and Millington, K. J., 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J. Hum. Nutr. Diet.* 17, 449– 459.

Satoh N, Naruse M, Usui T, Tagami T, Suganami T, Yamada K, 2004. Leptin-to-adiponectin ratio as a potential atherogenic index in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 27:2488-90.

Schoonjans K, Staels B, Auwerx J., 1996. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochimica et biophysica acta*, 1302(2):93-109.

Slawik, Marc and Antonio J. Vidal-Puig, 2007. Adipose tissue expandability and the metabolic syndrome. *Genes Nutr.* 2(1): 41–45.

Takahashi Y, Ide T., 1999. Effect of dietary fats differing in degree of unsaturation on gene expression in rat adipose tissue. *Annals of nutrition & metabolism*, 43(2):86-97.

Tishinsky JM, Ma DW, Robinson LE., 2011. Eicosapentaenoic acid and rosiglitazone increase adiponectin in an additive and PPAR γ -dependent manner in human adipocytes. *Obesity*; 19(2):262-8.



Конкурс за финансиране на научни проекти – 2013 г.

Uccelli, A., Moretta L., Pistoia V. 2008. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 8, 726-736.

Viswakarma N, Yu S, Naik S, Kashireddy P, Matsumoto K, Sarkar J, Surapureddi S, Jia Y, Rao MS, Reddy JK., 2007. Transcriptional regulation of Cidea, mitochondrial cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A, in mouse liver by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma. *The Journal of biological chemistry*, 282(25):18613-18624.

Winter A, Breit S, Parsch D, Benz K, Steck E, Hauner H, et al. Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arthritis Rheum* 2003;48(2):418–29.

Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE., 2009. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Digestive diseases and sciences*, 54(9):1847-1856.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, 2001. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med*; 7: 941-6.

Zandstra PW, Nagy A. Stem cell bioengineering. *Annu Rev Biomed Eng* 2001;3:275–305.

Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhaber F, Hermetter A, 2004. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*, 306(5700):1383-1386.



СТРУКТУРА НА ПРОЕКТА

№ на етапа	Съдържание на етапа	Продължителност на етапа -	Очаквани резултати
I. ЗА ПЪРВАТА ГОДИНА			
1	Установяване на методиката за размножаване и поддържане на костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.	2	Успешно въвеждане на протоколи за размножаване и стабилизиране на клетъчната култура. Установяване на оптимална повърхност за отглеждане на клетките.
2	Третиране на клетките с различни концентрации ЕРА и ДНА, провеждане на тайминг експеримент	3	Получаване на достатъчно количество клетъчна маса за осигуряване следващите етапи от проекта
3	Изолиране на total RNA и получаване на cDNA	2	Постигане на необходимите концентрации total RNA и установяване на протокол за архивирането и.
4	Изготвяне на работни протоколи за следващия етап на проекта-RT-PCR и праймери.	2	Установяване на праймери с най-висока ефективност.
5	Изготвяне на междинен отчет за извършената дейност по проекта.	3	Изработен отчет



Очаквано допълнително финансиране на проекта (източник на финансиране, средства в лв. или валута)

НЕ

Участие на членове от колектива в други проекти (вписват се всички договори с български и чуждестранни институции и др.)

№	(фамилия, име, презиме)	(Договор №)	(завършен)	(текущ)
1.	Проф. Иван Пенчев Георгиев		<input type="checkbox"/>	X
2.	Ас. д-р Наталия Григорова		<input type="checkbox"/>	X
3.	д-р Женья Стоянова Иванова		<input type="checkbox"/>	X

Участие на проекта в национални и международни програми и проекти:

ДЕКЛАРАЦИЯ*

Долуподписаните, членове на научния колектив на предлагания за финансиране изследователски проект удостоверяваме с подписите си, че:

1. сме запознати с условията и изискванията на настоящия конкурс;
2. предоставената информация е достоверна и съответствува в максимална степен на нашата компетентност;
3. в случай, че изследователският проект бъде финансиран, отпуснатите средства ще бъдат използвани за постигането на посочените цели и в съответствие с изискванията;
4. ще уведомим ТрУ в случай, че получим допълнителна финансова помощ от други източници за реализацията на предлагания проект;
5. ще уведомим ТрУ в случай, че при реализацията на проекта настъпят изменения в условията, предвидени в представеното предложение;
6. в случай, че изследователският проект бъде финансиран, няма да нарушаваме националното законодателство и международните конвенции и споразумения с действията си или чрез предоставяната от нас информация

Научен колектив (звание, степен, фамилия, име, презиме):

Подписи:

1.	Проф. Георгиев, Иван Пенчев	
2.	Ас. д-р Григорова, Наталия Цонева	
3.	Гл. ас. Йонкова Пенка	
4.	Гл. ас., д-р, Бошнаковски, Дарко	
5.	д-р Иванова, Женья Стоянова	
6.	Рашкова, Бояна Руменова – студент	
7.	Демирова, Камелия Тодорова - студент	



7. Низамов Никола Стефанов - студент

ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Георгиев Иван Пенчев (фамилия, име, презиме)	
ЕГН 6 3 0 2 0 6 7 7 4 6	Място на раждане: Град Стара Загора
Служебен адрес: 6000 Стара Загора Тракийски Университет Ветеринарномедицински Факултет Катедра: Фармакология, Физиология на животните и Физиологична Химия тел: 042 699629 факс: E-mail: iv_p63@yahoo.com	Домашен адрес: 6000 Стара Загора Ул. Подполковник Калитин 33 вх „0” ап.10 тел: 0887064791 факс: E-mail: iv_p63@yahoo.com
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">• ВИЗВМ Стара Загора, Ветеринарна медицина – 1990 г.	
Научни степени (организация, степен/звание, година на придобиване): <ul style="list-style-type: none">• ВАК „Доктор”, 1996 г. научна специалност 01.06.17 „Физиология на животните и човека”• ВАК „Доцент”, 2004 г. научна специалност 01.06.17 „Физиология на животните и човека”• ВАК „Доктор на науките”, 2008 г. научна специалност 01.06.17 „Физиология на животните и човека”• ВАК „Професор” 2010 г. научна специалност 01.06.17 „Физиология на животните и човека”	
Заемани длъжности през последните 3 години (организация, длъжност, година на заемане-година на напускане): <ul style="list-style-type: none">• Ръководител на катедра ”Фармакология, Физиология на животните и Физиологична Химия”, ВМФ, ТрУ Стара Загора	
Области на професионален интерес (ключови думи): ендокринология, затлъстяване, инсулинова резистентност, бета клетъчна дисфункция, нарушения в глюкозния толеранс, липиден профил, липиден метаболизъм, диабет тип 2, количествена полимеразна верижна реакция (qRT-PCR), инсулин, транскрипционни фактори, PPARs, омега-3 ненаситени мастни киселини, лиганди на PPARs	



Научни награди:

Езици (равнище на владееене):

- Английски език – писмено и говоримо
- Френски език – писмено и говоримо
- Руски език – писмено и говоримо
- Немски език – писмено и говоримо

Специализации и работа в чужбина през последните 3 години (страна, организация, година, брой месеци):



Основни публикации в съответната научна област през последните 3 години (представя се пълно библиографско описание по БДС): 1. По темата

