

РЕЗЮМЕТА НА ТРУДОВЕТЕ СЛЕД ЗАЩИТА НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЯ

на гл. ас. Екатерина Дончева Георгиева, д.х.

За участие в конкурс за заемане на академична длъжност ДОЦЕНТ в област на висшето образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.2. Химически науки, по научна специалност „Химия“ обявен в ДВ бр.60/14.07.2023 г. за нуждите на Катедра „Медицинска психология, социални дейности и чужди езици“, Медицински факултет, Тракийски университет

- ❖ Резюмета на **НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ**, в издания реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus), отнасящи се към група от показатели Г от минималните национални и допълнителни изисквания към научната дейност на кандидатите за заемане на академична длъжност "Доцент".

1. **Georgieva, E.; Atanasov, V.; Kostandieva, R.; Tsoneva, V.; Mitev, M.; Arabadzhiev, G.; Yovchev, Y.; Karamalakova, Y.; Nikolova, G.** Direct Application of 3-Maleimido-PROXYL for Proving Hypoalbuminemia in Cases of SARS-CoV-2 Infection: The Potential Diagnostic Method of Determining Albumin Instability and Oxidized Protein Level in Severe COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5807. <https://doi.org/10.3390/ijms24065807>. **IF₍₂₀₂₃₎= 5.6; Q=1**

Оксидативният стрес и окислената форма на албумин могат да доведат до хипоалбуминемия, която се смята за основен предразполагащ фактор на намалена ефективност на лечението и повишена смъртност при тежки и критични пациенти с COVID-19 инфекция. Целта на изследването е да се оцени приложението на свободният нитроксиден радикал 3-Maleimido-PROXYL и SDSL-EPR спектроскопията при *in vitro* определяне на окислен/редуциран човешки серумен албумин (HSA) в проби от пациенти със SARS-CoV-2 инфекция. Беше взета венозна кръв от интубирани

пациенти ($pO_2 < 90\%$) с положителен PCR тест за COVID-19 и здрави доброволци като контролна група. EPR измерването беше извършено след инкубиране на серумните проби с 3-Maleimido-PROXYL (120 минути време на инкубация). Двойно интегрираните спектри на нитроксидният радикал показват ниска степен на свързаност към албумина, поради оксидативно индуцирани конформационни промени в протеиновата молекула при пациенти с COVID-19. Ниските концентрации на редуциран албумин в серумни проби при пациенти с коронавирусна инфекция, частично инхибират въртенето на спин- етикетът, като стойностите на спектрални параметри A_{max} и ΔH_0 , са сравними с тези на контролата 3-малеимидо-PROXYL/DMSO (без албумин). В допълнение, чрез нитроксидния радикал TEMPOL беше извършен мониторинг на оксидативният стрес и нивата на свободни радикали при критични пациенти с COVID-19.

Въз основа на получените резултати за нивата на оксиданти, може да се предположи, че при тежък COVID-19, свръхпродукцията на ROS и намалената антиоксидантна защита, са довели до промени в нормалното физиологичното съотношение между окислен и редуциран HSA в полза на окислената форма. Въз основа на получените резултати може да се предположи, че стабилният нитроксиден радикал 3-Maleimido-PROXYL може успешно да се използва като маркер за изследване нивата на окислен албумин при COVID-19.

Oxidative stress and the albumin oxidized form can lead to hypoalbuminemia, which is a predisposing factor for reduced treatment effectiveness and an increased mortality rate in severe COVID-19 patients. The aim of the study is to evaluate the application of free radical 3-Maleimido-PROXYL and SDSL-EPR spectroscopy in the in vitro determination of ox/red HSA in serum samples from patients with SARS-CoV-2 infection. Venous blood was collected from patients intubated ($pO_2 < 90\%$) with a positive PCR test for SARS-CoV-2 and controls. At the 120th minute after the incubation of the serum samples from both groups with the 3-Maleimido-PROXYL, the EPR measurement was started. The high levels of free radicals were determined through the nitroxide radical TEMPOL, which probably led to increased oxidation of HSA and hypoalbuminemia in severe COVID-19. The double-integrated spectra of 3-Maleimido-PROXYL radical showed a low degree of connectivity due to high levels of oxidized albumin in COVID-19 patients. The low concentrations of reduced albumin in serum samples partially inhibit spin-label rotation, with A_{max} values and ΔH_0 spectral

parameters comparable to those of 3-Maleimido-PROXYL/DMSO. Based on the obtained results, we suggest that the stable nitroxide radical 3-Maleimido-PROXYL can be successfully used as a marker to study oxidized albumin levels in COVID-19.

