

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ**

# **СБОРНИК**

**Резюмета на изследователски  
проекти  
2020-2021**

**Бюджетно финансирани проекти на  
медицински научни изследвания**

Медицински Университет – София

# **НАУЧНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТИ**

## **ФИНАНСИРАНИ ОТ МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ**

**Наредба за условията и реда за оценката, планирането,  
разпределението и разходването на средствата от държавния бюджет за  
финансиране на присъщата на държавните висши училища научна или  
художественотворческа дейност**

Издадена от Министерство на образованието и науката (в сила от 01.01.2017  
г.)

Данните, представени от изследователските екипи, към датата на отчитане на договора, се публикуват редактирани.  
Технически редактор: Проф. д-р И. Николова, секретар на СМН.

# **СЪСТАВ НА СЪВЕТА ПО МЕДИЦИНСКА НАУКА В МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ**

**с мандат 01 септември 2020 до 01 септември 2024 г.:**

## **Председател:**

1. Проф. Валентина Боянова Петкова-Димитрова, дфн, Зам.-ректор по научната дейност на МУ-София

## **Секретар с право на глас:**

2. Проф. Ирина Николова Николова, дм

## **Членове:**

3. Проф. Пламен Тодоров Пейков, дф
4. Проф. Сабина Захариева Захариева, дмн
5. Проф. Боряна Петрова Делийска, дмн
6. Проф. Емил Влайков Воденичаров, дм
7. Доц. Валентин Стойчев Лозанов, дб
8. Проф. Захарина Ангелова Савова, дм
9. Проф. Анжелика Спасова Велкова-Монова, дмн
10. Доц. Елица Георгиева Деливерска-Александрова, дм
11. Доц. Илиана Павлова Йончева-Недкова, дм
12. Акад. Радомир Георгиев Радомиров, дмн
13. Проф. Албена Борисова Момчилова, дбн
14. Проф. Мариела Константинова Оджакова-Байтошева, дб
15. Проф. Златко Николов Кълвачев, дмн
16. Доц. Димо Илиев Димов, дм
17. Павел Веселинов Видев, докторант

# **СЪСТАВ НА КОМИСИЯТА ПО ЕТИКА НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ В МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ (КЕНИМУС)**

**с мандат 12 август 2020 – 01 септември 2024 г.:**

## **Председател:**

1. Доц. Александрина Воденичарова, дм

## **Членове:**

2. Проф. Ралица Златанова Златанова-Великова, дм
3. Проф. Румяна Събчева Търновска-Къдрева, дм
4. Проф. Красимира Янева-Рибагина, дм
5. Проф. Снежина Георгиева Василева, дм
6. Доц. Весела Стоянова Стоянова, дм
7. Проф. Илиана Илиева Йонкова, дфн
8. Проф. Радка Петрова Кънева, дб
9. Ас. Кремена Иванова, докторант
10. Гл. ас. Ани Митева, доктор по право

## **Секретар:**

Натали Димитрова

## СЪДЪРЖАНИЕ

### КОНКУРС ГРАНТ 2020-2021

<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2020”</b> .....	<b>15</b>
Договор Д-90/24.06.2020 Въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на динамична експанзия в гена C9orf72 при пациенти с амиотрофична латерална склероза .....	15
Договор Д-91/24.06.2020 Тринуклеотидни експанзии – молекулярно-генетична причина за развитието на някои невродегенеративни заболявания (атаксии) при български пациенти .....	16
Договор Д-92/24.06.2020 Взаимодействие между ендогенната канабиноидна и азотно-окисната системи в патогенезата на студовия стрес .....	17
Договор Д-93/24.06.2020 г. Разширяване на обхвата на генетичните изследвания при деца със стероид-резистентен нефротичен синдром с включване на секвениране от ново поколение .....	18
Договор Д-96/24.06.2020 Клонална и серотипова динамика на неинвазивни щамове <i>S. pneumoniae</i> изолирани от деца по време на масовата имунизация с пневмококова конюгирана ваксина .....	19
Договор Д-97/24.06.2020 Изследване на преобразуванията на мембранни органели в хода на мейотичното зреене и стареенето на миши овоцити чрез визуализиране с липофилен флуорохром.....	20
Договор Д-98/24.06.2020 Изследване активността на ензима Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) и оксидативния статус в плазмата от пациенти с колоректален карцином, лекувани с 5-флуороурацил капецитабин, оксалиплатин: значение за терапевтичната ефективност и нежеланите лекарствени реакции .....	21
Договор Д-99/24.06.2020 <i>Helicobacter pylori</i> при деца с коморбидитет.....	22
Договор Д-100/24.06.2020 Имунохистохимично изследване на ендотелни фактори след селективно инхибиране на ендотелинови рецептори у спонтанно-хипертензивни плъхове .....	23
Договор Д-101/24.06.2020 Ефект на бариатричната/метаболитна хирургия върху адипокиновия профил и адипокин-индуцираното възпаление.....	24
Договор Д-102/24.06.2020 Разширяване на възможностите за диагностициране, стадиране, прогностифициране и проследяване на пациенти с невробластом чрез молекулярно-генетични изследвания .....	24
Договор Д-103/24.06.2020 Фармакологично повлияване на невропатична болка, предизвикана от противотуморни химиотерапевтици при плъхове .....	25
Договор Д-104/24.06.2020 Влияние на социалния стрес върху параметри на поведението у млади спонтанно хипертензивни плъхове: ефекти на мезембринови алкалоиди .....	26
Договор Д-105/24.06.2020 Характеристика на системното нискостепенно възпаление при есенциална и симптоматични (бъбречни паренхимни хипертонии без бременност и прееклампсии) хипертонии чрез хемореологични параметри и функционални параметри на полиморфонуклеарните левкоцити.....	27

Договор Д-114/24.06.2020 Направлявана емайлова реминерализация при прилагането на биомиметични системи – <i>in vitro</i> изследване.....	28
Договор Д-117/24.06.2020 Молекулярно-генетично проучване върху микроРНКов експресионен профил при пациенти с агресивни хормононесекретиращи хипофизни аденоми .....	29
Договор Д-118/24.06.2020 Виртуален скрининг на бази данни природни продукти с афинитет към ацетилхолинестеразата – етап 2 .....	30
Договор № Д-119/24.06.2020 г. Интегрирана стратегия за идентифициране на вторични метаболити основана на ултра-високоэффективна течна хроматография с високоразделителна мас-спектрометрия. Приложение при <i>Rhaponticoides iconiensis</i> (Hub.-Mor.) M.V.Agab. & Greuter (сем. Asteraceae) .....	31
Договор Д-120/24.06.2020 Оптимизирани клетъчни системи за получаване на фармацевтично значими нискотоксични съединения чрез структурна модификация на природни молекули.....	32
Договор Д-121/24.06.2020 Отговор на терапията с Tafamidis при наследствената транстиретинова амилоидоза дължаща се на патогенния генетичен вариант Glu89Gln характерен за българската кохорта пациенти със смесен фенотип.....	32
Договор Д-122/20.11.2020 Фитохимично проучване на <i>Astragalus corniculatus</i> и <i>Astragalus hamosus</i> .....	33
Договор Д-123/24.06.2020 UPLC-HRMS анализи на вторични метаболити във водно алкохолни екстракти от надземни части на растението <i>Portulaca oleracea L.</i> .....	34
Договор Д-124/24.06.2020 Разработване и оценка на перорални носители за педиатричната практика .....	35
Договор Д-131/24.06.2020 Установяване на генетични мутации, водещи до синдромна и несиндромна форма на пигментна дегенерация на ретината при български пациенти чрез съвременни технологии за геномен анализ .....	35
Договор Д-134/24.06.2020 Изследване на полиморфизмите rs2278329 и rs2292016 в гена за рецептора на Онкостатин М (OSMR) като фактор за развитието на дерматомиозит у възрастни .....	36
Договор Д-144/24.06.2020 Новогенерационно секвениране (NGS) за установяване на мутации в гена за уромодулин или при други гени, свързани с различно по степен хронично бъбречно заболяване и хиперурикемия/подагра при деца и млади хора .....	37
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2021’” .....</b>	<b>39</b>
Договор Д-76/04.06.2021 Молекулни основи на съединително-тъканните патологии, свързани със заболяването Ehlers-Danlos, при българските пациенти .....	39
Договор Д-77/04.06.2021 Изследване експресията на HIF-1 $\alpha$ и HIF-2 $\alpha$ проангиогенната микроРНК-а miR-1246 при карцинома на ларинкса – в търсене на туморна хетерогенност .....	40
Договор Д-78/04.06.2021 Изследване на панел от miRNA като неинвазивни диагностични биомаркери при рака на простатата.....	40
Договор Д-79/04.06.2021 Структурни и неврохимични особености на невроепителните телца в спонтанно хипертензивни плъхове.....	41

Договор Д-80/04.06.2021 Серологично проучване за установяване на асимптоматично разпространение на SARS-CoV-2 в географски и климатично обособен район в България .....	42
Договор Д-81/04.06.2021 Проучване потенциала на котките като резервоар и източник на инфекции със SARS-CoV-2 при човека в България .....	43
Договор Д-82/04.06.2021 Изследване на панел от физионни гени при детски солидни тумори чрез новогенерационно секвениране .....	44
Договор Д-83/04.06.2021 Пълно екзомно секвениране при пациенти с комплексни форми на епилепсия, свързани с други нарушения в развитието на нервната система и вродени малформации .....	45
Договор Д-84/04.06.21 Присъствие и роля на вируси от сем. Herpesviridae в патологията простатен карцином.....	46
Договор Д-85/04.06.2021 Взаимодействие между ендогенната канабиноидна и серотонергичната системи в патогенезата на студовия стрес.....	48
Договор Д-86/04.06.2021 Крос-корелативен анализ на динамиката в неврологичното поведение и параметрите на мозъчния протеом у плъхове с индуциран STZ-ICV експериментален модел на болест на Алцхаймер. ....	50
Договор Д-87/04.06.2021 Когнитивно-поведенчески промени при хипотиреоидизъм – вероятна връзка с намалена серотонинергична медиация .....	51
Договор Д-88/04.06.2021 Ефекти на инхибитори на азотен оксид синтазата и цистатионин гама-лиаза върху лептин-индуцираната хипертермична реакция в плъхове .....	52
Договор Д-89/04.06.2021 Ефективност на почистване на овални коренови канали след ендодонтско прелекуване с различни техники .....	54
Договор Д-90/04.06.2021 Изследване на ангио- и остеогенния потенциал на лимонената киселина върху стволите клетки от апикална папила.....	55
Договор Д-95/04.06.2021 Изследване здравината на адхезивната връзка на пулпопокровни средства и нанокмпозит при различни времеви условия .....	55
Договор Д-96/04.06.2021 Анализ на превантивната дейност при работа с рискови биологични и химични фактори в денталната медицина.....	56
Договор Д-97/04.06.2021 Влияние на температурните промени при синтероване на керамика върху механичните качества на метални субструктури, произведени чрез CAD/CAM технологии.....	57
Договор Д-98/04.06.2021 Флавоноиди в <i>in vitro</i> култури от <i>Astragalus hamosus</i> .....	58
Договор Д-99/04.06.2021 LC-MS и GC-MS анализи на пиролизидинови алкалоиди в сложни матрици .....	58
Договор Д-100/04.06.2021 Молекулно моделиране, синтез и изследване на MAO инхибиращ ефект на нови N-пиролил карбоксамиди .....	59
Договор Д-101/04.06.2021 Разработване на RP-HPLC метод за фармако-аналитично охарактеризиране на анаболния стероид Methenolone acetate в хранителни добавки.....	60

Договор Д-102/04.06.2021 Хемофенетични аспекти в триб Senecioneae (сем. Asteraceae): комбиниране на морфометрични и фитохимични анализи в търсене на специализирани природни продукти .....	61
Договор Д-103/04.06.2021 In vitro проучване на ефектите на наноразмерни лекарство-доставящи системи с комбинирано натоварване на доксорубин и антиоксиданти .....	62
Договор Д-104/04.06.2021 Разработване на HPLC метод за определяне на пирол-съдържащи хидразони с MAO-B активност в биологична среда .....	63
Договор Д-105/04.06.2021 Стимулиране продукцията на флавоноиди в ин витро култури на <i>Gypsophila glomerata</i> , (Caryophyllaceae) .....	64
Договор Д-106/04.06.2021 Фармакологични изследвания на оригинални новосинтезирани производни на креатина .....	64
Договор Д-118/04.06.2021 Определяне множественната резистентност на щамове <i>Helicobacter pylori</i> при българските деца.....	65
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2020” .....</b>	<b>67</b>
Договор Д-94/24.06.2020 Проучвания върху ехографските екстрахепатални промени и лабораторната диагностика в хода на вирусен хепатит А в детска възраст .....	67
Договор Д-95/24.06.2020 Проучване състава на бактериалния биофилм при различни временни имплантатни протезни конструкции с молекулярно-гентилен метод.....	68
Договор Д-106/24.06.2020 Нива на секреторния имуноглобулин А и лактоферина в слюнката при пациенти с подпротезен кандидозен стоматит.....	69
Договор Д-107/24.06.2020 Сравнително изследване адхезивната връзка на два вида циркониева керамика в зависимост от вида на циментиращото средство (in vitro изследване) .....	69
Договор Д-109/24.06.2020 Бруксизъм и зъбно изтриване в детска възраст – епидемиология, рискови фактори, клинични характеристики, превенция и лечение.....	71
Договор Д-110/24.06.2020 Сравнително разглеждане на имплантатните супраструктури в зависимост от биомеханичните характеристики на използваните дентални материали .....	72
Договор Д-111/24.06.2020 Подобряване на детското орално здраве чрез мобилна игра .....	73
Договор Д-112/24.06.2020 Геометрична точност на протезните конструкции, изработени чрез аналогови и дигитални методи за снемане на отпечатък и производство.....	74
Договор Д-113/24.06.2020 Епидемиология, диагностика, лечение и профилактика на плак-индуцирани гингивити в детско юношеска възраст.....	75
Договор Д-115/24.06.2020 Съвременни аспекти в превенцията и ранното лечение на оклузални кариозни лезии на постоянни молари.....	76
Договор Д-116/24.06.2020 Ендодонтско и хирургично лечение на хронични грануломатозни периодонтити-рандомизирано клинично изследване .....	77
Договор Д-128/24.06.2020 Копептин като биомаркер за диагностика на остра екзацербация на ХОББ или изострена ХСН при пациенти с диспнея .....	78



Договор Д-129/24.06.2020 Проучване и оценка на диагностичната и прогностичната роля на острофазовите протеини IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 и прокалцитонин като предиктори за ранна инсуфициенция на анастомозата след предна резекция на ректума – продължение .....	79
Договор Д-130/24.06.2020 Маркери за овариална дисфункция при синдром на поликистозни яйчници .....	80
Договор Д-132/24.06.2020 Скрининг за фибромускулна дисплазия (FMD) в България и генетични аспекти .....	81
Договор Д-133/24.06.2020 Роля на биохимични биомаркери за невронална активност и клинични невропсихологични тестове при пациенти с каротидно стентирание .....	81
Договор Д-135/24.06.2020 Миниинвазивна глаукомна хирургия- гониотомия с двойното острие на Kahook при откритоъгълна глаукома .....	82
Договор Д-136/24.06.2020 Роля на H. pylori инфекцията и стомашната атрофия в развитието на метаболитния синдром и дисрегулацията на свързаните с апетита хормони .....	83
Договор Д-137/24.06.2020 Роля на серумните маркери за фиброза – алфа 2-макроглобулин (Alpha 2-Macroglobulin - A2M) и хиалуронова киселина (Hyaluronic acid - HA) като предиктори за наличието и определяне на степента на езофагеални варици при пациенти с хронично чернодробно заболяване .....	84
Договор Д-138/24.06.2020 Ролята на microRNA-21 и microRNA-31 като маркери за диагностика на спорадичния и колит-асоциирания колоректален карцином .....	85
Договор Д-139/24.06.2020 Изследване на метилмалонова киселина за оценка на витамин B12 статус при пациенти със захарен диабет тип 2 .....	86
Договор Д-140/24.06.2020 Комплексна оценка на липидния профил в ранните етапи на нарушения в глюкозния толеранс.....	87
Договор Д-141/24.06.2020 Антинуклеарни антитела – честота, имунофлуоресцентно светене и специфични субтипове у родственици първа степен на болни със системен лупус – клинични, лабораторни, серологични и имунологични корелации .....	88
Договор Д-142/24.06.2020 АДМА - биомаркер за бъбречна увреда в условията на компенсирана и декомпенсирана цироза .....	89
Договор Д-143/24.06.2020 Функционални автоантитела, апоптоза и фактори за оцеляване на В лимфоцитите при пациенти с ранна форма на прогресивна системна склероза .....	90
Договор Д-145/24.06.2020 IL-6 – един прогностичен фактор за късни неврологични увреждания при недоносени новородени /26-32г.с./ .....	91
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2021” .....</b>	<b>92</b>
Договор Д-91/04.06.2021 Значимост на генен полиморфизъм на Интерлевкин -13 на позиция (-1112) при пародонтит .....	92
Договор Д-92/04.06.2021 Възможности за диагностика на орален карцином и орални пренеоплазии чрез количествено определяне на цитокини и други имуно-реактивни и регулаторни молекули в слюнка .....	93