1. **Georgiev Ivan Penchev**, T. Georgieva, V. Ivanov, S. Dimitrova, I. Kanelov, T. Vlaykova, S. Tanev, D. Zaprianova, E. Dichlianova, G. Penchev, L. Lazarov, E. Vachkova, A. Roussenov. Effect of castration-induced visceral obesity and antioxidant treatment on lipid profile and insulin sensitivity in New Zealand white rabbits. *Research in Veterinary Science*, 2011, 90, 196-204. DOI: 10.1016/j.rvsc.2010.05.023. **(Импакт фактор – 1.37)**
2. **Georgiev I. Penchev**, I. N. Kanelov, T. Mircheva Georgieva, V. Ivanov, S. Dimitrova, Y. Iliev, J. Nikolov, L. Lazarov, A. Roussenov. 2009..Evaluation of insulin resistance in obese castrated New Zealand white rabbits. *Revue de Medecine Veterinaire*, 160, 7, 335-340. **(Импакт фактор – 0.185)**
3. **Георгиев И. Пенчев**, В. Иванов, Д. Запрянова, Т. Мирчева, И. Канелов, Я. Илиев, Е. Дишлянова, С. Димитрова, Л. Лазаров, А. Русенов. Влияние на кастрацията върху някои показатели на липидния профил на кръвта при зайци. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2009, 12, Suppl.1, 150-155.
4. **Georgiev, I. Penchev**. Физиологични характеристики на инсулиноподобните растежни фактори. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 13,4, 2010, 140-147.
5. Georgieva T. Mircheva, D. Zapryanova, E. Dishlyanova, S. Tanev, **I. Penchev Georgiev**, M. Andonova, I. Kanelov, L. Lazarov, P. Koleva, 2009. Comparison of the results of serum total protein concentration measured by 3 methods: Preliminary results. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 33, 1, 67-70 **(Импакт фактор – 0.259)**.
6. Vachkova E. G., **I. Penchev Georgiev**, B.L. Bivolarski, R. Konakchieva. Relationship between plasma concentration of epidermal growth factor, insulin and iodadet thyroid hormones in early and normal weaned rabbits. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2010, 161, 1, 30-36. **(Импакт фактор – 0.185)**
7. Slavov E., **I. Penchev Georgiev**, P. Dzhelebov, I. Kanelov, M. Andonova, T. M. Georgieva, S. Dimitrova. High-fat feeding and staphylococcus intermedius infection impair beta cell function and insulin sensitivity in mongrel dogs. *Veterinary Research Communications*, 2010, 34, 205- 215. **(Импакт фактор – 1.05)**
8. Vachkova E. G., B.L. Bivolarski, R. Konakchieva, **I. Penchev Georgiev**, R. Simeonov. Immunohistochemica; localization of EGF receptors in intestinal tract of growing rabbits in relation to age. *Livestock Science*, 2011, 142, 216-221. **(Импакт фактор – 1.42)**
9. Dishlyanova E., T. Mircheva Georgieva, V. Petrov, D. Zapryanova, P. Marutsov, I. Dinev, I. Nikiforov, **I. Penchev Georgiev**. Blood haptoglobin response in rabbits with experimentally induced *S.aureus* infection. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2011, **162**, 11, 514-518. **(Импакт фактор – 0.22)**
10. Georgieva, T. Mircheva, T. Vlaykova, E. Dishlianova, V. Petrov and **I. Penchev Georgiev**, 2012. The behaviour of ceruloplasmin as an acute phase protein in obese and infected rabbits. *Farm Animal Proteomics, Proceedings of COST-Farm Animal Proteomics Meeting*, Vilamoura, Portugal, pp. 67-70. Rodrigues P., D.Eckersall and Andre de Almeida (Eds.), Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2012 ISBN:978-90-8686-195-8
11. Georgieva, T. Mircheva, **I. Penchev Georgiev**, V.S.Petrov, A.Vachkov, S.I.Tanev, A.I.Pavlov and D.Eckersall. Variations of acute phase proteins in weaning rabbits experimentally infected with *E.coli*. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2009, 160, 3, 133-139. **(Импакт фактор – 0.2)**
12. Vlaykova T., E. Dishlyanova, V. Petrov, P. Marutsov, **I. Penchev Georgiev**, T. Mircheva Georgieva. Changes of PON1 activity, total thiols and ferrous reducing ability of plasma during acute inflammation of rabbits with *St. aureus*. *Proceedings of COST-Farm Animal Proteomics Meeting*, Almeida A., M.McLaughlin and D. Eckersall (Eds), Pfizer- Animal Health, 2011, pp. 61. **Приета за печат в: *Revue de Medecine Veterinaire*, 2012. (Импакт фактор – 0.22, по данни за 2011 г.)**
13. Georgieva T. Mircheva, V.Petrov, S.Denev, D. Zapryanova, I.Nikiforov, I. Dinev, **I. Penchev Georgiev**. Blood creatine kinase activities in rabbits with experimentally induced *Staphylococcus aureus* infection. *Turkish Journal of Veterinary Medicine (Представена за публикуване)* **(Импакт фактор – 0, 333 по данни за 2011 г.)**