2. Abrashev, H., Ananiev, J., **Georgieva, E.** Case report: Spontaneous left inferior epigastric artery injury in a COVID-19 female patient undergoing anticoagulation therapy. *J Clin Med* **2023**. 12, 1842. <https://doi.org/10.3390/jcm12051842>. IF₍₂₀₂₃₎=3.9; Q=1

Терапията с Хепарини с ниско молекулно тегло (LMWHs) при пациенти с COVID-19 и пневмония предотвратява тромбоемболични събития, въпреки това, рискът от спонтанно кървене в резултат на LMWHs терапия, не трябва да се подценява. Понастоящем оптималната доза антикоагулант при пациенти с тежка форма на COVID-19 не е добре установена. Рискът от спонтанно кървене може да бъде релевантен или по-висок от риска от тромботични събития, поради което е необходимо да се приложи индивидуален подход, включващ внимателно клинично наблюдение и стратификация на риска при тези пациенти.

Представяме 63-годишна пациентка, положителна за COVID-19, с масивен ретроперитонеален хематом и спонтанно увреждане на лява долна епигастрална артерия. Пациентът е приет с положителен PCR, общо влошаващо се състояние, придружено с промяна на биохимичните параметри, пневмония и липса на данни за травматично увреждане преди хоспитализацията. По време на болничния престой се установи драстично понижение на нивата на хемоглобина спрямо първоначалните стойности, придружено с остра коремна болка, което наложи спешна диагностика и последваща операция.

От началото на пандемията е направена препоръка за употребата на антикоагуланти при високорискови хоспитализирани пациенти. Този терапевтичен подход има положителни и отрицателни ефекти по отношение

на изхода на заболяването. Антикоагулантната терапия предотвратява тромбоемболичните събития, но може да доведе и до спонтанно образуване на хематоми или да бъде придружено от масивно активно кървене.

The Low-molecular-weight heparins (LMWHs) therapy in COVID-19 patients with pneumonia prevents thromboembolic events, but the risk of spontaneous bleeding should be not underestimated. Currently, an optimal anticoagulant dose in severe COVID-19 patients is not well established. The risk of spontaneous bleeding may be relevant or higher than the risk of thrombotic events, therefore is necessary to use an individual approach, careful clinical observation, and risk stratification of these patients.

We present a 63-year-old COVID-19-positive female patient with a massive retroperitoneal hematoma and spontaneous left inferior epigastric artery injury. The patient was admitted with real-time PCR showing positive results for SARS-CoV-2 infection, a generally worsening condition, biochemical parameters change, pneumonia, and no evidence of traumatic injury before hospitalization. During the hospital stay, the patient detected a drastic decrease in hemoglobin levels compared to the initial values accompanied by acute abdominal pain, which necessitated urgent diagnosis and subsequent surgery.

Since the beginning of the pandemic, a recommendation was made for the use of anticoagulants in high-risk hospitalized patients. This therapeutic approach has positive and negative effects regarding the outcome of the disease. Anticoagulant therapy prevents thromboembolic events, but it can also lead to spontaneous hematoma formation, or be accompanied by massive active bleeding.

3. **Georgieva, E.**, Karamalakova, Y., Arabadzhiev, G., Atanasov, V., Kostandieva, R., Mitev, M., Tsoneva, V., Yovchev, Y. and Nikolova, G. Site-Directed Spin Labeling EPR Spectroscopy for Determination of Albumin Structural Damage and Hypoalbuminemia in Critical COVID-19. *Antioxidants*, **2022**. 11, 2311. <https://doi.org/10.3390/antiox11122311> IF₍₂₀₂₂₎=7.0; Q=1

Научната публикация „*Site-Directed Spin Labeling EPR Spectroscopy for Determination of Albumin Structural Damage and Hypoalbuminemia in Critical COVID-19*“ има за цел да демонстрира диагностичната полезност и приложение на метода SDSL-EPR при изследване на хипоалбуминемия и промени в динамиката на албумина при критично болни пациенти с COVID-19. Въпреки съществуващите ограничения, EPR спектроскопията може да реши някои биологично важни проблеми и да разкрие важна структурно-динамична информация за протеинови системи в разтвор или свързано с мембрана състояние, което е извън обхвата на конвенционалните биофизични и спектрофотометрични техники