Договор Д-93/04. 06. 2021 Сравнително изследване на регенеративния потенциал на богатия на тромбоцити фибрин (PRF) и Emdogain® при хирургичното лечение на F <sub>2</sub> фуркационни дефекти на долни молари .....	94
Договор Д-94/04.06.2021 Сравняване на механичните качества на различни материали за инлеи, онлеи и овърлеи - лабораторно изследване .....	94
Договор Д-110/04.06.2021 Проучване върху приложението на Indocyanine Green за оценка на чернодробната функция с цел прогнозиране на риска за развитие на следоперативна чернодробна недостъпност .....	95
Договор Д-111/04.06.2021 Идентифициране на генни мутации, водещи до наследствена детска катаракта при български пациенти чрез новогенерационно секвениране .....	97
Договор Д-112/04.06.2021 Въвеждане на нов радиофармацевтик (68 Ga PSMA) за позитронно емисионна томография/компютърна томография (PET/CT) при пациенти с биохимичен рецидив след радикална простатектомия .....	98
Договор Д-113/04.06.2021 Роля на висцералната мастна тъкан и скелетната мускулатура в патогенезата на синдрома на поликистозни яйчници .....	99
Договор Д-114/04.06.2021 Пандемията от COVID-19 и психосоциалните последици от нея като рискови фактори за влошаване на пациенти с депресивни и тревожни разстройства, сравнени със здрави контроли.....	100
Договор Д -115/04.06.2021 Изследване на панкреасната екзокринна функция при пациенти с панкреасни заболявания .....	100
Договор Д-116/04.06.2021 Определяне на диагностичната точност на контрастно-усилената ендоскопска ехография в сравнение със стандартните образни методи при пациенти с кистични и солидни неопластични лезии на панкреаса .....	101
Договор Д-117/04.06.2021 Специфични ренални маркери, отличаващи началната диабетна нефропатия от доброкачествена транзиторна микроалбуминурия при юноши с тип 1 захарен диабет .....	102
Договор Д-119/04.06.2021 Приложимост на симулатор за минимално инвазивна ринг-анулопластика на митрална клапа .....	103
Договор Д-120/04.06.2021 Влияние на симпатиковата нервна система, катехоламините, и техния регулатор реналаза за развитието на поликистозен овариален синдром и неговите клинични прояви .....	104
Договор Д-121/04.06.2021 Промени в костната минерална плътност при първичен хиперпаратиреоидизъм и аутоимунен тиреоидит на Хашимото .....	105
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2020’ .....</b>	<b>107</b>
Договор Д-108/24.06.2020 Баристри за достъп до дентално здраве от страна на пациента и влиянието им върху денталното здраве .....	107
Договор Д-125/24.06.2020 Измерване на здравната грамотност на населението и организациите в Р. България .....	108

Договор Д-126/24.06.2020 Проучване ефективността на иновативен модул за повишаване компетентността по оказване на помощ при спешни състояния сред студенти от Медицински колеж „Й. Филаретова“ .....	109
Договор Д-127/24.06.2020 Сравнителна оценка на съдържанието на антиоксидантни полифенолни съединения в медицински растения, техни плодове и хранителни добавки .....	110
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ „ГРАНТ’ 2021” .....</b>	<b>112</b>
Договор Д-107/04.06.2021 Изследване на дишането при жени в трудоспособна възраст (18-64 години) от сферата на здравните грижи.....	112
Договор Д-109/04.06.2021 Видеоалгоритмите, като средство за повишаване качеството на обучение по здравни грижи в електронна среда .....	113
<b>КОНКУРС „МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ 2020-2021 .....</b>	<b>115</b>
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ 2020 .....</b>	<b>115</b>
Договор Д-74//24.06.2020 Генетични фактори, повлияващи възрастта на начало на заболяването при пациенти с транстиретинова амилоидоза в българската популация.....	115
Договор Д-77//24.06.2020 Експериментално нутритивно модулиране на експресията на гени от инсулиновия сигнален път.....	116
Договор Д-87/24.06.2020 СИНТЕЗ НА 1,3,4-ОКСАДИАЗОЛОВИ ПРОИЗВОДНИ И <i>IN VITRO</i> ОЦЕНКА НА ВЪЗМОЖНАТА ИМ НЕВРОПРОТЕКТИВНА И МАО-В ИНХИБИТОРНА АКТИВНОСТ.....	117
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ 2021 .....</b>	<b>119</b>
Договор Д-124/04.06.2021 Роля на Herpes simplex virus 1/2 ( <i>HSV1/2</i> ) инфекцията, като кофактор за повишен риск от агресивен клиничен ход на заболяването простатен карцином при български пациенти след радикална лапароскопска простатектомия .....	119
Договор Д-125/04.06.2021 Молекулярно-генетични основи на хипертрофичната кардиомиопатия в България.....	119
Договор Д-127/04.06.2021 Анализ на генетичните полиморфизми на OСТ1, MATE1, MATE2 и GLP1R при плъхове с експериментално-индуцирано затлъстяване и въглехидратни нарушения .....	121
Договор Д-130/04.06.2021 Оценка на нивата на прооксидантни, антиоксидантни и метаболитни показатели при опитни животни с различни хранителни режими.....	121
Договор Д-131/04.06.2021 Експериментален модел на изследване на забавената контактна свръхчувствителност (ЗКС) при плъхове.....	122
Договор Д-138/04.06.2021 <i>In vitro</i> оценка ефектите на холин върху активността на някои изоформи на Цитохром P450 (CYP3A4, CYP2D6) .....	123
Договор Д-139/04.06.2021 <i>In vitro</i> оценка ефектите на пиролови производни върху изолирани плъши мозъчни синаптозоми и върху активността на CYP1A2 изоформата на Цитохром P450 .....	124

Договор Д-140/2021 Дизайн и цитотоксична активност на нови производни на квадратната киселина .....	125
Договор Д-141/04.06.2021 Сравнително in vitro изследване на капацитета на новосинтезирани комплекси на La(III) и Sm(III) с триазолов лиганд да участват в реакции на електронен обмен и отдаване на водороден атом .....	125
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ 2020 .....</b>	<b>127</b>
Договор Д-75/24.06.2020 Оценка на алергичното възпаление на носната и бронхиална лигавица, чрез изследване на цитокинов профил в периферна кръв .....	127
Договор Д-76//24.06.2020 Ролята на Онкостатин М в патогенезата на хроничните възпалителни чревни заболявания и употребата му като предиктор за отговор към терапията .....	128
Договор Д-78/24.06.2020 Биоактивни обтурационни композиционни системи и вторичен кариес във временното съзъбие .....	129
Договор Д-79/24.06.2020 Взаимовръзка между експресията на муциновите гени и капацитета за формиране на бактериални биофилми в областта на ушите, носа и гърлото .....	130
Договор Д-80/24.06.2020 sVAP-1 и оксидативен стрес в спектъра на метаболитното здраве, нарушенията на глюкозната обмяна и прогнозирания сърдечносъдов риск сред пациенти с хронична бъбречна болест 1-4 ст. ....	130
Договор Д-81/24.06.2020 Оценка ефективността на алергенна имунотерапия чрез клинични и биологични показатели при алергичен ринит .....	131
Договор Д-82/24.06.2020 Влияние на IFN-γ върху свойствата на мезенхимни стволови клетки изолирани от тъкан от пъпна връв .....	132
Договор Д-83/24.06.2020 Роля на UKL-40, IL-17, Lp-PLA2, Hyaluronidase и Heparanase като маркери за сърдечно-съдово заболяване, асоциирано с псориатичен артрит .....	133
Договор Д-85/24.06.2020 Хиперандрогенизъм при синдром на поликистозни яйчници и изследване на връзката му с PSA и серумни маркери за ранна хрущялна загуба .....	134
Договор Д-86//24.06.2020 Нови маркери за оценка на макросъдовия риск при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна .....	135
Договор Д-88/24.06.2020 Промени в някои маркери на костния метаболизъм при първичен хиперпаратиреоидизъм и автоимунен тиреоидит на Хашимото .....	136
Договор Д-89/26.04.2020 Метастатичен потенциал на ларингеален карцином при променена експресия на LAD1 .....	137
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ 2021 .....</b>	<b>138</b>
Договор Д-122/04.06.2021 Комплексна оценка на гликемичния контрол при пациенти преминали на терапия с инсулинова помпа .....	138
Договор Д-123/2021 Изследване влиянието на разтворими фактори от кондиционирани среди на мезенхимни стволови клетки върху В-лимфоцити .....	139

Договор Д-126/04.06.2021 Роля на HLA клас I и клас II полиморфизми при орален спиоцелуларен карцином.....	140
Договор Д-128/28.04.2021 Изследване на генетичния спектър на вродените миотонии в България .....	140
Договор Д-129//04.06.2021 Генетична верификация и оценка на засягане на тънки немиелинизирани и слабомиелинизирани нервни влакна при Наследствена моторна и сетивна невропатия.....	141
Договор Д-132/04.06.2021 Ролята на биомаркера SFRP4 за оценка на промените в метаболитния профил при пациенти с обезитет преди и след бариатрична/метаболитна хирургия.....	142
Договор Д-133/04.06.2021 Ролята на нови адипокини в глюкозния континуум .....	143
Договор Д-136/04.06.2021 г. Характеристика на освобождаването на флуорни йони от различни биоактивни obtурационни материали .....	143
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ 2021 .....</b>	<b>145</b>
Договор Д-137/04.06.2021 Лонгитудинално проучване на качеството на живот и анализ на разходите за лечение на пациенти с акромегалия в България .....	145
<b>КОНКУРС „СТИМУЛИРАНЕ НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ В ОБЛАСТИ С ПОСТИГНАТИ ВИСОКИ ПОСТИЖЕНИЯ’ 2020-2021 .....</b>	<b>147</b>
Договор Д-38/04.03.2021 Ролята на нови биомаркери за сърдечно съдовия риск и метаболитните промени при пациенти с обезитет преди и след бариатрична/метаболитна хирургия.....	147
Договор Д-39/04.03.2021 Оценка на прогресивното васкуларно ремоделиране на мозъчните артерио-венозни малформации .....	148
Договор Д-42/08.03.2021 Въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на динамична експанзия в гена <i>ATXN2</i> при пациенти с амиотрофична латерална склероза .....	149
Договор Д-43/08.03.2021 Молекулно-генетични варианти в гена <i>BTD</i> , кодиращ ензима биотинидаза в България .....	150
Договор Д-44/08.03.2021 Присъствие на ниско, средно и високорискови типове човешки папиломни вируси в тъканни материали на пациенти с доброкачествена простатна хиперплазия, преанцерозни състояния и/или простатен карцином .....	151
Договор Д-45/08.03.2021 Епидемиологично типизиране с молекулярно-генетични методи на изолати <i>Staphylococcus aureus</i> от различни инфекции .....	151
Договор Д-46/08.03.2021 Оценка на инкретинов отговор при различни степени на отклонения в глюкозния толеранс.....	152
Договор Д-47/08.03.2021 Зависимост между присъствие на генен полиморфизъм на IL- 23 и тежест на пародонтита.....	153

Договор Д-213/15.12.2021 Разпространение на SARS-CoV-2 мутантен вариант (делеция в <i>ORF8</i> от 382 н.дв.) в българска извадка с позитивни пациенти и връзката му с характерна клиника .....	154
Договор Д-214/15.12.2021 Изследване на глюкозо-зависим инсулинотропен полипептид (GIP) при състояния на предиабет .....	155
Договор Д-216/15.12.2021 Разширяване на молекулната патология при пациенти с късна малкомозъчна атаксия, негативни за експанзии на динамични повтори, чрез новогенерационно секвениране.....	155

## **КОНКУРС „ИЗГРАЖДАНЕ НА ИНФРАСТРУКТУРА ЗА НАУЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ**

### **В МУ – СОФИЯ’ 2020 - 2021..... 157**

Договор Д-40/04.03.2021 Доизграждане на лаборатория за изследване на стойката и локомоцията към Катедрата по кинезитерапия във ФОЗ при МУ-София (II-ри етап) .....	157
Договор Д-41/08.03.2021 Изграждане на вътрешна мрежова инфраструктура за осигуряване на съхранението, трансфера и обработката на биологични сигнали и получени експериментални резултати от комплексни изследвания на животински модели на социално значими заболявания .....	158
Договор Д-212/13.12.2021 Интеграция на дигитално-информационен модул на базата на cad/cam технологии в обучението на студентите от специалност “зъботехник” на Медицински Колеж “Йорданка Филаретова” .....	159

## Договор Д-90/24.06.2020 Въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на динамична експанзия в гена *C9orf72* при пациенти с амиотрофична латерална склероза

**Изследователски екип:** Проф. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дбн

- Гл.ас. Биляна Георгиева Георгиева, дб
- Гл.ас. Силвия Календарова-Вълкова, дб
- Проф. Ивайло Търнев, дмн
- Мария Дюлгерова
- Янка Дангулова
- Ас. Ани Митева

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Медицинска химия и биохимия,

**РЕЗУЛТАТИ:** Амиотрофичната латерална склероза (АЛС) е невродегенеративно заболяване, характеризиращо се с прогресивна дегенерация на горните и долните моторни неврони, водеща до загуба на функция, последвана от мускулна слабост, хипотрофии, гълтателни и дихателни нарушения. АЛС се разделя на две форми: спорадична (сАЛС) и фамилна (фАЛС). Най-често срещаната е спорадичната (90–95%), като фамилният АЛС се среща при 5-10% от случаите, асоциирани с доминантно унаследяване. Причината за настъпването на АЛС не е напълно изяснена, но са открити над 20 асоциирани гена. Най-често срещаните от тях са *C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP*, и *FUS*, които се установяват при около 10% от пациентите. Вариантите в *C9orf72* гена са основната причина за възникване на фАЛС - 16-40% от случаите (и малък процент от сАЛС). Целта на научната разработка беше да се изяснят молекулните характеристики, лежащи в основата на заболяването при пациенти с амиотрофична латерална склероза (ALS), чрез молекулярно генетичен анализ на динамична експанзия в гена *C9orf72*. Анализът осъществихме, чрез определяне на чувствителността и специфичността на различните методи за генотипизиране на *C9orf72*. Бяха подбрани 171 проби от пациенти с клинична диагноза АЛС, при 7 от които установихме експанзии (4,1%) с над 145 GGGGCC повтора. Не бяха открити къси експанзии и гранични стойности от 24 до 30 повтора. Литературните данни показват вариабилни процентни съотношения за генетично верифицираните случаи (4 до 40%), което се дължи най-вече на малките извадки и съотношението сАЛС-фАЛС. Нашата група също съдържа сАЛС и фАЛС случаи, което обяснява ниския процент генетично верифицирани случаи. Получените резултати обогатяват световните бази данни и хвърлят светлина върху генетично охарактеризираните български АЛС пациенти. Засегнатите пациенти и техните семейства могат да получат адекватна медико-генетична консултация, профилактика и пренатална диагностика.

**Научни публикации и прояви:**

- Ormandzhiev S, Todorov T, Angelov T, Chamova T, Mitev V, Todorova A, Tournev I. Targeted screening of the *C9orf72* gene in Bulgarian amyotrophic lateral sclerosis patients. *Acta Medica Bulgarica* 2022;49.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-91/24.06.2020 Тринуклеотидни експанзии – молекулярно-генетична причина за развитието на някои невродегенеративни заболявания (атаксии) при български пациенти**

**Изследователски екип:** Гл.ас. Биляна Георгиева Георгиева, дб

- Проф. Албена Тодорова-Георгиева, дб, дбн
- Гл. ас. Силвия Календерова-Вълкова, дб
- Мария Дюлгерова
- Янка Дангулова
- Гл. ас. Ани Митева
- Стоян Бичев
- Тихомир Тодоров, дб

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Цел на проекта бе да изследваме 200 български пациенти с генетично неуточнена форма на атаксия (атаксия на Фридрайх, спиноцеребеларна атаксия или друг тип атаксия) за тринуклеотидните експанзии CGG в гена *FMRI* и GGC в гена *NOTCH2NCL*. Тези експанзии са молекулно-генетичните причини за заболяванията Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS, OMIM # 300623) и респективно Neuronal intranuclear inclusion disease (NIID, OMIM # 603472). Методи: Изолране на високомолекулна ДНК, полимеразна верижна реакция с два и с три праймера (three-primer CGG Repeat Primed PCR), агарозна гел-електрофореза, капилярна електрофореза на автоматичен секвенатор. Резултати: При един пациент установихме премутация в гена *FMRI* (95 пъти повторение на тринуклеотида CGG), с което стана възможно поставянето на точната молекулно-генетична диагноза FXTAS. Откриването на носителство на същата премутация у неговата дъщеря позволи идентифицирането на причината за диагностицираната при нея преждевременна овариална недостатъчност-1 (Premature ovarian failure 1, OMIM # 311360). Установихме 58 пациенти суспектни за заболяването NIID, поради наличие само на един алел (хомозиготи) с нормален брой повторения на GGC-мотива в гена *NOTCH2NCL*. Възможно е тези пациенти да имат един и същ брой на GGC-мотива и в двата си алела или вторият алел да е с експанзия, която не може да бъде детектирана с приложени метод за анализ. Тази група пациенти изискват по-нататъшна задълбочена работа за потвърждаване/отхвърляне на диагнозата NIID. Заключение: Въведените методики позволяват провеждането на молекулно-генетична диагностика в България на още две невродегенеративни заболявания- FXTAS и NIID. Това разширява възможностите за поставяне на точна генетична диагноза, което е от голямо значение за прогнозиране хода на заболяването, за провеждане на адекватно генетично консултиране и ефективна профилактика в засегнатите семейства. Работата по проекта позволи обособяването на ДНК банка от добре селектирана група пациенти, при които са отхвърлени редица възможни молекулно-генетични диагнози. Тази група пациенти е добра основа за продължаване на научните разработки в областта на невродегенеративните заболявания в България.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.