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Григорова, Наталия Цонева (фамилия, име, презиме)	
ЕГН 8 1 1 0 0 8 5 3 3 8	Място на раждане: гр. Русе
Служебен адрес: 6000, Стара Загора, Студентски град, секция „Физиология на животните” към катедра „Фармакология, физиология на животните и физиологична химия”, ВМФ, ТрУ тел: 042 699 628 факс: - E-mail: n.gr@abv.bg	Домашен адрес: <i>постоянен адрес:</i> 9000 Варна, ж-к „Победа”, бл. 5, вх. Е, ап. 86 <i>временна адресна регистрация:</i> 6000 Стара Загора, ул. „Арх. Христо Димов” бл. 18, вх. 0, ап. 11 тел: 0885476293 факс: E-mail: natalia_nedeva@abv.bg
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">Висше – Тракийски университет, гр. Стара Загора, Ветеринарна медицина, 2006 г.	
Научни степени (организация, степен/звание, година на придобиване): <ul style="list-style-type: none">Тракийски университет, Доктор – 2010 г.	
Заемани длъжности през последните 3 години (организация, длъжност, година на заемане-година на напускане): <ul style="list-style-type: none">	
Научни награди: Грамота за научноизследователски постижения - от ректора на Тракийски университет – проф. д-р Иван Станков, дсн /08.12.2008г./ Награда и грамота за участие в конкурс "Твори и променяй" за изработване на концепция за Младежки иновационен център, част от инициативата на Европейската комисия "2009 година на творчеството и иновациите".	
Езици (равнище на владеене): <ul style="list-style-type: none">Английски – А₂ по европейската езикова рамкаНемски – В₁ по европейската езикова рамка	
Специализации и работа в чужбина през последните 3 години (страна, организация, година, брой месеци): Няма	

ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ (продължение)



Основни публикации в съответната научна област през последните 3 години (представя се пълно библиографско описание по БДС):