Сред основните фактори в патологията на COVID-19, които могат да иницират обширни структурни промени на клетъчно и молекулярно ниво, са генерирането на абнормални нива на свободни радикали и оксидативния стрес. В условия на "оксидативен шок" протеините претърпяват различни модификации, които засягат тяхната биологична функция и активност, в резултат на което се наблюдава образуване на неправилно функциониращи протеинови производни. Човешкият серумен албумин е малък глобуларен протеин, характеризиращ се с висок общ капацитет на свързване по отношение на неутрални липофилни и киселинни лекарствени форми. В човешкият организъм, концентрацията на албумин е от решаващо значение за поддържането на плазменото онкотично налягане, транспорта на хранителни вещества, аминокиселини и лекарства, ефективността на лекарствената терапия и предотвратяването на лекарствената токсичност. Хипоалбуминемията и структурните дефекти на молекулата на протеина предполагат риск от промяна на метаболизма на медикаменти и терапевтици и повишена плазмена концентрация на несвързани лекарства. Ето защо структурните и функционални промени в албумина, придружени от ниски нива на протеин, могат да бъдат сериозна предпоставка за неефективна терапия, чести усложнения и висока смъртност при пациенти със SARS-CoV-2 инфекция. Настоящата статия насочва изследователската общност към прилагането на SDSL-EPR спектроскопията и стабилният нитроксиден радикал 3-Maleimido-PROXYL при определяне на 1/аномалии в динамиката на протеини (албумин) и 2/концентрациите на протеина при критични пациенти с COVID-19.

The present article „*Site-Directed Spin Labeling EPR Spectroscopy for Determination of Albumin Structural Damage and Hypoalbuminemia in*

Critical COVID-19⁺ aims to demonstrate the diagnostic utility and application of the SDSL-EPR method in the study of hypoalbuminemia and changes in albumin dynamics in cases of critically ill patients with COVID-19. Despite existing limitations, EPR spectroscopy can solve some biologically important problems and reveal important structural-dynamic information about protein systems in solution or membrane-bound states, which is beyond the scope of conventional biophysical and spectrophotometric techniques.

The main factors in the COVID-19 pathology, which can initiate extensive structural changes at the cellular and molecular levels, are the generation of free radicals in abnormal amounts, and oxidative stress. Under “Oxidative shock” conditions, the proteins undergo various modifications that affect their function and activity, and as a result, distribute malfunctioning protein derivatives in the body. Human serum albumin is a small globular protein characterized by a high overall binding capacity for neutral lipophilic and acidic dosage forms. The albumin concentration is crucial for the maintenance of plasma oncotic pressure, the transport of nutrients, amino acids, and drugs, the effectiveness of drug therapy, and the prevention of drug toxicity. Hypoalbuminemia and structural defects molecule in the protein suggest a risk of changed metabolism and increased plasma concentration of unbound drugs. Therefore, the albumin structural and functional changes accompanied by low protein levels can be a serious prerequisite for ineffective therapy, frequent complications, and high mortality in patients with SARS-CoV-2 infection. The current opinion aims the research community the application of Site-Directed Spin Labeling Electron Paramagnetic Resonance spectroscopy (SDSL-EPR) and 3-Maleimido-PROXYL radical in determining abnormalities of the albumin dynamics and protein concentrations in COVID-19 critical patients.

4. Karamalakova, Y., Stefanov, I., **Georgieva, E.** and Nikolova, G., Pulmonary Protein Oxidation and Oxidative Stress Modulation by Lemna minor L. in Progressive Bleomycin-Induced Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Antioxidants*. **2022**, 11, 523. <https://doi.org/10.3390/antiox11030523>. IF₍₂₀₂₂₎=7.0; Q=1

В това проучване представя защитните терапевтични ефекти на *L. minor*

върху индуцирана от блеомицин белодробна фиброза в миши модели. Също така, беше изследван механизма на действие на екстракта от *L. minor*, който е в основата на превантивния ефект срещу белодробна фиброза. Представените резултати предполагат, че *L. minor* предотвратява индуцирани от блеомицин белодробни нарушения и фиброза в мишки модел чрез регулиране на нивата на протеинова карбониляция и протеинова пероксидация, инхибиране на производството на провъзпалителни, профиброзни цитокини и намаляване на оксидативните нарушения.