## **Договор Д-92/24.06.2020 Взаимодействие между ендогенната канабиноидна и азотно-окисната системи в патогенезата на студовия стрес**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Христина Христова Ночева-Димитрова, дм

- Проф. д-р Александър Стойнев, дм
- Доц. д-р Роман Ташев, дм
- Доц. д-р Румен Николов
- Гл. ас. д-р Георги Богданов, дм
- Веселина Михайлова
- Теодор Ангелов

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по патофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проекта бе да се изследва съвместното участие на канабиноидната и азотно-окисната системи в патогенезата на студовия стрес, като за индиректен показател се приема стрес-индуцираното намаление на болковата чувствителност, известно като стрес-индуцирана аналгезия (СИА). Проучванията са показали поотделно участието на ендогенната канабиноидна и азотно-окисната системи в развитието на СИА. При нашите опити бяха въвеждани различни комбинации от агонист/антагонист на канабиноидните СВ1-рецептори и прекурсор на азотния оксид, приложени преди излагане на животните на едночасов студов стрес (1ч СС). Болковата перцепция бе определяна посредством методи с прилагане на механично или термично дразнене. При анализа на получените резултати направи впечатление разнопосочното повлияване на болковата перцепция, отчетена чрез механичен (РР-тест) и термичен (НР-тест) стимул:

- АЕА, въведен самостоятелно преди излагане на животните на стрес, повиши болковия праг през първите 20 мин от изследването, като за същия период скъси НР-латентността. Обратно – L-arg понижи РР-прага, но удължи НР-латентността;
- съвместното въвеждане на АЕА и L-arg понижи РР-прага спрямо животните с 1ч СС, но той остана по-висок от стойностите на контролите, т.е. налице бе стрес-индуцирана аналгезия (макар и по-слаба от тази след 1ч СС); при НР-теста стойностите останаха съизмерими с тези на контролите – т.е. не се отчете СИА.

При обяснението на получените резултати следва да се имат предвид:

- различните пътища на предаване на информацията от механо- и терморепторите;
- участието на канабиноидната система както в механизмите на стрес-индуцираната аналгезия, така и в анти-стрес системата на организма;
- двупосочното участие на азотния оксид в централните и в периферните механизми на ноцицепцията.

Получените резултати подкрепят участието на канабиноидите в стрес-системата на организма – самостоятелното приложение на АЕА потенцира СИА, докато антагонизирането на СВ1 рецепторите я понижи. Възможно е ефектът на АЕА по отношение на РР-прага и НР-латентността да се обуславя отчасти от понижаване отделянето на азотен оксид, с което се повлияват както централната сенсибилизация от азотния оксид, така и вторична (периферна) хипералгезия.

**Научни публикации и прояви:**

- Hristina HN, Encheva-Stoykova EN, Grigorov EE. Interaction between endocannabinoids and the adrenergic system before and after stress-exposure. *Pharmacia*. 69(1):249-254.

- Khan AA, Doubovina E, Oliveira N, et al. Cannabinoids and nitric oxide-ergic system in pathogenesis of cold stress-induced analgesia. International Congress of Medical Sciences. Sofia, Bulgaria. 13-16 May 2021, p 70.
- Iakovoglou D, Petrov K, Shah N, Nocheva H. The endogenous cannabinoid system and nitric oxide interact in modulation of cold stress-induced analgesia. International Congress of Medical Sciences. Sofia, Bulgaria. 13-16 May 2021, p 77.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-93/24.06.2020 г. Разширяване на обхвата на генетичните изследвания при деца със стероид-резистентен нефротичен синдром с включване на секвениране от ново поколение**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Олга Живанова Белчева, доктор

- Кунка Каменарова, дб
- Доц. д-р Мария Гайдарова, дм
- Д-р Димитър Русинов, дм
- Калина Михова
- Ас. Галя Златанова-Рашкова
- Доц. Полина Митева-Шумналиева, дм
- Фелиция Шакова, дб

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра „Медицинска химия и биохимия“, Център по молекулна медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Нефротичният синдром е често срещано заболяване при деца, което в повечето случаи подлежи на лечение с кортикостероиди. При 10-20% от болните липсва отговор на стандартното лечение - говорим за стероид-резистентен нефротичен синдром, СРНС, който се характеризира с тежко протичане и висок риск от бъбречна недостатъчност. Установени са над 50 гена свързани със СРНС, като най-често засегнати са *NPHS1*, *NPHS2* и *WT1*. Целта на настоящия проект бе да се използва секвениране от ново поколение, NGS, за разширяване обхвата на генетичните изследвания при деца със СРНС. В проекта включихме 9 пациента. Всички, с изключение на един, при когото заболяването протича особено тежко, със загуба на бъбречна функция преди навършването на 10 години и множество мозъчни инфаркти, бяха предварително изследвани за мутации в трите горепосочени гена. Извършихме прицелно екзомно секвениране с генен панел TruSight One (Illumina) на платформата MiSeq. За потвърждение на находките и определяне произхода на мутациите използвахме секвениране по Sanger. Класифициране на новооткритите варианти направихме съгласно критериите на ACMG. Болестотворни или потенциално болестотворни варианти бяха открити при 6 от изследваните деца. Доказахме, че заболяването на един от пациентите се дължи на позната мутация в гена *NOS1AP*, чиято роля за етиологията на СРНС бе разкрита съвсем наскоро. Допълнителен рядък вариант в *MYH11* при същото дете може би допринася за съдовата патология. Заболяването при друго дете се обяснява с носителството на позната болестотворна мутация в гена *TRPC6*. При четири от пациентите бяха открити потенциално болестотворни варианти в гените *CFHR5*, *ITGB3*, *ACTN4* и *LAMB2*. Доказването на ролята на тези мутации за патогенезата на СРНС ще изисква допълнителни изследвания. Резултатите от NGS при пациенти със СРНС потвърдиха очакванията ни за голямо разнообразие на молекулните основи на заболяването. Използването на този метод ни позволи да идентифицираме

болестотворни мутации при две от изследваните деца и потенциално патогенни варианти при още четири.

**Научни публикации и прояви:**

- R. Bozhilova, O. Beltcheva, G. Zlatanova, K. Kamenarova, K. Mihova, F. Shakola, D. Roussinov, M. Gaydarova, V. Mitev, R. Kaneva. Application of NGS sequencing for improved diagnosis in the pediatric nephrology setting. European Human Genetics Conference, Virtual Conference, AUGUST 28–31, 2021

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-96/24.06.2020 Клонална и серотипова динамика на неинвазивни щамове *S. pneumoniae* изолирани от деца по време на масовата имунизация с пневмококова конюгирана ваксина**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Лена Петрова Сечанова, дм

- Гл. ас. Александра Александрова, дм
- Проф. д-р Лена Сечанова, дм
- Петя Станкова, дм
- Даниела Пенчева, дм

**Базова организация:** МУ-София, Медицински Факултет, Катедра по медицинска микробиология.

**РЕЗУЛТАТИ:** Неинвазивните пневмококови инфекции (NIPD) са често срещани в детската възраст. Ние имахме за цел да определим клоналното разпространение, серотипа и антиминокробната чувствителност на *S.pneumoniae* щамове изолирани от деца с NIPD по време на PCV10-(2016-2020) периода в България. Материали и методи Серогрупирането/серотипирането извършихме с латекс-аглутинация и квелунг-реакция. Щамовете от серогрупа 6 бяха подложени на PCR-серотипиране. Антибиотичната чувствителност беше определена чрез микроразреждане на бульона. MLST се извърши за определяне на клоналната структура на изолатите. Резултати Анализирахме 202 детски неинвазивни *S. pneumoniae* изолати. Децата, ваксинирани с PCV10, бяха 94,1%. Установихме 88.0% неваксинални серотипове (NVT) и 12.0% PCV10 - серотипове. Всички често срещани серотипове бяха NVT: 19A (13.0%), 6C (12.3%), 3 (11%), 15A (7.8%) и 23A (5.2%). Най-високи нива на антиминокробна нечувствителност беше отчетена спрямо еритромицин (50,0%), перорален пеницилин (49,4%), клиндамицин (45,4%), триметоприм-сулфаметоксазол (43,5%), тетрациклин (42,2%) и цефтриаксон (14,3%). Мултирезистентните щамове (MDR) бяха 51,3%. MDR-серотипове бяха 6C (20,2%), 19A (17,7%), 15A (11,4%), 19F (10,1%) и 23A (8,9%). MLST представи 16 клонални комплекса (CCs), като преобладаваха CC320, CC386, CC505, CC8029 и CC2613 обхващащи 83.0% MDR изолати. Заключение Всички доминиращи NIPD серотипове в нашия географски район по време на изследвания PCV10-период бяха NVT (19A, 6C, 3, 15A и 23A). Петте широко разпространени CC: CC320, CC386, CC505, CC8029 и CC2613 обхващаха 83% MDR изолати. Необходими са системни бъдещи проучвания върху индуцираните от ваксината промени касаещи клоналността и антиминокробната резистентност на пневмококовата популация.

**Научни публикации и прояви:**

- Alexandrova A, Pencheva D, Mitov I, Setchanova L. Clonal distribution, antimicrobial resistance, and pilus islets in *S. pneumoniae* isolates recovered from PCV10-vaccinated

children with suppurative AOM in Bulgaria (2015-2020). Jpn J Infect Dis. 2022;75(1):92-95. (IF<sub>2019</sub> - 1.240)

- Сечанова Л, Й. Калчев, Т. Стоева, М. Средкова, Г. Лазарова, А. Александрова и И. Митов. Пневмококовата инвазивна инфекция и серотиповата замяна след масовата имунизация с 10 валентна конюгирана ваксина (PCV10). XVIII Национален Конгрес по Клинична Микробиология и Инфекции на БАМ. София 30.09-02.10. 2020, Сборник резюмета, стр. 44, Доклад от Програмата.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-97/24.06.2020 Изследване на преобразуванията на мембранни органели в хода на мейотичното зреене и стареенето на миши овоцити чрез визуализиране с липофилен флуорохром**

**Изследователски екип:** Доц. Майя Дянкова Маркова, дб

- Проф. Стефка Делимитрева, дб
- Доц. Ралица Живкова, дб
- Гл. ас. Венера Николова, дб
- Гл. ас. Ирина Чакърва, дб
- Ас. Антон Коларов
- Доц. Милена Мурджева-Андонова, дб

**Базова организация:** МУ - София, МУ - София, Медицински факултет, катедра Биология

**РЕЗУЛТАТИ:** Беше изследвано разпределението на мембранните органели на различни типове клетки чрез оцветяване с липофилния флуорохром DiOC<sub>6</sub>, съчетано с оцветяване на ДНК с Hoechst и на микрофиламентите с фалоидин-TRITC. Установи се, че комбинираното оцветяване осигурява ясна визуализация и е бърз и лесен начин да се получи информация за размерите, формата и общата структура на клетката в норма и при апоптоза. Методът беше приложен към миши овоцити, подложени на зреене или стареене *in vitro* в нормални условия или в присъствие на възпалителния агент простагландин F<sub>2α</sub>, като успоредно беше визуализирано мейотичното вретено. При нормални овоцити мембранните структури през метафаза I бяха съсредоточени в централната част, а през метафаза II показваха по-широко разпределение, което обаче не обхващаше периферията на клетката. Овоцитите, зрели *in vitro* в присъствие на простагландин F<sub>2α</sub>, имаха оцветяване за мембрани в сравнително тясна централна област, както и по-слаба дифузна реакция. Мейотичните вретена бяха с намален брой нишки и стеснени полюси, а кортикалната реакция за актин беше отслабена. Овулирани овоцити, инкубирани за 3 часа с простагландин F<sub>2α</sub>, се отличаваха с намаляване и изчезване на градиентите на разпределение на вътреклетъчните мембрани и дегенерация на цитоскелета, което показва, че възпалителният агент силно ускорява постовулационното *in vitro* стареене на овоцитите.

**Научни публикации и прояви:**

- Kolarov A, Mladenov N, Chakarova I, et al. Fast, Easy Staining Method to Visualize Cell Morphology and Apoptosis. Acta Morphol Anthropol. 2020;27(3-4):3-7.
- Kolarov AI, Hadzhinesheva VP, Chakarova IV, et al. Prostaglandin F<sub>2</sub> alpha causes fast degenerative changes in ovulated mouse oocytes. Folia Biol (Praha). 2021;67(5-6):208-212.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-98/24.06.2020 Изследване активността на ензима Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) и оксидативния статус в плазмата от пациенти с колоректален карцином, лекувани с 5-флуороурацил капецитабин, оксалиплатин: значение за терапевтичната ефективност и нежеланите лекарствени реакции**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Румен Павлов Николов, дм

- Проф. Славина Сурчева, дм
- Ас. Калина Каменова, дх
- Ас. Надя Христова-Авакумова, дбф
- Ас. Лилия Атанасова, дф
- Д-р Велко Минчев
- Д-р Марин Ангелов

**Базова организация:** Катедра по фармакология и токсикология, Медицински факултет, МУ - София

**РЕЗУЛТАТИ:** Колоректалният карцином е третия от най-често диагностицираните малигнени заболявания след карцинома на млечната жлеза при жените и втория след карцинома на простатната жлеза при мъжете. Класическата терапия на колоректалния карцином включва пиримидиновите аналози 5-флуороурацил (5-FU) и капецитабин и комбинация от флуороурацил и оксалиплатин. Повече от 80% от приложената доза на 5-FU се метаболизира от ензима дихидропиримидин дехидрогеназа (DPD), като намалената активност на ензима предизвиква натрупване на лекарството и последваща токсичност. По литературни данни при около 30% от пациентите, които получават 5-FU се наблюдава флуоропиримидинова токсичност, като от тази популация при около 50% от пациентите има дефицит на DPD. Цел на изследването беше да се проучи активността на ензима DPD и оксиредукционния статус на плазмата от пациенти с колоректален карцином преди и след химиотерапия с 5-FU, капецитабин, 5-FU и оксалиплатин. В проучването използвахме клинични, диагностични, биохимични, хемолуминисцентни, спектрофотометрични и статистически методи. За определяне на активността на ензима DPD беше проведен ELISA метод. Установихме, че няма статистически значима разлика в средните стойности на DPD в кръвната плазма на пациентите. Измерените DPD нива са  $0.38 \pm 0.35$  ng/mL при мъжете и  $0.35 \pm 0.26$  ng/mL при жените. Резултатите от изследване на окси-редукционния статус показаха, че след цикъл на химиотерапия с 5-FU стойностите на CL-SI индекса са понижени, т. е. намалява се капацитета на кръвната плазма да елиминира активните форми на кислорода. При химиотерапия с флуоропиримидини генерираните МДА - аналози, радикали ( $O_2^{\bullet}$ ) и CL-SI индекс нарастват. Това е доказателство за намален капаците на защитните системи в кръвната плазма да елиминират образуваните в организма радикали и/или частично да възстановяват предизвиканите от тях увреждания. Приложеният ELISA тест за определяне на концентрацията на DPD в кръвна плазма има добри лабораторни и икономически показатели като лесно и бързо изпълнение, приемливи схеми за логистична организация и ниска цена. Химиотерапията с флуоропиримидини понижава редокс-капацитета в кръвната плазма, като това понижаване е по-слабо изразено при по-високи плазмени нива на DPD.

**Научни публикации и прояви:**

- Velko Minchev. Toxic and adverse effects of chemotherapy with 5-Fluoropyrimidine drugs. Could dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme screening serve as prerequisite to successful chemotherapy? J. Biomed. Clin. Res. 2020; 13: 87-99.