1. **Недева Н.**, Т. Славов, В. Радев, П. Тодорова, Е. Енев, К. Сивкова, 2009. Влияние на мултиензимния препарат Hostazym С 100 върху някои показатели в търбуха и кръвта, характеризиращи белтъчната обмяна при кочове. *Bulgarian Journal of veterinary Medicine*, v. 12 (suppl.), pp 117-123.
2. Славов Т., **Н. Недева**, В. Радев, К. Сивкова, Е. Енев, 2009. Целулозолитичната активност, общ брой и родов състав на инфузориите в търбуха на кочове, хранени с дажби, съдържащи различно количество липиди. *Bulgarian Journal of veterinary Medicine*, v. 12 (suppl.), pp 111-116.
3. **Григорова, Н.**, В. Радев, И. Славов, С. Маврева, Д. Иванов, 2009. Влияние на мултиензимния препарат Hostazym С 100 върху някои аспекти на белтъчната обмяна при шилета хранени с дажби с различно ниво на суров протеин и липиди. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, v. 12:4, pp 702-717.
4. Радев, В., П. Тодорова, **Н. Григорова**, К. Сивкова, Е. Енев, 2009. Промени в някои търбухови параметри при агнета, хранени с дажби, обогатени с фибролитични ензимни препарати. I. Ефект на Hostazym С 100 и Hostazym Х 100 върху концентрацията на водородните йони, количеството на амоняка, общия брой и родовия състав на инфузориите в търбуха. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, v. 12:4, pp 718-732.
5. Todorova, P., **N. Grigorova**, V. Radev, K. Sivkova, 2009. Effect of the multienzymatic preparation Hostazym X 100 on weight development, forage utilization and some hematological characteristics in lambs. *Proceedings IV Balkan Conference of Anim. Sci BALNIMALCON*, pp 228-232.
6. **Grigorova, N.**, P. Todorova, V. Radev, K. Sivkova, 2009. Effect of the multienzymatic preparation Hostazym С 100 on weight development, forage utilization and some hematological characteristics in lambs. *Proceedings IV Balkan Conference of Anim. Sci BALNIMALCON*, pp 233-238.
7. Varlyakov, I., **N. Grigorova**, T. Slavov, K. Uzunova, 2009. Effect of multienzymatic preparation Hostazym С 100 on feeding behavior of yearling rams. *Proceedings IV Balkan Conference of Anim. Sci BALNIMALCON*, pp 254-259.
8. Varlyakov, I., V. Radev, T. Slavov, **N. Grigorova**, 2010. Ethological evaluation of a building for free housing of dairy cows. I. Behavioral activities in the summer. *Trakia Journal of Sciences*, Vol. 8, Suppl. 1, pp 222-229
9. Varlyakov, I., T. Slavov, **N. Grigorova**, 2010. Ethological evaluation of a building for free housing of dairy cows. II Behavior activities in the winter. *Agricultural science and technology*, v 2 :1, pp 14-21.
10. **Григорова, Н.**, И. Върляков, Т. Славов, Е. Енев 2010. Ефект на мултиензимните препарати Hostazym С 100 и Hostazym Х 100 върху някои показатели в кръвта на шилета. *Животновъдни науки*, v. 3, pp 33-41.
11. **Григорова, Н.**, 2010. Ефект на мултиензимни фибролитични препарати върху съотношението на късо, средно и дълговерижни мастни киселини в търбуховото и дуоденалното съдържание на шилета. *Животновъдни науки*, v. 4, pp 58-70.
12. Varlyakov, I., **N. Grigorova**, T. Slavov, 2010. Effect of multienzymatic preparation Hostazym С 100 on body weight, some haematological and ethological parameters in yearling rams. *Bulgarian Journal of Agricultural Sciences*, v 16:5, pp 659-66.
13. **Григорова, Н.**, И. Върляков, В. Радев, К. Сивкова, 2010. Въздействие на мултиензимните продукти Hostazym С 100 и Hostzym Х 100 върху общото количество и моларното съотношение на летливите мастни киселини в търбуховото съдържание на агнета. *Животновъдни науки*, v. 6, pp 25-30.
14. Varlyakov, I., V. Radev, T. Slavov, **N. Grigorova**, 2011. Behaviour of cows in milking parlour. *Agricultural Science and Technology*, v. 3:2,107-111.



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Иванова Женья Стоянова (фамилия, име, презиме)											
ЕГН: <table border="1"><tr><td>8</td><td>4</td><td>0</td><td>8</td><td>1</td><td>9</td><td>7</td><td>5</td><td>9</td><td>6</td></tr></table>	8	4	0	8	1	9	7	5	9	6	Място на раждане: Стара Загора
8	4	0	8	1	9	7	5	9	6		
Служебен адрес: Стара Загора, Студентски град, ТрУ-ВМФ	Домашен адрес: Стара Загора, ул. "Славянска" 4, вх.А, ет.1 ап.22										
тел: _____	тел: 257231										
факс: _____	факс: 0888 698570										
E-mail: _____	E-mail: jen_s@abv.b										
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">Професионална гимназия по ветеринарна медицина, ветеринарен лаборант, 2003г. Стара ЗагораМагистър по Ветеринарна медицина, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора – 2009 г.											
Научни степени (организация, степен/звание, година на придобиване): <ul style="list-style-type: none">Редовен докторант 2012 г. катедра "Фармакология, Физиология на животните и Физиологична Химия", ВМФ, ТрУ Стара Загора											
Заемани длъжности през последните 5 години (организация, длъжност, година на заемане-година на напускане):											
Области на професионален интерес (ключови думи): Ендокринология; n-3 полиненаситени мастни киселини; затлъстяване, глюкозен толеранс; инсулинова резистентност; липиден метаболизъм.											