Прилагането на блеомицин (BLM) е свързано с многофункционални протеинови възпаления и индукция на идиопатична белодробна фиброза (IPF). Екстрактът от свободно плаващият едноседелен макрофит *Lemna minor* L., притежава антиоксидантен и противовъзпалителен потенциал. Целта на изследването е да се изследва защитният ефект на екстракта от *L. minor* върху окислението на белодробни протеини и модулацията на оксидативния стрес от индуцирана от BLM белодробна фиброза при Balb/c мишки. За тази цел бяха изследвани протеин-карбонилно съдържание, крайни продукт на гликиране, окисление на протеини (5-MSL) и нива на липидна пероксидация (MDA и ROS) в белодробни клетки. Проведени са хистологични изследвания, за определяне на отлагането на колаген и количествените измервания на IL-1 β , IL-6 и TNF в белодробни тъкани и кръв. Интраперитонеалното приложение на BLM (0,069 U/mL; 0,29 U/kg телесно тегло) в продължение на 33 дни предизвиква индуциране на IPF при Balb/c мишки. Беше приложена белодробна комбинирана терапия с *L. minor* в доза 120 mg/mL (0,187 mg/kg телесно тегло). Чрез хистологичен анализ беше установена подобрена BLM индуцирана IPF в белодробни тъкани на мишки третирани с екстракт от *L. minor*. Беше установено, че *L. minor* значително модулира индуцираните от BLM промени в нивата на хидроксипролин, карбонилирани протеини, протеиново окисление ($p < 0,05$) в белия дроб. Отчетени бяха намалените нива на оксидативен стрес и значително повишена регулация на антиоксидантните ензимни и неензимни компоненти в белите дробове ($p < 0,05$) в групите третирани с екстракт на *L. minor*. Едновременно с това, беше установено, че *L. minor* намалява експресията на IL-1 β , IL-6 и TNF- α в белодробната тъкан и плазмата. *L. minor* подобрява защитния отговор при белодробно протеиново окисление, липидна пероксидация, ROS генериране и цитокинова модулация от BLM-индуцирано хронично възпаление, което предполага висок антиоксидантен и протективен ефект на екстракта и го характеризира като потенциална противовъзпалителна и антифибротична алтернатива при превенция на IPF.

In this study, we investigated for the first time whether *L. minor* exhibited protective therapeutic effects on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mouse models. Moreover, we examined the mechanism of *L. minor* extract action underlying the preventive effect against pulmonary fibrosis. We hypothesize that *L. minor* prevents bleomycin-induced lung disorders and fibrosis in mice model by regulating levels of protein carbonylation and protein peroxidation, inhibiting the production of proinflammatory, profibrous cytokines, and reducing oxidative disorders.

Bleomycin (BLM) administration is associated with multifunctional proteins inflammations and induction of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). *Lemna minor* L. extract, a free-floating monocot macrophyte possesses antioxidant and anti-inflammatory potential. The aim of the study was to examine the protective effect of *L. minor* extract on lung protein oxidation and oxidative stress modulation by BLM-induced pulmonary fibrosis in Balb/c mice. For this purpose, the protein carbonyl content, advanced glycation end product, nitroxide protein oxidation (5-MSL), and lipid peroxidation (as MDA and ROS), in lung cells were examined. The histological examinations, collagen deposition, and quantitative measurements of IL-1 β , IL-6, and TNF in lung tissues and blood were investigated. Intraperitoneal, BLM administration (0.069 U/mL; 0.29 U/kg b.w.) for 33 days, caused IPF induction in Balb/c mice. Pulmonary combining therapy was administered with *L. minor* at dose 120 mg/mL (0.187 mg/kg b.w.). *L. minor* histologically ameliorated BLM induced IPF in lung tissues. *L. minor* significantly modulated ($p < 0.05$) BLM-alterations induced in lung hydroxyproline, carbonylated proteins, 5-MSL-protein oxidation. Oxidative stress decreased levels in antioxidant enzymatic and non-enzymatic systems in the lung were significantly regulated ($p < 0.05$) by *L. minor*. *L. minor* decreased the IL-1 β , IL-6, and TNF- α expression in lung tissues and plasma. The *L. minor* improves the preventive effect/defense response in specific pulmonary protein oxidation, lipid peroxidation, ROS identifications, and cytokine modulation by BLM-induced chronic inflammations, and could be a good antioxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic alternative or IPF prevention involved in their pathogenesis.