- Minchev V, Kamenova K, Hristova-Avakumova N, Surcheva S, Nikolov R. DPD screening in blood plasma of cancer patients indicated to Fluoropyrimidine chemotherapy by ELISA method. *Comp. Rend. Bulg. Acad. Sci.* 2021;74(5):767-75 IF 0,343
- Velko Minchev, Nadya Hristova-Avakumova, Kalina Kamenova, Liliya Atanasova, Marin Angelov, Lozan Todorov, Slavina Surcheva, Rumen Nikolov. Does dihydropyrimidine dehydrogenase level modify plasma antioxidant capacity in colorectal cancer patients treated with fluoropyrimidines? *Folia Med (Plovdiv)* . 2021 Oct 31;63(5):760-767.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-99/24.06.2020 *Helicobacter pylori* при деца с коморбидитет

Изследователски екип: Гл. ас. д-р Даниел Валентинов Йорданов, дм

- Гл. ас. д-р Петьо Хаджийски, дм
- Проф. д-р Людмила Георгиева, дмн
- Доц. д-р Полина Митева-Шумналиева, дм
- Доц. Радка Христова
- Проф. Румяна Марковска-Давидкова, дм
- Ас. Петя Станкова, дм

**Базова организация:**, Медицински факултет на МУ-София; Катедра медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящия проект беше проучване на серопревалирането на *Helicobacter pylori* инфекцията и серопревалирането на вирулентните инфекции чрез ензимно-свързан имуносорбентен тест (ELISA) за анти-*H. pylori* IgG и CagA IgG сред деца с инсулино-зависим захарен диабет (ИЗЗД) тип I и хронична бъбречна недостатъчност (ХБН), хоспитализирани в СБАЛДБ „Проф. Иван Митев“ ЕАД. Както *H. pylori* IgG така и CagA IgG бяха открити сигнификантно по-често сред децата с диабет (съотв. в 28.3% и 23.4% от случаите) отколкото в контролната група без диабет (14.8% за *H. pylori* IgG и 9.2% за CagA IgG;  $p < 0.001$  и в двата случая). От друга страна, сред децата с ХБН честотите на *H. pylori* IgG и CagA IgG бяха съотв. 17.2% и 10.3%, без значими различия спрямо контролната група. В заключение, намерена беше статистическа зависимост между наличието на диабет тип I в детска възраст и честотата както на *H. pylori* инфекцията, така и на вирулентните CagA<sup>+</sup> щамове у нас. Резултатите са принос за разбирането не само на връзката между *H. pylori* инфекцията и диабета при децата, но и на връзката между инфекциите от по-вирулентните щамове и диабета от I ви тип. При децата с диабет може да съществува по-голям риск от заразяване с *H. pylori*, поради което диагностиката на инфекцията е особено полезна при проследяването на тези пациенти. Още повече, честите инфекции изискващи антибиотична терапия при диабетно болните са предпоставка за възникване или увеличаване на множество резистентните щамове на *H. pylori*, които силно ограничават възможностите за успешна ерадикация на инфекцията. Препоръчва да се оптимизират още повече социално-битовите условия на живот в детството, за да се намали риска от заразяване при децата, което може да ги предпази както от дълготрайните рискове на инфекцията, така и от развитие на диабет. Ерадикацията на *H. pylori* инфекцията при децата може да намали риска от развитие на диабет в детството и в по-късна възраст.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-100/24.06.2020 Имунохистохимично изследване на ендотелни фактори след селективно инхибиране на ендотелинови рецептори у спонтанно-хипертензивни плъхове

**Изследователски екип:** Проф. д-р Лазар Желев Славов, дм

- Доц. д-р Мирослава Варадинова, дм
- Петя Маркова
- д-р Желя Стефанова
- Ас. д-р Алберт Градев
- Николета Вулова

**Базова организация:** Катедра по анатомия, хистология и ембриология, Медицински факултет, МУ - София,

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването беше проучване на промените в локализацията и плътността на разпределение на ендотелната (eNOS) и на невронална (nNOS) азотен оксид синтаза и на Ендотелин А или Ендотелин В рецепторите в сърдечна, бъбречна тъкан и в тъкан от аорта, както и промените в бързите колебания на сърдечно-съдовите вариабилни, след селективно инхибиране на ендотелиновите рецептори у спонтанно-хипертензивни плъхове SHR. Експериментите бяха проведени на мъжки нормотензивни плъхове Wistar и SHR на възраст 12-14 седмици, разпределени в 6 експериментални групи, всяка от които съдържа по 7 животни (n=7): Wistar и SHR с интактни ендотелинови рецептори; Wistar и SHR със селективно блокирани ETA рецептори (BQ123, 16.4 nmol/kg/min); Wistar и SHR със селективно блокирани ETB рецептори (BQ788, 1mg/kg/min). Чрез спектрален анализ във вълната на артериалното налягане бяха изследвани бързите колебания на артериалното налягане и сърдечната честота, в характерни спектрални зони, спонтанната барорефлексна чувствителност и симпатико-вагусовия баланс. Локализацията и разпределението на eNOS, nNOS и на ETA, ETB рецепторите, в изследваните тъкани, бяха определени имунохистохимично. Ние установихме понижена мощност на хуморално медираните и на симпатиково обусловените, колебания на сърдечно-съдовите вариабилни у SHR. Нашите резултати показаха променен симпатико-вагусов баланс, както и различия в разпределението на изследваните изоформи на NOS, ETA, ETB у SHR. Ние установихме, че ендотелините, чрез ETA и ETB рецепторите модулират бързите колебания на артериалното налягане у SHR. Получените в нашето изследване резултати показаха значимата роля на ETA рецепторите в регулацията на експресията на nNOS и eNOS у нормотензивните плъхове, както и определящата роля на активността на ендотелиновите рецептори за регулацията на експресията им в SHR. Получените резултати ни дават основание да допуснем, че за спецификата на ендотелиновата система у SHR значение имат механизми отговорни за регулацията на експресията на ендотелиновите рецептори, докато ендотелния дисбаланс у SHR би могъл да се дължи на нарушено взаимодействие между ендотелиновите рецептори и азотен оксид синтазите.

**Научни публикации и прояви:**

- Jeleв L, Pupaki D, Ankova D, Markova P: ENOS expression in the wistar rat kidney after selective blockade of endothelin-B receptors, XXV National congress of the bulgarian anatomical society with international participation, PLEVEN, 28-30 MAY 2021, published in: Journal of Biomedical and Clinical Research, Vol. 14, No1, Suppl., 1, 2021, p. 30-31

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-101/24.06.2020 Ефект на бариатричната/метаболитна хирургия върху адипокиновия профил и адипокин-индуцираното възпаление**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Теодора Светославова Ханджиева-Дърленска, дм

- Д-р Константин Гроздев, дм
- Мария Калинкова
- Ивана Калинкова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Високостепенното затлъстяване е заболяване, характеризиращо се с прекомерно натрупване на мастна тъкан и ниско-степенно възпаление. Бариатричната/ метаболитна хирургия е златен стандарт в лечението на високостепенното затлъстяване. Цел: Първичните цели на нашето изследване бяха да се изследват и оценят промените в серумните нива на проинфламаторните адипокини - апелин, резистин и аполипопротеин М при пациенти с високостепенно затлъстяване преди и след бариатрична/ метаболитна хирургия. Вторичните цели бяха да се установят промените в антропометричните показатели като телесна маса в кг и индекс на телесна маса и качествения анализ на тъканите на мастна тъкан в % и показателя за висцерално натрупване на мазнини преди и след шест месеца след интервенцията. Материали и методи: За осъществяване на целите използвахме измерването на различни антропометрични и параметри на качествения анализ на тъканите, както и ELISA методика за определяне на серумните нива на горепосочените проинфламаторни маркери преди и шест месеца след бариатричната/метаболитната операция. Резултати: Нашите резултати показват значителна редукция на телесното тегло, на индекса на телесна маса, на мастната маса в %, както и на показателя за натрупване на висцерални мазнини на шестия месец след операцията. Резултатите демонстрират повишаване в серумните концентрации на изследваните проинфламаторни адипокини на шестия месец след извършената оперативна интервенция. Заключение: Установеното увеличение на проинфламаторните маркери най-вероятно се дължи на недостатъчната редукция на телесна маса, особено при високостепенно затлъстяване, и продължаващото нискостепенно възпаление на шестия месец след операцията. Друга причина за неочакваната промяна в маркерите на възпалението е малкият брой на включените участници, поради настъпилата пандемична обстановка в хода на изследванията. Научният отчет е приет със **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-102/24.06.2020 Разширяване на възможностите за диагностициране, стадиране, прогностифициране и проследяване на пациенти с невробластом чрез молекулярно-генетични изследвания**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Радка Петрова Кънева, дб

- Проф. д-р Добрин Константинов, дм
- д-р Иван Щърбанов, дм
- Доц. д-р Мая Йорданова, дм
- д-р Иван Боронсузов, дм
- Гергана Станчева, дб



- Калина Михова, MSc
- Доц. д-р Маргарита Каменова, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия, ЦММ

**РЕЗУЛТАТИ:** Актуалността на проблематиката се определя от високата честота на солидните тумори в детска възраст (ДСТ), големият им малигнен потенциал с висока смъртност и възможността да се повлияват от съвременното лечение при навременна и точна диагноза. В настоящото проучване беше анализирана експресията на *TN* и *RHOX2B* и РНК при 22 пациенти и 7 здрави хора чрез количествен PCR. Потвърдено беше наличието на *TN* експресия при 10 от 13 проби от костен мозък, при 7 от 12 проби от периферна кръв и при 4 от общо 9 FFPE туморни материала. Установено беше наличието на *RHOX2B* експресия при 12 от 13 проби от костен мозък, при 6 от 12 проби от периферна кръв и при 3 от общо 9 FFPE туморни материала. Получените експресионните резултати в материал от костен мозък се потвърждават с тези установени с флуоцитометрия, използван за рутинната диагностика. Интересно е да се отбележи, че при пациенти с метастично заболяване се откриват изследваните експресионни маркери и в периферната кръв, което показва потенциала на метода като неинвазивен и щадящ.

**Научни публикации и прояви:**

- Gergana Stancheva, Kalina Mihova, Veronika Petkova, Vanio Mitev, Radka Kaneva. Establishment of biobank of patients with pediatric solid tumors. Oral presentation. 8-10.November 2021; EBW2021 -Virtual congress

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-103/24.06.2020 Фармакологично повлияване на невропатична болка, предизвикана от противотуморни химиотерапевтици при плъхове**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Георги Асенов Богданов, дм

- Ас. Калина Колева, дм
- Ас. Христиан Стайков
- Доц. Христина Ночева-Димитрова
- Алекс Цонев
- Ас. Калина Каменова
- Доц. Румен Николов

**Базова организация:** Катедра по фармакология и токсикология, МУ - София, ул. Здраве № 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването е да се създаде модел на невропатична болка при плъхове в резултат на приложение на химиотерапевтици и да се изследва терапевтичният ефект на някои антидепресанти върху химиотерапевтици-индуцирана невропатия. В допълнение, да се сравни терапевтичният ефект на антидепресанта с комплексен механизъм на действие – vortioxetine спрямо ефекта на други антидепресанти от групата на селективните серотонинови реуптейкови инхибитори (paroxetine) и вече утвърдените с такова показание трициклични антидепресанти (amitriptyline). Бяха използвани два модела на невропатична болка чрез интраперитонеално инжектиране на химиотерапевтици – модел със cisplatin и модел с paclitaxel. При единия модел cisplatin (2 mg/kg, i.p.) беше прилаган веднъж седмично в продължение на четири седмици с

кумулятивна доза от 8 mg/kg. При другия модел racitaxel (1 mg/kg, i.p.) беше прилаган на нулев ден, на втори, четвърти и шести ден с кумулативна доза от 4 mg/kg. Експериментите бяха проведени с мъжки плъхове от порода Wistar (n = 5) с тегло 200-220 g. Аналгетичното действие на лекарствата се изследваше чрез метода „hot plate“. Беше изследван ефектът на следните вещества: amitriptyline (20 mg/kg i.p.), paroxetine (10 mg/kg i.p.) и vortioxetine (10 mg/kg i.p.). При модел на невропатична болка предизвикан от cisplatin, удължаване на реакционното време, което е белег за аналгетичен ефект, беше наблюдавано при 4 от 5 животни след приложението на amitriptyline, при 3 от 5 животни след приложението на paroxetine и при 2 от 5 животни след приложението на vortioxetine. При модела с racitaxel, удължаване на реакционното време беше наблюдавано при 3 от 5 животни след приложението на amitriptyline, при 4 от 5 животни след приложението на paroxetine и при 3 от 5 животни след приложението на vortioxetine. Paroxetine демонстрира сходна ефективност с тази на amitriptyline и в двата модела на невропатия, а vortioxetine не демонстрира предимство спрямо amitriptyline и paroxetine. По-слабо изразеният ефект на paroxetine и vortioxetine спрямо този на amitriptyline може да се обясни с действието им предимно върху реџптейка на серотонин. Макар и описана в литературата, ролята на серотонин в повлияването на невропатичната болка вероятно е спомагателна.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Богданов, Г., Колева, К., Стайков, Х. и др. Повлияване на невропатична болка, предизвикана от противотуморни химиотерапевтици. Медицински преглед 2021;5:12-21.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-104/24.06.2020 Влияние на социалния стрес върху параметри на поведението у млади спонтанно хипертензивни плъхове: ефекти на мезембринови алкалоиди**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Александър Георгиев Стойнев, дмн

- Доц. Даниела Пехливанова, дм
- Доц. д-р Радка Тафраджийска-Хаджиолова, дм
- Ас. д-р Зафер Сабит
- Ас. д-р Димитър Бакалов

**Базова организация:** Катедра Патофизиология, Медицински факултет, МУ - София,

**РЕЗУЛТАТИ:** Хроничният социален стрес през периода на юношеството води до дефицит в оперативната памет, който засяга главно краткосрочните аспекти на запаметяването и хипокамп-зависимата пространствена памет. Спонтанно хипертензивните плъхове (SHRs) се характеризират с отклонения в основни параметри на поведението преди настъпване на полова зрялост. Предишни наши данни показват че алкалоидната фракция от наземните части на *Narcissus cv. "Hawera"* с високо съдържание на мезембренон (MZM) има антидепресивен и анксиолитичен ефект и подобрява хабитуацията към непозната среда у здрави Wistar плъхове без да променя общата двигателна активност. Основната цел на настоящия проект беше да се установи степента на въздействие, което хроничният социален стрес упражнява върху основните форми и параметри на социално и когнитивно поведение у млади SHR, както и ефектите на мезембринови алкалоиди от *Narcissus cv. Hawera* върху тези параметри. За постигане на поставената цел бяха използвани методи за оценка на когнитивното поведение (Open field, Novel object recognition, T-maze), поведението на безпокойство и депресия (Elevated

plus maze, Forced swimming), както и биохимични методи за определяне на серумни нива на BDNF. Всички данни бяха обработени статистически с дву-факторен ANOVA за определяне степента на достоверност. Нашите резултати показват, че основните неблагоприятни ефекти на социалния стрес са засилване на поведението на безпокойство и увреждане на дискриминативната работна памет у подрастващи SHR, без проява на депресивен тип поведение и увреждане в пространствената памет. Хроничното третиране с MZM не показва нежелани странични ефекти и подобри значително работната памет на стресираните млади спонтанно хипертензивни плъхове SHR.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Dimitar Bakalov, Daniela Pechlivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiska, Alexander Stoynev, Deleterious effects of chronic social stress on the cognitive behavior in spontaneously hypertensive rats, XXXI Международна online научна конференция Шестдесет години Съюз на учените – Стара Загора, 03-04 юни 2021 год, Сборник абстракти – Секция „Медицина“, стр. 27-28.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-105/24.06.2020 Характеристика на системното нискостепенно възпаление при есенциална и симптоматични (бъбречни паренхимни хипертонии без бременност и прееклампсии) хипертонии чрез хемореологични параметри и функционални параметри на полиморфонуклеарните левкоцити**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Стилиян Василев Стоев, дбф

- Ас. Благовест Бечев, дбф
- Гл. ас. Светослав Йовчев, дбф
- Ас. Свободан Александров, дфх
- Гл. ас. Светла Митева-Николова, дфх,
- Ас. Янчо Иванов
- д-р Илияна Бътева-Христова, дм,
- д-р Мария Вретенарска-Георгиева
- Асистент Магдалена Пенчева-Демирева

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Гестационната хипертония (ГХ) е бързотечна форма, характеризираща се само с повишено артериално налягане при първоначално нормотензивни бременни жени (ЗБ). Дори при ЗБ има повишена еритроцитна агрегация (ЕА) и активация на левкоцитите, които се възприемат като системен възпалителен отговор (СВО). Взаимодействията на полиморфонуклеарните левкоцити (ПМНЛ) при СВО в циркулаторната мрежа, с молекули от патологичните участъци, кръвните клетки, комплементната и коагулационната система и възстановителните процеси, поражда ПМНЛ с различно функционално състояние (ФС). Изследва се дали при ГХ има промяна в хемореологията и ФС на ПМНЛ, отчитащи СВО. *Методи.* Контингент на изследване са ГХ, ЗБ и здрави небременни жени (ЗНЖ). Регистрира се хемилуминесценцията (ХЛ) от зимозан стимулирани целокръвни ПМНЛ. Прилага се вероятностен компонентен модел за анализ на ХЛ, описващ ПМНЛ с различно ФС. Измерват се ЕА и скорост на еритроцитна седиментация, вискозитет на пълна кръв (ВПК). Измерват се клиничнолабораторни показатели (КЛ) за СВО (албумин, фибриноген, ширина на еритроцитната популация, неутрофил/лимфоцитно отношение, тромбоцити, тромбоцит/

лимфоцитно отношение и среден тромбоцитен обем). *Резултати.* Разработено и внедрено е терморегулиращо устройство за хемилуминометъра LB953. Оптимизиран е метода за изследване функционалното състояние на ПМНЛ. Регистрират се променени ПМНЛ параметри с характеристика на праймирано ФС. Според компонентния анализ на ХЛ от ПМНЛ на бременни жени ПМНЛ се характеризират с готовност за бърза реакция на стимули, като съгласно обобщените параметри „ефективност“, „скорост“ и „капацитет“ се формира ФС „готовност“. При ЗБ и ГХ се регистрира праймирано ФС („готовност“) на неутрофилите спрямо „спокойно“ ФС на ЗНЖ. ЕА показва изравнена повишена стойност за ЗБ и ГХ спрямо ЗНЖ и има еднакъв ВПК. КЛ за СВО при бременност са в съзвучие с праймираното ФС получено при ХЛ методика и са указание за коагулационен риск при ГХ. *Заключение.* ХЛ анализ и хемореологичната находка, подкрепят представата за СВО с праймирано ФС на ПМНЛ по време на бременност. При бременност с и без ГХ се разгръща нискостепенно системно възпаление с протромботичен риск при ГХ.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Bechev B, Buteva I, Magrisso M, Stoeff S, Jovtchev Sv, Miteva S et al. Neutrophils state and inflammation in pregnant women with hypertension. Series on Biomechanics 2022;36(2):162-7

Научният отчет е приет със **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-114/24.06.2020 Направлявана емайлова реминерализация при прилагането на биомиметични системи – *in vitro* изследване**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Радосвета Иванова Василева, дм

- Ас. д-р Александър Бончев

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра по консервативно зъболечение