Научни награди:

-

Езици (равнище на владеене):

- Английски език – писмено и говоримо

Специализации и работа в чужбина през последните 5 години (страна, организация, година, брой месеци):

-

Основни публикации през последните 5 години (представя се пълно библиографско описание по БДС):

1. **Ivanova Zh.**, V. Hristov, S. Tsonev, N. Grigorova, K. Angelova, I. Stoyanov, E. Dichlianova, I. Penchev Georgiev. The effect of antioxidant treatment on plasma lactate and piruvate concentration in a rabbit model of obesity. Second Scientific Student's Conference, October 19-21, 2012, Stara Zagora



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Йонкова Пенка Йонкова											
ЕГН <table border="1"><tr><td>7</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>3</td><td>0</td><td>5</td><td>0</td></tr></table>	7	2	1	2	1	1	3	0	5	0	Място на раждане: Гр. Троян
7	2	1	2	1	1	3	0	5	0		
Служебен адрес: Катедра "Анатомия, хистология, ембриология", Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора тел: 042 699 649 факс: E-mail: pjon@abv.bg	Домашен адрес: Студентски град, бл. 4, вх А, ап. 8 тел: 0885567988 факс: E-mail:										
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">• Висше, Тракийски университет Ветеринарна медицина, 1997											
Научни степени (организация, степен/звание, година на придобиване): <ul style="list-style-type: none">• Асистент, Тракийски университет, Стара Загора, 1997г.• Старши асистент, Тракийски университет, Стара Загора, 2003г.• Главен асистент, Тракийски университет, Стара Загора, 2006 г.											
Заемани длъжности през последните 3 години (организация, длъжност, година на заемане-година на напускане): <ul style="list-style-type: none">•											
Области на професионален интерес (ключови думи): Мастна тъкан, образна анатомия											



Научни награди:

-

Езици (равнище на владеене):

- Английски език – средно ниво

Специализации и работа в чужбина през последните 3 години (страна, организация, година, брой месеци):

Основни публикации в съответната научна област през последните 3 години
(представя се пълно библиографско описание по БДС):

1. P. Yonkova, D. Vladova, R. Dimitrov, A. Rusenov, D. Zaprjanova, P. Atanassova, M. Stefanov, 2010. Morphology and ultrasonography of the pericardial end epicardial adipose tissue in healthy rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Trakia Journal of Sciences*, 8, 2, 73 - 77.

2. P. Yonkova, R. Dimitrov, J. Toneva, D. Zaprjanova, 2010. A comparative study of cross sectional anatomy and computed tomography of perirenal fat depots in New Zealand White rabbits. *Trakia Journal of Sciences*, 8, 4, 74-78.

3. P. Yonkova, P. Atanassova, A. Vodenicharov, 2010. Weight and morphometric investigations of some fat depots in New Zealand White Rabbits. *Scientific research of the Union of scientists in Bulgaria-Plovdiv, series B. Technics and technologies*, vol VIII., Union of scientists session 11-12 November., 230-234.

4. P. Yonkova, P. Atanassova, A. Vodenicharov, R. Dimitrov, P. Hrishev, 2011. Enzyme histochemical expression of lipoprotein lipase in the liver and adrenal glands in clinically healthy rabbits. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 14,3, 137-141.

5. P. Yonkova, P. Atanassova, E. Vachkova, R. Dimitrov, D. Yovchev, A. Serbest, I. Arican, 2012. Morphological changes in adipocytes from rabbits fat depots. Proceedings of the XXIXth Congress of the EAVA. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 15, suppl. 1, 114.

6. P. Yonkova, A. Rusenov, D. Kanakov, D. Zaprjanova, E. Vachkova, A. Serbest, R. Dimitrov, D Kostov, 2012. Ultrasound imaging, biochemical blood analyses, and weight investigations of dissectible fat depots in New Zealand white rabbits. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 36, 6, 635-641.



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Рашкова, Бояна Руменова (фамилия, име, презиме)	
ЕГН 9 1 0 6 1 7 4 3 9 7	Място на раждане: Гр. Пловдив
Служебен адрес: гр. Стара Загора Студентски град, бл. 7, ап. 15, ет.4 тел: 0895749391 факс: E-mail: fentazi_girl@mail.bg	Домашен адрес: Гр. Пловдив Ул. „ Филип Македонски”61 тел: 0895749391 факс: E-mail: fentazi_girl@mail.bg
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">• СОУ ”Климент Охридски”, природо - математически профил, гр. Пловдив	
Езици (равнище на владеене): <ul style="list-style-type: none">• английски - писмено и говоримо; B2	
Области на професионален интерес (ключови думи): <ul style="list-style-type: none">• Клетъчни култури, експериментални модели, молекулярни методи	