5. Nikolova, G., Ananiev, J., Ivanov, V., Petkova-Parlapanska, K., **Georgieva, E.** and Karamalakova, Y. The *Azadirachta indica* (Neem) Seed Oil Reduced Chronic Redox-Homeostasis Imbalance in a Mice Experimental Model on Ochratoxine A-Induced Hepatotoxicity. *Antioxidants*. **2022**, 11, 1678. <https://org.doi/10.3390/antiox11091678> IF₍₂₀₂₂₎=7.0; Q=1

Azadirachta indica A. (*A. indica*; neem oil) листата, кората, плодовете, цветовете, смолата и маслото съдържат ценни компоненти (алкалоиди, флавоноиди, феноли и др.), които се използват при лечение на хипертония, сърдечни заболявания, диабет, и рак. Маслото от *A. indica* има висок процент антиоксидантна активност поради общото си фенолно съдържание и голяма способност за улавяне на свободните радикали. Комбинираната употреба на масло от семена на *A. indica* с микотоксини може да намали редокс хомеостатичните дисбаланси и свързаните с тях странични ефекти и евентуално да осигури симптоматично облекчение.

Настоящото проучване представя защитният ефект на масло от *A. Indica* на нормални хепатоцити и вероятен противовъзпалителен терапевтичен ефект. Представените резултати предполагат инхибиране на ОТА-индуцирано възпаление от *A. Indica* масло и намаляване на притока на ROS чрез регулиране на баланса на IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ и TNF- α след 28-дневен курс. Беше установено, че маслото от *A. indica* има потенциално възстановително и защитно действие, в резултат на което се възстановяват чернодробните и антиоксидантните ензими. В допълнение, защитните ефекти на маслото от семена на *A. indica* са довели до функционално възстановяване в ОТА-индуцирания модел на мишки. Следователно маслото от *A. indica* може да се използва като практичен подход за безопасно използване на замърсени с ОТА храни.

Известно е, че тежестта на чернодробното увреждане зависи както от дозата, така и от продължителността на експозицията на различни интоксиканти. Оксидативният стрес може да увеличи хепатотоксичността на Охратоксин-А (ОТА) и много антиоксиданти могат да противодействат на токсичната чернодробна функция. Настоящото проучване има за цел да изследва хепатопротективния потенциал на маслото от семена на *Azadirachta indica* A (*A. indica*; масло от нийм) за намаляване на острите оксидативни разстройства и остатъчната токсичност на ОТА в 28-дневен експериментален модел. Чрез ELISA са анализирани активността на антиоксидантните и

чернодробните ензими, цитокините и нивата на биомаркерите на оксидативен стрес – MDA, GSPx, Hydroxiproline, GST, PCC, AGEs, PGC-1 и STIR-1. Нивата на ROS и RNS на свободните радикали се измерват чрез EPR. Защитните ефекти са изследвани при BALB/C мишки, третирани с масло от семена на *A. indica* (170 mg/kg), самостоятелно и в комбинация с OTA (1,25 mg/kg), чрез сонда ежедневно в продължение на 28 дни. В края на експеримента мишките, третирани с OTA, показват промени в чернодробните и антиоксидантните ензими и параметрите на оксидативния стрес в черния дроб и кръвта. Маслото от *A. indica* значително намалява оксидативния стрес и липидната пероксидация в сравнение с OTA групата. В допълнение, чернодробната хистологична оценка показва значително натрупване на мастна тъкан в третираните с OTA тъкани, докато лечението със 170 mg/kg масло от *A. Indica* показва умерено натрупване на мастна тъкан.

Azadirachta indica A. leaves, bark, fruits, flowers, resin, and oil contain valuable components (alkaloids, flavonoids, phenols, etc.) that are used in the treatment of hypertension, heart disease, diabetes, and cancer. *A. indica* oil has a high percentage of antioxidant activity due to its total phenolic content and great free radical scavenger ability. The combined use of *A. indica* seed oil with mycotoxins may reduce redox homeostatic imbalances and related side effects and possibly provide symptomatic relief.