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото *in vitro* изследване е да се проучи реминерализационния потенциал на ПДМАЕМА/СаР и самоорганизиращ се пептид Р11-4 върху експериментален модел на изкуствен емайлов кариес. Изследването се проведе върху 40 екстрахирани трети молари. Върху вестибуларанта половина от всеки зъб се създаде изкуствена кариозна лезия като се използва разтвор, съдържащ 0.1% млечна киселина. Образците се разпределят на случаен принцип в четири групи, като лезиите се третират с два вида реминерализиращи системи – самоорганизиращ се пептид Р11-4 и ПДМАЕМА/СаР, също и изкуствена слюнка и флуорен лак. След това зъбите се съхраняват в разтвор на изкуствена слюнка за периоди от 1, 4 и 8 седмици. Резултатите са оценени чрез компютърна микротомография (КМТ), инфрачервена спектроскопия и СЕМ. Получените резултати доказаха, че разтворът на млечна киселина (0.1M, pH=4.5), приложен за 6 дни върху емайлови образци създава изкуствени кариозни лезии, които са сходни по химичен състав, повърхностна морфология и дълбочина (~94 μm). Посочената дълбочина отговаря на определението за начална емайлова кариозна лезия. Така създадените емайлови лезии представляват удобен обект за прилагане и анализиране на ефекта на експерименталните реминерализиращи системи. Лезиите, третирани с флуорен лак, Р<sub>11-4</sub> и ПДМАЕМА/СаР показват постепенно намаляване в интензитета на слабата сянка при изследването с КМТ с напредването на престоя на образеца в разтвора на изкуствена слюнка. При флуоризирания образец се запазва слабата сянка в по-дълбоките слоеве на лезията, докато в групата на самоогранизиращия се пептид и ПДМАЕМА се установява по-равномерно просветляване във всички участъци на

емайловия дефект, което е доказателство за проникването на биомиметичните системи в по-дълбоки нива на емайла. Третирането на изкуствените емайлови лезии с P11-4 и ПДМАЕМА/СаР води до възникването на реминерализация както на повърхността, така и в тялото на лезията като ефектът им на въздействие е пропорционален на времето на съхранение на образците в разтвор на изкуствена слюнка.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Bonchev A, Vasileva R, Dyulgerova E et al. Self-assembling Peptide P11-4: A Biomimetic Agent for Enamel Remineralization. *Int J Pept Res Ther* 2021; 27:899–907.
- Bonchev A, Vasileva R, Dyulgerova E. Guided enamel regeneration with self-assembling peptide P11-4. Jubilee Annual Assembly of IMAV, 18-21 October 2020, Varna, Bulgaria, p.52.
- Бончев А, Василева Р, Дюлгерова Е. Влияние на терапията със самоорганизиращ се пептид P11-4 върху микротвърдостта на изкуствени емайлови кариозни лезии (in vitro изследване). IV Научен конгрес „Наука и практика – ръка за ръка“, 23-24 април 2021, Пловдив, България, стр. 26.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-117/24.06.2020 Молекулярно-генетично проучване върху микроРНКов експресионен профил при пациенти с агресивни хормононесекретиращи хипофизни аденоми**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Силвия Георгиева Календерова-Вълкова, дб

- Проф. Албена Тодорова-Георгиева, дб, дбн
- Доц. Атанаска Еленкова, дм
- Гл. ас. Биляна Георгиева, дб
- Емилия Николова

**Базова организация:** МФ, Катедра по Медицинска Химия и Биохимия, ул. Здраве № 2, гр. София, 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Хипофизните аденоми (ХА) са сред най-честите интракраниални неоплазми, като една трета от тях са нефункциониращите ХА (НФХА). Възможността да се предвиди появата на рецидив и инвазия в още след първата операция, значително ще намали заболяемостта и смъртността. До момента няма маркери за мониторинг на НФХА, но е установено, че промени в експресионните профили на микроРНКи са специфични при различни заболявания, включително и при ХА. В настоящия проект са анализирани онко-специфични микроРНКи при НФХА и е селектиран специфичен профил с диагностичен и прогностичен потенциал. Материали и Методи: Тоталната РНК беше изолирана с MiRNeasy Mini Kit и за анализ на експресионните профили беше използван кита miRCURY LNA miRNA PCR (Qiagen). Платформата GeneGlobe и програмата SPSS бяха използвани за анализ на данните. Двустранен Student's t-test (un-paired) беше използван, където е необходимо, корелацията на микроРНКи с клинично-патологичните характеристики беше направена с коефициент на Pearson. Диагностичният потенциал на микроРНКите беше оценен с анализа на ROC кривите.  $P < 0.05$  се приема за статистически значим резултат. Резултати: Профилът от четири микроРНКи (miR-106a, miR-17, miR-20, miR-210) показва висока диагностична и прогностична точност за отдиференциране на инвазия при НФХА, с площ под кривата-AUR > 0.9 (95% CI = 0.839-1). Също така, miR-20a, miR-16, miR-106a и miR-17 са с повишена експресия при рецидиви на НФХА ( $p < 0.05$ ). MiR-106a, miR-17, miR-20 и miR-

186 показваха потенциал за разграничаване на макроаденоми от гигантски ХА и могат да се използват като маркери за размер на ХА (AUC > 0.9, 95% CI = 0.873-1). Заключение: Това е първото за България изследване на пациенти с НФХА, при които беше селектиран уникален профил от микроРНКи с потенциално диагностично и прогностично приложение. Ранното определяне на даден НФХА като агресивен е от важно значение и селектираният микроРНКов профил ще подобри отдиференцирането на тези пациенти, мониторинга на заболяването и продължителността на живот. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-118/24.06.2020 Виртуален скрининг на бази данни природни продукти с афинитет към ацетилхолинестеразата – етап 2**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Марияна Димитрова Атанасова, дх

- Проф. Ирини Дойчинова, дхн
- Доц. Иван Димитров, дх

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра Химия

**Адрес за контакти:** ул. Дунав № 2, София 1000, тел. +359 2 92 36 599

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Амилоидните плаки са ключов отличителен белег на невродегенеративните заболявания като болест на Алцхаймер и болест на Паркинсон. Амилоидогенезата е сложен дълготраен многофазен процес, започващ с образуването на ядра на амилоидни пептиди: процес, определен като първична нуклеация. Куркуминът (ККН) е добре известен инхибитор на агрегирането на амилоид-бета (Аβ) пептиди. Още повече, ККН е в състояние да дезинтегрира предварително получени Аβ фибрили и амилоидни плаки. Целта на изследването е да се симулира чрез молекулна динамика процеса на първична нуклеация на 12 Аβ пептиди и да се изследват ефектите на ККН върху процеса. В изследването е използван методът на структурния лекарствен дизайн молекулна динамика. Открихме, че молекулите на ККН се интеркалират между Аβ веригите и се свързват плътно с тях чрез водородни връзки, хидрофобни, π – π и катион – π взаимодействия. В присъствието на ККН, Аβ пептидите образуват първично ядро с по-голям размер. Пептидните вериги в ядрото стават по-малко гъвкави и по-неподредени и броят на междумолекулните взаимодействия и водородните връзки между тях намалява. За сравнение изследвахме и ефектите на по-слабия Аβ инхибитор ферулова киселина (ФК) върху процеса на първична нуклеация. Нашето проучване е в съответствие с наблюдението, че при редовен прием, ККН е в състояние да предотврати или поне да забави появата на невродегенеративни нарушения.

**Научни публикации и прояви:**

- Doytchinova I, Atanasova M, Salamanova E, et al. Curcumin Inhibits the Primary Nucleation of Amyloid-Beta Peptide: A Molecular Dynamics Study *Biomolecules* 2020;10(9):1323-37.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор № Д-119/24.06.2020 г. Интегрирана стратегия за идентифициране на вторични метаболити основана на ултра-високоэффективна течна хроматография с високоразделителна мас-спектрометрия. Приложение при *Rhaponticoides iconiensis* (Hub.-Mor.) M.V.Agab. & Greuter (сем. Asteraceae)**

**Изследователски екип:** Доц. Димитрина Живкова Желева-Димитрова, дф

- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Доц. Ренета Гевренова, дф
- Доц. Юлиан Войников, дф
- Александра Стефанова

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** *Rhaponticoides iconiensis* (Hub.-Mor.) M.V.Agab. & Greuter. (Asteraceae) е ендемичен вид, разпространен в няколко малки популации в провинция Коня (Турция). Той е критично застрашен с изключително висок риск от изчезване. *R. iconiensis* по-рано е бил класифициран в род *Centaurea*. Наскоро, въз основа на молекулярни филогенетични и екогеографски проучвания върху Cardueae-Centaureinae, родът *Rhaponticoides* Vaill. е отделен от *Centaurea* L. Определени са антиоксидантните и ензим инхибиторните свойства, както и фенолното и флавоноидното съдържание на метанолни (Сокслет екстракция и мацерация) и водни (инфузионни) екстракти от листа, корени и цветни кошнички от *R. iconiensis*. UPLC-HRMS стратегия прилага комбинация от няколко техники за обработка на данни, включително филтриране по масов дефект (MDF), филтриране на диагностични фрагментни йони (DFIF) и филтриране на неутрални загуби (NLF), за да се постигне целенасочено откриване и идентифициране на потенциални биологично активни съединения. Метанолните екстракти от листа на *R. iconiensis* съдържат най-голямо количество фенолни съединения (52.37 и 54.37 mg еквивалент галова киселина /g) и флавоноиди (74.13 и 80.75 mg рутин еквивалент /g). Съответно метанолните екстракти от листата показват и най-висок антиоксидантен потенциал. Интересното е, че метанолните екстракти от корени са най-силни инхибитори на ацетилхолинестераза (4.75 mg еквивалент на галантамин/g) и бутирилхолинестераза (5.26 и 5.14 mg еквивалент на галантамин/g). Метанолните екстрактите от листа и корени показват силно инхибиране на  $\alpha$ -глюкозидаза (2.48 ÷ 3.08 mmol еквивалент на акарбоза/g) и  $\alpha$ -амилаза (0.17-0.70 mmol еквивалент на акарбоза/g). Най-силно инхибиране на тирозиназата е отчетено при метанолни екстракти от листата (138.79 и 140.34 mg еквивалент на койева киселина /g). В настоящия проект 87 вторични метаболита, включително хидроксibenзоена, хидроксиканелени киселини и техни гликозиди, захарни естери, ацилхинни киселини, флавоноиди и антоцианини, са идентифицирани в *R. iconiensis*. Ключовите моменти за дерепликацията на различни класове вторични метаболити са подробно охарактеризирани. Получената стратегия за дерепликация на специализирани природни продукти в екстракти от *Rhaponticoides iconiensis* определя UHPLC-HRMS като ефективен инструмент в изследването на по-малко известни лечебни растения.

**Научни публикации и прояви:**

- Zheleva-Dimitrova D, Zengin G, Sinan KI, et al. Identification of bioactive compounds from *Rhaponticoides iconiensis* extracts and their bioactivities: An endemic plant to Turkey flora. J Pharm Biomed Anal. 2020;190: 113537.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Balabanova V, et al. UHPLC-HRMS as an effective tool for the dereplication of specialized natural products in less known plants: two Asteraceae species (*Rhaponticoides iconiensis* and *Synedrella nodiflora*) as a case

study. International conference on plant systems biology and biotechnology (ICPSBB), Golden Sands Black Sea Resort, Bulgaria, Hotel International, 14-17 June, 2021. Oral presentation, O14, Book of abstracts, p35.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-120/24.06.2020 Оптимизирани клетъчни системи за получаване на фармацевтично значими нискотоксични съединения чрез структурна модификация на природни молекули**

**Изследователски екип:** Проф. Илиана Илиева Йонкова дфн

- Гл. Ас. Янчо Зарев, дф
- Павлинка Попова

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, Катедра фармакогнозия, ул. Дунав 2, 1000 София

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведена е биотрансформация на екзогенни приложени флавоноиди - кверцетин, кемпферол и апигенин чрез суспензионни култури на *Astragalus vesicarius ssp. carniolicus* до техните моногликозилирани производни. Максималният ензимен потенциал на клетките на *A. vesicarius ssp. carniolicus* се оценява чрез прилагане на различни концентрации на флавоноидите. Според количествената оценка, използвайки свръхвисокопроизводителна течна хроматография с висока разделителна способност на електроспрей йонизационна масспектрометрия (UHPLC-HR-ESI-MS), бе установено, че най-високата концентрация на кемпферол-О-гликозид (14,88 nmol/g сухо тегло, DW), апигенин О-гликозид (10,55 nmol/g DW) и кверцетин О-гликозид (150,83 nmol/g DW) са постигнати, когато суспензионните култури се третират с 4 mg/ml кемпферол, 4 mg/ml апигенин и 3 mg/ml кверцетин, съответно. Гликозидираните продукти на биотрансформацията не са открити в нетретирания контрол. Установен е високият ензимният потенциал на клетъчни системи от конвенционален тип на *A. vesicarius subsp. carniolicus* и се предлага оптимизирана моделна клетъчна система за продукция на фармакологично активни молекули.

**Научни публикации и прояви:**

- Pavlinka Popova, Yancho Zarev, Iliana Ionkova, Biotransformation of quercetin, kaempferol and apigenin to monoglycosylated derivatives by in vitro suspension cultures of *Astragalus vesicarius ssp. carniolicus*, *Pharmacia*, 2021, 68(2): 307–311

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-121/24.06.2020 Отговор на терапията с Tafamidis при наследствената транстиретинова амилоидоза дължаща се на патогенния генетичен вариант Glu89Gln характерен за българската кохорта пациенти със смесен фенотип**

**Изследователски екип:** Доц. Ваня Николова Масларска, дф

- Проф. д-р Ивайло Търнев, дмн
- Доц. д-р Мариана Господинова-Миланова, дм
- Доц. Цветанка Дончева, дф
- Гл. ас. Вера Дамянова, дм
- Гл. ас. Драгомира Николова, дм



- Гл.ас. Станислав Божанов, дх
- Ас. Миглена Смерикарова

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по Химия

**РЕЗУЛТАТИ:** През последните години все по-често усилията на учените са насочени към изследване и създаване на терапевтични схеми за лечение на редките заболявания. Един такъв пример е транстиретиновата амилоидоза, чиято етиология и патогенеза вече са установени, но ниската честота на разпространение значително затруднява анализа на подходящите терапевтични схеми. Слабо проучен е патогенния генетичен вариант със смесен фенотип Glu89Gln, характерен предимно за Балканския регион. Във връзка с един от най-важните етапи на терапевтичния лекарствен мониторинг, а именно проследяване на плазмените концентрации на прилаганите лекарствени вещества, е разработен ВЕТХ метод за количествено определяне на първия и най-широко приложим транстиретинов кинетичен стабилизатор - Tafamidis. Методът е валидиран съгласно изискванията на ИСН за анализ в биологични среди и се отличава с прецизност, точност и висока чувствителност. Разработеният метод е приложен за анализ на плазмените концентрации при българската кохорта пациенти с транстиретинова амилоидоза I стадий, носители на мутацията Glu89Gln. На база получените резултати за плазмените концентрации на Tafamidis и резултатите от рутинните неврологични и кардиологични прегледи на пациентите е проследена връзката между нивото на плазмената концентрация и степента на прогресия на заболяването за периода на изследването.

**Научни публикации и прояви:**

- Smerikarova M, Bozhanov S, Maslarska V. Analytical Methods for the Determination of the Transthyretin Kinetic Stabilizer Tafamidis in Biological Fluids: A Review. 10th International Conference on Biotechnology and Bioengineering (10th ICBB). 16 December 2020 Virtual event (TR). Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2021, Vol. 128, Suppl. 2, p.14.
- Smerikarova M, Bozhanov S, Maslarska V, et al. Determination of Tafamidis Plasma Concentrations in Amyloidosis Patients with Glu89Gln Mutation by HPLC – UV Detection. Journal of Chromatographic Science, 2021, 1–8.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-122/20.11.2020 Фитохимично проучване на *Astragalus corniculatus* и *Astragalus hamosus***

**Изследователски екип:** Проф. Илина Николаева Манова, дфн

- Доц. Петранка Здравева, дф
- Гл. ас. Александър Шкондров, дф
- Ивана Панкова
- Иван Стамболов

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по фармакогнозия, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** *Astragalus hamosus* и *Astragalus corniculatus* са изследвани за съдържание на флавоалкалоиди, ацилирани и високо гликозилирани флавоноиди. Непречистени екстракти от надземните части на видовете са анализирани чрез ултрависоко ефективна течна хроматография – електроспрей високоразделителна мас спектрометрия (UHPLC-HRESIMS). Данните са потвърдени с референтни вещества. За първи път в екстракт от *A. hamosus* се доказва гликозилиран флавоалкалоид на кемпферола. В екстракти от *A. hamosus* и *A. corniculatus* за първи път са идентифицирани ацилирани с

хидроксиметилглутарова киселина тригликозиди на кверцетин и кемпферол, както и алцезефолизид.

**Научни публикации и прояви:**

- Shkondrov A, Krasteva I. Liquid chromatography – high resolution mass spectrometry screening of *Astragalus hamosus* and *Astragalus corniculatus*. *Pharmacia*. 2021;68(1):135–9.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-123/24.06.2020 UPLC-HRMS анализи на вторични метаболити във водно алкохолни екстракти от надземни части на растението *Portulaca oleracea L.***

**Изследователски екип:** Доц. Юлиан Тенчев Войников, дф

- Доц. Ренета Гевренова, дф
- Доц. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Доц. Параскев Недялков, дф
- Доц. Иван Димитров, дх
- Недялка Юсева
- Александра Петрова

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, катедра Химия, ул. Дунав 2

**Адрес за контакти:** ул. Дунав 2, ФФ-МУ-София

**РЕЗУЛТАТИ:** Получени са хидрометанолни екстракти от надземни части на растението *Portulaca oleracea L.* (тученица). Те са анализирани с ултрависокоефективна течна хроматография с маспектрометрия с висока резолюция (UHPLC-HRMS) за идентифицирането на представители на две групи природни съединения:

- цикло-допа амиди (CDA) или олерацеини и
- хидроксиканелени амиди (HCAA)

Разработен е ефективен стъпков подход за филтриране на MS2 спектрите по 1) наличието на диагностични йони (DFF) и 2) наличието на диагностични неутрални загуби (NLF) чрез програмен скрипт написан на Python. Този скрипт освен това обединява сходни MS2 спектри по зададени от потребителя критерии. Използвайки този подход са идентифицирани и маспектрално охарактеризирани 56 цикло-допа амиди (CDA), от които 35 са нови, неописана в литературата структури, както и 26 хидроксиканелени амиди (HCAA). Така разработеният работен процес позволява бързо и ефективно откриване на съединения въз основа на техни MS характеристики и може да бъде приложен към откриването и на други групи съединения в сложни смеси.