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: <input type="text" value="Демирова, Камелия Тодорова"/> (фамилия, име, презиме)	
ЕГН <input type="text" value="9104284559"/>	Място на раждане: <input type="text" value="Гр. Пловдив"/>
Служебен адрес: <input type="text" value="гр. Стара Загора"/> <input type="text" value="Казански , бл. 19, ет. 7"/> тел: <input type="text" value="0885850518"/> факс: <input type="text"/> E-mail: <input type="text" value="kamelia_demirova@abv.bg"/>	Домашен адрес: <input type="text" value="гр. Пловдив"/> <input type="text" value="Ул. „Даме Груев”44"/> тел: <input type="text" value="0885850518"/> факс: <input type="text"/> E-mail: <input type="text" value="kamelia_demirova@abv.bg"/>
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">• НУМТИ ”Добрин Петков”, профил „Класически танци”, гр. Пловдив	
Езици (равнище на владеене): <ul style="list-style-type: none">• английски - писмено и говоримо; A2	
Области на професионален интерес (ключови думи): <ul style="list-style-type: none">• Клетъчни култури, експериментални модели, молекулярни методи	



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: Низамов, Никола Стефанов (фамилия, име, презиме)	
ЕГН 9 1 1 2 1 4 0 4 4 1	Място на раждане: Гр. Бургас
Служебен адрес: гр. Стара Загора Казански , бл. 19, ет. 10 тел: 0898332326 факс: E-mail: nikola_nizamov@abv.bg	Домашен адрес: гр. Бургас Ул. „ Филип Македонски”61 тел: 0898332326 факс: E-mail: nikola_nizamov@abv.bg
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване): <ul style="list-style-type: none">ПТТ ”Асен Златаров”, профил „Приготвяне на кулинарни изделия и напитки”, гр. Бургас	
Езици (равнище на владеене): <ul style="list-style-type: none">английски - писмено и говоримо; A2	
Области на професионален интерес (ключови думи): <ul style="list-style-type: none">Клетъчни култури, експериментални модели, молекулярни методи	



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ

Име: BOSNAKOVSKI DARKO (фамилия, име, презиме)		
ЕГН <input type="text"/>	Място на раждане: Скопје, Macedonia	
Служебен адрес: University "Goce Delcev" Stip Faculty of Medical Sciences Krste Misirkov bb, 2000 Stip Macedonia тел: 389 70 51 66 49 факс: E-mail: darko.bosnakovski@ugd.edu.mk		Домашен адрес: Tirasnak 22 1000 Skopje Macedonia тел: 389 70 51 66 49 факс: E-mail:
Образование (учебно заведение, специалност, година на завършване):		
INSTITUTION AND LOCATION	DEGREE	YEAR(s)
National University "St. Cyril and Methodius" -Skopje, Macedonia	D.V.M.	2001
Graduate School of Veterinary Medicine Hokkaido University, Sapporo, Japan	Ph.D	2005
Southwestern Medical Centre at Dallas, UTSW, Dallas, USA	Postdoctoral	2008
Научни степени (организация, степен/звание, година на придобиване): •		
Заемани длъжности през последните 3 години (организация, длъжност, година на заемане-година на напускане): 2010- present Assistant professor Pharmacogenetics and Biotechnology Faculty of Medical Sciences, University "Goce Delcev" Stip, Macedonia		
Области на професионален интерес (ключови думи): Stem cell biology, cell reprogramming, animal models		



ПРОФЕСИОНАЛНА АВТОБИОГРАФИЯ (продължение)

Научни награди:

-

Езици (равнище на владеене):

- English and Japanese

Специализации и работа в чужбина през последните 3 години (страна, организация, година, брой месеци):

2010 (8 months)	Visiting assistant professor, Faculty of Medical Sciences, University "Goce Delcev" Stip, Macedonia
2011 (4 months)	Visiting assistant professor, Medical School, University of Minnesota, Minneapolis, USA

Основни публикации в съответната научна област през последните 3 години (представя се пълно библиографско описание по БДС):