In the present study, we reported significantly elevated cytokines, interferon-gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and collagen synthesis in the OTA-treated mice. Protection with *A. indica* oil (170 mg/mL) induced cell proliferation of normal hepatocytes and a probable anti-inflammatory therapeutic effect. The presented results suggest inhibition of OTA-induced inflammation by *A. indica* oil and ROS reduction influx by regulating IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ , and TNF- α balance after a 28-day course. *A. indica* oil has a potential restorative and protective effect, as a result of which hepatic and antioxidant enzymes are restored. In addition, the protective effects of *A. indica* seed oil have led to functional recovery in the OTA-induced mice model. Therefore, *A. indica* oil can be used as a practical approach to safe OTA-contaminated feed use.

Liver damage severity depends on both the dose and the exposure duration. Oxidative stress may increase the Ochratoxine-A (OTA) hepatotoxicity and many antioxidants may counteract toxic liver function. The present study aims to investigate the hepatoprotective potential of *A. indica* (Nnem oil) seed oil to

reduce acute oxidative disorders and residual OTA toxicity in a 28-day experimental model. The activity of antioxidant and hepatic enzymes, cytokines, and the levels of oxidative stress biomarkers –MDA, GSPx, Hydroxiprine, GST, PCC, AGEs, PGC-1, and STIR-1 were analyzed by ELISA. The free radicals ROS and RNS levels were measured by EPR. The protective effects were studied in BALB/C mice treated with *A. indica* seed oil (170 mg/kg), alone and in combination with OTA (1.25 mg/kg), by gavage daily for 28 days. At the end of the experiment, mice treated with OTA showed changes in liver and antioxidant enzymes, and oxidative stress parameters in the liver and blood. *A. indica* oil significantly reduced oxidative stress and lipid peroxidation compared to the OTA group. In addition, the hepatic histological evaluation showed significant adipose tissue accumulation in OTA-treated tissues, while treatment with 170 mg/kg *A. indica* oil showed moderate adipose tissue accumulation.

6. Zhelev, Z., **Georgieva, E.**, Lazarova, D., Semkova, S., Aoki, I., Gulubova, M., Higashi, T. and Bakalova, R. „Redox imaging” to distinguish cells with different proliferative indexes: Superoxide, hydroperoxides, and their ratio as potential biomarkers. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6373685> **IF₍₂₀₁₉₎= 5.076; Q=1**

Настоящото изследване беше насочено към разработването на EPR методология за разграничаване на клетки с различни пролиферативни активности, използвайки "редокс изображения". Три нитроксидни радикала бяха използвани като редокс сензори: (a) Mito-TEMPO - проникващ в клетката и локализиран главно в митохондриите; (b) Methoxy-TEMPO— проникващ в клетката и произволно разпределен между цитоплазмата и вътреклетъчните органели; и (c) Carboxy-PROXYL- непроникващ в живите клетки и равномерно разпределен в извънклетъчната среда. Експериментите бяха проведени върху единадесет клетъчни линии с различна пролиферативна активност и окислителен капацитет, потвърдени от конвенционални аналитични тестове. Данните показват, че раковите и нераковите клетки се характеризират с напълно различен редокс статус. Това може да се анализира чрез EPR спектроскопия, използвайки Mito-TEMPO и

Methoxy-TEMPO, но не и Carboxy-PROXYL. Корелационният анализ показва, че интензитетът на EPR сигнала на Mito-TEMPO в клетъчни суспензии е тясно свързан с нивото на супероксид. Описаната методология позволява откриване на свръхпроизводство на супероксид в живи клетки и тяхното идентифициране въз основа на вътреклетъчния редокс статус. Експерименталните данни предоставят доказателства за ролята на супероксида и хидропероксида в клетъчната пролиферация и злокачествени заболявания.

The present study was directed to the development of EPR methodology for distinguishing cells with different proliferative activities, using “redox imaging.” Three nitroxide radicals were used as redox sensors: (a) mito-TEMPO—cell-penetrating and localized mainly in the mitochondria; (b) methoxy-TEMPO—cell-penetrating and randomly distributed between the cytoplasm and the intracellular organelles; and (c) carboxy-PROXYL—nonpenetrating in living cells and evenly distributed in the extracellular environment. The experiments were conducted on eleven cell lines with different proliferative activities and oxidative capacities, confirmed by conventional analytical tests. The data suggest that cancer cells and noncancer cells are characterized by a completely different redox status. This can be analyzed by EPR spectroscopy using mito-TEMPO and methoxy-TEMPO, but not carboxy-PROXYL. The correlation analysis shows that the EPR signal intensity of mito-TEMPO in cell suspensions is closely related to the superoxide level. The described methodology allows the detection of overproduction of superoxide in living cells and their identification based on the intracellular redox status. The experimental data provide evidence about the role of superoxide and hydroperoxides in cell proliferation and malignancy.