**Научни публикации и прояви:**

- Voynikov Y, Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D, et al. UPLC-HRMS identification of cyclo-dopa amides in hydromethanolic extracts of *Portulaca Oleraceae L.* International Conference on Plant Systems Biology and Biotechnology (ICPSBB). Golden Sands, Sofia, Bulgaria. 14-17 June, 2021. 36p.
- Voynikov, Y., Nedialkov, P., Gevrenova, R., Zheleva-Dimitrova, D., Balabanova, V., & Dimitrov, I. UHPLC-Orbitrap-MS Tentative Identification of 51 Oleraceins (Cyclo-Dopa Amides) in *Portulaca oleracea L.* Cluster Analysis and MS2 Filtering by Mass Difference. *Plants*. 2021; 10(9), 1921. IF = 3.935

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-124/24.06.2020 Разработване и оценка на перорални носители за педиатричната практика**

**Изследователски екип:** Проф. Милен Венциславов Димитров, дф

- Гл. ас. Диляна Георгиева

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, катедра „Технология на лекарствените средства с биофармация“, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Лекарствените продукти използвани в педиатрията, трябва често да бъдат адаптирани към нуждите на децата, като рутинна практика в аптеките е да се използват търговско налични продукти, като изходни суровини за екстемпорално приготвяне на течни формулации. След анализ на фармако-терапевтичните съображения за педиатрично приложение, бяха приготвени перорални суспензии с целекоксиб с концентрация 10 mg/ml от целекоксиб-субстанция и от налични на пазара търговски продукти при използване като носители на пречистена вода с добавен консервант (метил-парабен), захарен или фруктозен сироп, или 1% воден разтвор на натриева карбоксиметилцелулоза и захарен сироп в съотношение (1:1). Проучено е влиянието на основни фактори като външен вид, промяна в рН, седиментационен обем, оценка на потенциала за ресуспендиране, количествено съдържание на целекоксиб, микробиологично качество и стабилност след първо отваряне на опаковката върху стабилността на приготвените състави. Изследваните моделни суспензии остават непроменени, по отношение на показателя външен вид и показват химична стабилност при температури на съхранение -  $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  (стайна) и  $5^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (в хладилник) по време на целия период на проследяване. С най-високи стойности на седиментационния обем (F) и оптимална физична стабилност, се отличават моделните суспензии, приготвени с носител захарен сироп и с комбинацията захарен сироп + 1% воден разтвор на КМЦ Na (1:1). Оптималния брой разклащания за ресуспендиране е в границите на  $3 \pm 1$  реверсивни разклащания, като ъгъла на ротация не следва да бъде по-малък от  $90^{\circ}$ . Количественото съдържанието на целекоксиб във всички приготвени състави остава над 95% т/об, в рамките на дизайна на изследването, в обхвата  $98,7 \pm 0,41$  % до  $101,8 \pm 0,82$  %, като приготвените суспензии запазват своята микробиологична стабилност. Получените резултати от проучването на стабилността след първо отваряне на опаковката разкриват потенциална възможност за успешно екстемпорално приготвяне на перорални формулации с целекоксиб и потвърждават, че изследваните състави запазват физичната си химична и микробиологична стабилност, в рамките на проведените симулации на реални условия на педиатрична употреба.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-131/24.06.2020 Установяване на генетични мутации, водещи до синдромна и несиндромна форма на пигментна дегенерация на ретината при български пациенти чрез съвременни технологии за геномен анализ**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Силвия Здравкова Чернинкова-Гопина, дмн

- Кунка Каменарова, дб

- Олга Белчева, дб - МФ
- Фелиция Шакола, дб
- Вероника Петкова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по неврология, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, Клиника по нервни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Наследствените дегенерации на ретината (НДР) са хетерогенна група заболявания, които засягат главно ретината; повече от 300 гени са свързани със заболяването и са описани над 20 различни клинични фенотипа. Тази клинична и генетична хетерогенност значително усложнява идентифицирането на патогенните мутации. Следователно, поставянето на точна генетична диагноза е важно за генетичното консултиране и определяне на лечението. Пигментната дегенерация на ретината, RP, е най-честата форма на НДР, при която пациентите губят и двата типа фоторецептори. Целта на нашето изследване беше идентифициране на патогенните мутации и характеризиране на фенотипа при шест български пациенти с несиндромна форма на RP и обогатяване на информацията за тези ретинопатия в нашта популация. С помощта на секвениране от ново поколение беше изследван клиничният екзом при всеки пациент и откритите патогенни варианти са приоритизирани чрез прилагане на критерии за филтриране. Общо 5 патогенни мутации, една от които е описана за първи път в това проучване, бяха открити при 67% от пациентите с RP. Установени бяха мутации в 4 от най-честите RP-гени, *RHO*, *RPGR*, *NRL* и *PRPF3*. На база на това беше поставена генетичната диагноза на ретинопатията при тези пациенти. Проучени бяха генотип-фенотипните корелации, което ще позволи да се определи потенциалния риск от развитие на дистрофията на ретината за техните родственици. Изясняването на честотата на носителство на откритите мутации в конкретната популация, както и откриването на други семейства с наследствена дегенерация на ретината е от изключителна важност за изясняване на генетичната епидемиология на заболяването в България. От методологична гледна точка успешно беше приложено новогенерационно секвениране на клиничен екзом и това позволи едновременен скрининг на най-честите гени за дегенерация на ретината. Приложен беше системен ход за филтриране на патогенни замени, който може да се използва за бъдещи научни проекти и диагностика. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-134/24.06.2020 Изследване на полиморфизмите rs2278329 и rs2292016 в гена за рецептора на Онкостатин М (OSMR) като фактор за развитието на дерматомиозит у възрастни**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Любомир Асенов Дурмишев, дм

- Проф. д-р Радка Кънева, дб
- Д-р Мария Христова, дм
- Радосвета Божилова
- Д-р Йоана Пожарашка

**Базова организация:**

МУ - София, МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по дерматология и венерология, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, Клиника по кожни и венерически болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Полиморфизмите rs2278329 и rs2292016 в гена за рецептора на Онкостатин М (OSMR) бяха изследвани при 64 (23 мъже и 41 жени) пациента с

дерматомиозит и 95 (24 мъже и 71 жени) здрави контроли посредством PCR в реално време. От цялата изследвана кохорта само двама пациенти с ДМ са носители на хетерозиготния генотип rs2278329GA и една контрола е носител на хетерозиготния генотип rs2292016GT. Двата полиморфизма демонстрират сходно алелно и генотипно разпределение сред пациенти и контроли. Рядкосрещаните алели в нашата популация са с много ниска честота (под 1%) и не позволяват изследване на асоциация с клинични параметри на заболяването. Заключение: Необходимо е изследванията да се повторят в по-голяма кохорта от болни с ДМ, за да може да се оцени значението им. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-144/24.06.2020 Новогенерационно секвениране (NGS) за установяване на мутации в гена за уромодулин или при други гени, свързани с различно по степен хронично бъбречно заболяване и хиперурикемия/подагра при деца и млади хора**

**Изследователски екип:** Доц. Мария Симеонова Гайдарова, дм

- Гл. ас. Олга Белчева, дб
- Даниела Пенчева, дб
- Ас. Галя Златанова-Рашкова
- Ас. Стефка Цочева
- Ас. Венцислав Шурлиев, дм
- Радосвета Божилова

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по педиатрия, СБАЛДБ „Проф. Иван Митев“ - ЕАД, Клиника по нефрология и хемодиализа

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящия проект бе генетично изследване на млади пациенти с хронично бъбречно заболяване и хиперурикемия/подагра чрез секвениране от ново поколение (NGS). В рамките на проекта изследвахме пет пациента от български произход, три жени и двама мъже, за което получихме изрично писмено съгласие. Използвахме генния панел TSO, който покрива кодиращите секвенции на 4 813 гена и платформата MiSeq (Illumina). За потвърждаване на находките от NGS и сегрегационен анализ използвахме секвениране по Sanger. Класификацията на откритите вариантите по отношение на тяхната патогенност направихме спрямо критериите на ACMG (Richards S. и съавтори, 2015). Анализът на резултатите разкри патогенни или потенциално патогенни варианти при четирима от изследваните болни в секвенциите на няколко гена свързани с нормалната структура и функция на бъбрека - *COL4A3*, *COL4A4*, *UMOD*, *GATM* и *SLC14A2*, кодиращи съответно  $\alpha 3$  и  $\alpha 4$  веригите на колаген тип 4, уромодулин, ензимът митохондрийна L-аргинин-глицин амидинотрансфераза и медуларния уреен транспортер UT2. Успяхме да открием болестотворната мутация в семейство с три засегнати поколения, сред които няколко индивида с хронична бъбречна недостатъчност – замяната p.Arg222Ser (rs1313544461) в гена *UMOD*. До този момент в базите данни липсваше информация за клиничния ефект на този вариант, но с помощта на сегрегационен анализ, който обхваща трима болни от семейството, доказахме неговия патогенен характер. Мутациите в колагеновите гени *COL4A3/4*, едната от които неизвестна до този момент, засягат структуроопределящи аминокиселинни остатъци и очакваме тяхната патогенност да бъде доказана след анализ за носителство при близки родственици на индексния пациент. За изясняване на клиничния ефект на вариантите в гените *GATM* и *SLC14A2* ще бъдат извършени допълнителни проучвания. Настоящото

проучване бе първи опит за изясняване на молекулните основи на хиперурикемията съпроводена с нарушена бъбречна функция в България. Резултатите от него ще спомогнат за оптимизиране на терапията на пациентите и ще допринесат за изясняване на биологичните процеси, чието нарушение води до подобни нарушения в нормалната функция на бъбрека.

Научният отчет е приет с *ДОБРА* оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-76/04.06.2021 Молекулни основи на съединително-тъканните патологии, свързани със заболяването Ehlers-Danlos, при българските пациенти**

**Изследователски екип:** Проф. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дбн

- Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн
- Гл.ас. Биляна Георгиева, дб,
- Янка Дангулова,
- Гл.ас. Силвия Календерова-Вълкова, дб
- Мария Дюлгерова
- Тихомир Тодоров, дб
- Славко Орманджиев

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Медицинска химия и биохимия, Секция Биохимия, ул. Здраве 2, 1431, гр. София

**РЕЗУЛТАТИ:** Синдромът на Ehlers-Danlos (EDS) е хетерогенна група от заболявания, засягащи съединителната тъкан, кожата, сухожилията, кръвоносните съдове и вътрешните органи. Целта на научната разработка беше въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на генетични варианти при пациенти с EDS, за изясняване молекулните основи и свързаните със заболяването гени при български пациенти. Беше приложен методът секвениране от ново поколение (next generation sequencing, NGS), за анализ на панел от гени. NGS базираният метод за пълно екзомно секвениране беше успешно приложен, за откриването на варианти в *COL3A1*, *ADAMTS* и *CRTAP* гените. На базата на проведените молекулярно-генетични изследвания, при 1 от пробите (6,67%) геномният анализ доведе до откриване на молекулен дефект в гена *COL3A1* (с.2122G>C, р.Gly708Arg), с което се обяснява клиничната симптоматика при изследваната проба от фетус, и доведе до поставяне на точна молекулярно генетична диагноза. Уточняването на диагнозата даде възможност за извършването на адекватна профилактика на заболяването в семейството, която показва, че вариантът е възникнал *de novo* – не е унаследен от родителите. При двама от пациентите геномният анализ доведе до откриване на варианти с неясно значение в гените *ADAMTS* и *CRTAP* (с.562G>C, р.Glu188Gln и с.583G>A, р.Glu195Lys). При 12 от пробите геномният анализ не доведе до откриване на патологични варианти, поради което пациентите остават с неуточнена генетична диагноза. Резултатите от настоящото проучване са от голямо значение за семейството на изследвания абортивен материал, тъй като доведоха до поставяне на точна диагноза на молекулярно-генетично ниво. Само при наличие на точна молекулярно-генетична диагноза в семейството може да се предложи адекватна консултация, пренатална диагностика и профилактика на заболяването.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-77/04.06.2021 Изследване експресията на HIF-1alpha и HIF-2alpha проангиогенната микроРНК-а miR-1246 при карцинома на ларинкса – в търсене на туморна хетерогенност

**Изследователски екип:** Проф. д-р Диана Петрова Попова, дмн

- Доц. д-р Тодор Попов, дм
- Проф. д-р Лазар Славов, дм
- Гергана Станчева, дб
- Ас. д-р Тихомир Диков
- Доц. д-р Цветомир Маринов
- Д-р Жюлиде Касабоглу

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по УНГ болести, ул. Бяло море 8, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** В проби от група от 62 пациента с напреднал карцином на ларинкса беше изследвана експресията на miR-1246 чрез RT-PCR. От всеки пациент бяха изследвани по 4 проби – контрола, нормална перитуморна тъкан и тумор в дълбочина и повърхност. Откри се, че miR-1246 е значително дисрегулирана при напреднал карцином на ларинкса (в 78% от случаите), Свърхекспресията на miR-1246 е значително по-висока в стадий Т4 в сравнение със стадий Т3 и корелира с размера на тумора. Нивата на експресия на miR-1246 са значително по-високи в дълбочината на тумора, отколкото на повърхността на тумора, т.е. има значима хетерогенност по отношение на тази микроРНК. Важен извод от данните е и фактът, че нивата на експресия на MiR-1246 са положително свързани с по-висок риск от локорегионални метастази при тези пациенти. В група от 25 пациента бе направена имунохистохимия за HIF-1-alpha и HIF-2-alpha. От направеният анализ на експресията на HIF-2-alpha в туморна тъкан се установи петнисто разпределение на експресията на тази молекула без дифузно такова. Основният източник на експресия са туморните клетки и в много по-слаба степен туморната строма. HIF-1 alpha антитялото не даде оцветяване поради вероятен проблем с качеството.

**Научни публикации и прояви:**

- G. Stancheva, “Higher Expression Levels of miR-1246 in Advanced Laryngeal Carcinoma Are Associated with Elevated Risk of Locoregional Metastasis”, *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, vol. 76, no. 3, pp. 464–472, Mar. 2023.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-78/04.06.2021 Изследване на панел от miRNA като неинвазивни диагностични биомаркери при рака на простатата

**Изследователски екип:** акад. проф. д-р Ваньо Иванов Митев, дм, дбн

- Проф. Радка Кънева, дб
- Ас. Дарина Качакова-Йорданова, дб
- Вероника Петкова
- Доц. д-р Маринчо Георгиев, дм
- Доц. д-р Красимир Янев, дм
- Д-р Васил Василев, дм
- Гл. ас. д-р Валентин Йотовски, дм
- Ас. д-р Георги Иванов
- Ас д-р Александрина Влахова
- Ас. д-р Маруся Геннадиева-Йорданова



**Базова организация:** МУ - София, МФ, катедра по Медицинска химия и биохимия, ул. Здраве, 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Най-често срещаният солиден тумор сред мъжете е рака на простатата (РП). Съществува голяма нужда от въвеждане на неинвазивни биомаркери в клиничната практика, които да подпомогнат индивидуализираната медицина. Такива неинвазивни биомаркери са miRNAs. Текущото проучване цели да валидира let-7c и miR-375 като неинвазивни диагностични и/или прогностични биомаркери в плазма при РП. Тези микроРНК показаха корелация с РП в предходен наш научно-изследователски проект. В текущото проучване бяха изследвани плазмените нива на подбраните miRNAs при 51 пациенти с РП и 48 контроли с доброкачествена простатна хиперплазия (ДПХ). Експресионният анализ бе осъществен с помощта на SybrGreen LNA технологията. При проведеня анализ на ROC кривите се установи, че поотделно изследваните miRNAs не могат да разграничат надеждно пациентите от контролите. Плазмените нива на miR-375 показаха корелация с Gleason score. Комбинирането на miRNAs с PSA разграничава пациентите от контролите с най-добра специфичност в сравнение с използването им поотделно, а така също има потенциал да отдиференцират пациентите с висок Gleason score. Най-добра комбинация от два биомаркера за разграничаване на пациентите от контролите е между let-7c и PSA, при което се постига 76.5% чувствителност и 62.5% специфичност като площта под кривата, AUC е 0.689,  $p=0.0012$ . Комбинирането на let-7c, miR-375 и PSA постига площ под кривата AUC от 0.709,  $p=0.00036$ , с чувствителност от 70% и специфичност от 60.4%. Тези резултати показват, че комбинирането на биомаркери има потенциал да бъде използвано в клиничната практика при диагностицирането на РП. В допълнение установихме, че плазмените нива на miR-375 статистически значимо корелират с наличието на диабет и разграничават анализирания индивиди с диабет от тези без диабет независимо наличието на РП с висока чувствителност и специфичност. Необходимо е провеждане на по-мощно изследване, в което да се включат по-голяма кохорта от пациенти с РП с пълни клиникопатологични данни и добре клинично охарактеризирани контроли, за да могат да се вземат предвид всички фактори, влияещи на нивата на miRNAs.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-79/04.06.2021 Структурни и неврохимични особености на невроепителните телца в спонтанно хипертензивни плъхове**