1. Iacovino M, **Bosnakovski D**, Fey H, Bajwa G, Mahem E, Rux D, Mitanoska A, Xu Z, Kyba M. 2011. Inducible cassette exchange: a rapid and efficient system enabling conditional gene expression in embryonic stem and primary cells. *Stem Cells*. In press (**co-first author - equal contribution**)
2. Zaidman N, **Bosnakovski D**. 2012. Advancing with Ceramic Biocomposites for Bone Graft Implants. *Recent Patents on Regenerative Medicine*, Vol 2, No 1, pp. 65-72
3. Chen SC, Frett E, Marx J, **Bosnakovski D**, Reed X, Kyba M, Kennedy BK Decreased Proliferation Kinetics of Mouse Myoblasts Overexpressing FRG1, *PLoS One*. 2011;6(5):e19780. Epub 2011 May 16
4. Darabi R, Pan W, **Bosnakovski D**, Baik J, Kyba M, Perlingeiro RC. 2011. Functional Myogenic Engraftment from Mouse iPS Cells. *Stem Cell Rev*. 2011 Apr 2. [Epub ahead of print]



ФОРМА ЗА ЕТИЧНА РАБОТА С ЖИВОТНИ И ХОРА

А.

ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКАТА РАБОТА ПО НАУЧНИЯ ПРОЕКТ СВЪРЗАНА ЛИ Е С:	ДА	НЕ
1. ХОРА		X
2. ЖИВОТНИ	X	
3. ЛИЧНИ ДАННИ		X
4. БИОЛОГИЧЕН МАТЕРИАЛ ОТ ХОРА		X

Б. ЦЕЛ, ОБОСНОВКА И КРАТКО ОПИСАНИЕ НА НАУЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ, СВЪРЗАНО С т. А (до 1 стр.)

С настоящия проект си поставихме за цел да проучим антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситени мастни киселини (PUFAs) *in vitro* върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци. Като експериментални животни ще бъдат използвани зайци, тъй като за разлика от другите животни липидният им профил и липидният им метаболизъм на зайците близък до този на човека. За тази цел, след прилагане на обща анестезия (кетамин/ксилазин), ще бъдат аспирирани по около 3 ml костен мозък от фемуралната медула на зайците. Този изолат ще бъде използван за получаване на клетъчна култура от стволови клетки, които в следствие чрез контролирана хранителна среда ще се диференцират в зрели адипоцити. Така получените клетки ще бъдат използвани в основния експеримент.



В. СТАНОВИЩЕ НА КОМИСИЯТА ПО ЕТИКА:

- РАЗРЕШАВА СЕ ИЗВЪРШВАНЕ НА НАУЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ.
- НЕ СЕ РАЗРЕШАВА ИЗВЪРШВАНЕ НА НАУЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ.

Председател:

Членове:

ОДОБРИЛ:.....
(Зам. ректор по НМД)



ПРЕДВАРИТЕЛНО ФИНАНСОВО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ ПО ГОДИНИ

ПРОЕКТ №.....ТЕМА: Проучване антиадипогенните свойства на омега n-3 полиненаситени мастни киселини (PUFAs) *in vitro* върху адипоцити, диференцирани от костно-мозъчни мезенхимни стволови клетки (MSCs) на зайци.

РЪКОВОДИТЕЛ: проф. Иван Пенчев Георгиев, двмн

ПЛАН-СМЕТКА ЗА ПЪРВАТА ГОДИНА:

1. МЕДИКАМЕНТИ, МЕДИЦИНСКИ КОНСУМАТИВИ, РЕАКТИВИ, ХИМИКАЛИ, ТЕСТОВЕ И ДР.	3220 лв.
2. ОПИТНИ ЖИВОТНИ	100 лв.
3. РЕЖИЙНИ РАЗНОСКИ 10%	330 лв.

ОБЩО: **3650 лв.**

ЗА ВТОРАТА ГОДИНА: 2500лв

ОБЩА СТОЙНОСТ НА ПРОЕКТА: **6150 лв**

Ръководител на проекта:

Утвърдил:

(Председател на комисия по НИД)