7. Abrashev, H., Ananiev, J, Georgieva, E. Paroxysmal Finger Hematoma—A Probable Vascular Disorder in Post-COVID-19 Condition: Two Clinical Case Presentations. *Medicina*. 2022, 58, 915. <https://doi.org/10.3390/medicina58070915> IF₍₂₀₂₂₎=2.6; Q=2

a spontaneous resolution. Achenbach's syndrome is 2–7 times more common in middle-aged women than in men, and Caucasians are more affected. Although the syndrome is usually presented as a benign condition, it can cause serious unrest for patients. However, the etiology of the “painful blue finger” is still unknown, but there are a few studies that speculate on its etiopathogenesis. Typically, symptoms resolve without medical or surgical intervention. This study presents two female patients with paroxysmal finger hematoma after COVID-19 infection.

8. Georgiev, T., Hadzhibozheva, P., Karamalakova, Y. **Georgieva, E.**, Perinkadakatt, F., Ilinov, Z., Petkov, K. and Ananiev, J. Therapeutic approach of glutathione/glutathione peroxidase-4 axis modulation in the light of ferroptosis. *Pharmacia*. **2022**, *69*, 839-846. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e87716> IF₍₂₀₂₂₎=1.1; Q=2

В началото на 21 век започнаха да се натрупват доказателства за нов тип програмирана клетъчна смърт, различна от апоптозата. През 2012 г. концепцията за фероптоза беше официално представена. Отнася се до вид клетъчна смърт, която е свързана с натрупване на желязо в клетката, нарушен редокс потенциал и увеличаване на ROS със съпътстваща липидна пероксидация. Фероптозата играе важна роля в патофизиологията на няколко органични увреждания като тумори, невродегенеративни, исхемично-реперфузионни, възпалителни заболявания и други. При фероптозата водещият механизъм е изчерпването на глутатион (GSH) и инактивирането на глутатион пероксидаза-4 (GPX4), което силно измества оксидативния баланс в клетката, което води до активиране на определени сигнални пътища за индуциране на окислителна смърт. Статията има за цел да фокусира вниманието върху модулацията на GSH/GPX оста като ключов фактор при лечението на тези заболявания.

Благодарение на усилията на редица изследователи модулацията на оста GSH/GPX4 в светлината на фероптозата, както и факторите, които я влияят, започват да се разкриват. Оста GSH/GPX4 е основният път, който

контролира чувствителността на клетките към фероптоза, въпреки факта, че съществуват и други две. Оста GSH/GPX4 и фероптозата имат важна роля в развитието и лечението на рак, особено при мезенхимни и дедиференцирани тумори. Индукцията на фероптоза може да бъде обещаващ терапевтичен подход, особено за лечение на метастатични ракови заболявания, дори с множествена лекарствена резистентност. Освен това, започването на фероптоза и изчерпването на GSH са свързани с невродегенеративни заболявания, чернодробна фиброза, исхемични/реперфузионни увреждания, бъбречна недостатъчност и много други възпалителни или стресови състояния. Манипулирането на процеса може да бъде от полза за постигане на терапевтични ефекти: активирането на фероптозата със специфични индуктори може да доведе до унищожаване на определени туморни клетки, докато инхибирането със специфични феростатини може да бъде полезно за защита на органите от уврежданията, споменати по-горе.

In the 21st century beginning, the evidence of a new type of programmed cell death, different from apoptosis, began to accumulate. In 2012, the ferroptosis concept was officially introduced. It refers to a kind of cell death that is associated with iron accumulation in the cell, impaired redox potential, and ROS increment with concomitant lipid peroxidation. Ferroptosis plays an important role in the pathophysiology of several organ damages such as tumors, neurodegenerative, ischemia-reperfusion, inflammatory diseases, and others. In ferroptosis, the leading mechanism is the glutathione (GSH) depletion and inactivation of Glutathione peroxidase-4 (GPX4), which strongly shifts the oxidative balance in the cell, leading to the activation of certain signaling pathways to induce oxidative death. The article aims to focus attention on the modulation of the GSH/GPX axis as a key factor in the treatment of these diseases.