**Изследователски екип:** Проф. Николай Еленков Лазаров, дмн

- Проф. Лазар Славов, дм
- Доц. Димитринка Атанасова-Димитрова, дм
- Доц. Ангел Дандов, дм
- Гл. ас. Александър Илиев, дм
- Ас. д-р Никола Стаменов
- Галина Маринова

**Базова организация:** Катедра по анатомия, хистология и ембриология, Медицински факултет, Медицински университет – София, ул. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проекта е да се проучат структурните и неврохимичните особености на невроепителните телца (НЕТ) в спонтанно хипертензивни плъхове (SHR). НЕТ са групи от невроендокринни клетки, разпръснати в епитела на интрапулмоналните въздухоносни пътища. Те експресират голям брой биоактивни пептиди, което ги прави интересен обект на изследване с оглед на патологични промени в белия дроб и

регенеративните му възможности. За целите на проекта бяха използвани две възрастови групи SHR плъхове, на един- и тримесечна възраст. За контроли използвахме отговарящи по възраст нормотензивни плъхове от порода Wistar. Използваните методи включват дълбока анестезия на животните, последвала транскардиална перфузия, отпрепариране на белите дробове и тяхното обезвъздушаване чрез вакуум. След това от белите дробове бяха изготвени парафинови блокчета, от които бяха нарязани хистологични срезове. На следващ етап те бяха оцветени чрез рутинни хистологични техники (ХЕ и неутрално червено) и имунохистохимични методи с първични антители срещу калцитонин генно-свързан пептид (CGRP), гама-аминомаслена киселина (GABA), субстанция Р (SP) и невропептид Y (NPY). Чрез рутинните оцветявания НЕТ бяха визуализирани и локализирани в терминални и респираторни бронхиоли и алвеоли. НЕТ бяха наблюдавани като клъстери от клетки, проминаващи в лумена на въздухоносните пътища. Въпреки това използването на тези методи е лимитирано поради липсата на специфични морфологични белези за идентификация на структурите. Чрез използването на имунохистохимичните методи беше определена експресията на редица невропептиди в НЕТ. Използвайки първично анти тяло срещу CGRP беше визуализирана НЕТ-микросреда, която включва и Клара-подобните клетки, разположени около невроендокринните клетки. Беше демонстрирана и експресията на SP и GABA в невроендокринните клетки, като реакцията за тях беше особено силна при тримесечните SHR плъхове. Като заключение НЕТ експресират богат набор от невропептиди, което ги прави важен елемент от белодробния паренхим, който интегрира химични стимули в белия дроб и ЦНС. Допълнителни изследвания са необходими за по-ясното разбиране на участието на тези невроактивни вещества в патологични промени и регенеративния капацитет на белия дроб.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Stamenov, N., L. Jelev, D. Atanasova, A. Dandov, N. Lazarov. Microscopic Anatomy of the Pulmonary Neuroepithelial Bodies in Spontaneously Hypertensive Rats. – Acta Morphol. Anthropol., 29, 2022, 18-21.
- Stamenov N, Atanasova D, Jelev L, Dandov A, Lazarov N. Localization of CGRP-immunoreactive structures in the pulmonary neuroepithelial bodies of spontaneously hypertensive rats. VIII National Conference with international participation “Morphological Days”, Sofia, Bulgaria, June 10 – 12, 2022.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-80/04.06.2021 Серологично проучване за установяване на асимптоматично разпространение на SARS-CoV-2 в географски и климатично обособен район в България**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Райна Цветанова Гергова, дм

- Член кор, проф. Иван Митов, дм
- Гл. ас. Иво Сираков, дм
- Гл. ас. Николай Кълвачев, дм
- Проф. Таня Стратева, дм
- Ас. Петя Станкова
- Гергана Параскова
- Д-р Людмила Бърдарска

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Медицинска микробиология, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Данните за асимптоматични инфекции причинени от SARS-CoV-2 при човека са разнопосочни и не дават ясна информация и могат да варират от 0.3 до 78.6%. Бързото разпространение на вируса се дължи на асимптоматичните инфекции, които са голяма опасност, тъй като подкопават контролните мерки. Също така, от значение за разпространението на респираторните вируси са географските и климатични особености. Във връзка с това, си поставихме за цел, посредством ретроспективно проучване, да проучим скритото разпространение на SARS-CoV-2 при човека в три периода - по време на изолацията 13.03.-13.04, след нея 14.04-07.08 и есента 26.10-08.12.2020 год, както и да определим значението на някои климатични и географски фактори. За целта изследвахме 418 серумни проби, от югозападна България, община Сандански, посредством двойно рекомбинантна IgM, IgA и IgG ELISA. 369 от пробите изследвахме с бърз антителен тест и получените резултати съпоставихме с ELISA метода. Асимптоматичните случаи за трите етапа в проучването бяха 3.84%, 9.18% и 51.31%, или общо за целия период 16.51%, като не установихме статистически значима разлика в статуса на антителата срещу SARS-CoV-2 между мъжете и жените. Съпоставяйки получените резултати, климатичните фактори и характеристиките на вируса анализирахме възможния начин за внос на вируса в града. Установихме, че вирусът е циркулирал в общината преди първият регистриран случай внесен от Великобритания. Вероятно вирусът е навлязъл в града с масовото прибиране преди изолацията посредством асимптоматичен носител, но не и посредством въздушните потоци. При направеното сравнение между бърз антителен тест и ELISA метод, бързият тест показва 100% специфичност и 74% чувствителност спрямо двойно рекомбинантната ELISA техника. Тези и други резултати, в световен мащаб, поставят въпроса за степента на използване на бързите тестове в официалния контрол. Поради това, че няма официални данни за страната преди 06.06.20 год., тези резултати допълват информацията за разпространението на SARS-CoV-2 в страната, преди този период.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Sirakov I, Stankova P, Bakalov D, Bardarska L, Paraskova G, Mitov I, Gergova R. Asymptomatic spread of SARS-CoV-2 during the first wave in Bulgaria: A retrospective study in a region with distinct geography and climate. Was the virus source from the UK? Acta Microb. Bulg. 2022; 38(4):358-360.
- Sirakov I, Rusenova N, Rusenov A, Gergova R, Strateva T. Human ELISA Detects anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Cats: Seroprevalence and Risk Factors for Virus Spread in Domestic and Stray Cats in Bulgaria. Veterinary Sciences. 2023; 10(1):42.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-81/04.06.2021 Проучване потенциала на котките като резервоар и източник на инфекции със SARS-CoV-2 при човека в България**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Иво Николаев Сираков, доктор

- Гл. ас. Николай Кълвачев, дм
- Проф. Таня Стратева, дм
- Проф. Райна Гергова, дм
- Чл.кор. Проф. Иван Митов, дн
- Добринка Иванова, дм
- Гл. ас. Ралица Попова, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра „Медицинска микробиология“, ул. Здраве 2, гр.София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Инфекциите с коронавируси са зоонози и разбирането на зоонозия им произход е ключов фактор за борбата с тях. Коронавирусите използват различни стратегии за адаптация и свързване с клетката гостоприемник, поради това е възможно SARS-CoV-2 да остави след себе си природни резервоари. Установена е висока чувствителност на маймуни, порове и котки към SARS-CoV-2, и по-слаба при кучета. Котките в България са широко разпространени като домашни любимци и бездомни, и връзка с това, си поставихме за цел да изследваме клинични и серологични проби от тях, за доказване разпространението на SARS-CoV-2 и възможността за формирането на резервоар на вируса. Използвахме предназначена за човека двойно рекомбинантна ELISA, RT- Real Time PCR, LAMP, секвениране и разработихме nested(n)PCR. Проведохме диференциална диагноза с *FHV*, *FCV*, *Mycoplasma* и *Chlamydia felis*. От клиничните проби 30.31% бяха положителни за SARS-CoV-2, 17.17% за *FHV*, 6.06% - *FCV*, 45,45% *Mycoplasma* и 16.16% за *Chlamydia felis*. Анализът на резултатите показва възможна зависимост между SARS-CoV-2 и *FHV*. Наличие на антитела срещу SARS-CoV-2 показаха 11.11% от пробите, а 2.8% бяха гранични. Разработеният nPCR показва 100% специфичност и чувствителност до 0,015 ng/μL вирусна РНК. Процентът положителни клинични проби за SARS-COV-2 показва активна циркулация и предаване на вируса сред котките. Във връзка с това, може да се спекулира, че мутациите на вируса при котките и други гостоприемници, може да доведат до формирането на варианти специфични и циркулиращи само сред тях или да се превърнат в постоянен източник на вируса за човека. Наличието на антитела в 11.11% от изследваните котки показва формирането на имуноен отговор. Серологичните данни съпоставени с положителните клинични проби, вероятно показва 'вълна' от разпространението на вируса сред котките и началото на формиране на популяционен имунитет. Котките имат потенциала да се превърнат в резервоар на вируса, но това зависи и от възможността за формиране на популяционен имунитет при тях.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Sirakov I, Popova R, Ivanova D, Rusenova N, Mladenov H, Mihova K, Mitov I. Development of nested PCR for SARS-CoV-2 detection and its application for diagnosis of active infection in cats. Vet. Sci. 2022, 9, 272.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-82/04.06.2021 Изследване на панел от физионни гени при детски солидни тумори чрез новогенерационно секвениране**

**Изследователски екип:** Проф. Радка Петрова Кънева, дб

- Проф. д-р Христо Шивачев, дм
- Гл.ас. д-р Надежда Толева, дм
- Д-р Ния Сърбянова, дм
- Проф. д-р Добрин Константинов, дм
- д-р Иван Боронсузов, дм
- Гергана Станчева, дб
- Калина Михова, MSc
- Вероника Петкова

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия, ЦММ, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Актуалността на проблематиката се определя от високата честота на солидните тумори в детска възраст (ДСТ), големият им малигнен потенциал с висока смъртност и възможността да се повлияват от съвременното лечение при навременна и точна диагноза. В настоящото проучване бяха изследвани редки тумори в детска възраст за наличие на фузионни белтъци чрез кит FusionPlex® Sarcoma и новогенерационно секвениране. При 6 от 8 пациенти (75%) беше открит фузионен белтък, като помага прецизиране на диагнозата. Един от тези 6 пациента е случай на Юинг саркома доказан с друг метод и използван като позитивна контрола. При един от пациентите благодарение на това изследване беше открит вариант характерен за друг хистологичен вид тумори. Само при един от пациентите не беше открит нито един вариант, а при един пациент не беше възможно извършването на анализа, поради ниското качество на изходния материал.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-83/04.06.2021 Пълно екзомно секвениране при пациенти с комплексни форми на епилепсия, свързани с други нарушения в развитието на нервната система и вродени малформации**

**Изследователски екип:** Проф. Албена Кирилова Йорданова, доктор

- Ас. Невяна Иванова, доктор
- Валентина Пейчева, доктор
- Радосвета Божилова
- Доц. д-р Даниела Авджиева-Тзавелла, дм
- Проф. д-р Иван Литвиненко, дм
- Гл. ас. д-р Геновева Тачева, дм
- Ас. д-р Мария Петрова
- Ас. д-р Димитър Милков Стаматов
- Проф. д-р Венета Божинова-Чамова дм
- Гл. ас. д-р Илияна Александрова – Лазарова, дм
- Д-р Даниела Денева –Тодорова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет / Катедра по медицинска химия и биохимия / Център по молекулярна медицина, Ул.Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Комплексните форми на епилепсия, свързани с други нарушения в развитието на нервната система са клинично хетерогенна група от заболявания, с припокриващи се фенотипи, включващи аутизъм, изоставане в моторното и невропсихичното развитие, умствено изоставане и вродени малформации. Най-често се дължат на хромозомни аберации или копийни варианти. В останалите случаи се откриват точкови мутации, които успешно се детектират с използвания от нас метод на пълно екзомно секвениране (WES). В изследването бяха включени 10 пациента с комплексни форми на епилепсия, при които са били отхвърлени най-честите генетични причини за заболяването. Патогенни/потенциално патогенни варианти бяха намерени в 50% от случаите (5 от 10 пациента). Този диагностичен добив е сравним с цитираните данни в подобни проучвания и доказва още веднъж ефективността на WES в молекулярната диагностика на комплексните форми на епилепсия. Идентифициран бе първия случай в България на наскоро описан рядък генетичен синдром на O'Donnell-Luria-Rodan, което допринася за по-надеждна интерпретацията на връзката генотип-фенотип. Доказването на патогенен вариант в ген *KCNC3*, при пациент с епилепсия и изоставане в развитието доведе до разширяване на клиничния фенотип, свързан с този

ген и показва, че той трябва да бъде включен в генните панели за диагностика на епилепсия. Като цяло, разкриването на генетичната причина за заболяването не само доведе до поставянето на сигурна генетична диагноза, но имаше огромно значение за генетичното консултиране в изследваните семейства, особено в случаите на слабо дефиниран и непълно разгърнат клиничен фенотип свързано с прогнозата на заболяването, терапевтичния подход, риска от раждане на болно дете при следваща бременност и възможността за предлагане на дородова диагностика. Изясняването на молекулните характеристики на тези заболявания показва, че въпреки сложната клинична картина, при по-голяма част от пациентите се дължи на единични *de novo* мутации в гени, свързани с развитието на нервната система, ранното ембрионално развитие или специфично експресирани в нервната тъкан, чиято функция е критична за работата на нервните клетки.

#### Научни публикации и прояви:

- Н. Иванова. Лекция: „Пълно екзомно секвениране в диагностиката на редки заболявания, свързани с нарушения в развитието на нервната система и вродени малформации – Да подредим пъзела!“. Втора научна конференция „Генетика в клиничната практика“, 2-5 юни 2022 г., в х-л Белвил, к.к. Дюни. Научна сесия „Генетика и неврология“.
- N.Ivanova, K.Mihova, D.Avdjieva-Tzavella, V.Peycheva, I.Litvinenko, G.Tacheva, I.Aleksandrova, V.Guergelcheva, V.Bojinova-Tchamova, V.Mitev, I.Dimova, A.Jordanova, R.Kaneva. P10.045.D: “Whole exome sequencing followed by reverse phenotyping in patients with neurodevelopmental disorders identifies rare genetic syndromes and reveals novel clinical and genetic variants”. European Human Genetics Conference, Vienna, Austria, June 11–14, 2022. Hybrid Poster.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-84/04.06.21 Присъствие и роля на вируси от сем.

### Herpesviridae в патологията простатен карцином

Изследователски екип: Гл. ас. Биляна Георгиева Георгиева, дб

- Проф. Албена Тодорова-Георгиева, дбн
- Янка Дангулова
- Анита Кавръкова, дб
- Кремена Месечкова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по медицинска химия и биохимия, Секция „Биохимия“, ул. Здраве 2, 1431 София

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящата научна разработка беше да проучим потенциалната асоциация на вируси от сем. Herpesviridae (HHVs) с поява и прогресия на простатен карцином (ПК), вследствие персистираща активна инфекция и туморогенна биологична активност при български пациенти с ПК, допрокачествена простатна хиперплазия (ДПХ) и ПК/ДПХ. Изследвахме по една игла от “tru-cut” биопсии от 78 пациента - 58 с доказан ПК и 20 с ДПХ. Приложихме екстракция на ДНК от биологичните проби, PCR, Real-Time PCR. При 11,5% от всички пациенти (9 от 78) детектирахме активна вирусна инфекция със следните 4 вируса от сем. Herpesviridae - CMV, EBV, HHV-6 и HHV-7. Болшинството от находките на активна вирусна инфекция са в клиничната група на пациентите с ДПХ (25%) и едва при 6,9% от пациентите с диагноза ПК. Открихме масови морфо-хистологични находки на възпалителен процес: атипични, атрофични и преканцерозни промени, хронична възпалителна инфилтрация, амилоидни телца и цитопатичен ефект, характерен за повечето от детектираните вируси, главно EBV, CMV,

*HHV-6*, концентрирани в групата пациенти с ДПХ. Получаването на такива резултати за сходна морфо-хистологична картина и наличието на вируси от сем. *Herpesviridae* в над 25% от пациентите с ДПХ и ДПХ/ПК, в комбинация с ПСА стойности в сива зона, характеризира определена критична фаза от развитието на ПК и носи голям риск от отключване на малигнизация чрез вирус-асоцииран туморогенен процес. Наблюденията ни подкрепят теорията за “hit and run” модел на простатния карцином, т.е. вирусите са много по-активни в началните и преломни етапи, като отключват заболяването, а по-рядко се детектират в авансирала фаза на заболяването. Нашите резултати подкрепят хипотезата, че дълговременната активна инфекция с HHVs допринася за интрапростатно възпаление, преканцерозни лезии и ДПХ, и по-късно за озлокачествяване на простатния епител. Превенцията и лечението на инфекции с вирусна етиология в простатната жлеза биха имали положителен ефект върху контрола и превенцията на ПК. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-85/04.06.2021 Взаимодействие между ендогенната канабиноидна и серотонергичната системи в патогенезата на студовия стрес

**Изследователски екип:** Доц. д-р Христина Христова Ночева-Димитрова, дм

- Проф. д-р Александър Стойнев, дм
- Доц. д-р Роман Ташев, дм
- Доц. д-р Радка Тафраджийска, дм
- Доц. д-р Румен Николов
- Гл. ас. д-р Георги Богданов, дм
- Ас. д-р Николай Стойнев, дм
- Ас. д-р Влайко Воденичаров, дм
- Никхил Оливейра, студент
- Нисарг Шах, студент

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра „Физиология и патофизиология“, ул. „Здраве“ 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Функционалните и структурни промени в организма, настъпващи в условия на стрес в резултат на сложното взаимодействие между ендокринната, имунната и централната нервна системи, могат да отключат различни, т.нар. „стрес-индуцирани състояния и заболявания“, някои от които социално значими. Изучаването на механизмите на развитие на стреса би дало практически насоки за намаляване отрицателното му въздействие върху организма. Целта на проекта бе изучаване ролята на канабиноидната и серотонергичната невротрансмитерни системи в патогенезата на студовия стрес при плъхове. Експерименталните постановки включваха приложението на агонисти и антагонисти на канабиноидните рецептори CB1 и серотониновите рецептори 5HT1A в различни комбинации преди излагането на животните на 1-часов студов стрес. Определянето на болковата перцепция се осъществяваше чрез механични и термични ноцицептивни методи. Отчитаният ефект върху стрес-индуцираната аналгезия се приема като индиректен показател за стрес-отговора на организма като цяло. Получените резултати показваха, че:

- двете системи взаимодействат в патогенезата на студовия стрес;
- канабиноидната система притежава модулиращ ефект в патогенезата на студовия стрес, като първоначално поддържа СИА в определени стойности, а по-късно я потиска; антагонизирането на CB1-рецепторите прекратява модулиращия ефект и се отчитат по-високи стойности на СИА;
- серотонергичната система има по-слаб самостоятелен ефект върху СИА, като повишава стойностите ѝ предимно на 30-та мин от експеримента;
- претретирането с двата агониста понижава СИА от 20-та мин на експеримента;
- антагонизирането на CB1-рецепторите с едновременно претретиране с 5HT1A-агонист обуславя СИА от 20-та мин на експеримента, като стойностите ѝ остават постоянни до края на отчетения период и проявяват тенденция към превишаване на тези при животните, третиран с двата агониста;
- антагонизирането на 5HT1A-рецепторите с едновременно претретиране с CB1-агонист показва РРТ-стойности, съизмерими с тези на контролите;
- опиоидните рецептори са ангажирани в описаните ефекти;
- в посочените ефекти вероятно участват и други медиаторни системи (напр. ГАМК-или глутамат-ергичните).