Публикувана заявка за патент или полезен модел: Вх.№ BG/U/2022/5487

„ЕЛЕКТРОН ПАРАМАГНИТЕН РЕЗОНАНС МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НИВАТА НА СЕРУМЕН АЛБУМИН И ХИПОАЛБУМИНЕМИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С КОРОНАВИРУСНА ИНФЕКЦИЯ (COVID-19)“

Синдромът на Ахенбах (AS), известен още като „болезнен син пръст“ или „пароксизмален хематом на пръст“, е рядко клинично състояние, което води до внезапна поява на синини, заедно с пареща болка и подуване на един или повече пръста, с последваща поява на хематом върху воларния аспект на проксималните фаланги без анамнеза за предходна травма. Неговото клинично представяне може да имитира остра исхемия на крайниците, болестта на Рейно, болестта на Бюргер и други медицински състояния, но обикновено очевидното подкожно кървене е самоограничаващо се и има спонтанно разрешение. Синдромът на Ахенбах е 2-7 пъти по-често срещан при жени на средна възраст, отколкото при мъже, като кавказците са по-засегнати. Въпреки че синдромът обикновено се представя като доброкачествено състояние, той може да причини сериозно безпокойство на пациентите. Въпреки това, етиологията на „болезнения син пръст“ все още е неизвестна, но има няколко проучвания, които спекулират с неговата етиопатогенеза. Обикновено симптомите изчезват без медицинска или хирургична намеса. Това проучване представя две пациентки с пароксизмален хематом на пръста след инфекция с COVID-19. Синдромът на Ахенбах в резултат на Long-COVID-19 не е описан в медицинската литература, което го прави едновременно интересен и труден за диагностициране и лечение. Тъй като коронавирусната инфекция играе важна роля в патофизиологичните механизми, инициращи ендотелна дисфункция, ние предполагаме, че AS без генетично предразположение може да се класифицира като специфично състояние, приписвано на Post-COVID-19. Тъй като както ефектите от инфекцията с AS, така и с COVID-19 имат умерена и алтернативна микроциркулаторна циркулация, лечението в такива случаи трябва първо да даде приоритет на превенцията на потенциално животозастрашаващи състояния. Необходимо е да се проведат допълнителни проучвания, за да се изясни ролята на коронавирусната инфекция в началото и прогресията на AS.

Achenbach's syndrome (AS), also known as “painful blue finger” or “paroxysmal finger hematoma”, is a rare clinical condition that results in the sudden onset of bruising along with burning pain and swelling in one or more digits, with the subsequent appearance of a hematoma on the volar aspect of the proximal phalanges without a history of prior trauma. Its clinical presentation may mimic acute limb ischemia, Raynaud's, Buerger's disease, and other medical conditions, but normally the evident subdermal bleeding are self-limiting and have

Заявка за патент с Вх.№ BG/U/2022/5487 включва метод, насочен към изследване динамиката на спин-маркера 3-Maleimido-PROXYL при COVID-19-индуцирана хипоалбуминемия или други вродени и патологични изменения, които се характеризират със стойности на серумен албумин извън референтният диапазон (35-52 g/L). Методът се фокусира върху спиново маркиране на цистеиновият остатък (Cys-34) в молекулата на албумина чрез парамагнитни синтетични пиролидинови нитроксили.

ОБХВАТ

Методът намира приложение при изследване на промени в нивата на серумен албумин и състояния на хипоалбуминемия, които се смятат за отличителен маркер на тежкопротичаща и фатална коронавирусна инфекция или са белег на усложнения при различни заболявания. Методът е приложим при болестни състояния придружени с промени в нивата на серумен албумин, вкл. COVID-19-зависима хипоалбуминемия), такива свързани с нарушаване на протеиновата структура или генетично-обусловени състояния (алоалбуминемия или бизалбуминемия, фамилна дисалбуминемична хипертироксинемия и хипертрийодтиронинемия), водещи до промени в конформацията и концентрацията на албумина. Тези състояния са с особено клинично значение, тъй като засегнатите пациенти са изложени на риск от компрометиране на лекарствената терапия или инициране на нежелани странични ефекти от приложените медикаменти.

Изготвил:



/гл.ас. Екатерина Георгиева, д.х./