Получените резултати потвърдиха хипотезата на научния екип: ендогенната канабиноидна и серотонергичната невротрансмитерни системи си взаимодействат в патогенезата на студовия стрес.

Научният отчет е приет с *ДОБРА* оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-86/04.06.2021 Крос-корелативен анализ на динамиката в неврологичното поведение и параметрите на мозъчния протеом у плъхове с индуциран STZ-ICV експериментален модел на болест на Алцхаймер.**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Радка Крилова Тафраджийска-Хаджиолова

- Доц. д-р Даниела Пехливанова, дм
- Доц. д-р Любомир Трайков, дбф
- Гл.ас. д-р Тодор Богданов, дф
- Ас. д-р Димитър Бакалов, дм
- Ас. д-р Зафер Сабит, дм
- Анастасиос Папагеоргиу- студент
- Фракиски-Йоанна Теодорос- студент

**Базова организация:** МУ-София, Медицински факултет, катедра Физиология и Патопфизиология, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Хипогликемията и Хипометаболитните нарушения в мозъка, причинени от намалено усвояване на глюкоза, се наблюдават в специфични области на мозъка, засегнат от Болестта на Алцхаймер (AD). Следователно глюкозният хипометаболизъм и енергийният дефицит са отличителни белези на AD. Има няколко хипотези, които обясняват ролята на глюкозата в хипометаболитните изменения при AD, но наличните данни по този въпрос са слаби. Намаления транспорт на глюкоза в глиалните клетки може да е свързан с намалена експресия на глюкозни транспортери GLUT-1и GLUT-2 в невроналната и глиална тъкани. От друга страна, преносителите на глюкоза (GLUT-1и GLUT-2 ) могат да играят роля като потенциални мишени за терапия на болестта на Алцхаймер. Съединения като антидиабетни лекарства, агонисти на SGLT1, инсулин, се предлагат като терапевтично средство. Независимо от това, предложените цели на терапията се нуждаят от допълнителни изследвания. В настоящия проект е представен един системен подход на анализ на животинска моделна система на болестта на Алцхаймер с интрацеребро-вентрикуларната инфузия на Стрептозотоцин (или накратко Стрептозотоцинов модел) водеща до селективно инхибиране на GLUT-1и GLUT-2 транспортерите в областта на 3-ти вентрикул (мястото е определено с помощта на стереотаксична техника), с паралелно проведени поведенчески и паметови тестове. След проведения Крос-корелативен анализ на групите от данни свързани с протеомните изследвания на мозъчни хомогенати, цереброспинална течност (CSF) и кръвна плазма (BP), посредством SDS-PAGE и хистологичните изменения в структурата на Хипокампалната област, спрямо промените в поведенческите и паметови възможности при експерименталните животни. Крос-корелативните изменения свързани с поведението на експерименталните животни и по-специално наблюдаването на паметови нарушения, показват 0.85-0.93 корелационен коефициент на Pearson, което означава че методиката с комбинирането на два наглед различни систематични подхода довеждат до по-пълно охарактеризиране. Протеомния анализ, паралелно с дегенерацията на хипокампалната област, се доказват и дегенеративни промени в поведението на експерименталните животни. Особено силна крос-корелация се наблюдава между резултатите по отношение на разпознаването на нов обект от експерименталните животни и дегенеративните изменения в протеома на цереброспиналната течност и супернатантата от мозъчен хомогенат изолиран от хипокампалната област.

**Научни публикации и прояви:**

- Paraskevas Pakataridis, Daniela Peclivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiska. Long-term impairment of cognitive behavior and memory after intracerebroventricular

injection of streptozotocin in rats. Scientific conference “Kliment’s days”, MB&BT-87, 5th November 2021 Sofia, Faculty of Biology

- Filippos-Savvas Chelms, Daniela Pechlivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiiska. Impaired anxiety- like behavior in an experimental model of Alzheimer's disease. SCIENTIFIC CONFERENCE “KLIMENT’S DAYS”, MB&BT-81, 5th November 2021 Sofia, Faculty of Biology
- Dimitrova M., Traikov L., Gateva P., Sabit Z., Bakalov D., Tafradjiiska-Hadjiolova R. - Protective Effect of Alpha-Lipoic Acid in 6-Hydroxydopamine Unilateral Intrastratial Induced lesions in Rats-10-11 May 2022- ICMS-2022, Sofia, Bulgaria.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-87/04.06.2021 Когнитивно-поведенчески промени при хипотиреоидизъм – вероятна връзка с намалена серотонинергична медиация**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Жоржета Стоянова Бочева

- Доц. д-р Радка Тафраджийска-Хаджиолова, дм
- Д-р Димитър Бакалов, дм,
- Д-р Зафер Сабит, дм,

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по фармакология и токсикология, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящото проучване беше да се изследват промените в поведението, познанието и паметта при плъхове с клинично проявен хипотиреоидизъм в сравнение с еутиреоидни животни, както и да се оценят ефектите от приложението на триптофан при хипотиреоидно състояние. За постигане на целта бяха използвани доказани в литературата *in vivo* тестове, като тест за спонтанно редуване в Т-образен лабиринт, тест за разпознаване на нов обект, open-field тест (OFT). Моделът на медикаментозно предизвикан хипотиреоидизъм беше осъществен чрез поставяне на 0,01% 6-*n*-propyl-2-thiouracil (PTU) във водата за пиене на плъхчета, порода Wistar-Albino, за период от 5 седмици. Хипотиреоидното състояние беше потвърдено чрез измерване на серумните нива на fT4. Повлияването на серотонинергичната медиация в мозъка беше направено чрез приложение на прекурсора на серотонин, 5-хидрокси-L-триптофан (5-OH-TRP), интраперитонеално с 50 mg/kg в 1% PBS за период от 10 дни, или стереотаксично в хипокампусът с 3 µL (17 mg/mL). Данните от поведенческите експерименти бяха статистически обработени. Поведенческите тестове показаха, че PTU-индуцираният хипотиреоидизъм значително намалява общата хоризонтална локомоторна активност и поемането на риск, демонстрирано чрез намаляване на броя на повторните влизания в централната аверсивна зона на OFT апарата. Наблюдавахме също значително намален брой изправяния на задни крака при хипотиреоидните плъхове, което отразява тяхната ниска мотивация за изследване на средата. Значително потиснато беше и тяхното проучвателно поведение. Прилагането на 5-OH-TRP интраперитонеално или стереотаксично почти напълно премахна индуцираната от хипотиреоидизма хипоактивност и намалено рисково поведение при експерименталните животни, с лека незначителна разлика, в сравнение с еутиреоидните животни, което демонстрира изразен анксиолитичен ефект на приложения 5-OH-TRP. Настоящите резултати могат да послужат като основа за по-нататъчно изследване на функционалните и структурни промени на хипокампуса при хипотиреоидно състояние. Получените резултати имат не само теоретична, но и практическа значимост в използването на незаменими

аминокиселини, и по-специално с триптофан при хипотиреоидни пациенти с депресиво-подобни симптоми и паметови разстройства.

**Научни публикации и прояви:**

- Ivanov S, Bakalov D, Bocheva G. Pathophysiology and management possibilities of thyroid-associated depression. Acta Med Bul. 2022;49(3): 68-72
- Bakalov D, Iliev P, Sabit Z, Tafradjiiska-Hadjiolova R, Bocheva G. Attenuation of Hypothyroidism-Induced Cognitive Impairment by Modulating Serotonin Mediation. Veterinary Sciences 2023; 10(2):122 (IF: 2,518).
- Iliev P, Bakalov D, Sabit Z, Tafradjiiska-Hadjiolova R, Bocheva G. Effects of serotonin mediation on the cognitive function in an animal model of hypothyroidism. 8<sup>th</sup> CONGRESS of PHARMACY with International Participation, April 27-30, 2023, Borovets, Bulgaria

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-88/04.06.2021 Ефекти на инхибитори на азотен оксид синтазата и цистатионин гама-лиазата върху лептин-индуцираната хипертермична реакция в плъхове**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Милен Христов Христов, дм

- Гл. ас. д-р Людмил Лазаров, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по фармакология и токсикология, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Лептинът е адипокин, участващ в регулирането на енергийната хомеостаза и имунната функция. Установено е, че периферното инжектиране на лептин предизвиква простагландин Е<sub>2</sub>-зависима треска при плъхове. Предишни проучвания съобщават, че невроналната азотен оксид синтаза, индуцируемата азотен оксид синтаза и цистатионин гама-лиазата изпълняват важна роля в липополизахарид-индуцираната треска. За да изследваме ролята на тези ензими в ефекта на лептин върху телесната температура, ние използвахме неселективния инхибитор на азотен оксид синтазата N<sup>ω</sup>-Nitro-L-arginine methyl ester (l-NAME), селективния инхибитор на невроналната азотен оксид синтаза 7-nitroindazole, селективния инхибитор на индуцируемата азотен оксид синтаза aminoguanidine и селективния инхибитор на цистатионин гама-лиазата dl-propargylglycine. Резултатите от първата серия от експерименти показаха, че интраперитонеалното въвеждане на лептин (0,5 mg/kg) индуцира значимо увеличение на телесната температура, докато интраперитонеалното прилагане на l-NAME (50 mg/kg), aminoguanidine (50 mg/kg), 7-nitroindazole (10 mg/kg) или dl-propargylglycine (50 mg/kg) не предизвиква значими промени в телесната температура у плъхове. Във втората серия от експерименти установихме, че интраперитонеалното въвеждане на l-NAME, aminoguanidine, 7-nitroindazole или dl-propargylglycine десет минути преди лептин потиска фебрилния отговор, предизвикан от лептин. Тези данни демонстрират участието на цистатионин гама-лиазата, невроналната азотен оксид синтаза и индуцируемата азотен оксид синтаза в лептин-индуцираната треска в плъхове. В това изследване ние също установихме взаимодействието между лептин и всеки от инхибиторите чрез изследване на техния ефект върху хранителния прием и наддаването на телесна маса след комбинираното им приложение. Резултатите показаха, че лептин, l-NAME, aminoguanidine, 7-nitroindazole и dl-propargylglycine, приложени самостоятелно, потискат приема на храна и наддаването на телесна маса на 24 час след инжектирането. Не бе наблюдаван синергизъм в тези ефекти при комбинирането на лептин с aminoguanidine, 7-

nitroindazole или dl-propargylglycine. Ефектът на комбинираното приложение на лептин и l-NAME беше по-голям от ефектите на веществата, прилагани самостоятелно.

**Научни публикации и прояви:**

- Hristov M, Lazarov L. Inhibition of nitric oxide synthase or cystathionine gamma-lyase abolishes leptin-induced fever in male rats. J Therm Biol. 2023;112:103443. IF: 3.189
- Petrov K, Georgieva M, Lazarov L, et al. Effect of dl-propargylglycine on leptin-induced changes in body temperature, food intake and body weight in rats. XX International Congress of Medical Sciences, Sofia, 12-15 May, 2022. 26

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-89/04.06.2021 Ефективност на почистване на овални коренови канали след ендодонтско прелекуване с различни техники**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Емилия Гошова Карова, доктор

- Гл. ас. д-р Виолета Доганджийска, дм
- Гл. ас. д-р Ирина Ценова-Илиева, дм
- Д-р Миряна Райковска

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра по консервативно зъболечение, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Провеждането на повторно ендодонтско лечение цели откриването, обработването и дезинфекцирането на кореновите канали, пълното премахване на остатъците от предишната канална запълнка и създаването на условия за херметична obturation на сложното ендодонтско пространство и на зъба. Овалните коренови канали изискват специално внимание в хода на релечението, тъй като ротационните инструменти не могат да оформят равномерно стените на канала по цялата му дължина. В голям процент от случаите остават необработени участъци, пълни с каналопълнежно средство, дебрис и микроорганизми. Основна цел на настоящото изследване бе да се установи ефективността на отстраняване на каналната запълнка от стените на овални коренови канали след ендодонтско прелекуване с различни техники, като се:

1. Изследва степента на почистване на овални коренови канали от каналопълнежно средство след релечение с M two-R, D-Race и високоенергиен Er:YAG лазер.
2. Изследва ефективността на XP-Endo Finisher-R, използван за допълнителна обработка на коренови канали, при които каналопълнежното средство предварително е отстранено с различни методи (т.1.).

Ефективността на отстраняване на каналопълнежното средство от стената на кореновия канал се оценява чрез micro-CT изследване на образците от трите групи. Анализирани са данните получени при срез на 5 и 10 mm от кореновия апекс, както и при заснемане в пълен обем. 20 Резултатите от нашия експеримент показваха, че с нито една от използваните системи за релечение не се постига пълно отстраняване на каналопълнежното средство. Най-слабо ефективно е почистването с високоенергиен Er:YAG лазер и при трите изследвани среза. Допълнителното приложение на XP-Endo Finisher R премахва значително количество канална запълнка, като разликите между трите изследвани групи не са статистически значими. Най-ефективната техника за почистване на каналопълнежно средство в срез пълен обем е D Race и XP-Endo Finisher-R. Приложението на M Two-R и XP-Endo Finisher-R показва най-добри резултати при разпълване в апикалната и средната зона на кореновия канал (срез 5-10 mm).

**Научни публикации и прояви:**

- Karova E, Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M, Zongova-Adem S. Nickel- Titanium rotary instruments in retreatment cases. MedInform. 2021; 1: 1306-1307.
- Karova E, Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M, Zongova-Adem S. Supplementary approaches in endodontic retreatment. MedInform. 2021; 1: 1312- 1313.
- Karova E, Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M. Endodontic Retreatment with D-Race NiTi Instruments Supplemented with XP-Endo Finisher R. EAS Journal of Dentistry and Oral Medicine. 2022; 4(3): 80-85.
- Tsenova-Ilieva I, Dogandzhiyska V, Karova E. Analysis of the effectiveness of XP-Endo Finisher R in orthograde endodontic retreatment. J of IMAB. 2022; 28(2):4371-4375.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-90/04.06.2021 Изследване на ангио- и остеогенния потенциал на лимонената киселина върху стволите клетки от апикална папила**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Наталия Христова Грънчарова, доктор

- Гл. ас. д-р Николай Ишкитиев, доктор
- Доц. д-р Красимир Христов, доктор
- Милко Пенев

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, катедра „Детска дентална медицина“, ул. Св Георги Софийски 1, София, 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Първите единични клетки, адхезирали към дъното на пластмасовите петрита, се появяват след един до три дни от началото на експеримента. Те са малки клетки с вретеновидна и звездовидна форма. Първите колонии се оформят в рамките на шест до осем дни и са резултат от интензивното делене на адхезираните по дъното на културелния съд клетки. Получените имунофлуоресцентни изображения потвърждават наличието на стволови клетки в апикалната папила, поради експресирането на клетъчните маркери, типични за недиференцирани клетки. Стволите клетки от апикална папила притежават потенциал за остеогенна/одонтогенна диференциация. Това бе доказано чрез визуализиране на минерални отлагания след оцветяване с ализариново червено. Бяха наблюдавани различни модели на минерализация, като културите със стандартна остеогенна среда се характеризират с по-плътни и локализиращи минерални отлагания, а при тези с добавена различна концентрация лимонена киселина те са по-дифузни и по-малко плътни. Отлаганията са нехомогенни, а големината и плътността им намаляват с увеличаване на концентрацията на лимонената киселина. Добавянето на лимонена киселина към хранителната среда значително увеличава концентрацията на VEGF след 28-мия ден на култивиране.

**Научни публикации и прояви:**

- Христов К, Ишкитиев Н, Митева М, Грънчарова Н. Стволови клетки от апикална папила – морфологични особености и характеризация.– списание на БЗС.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-95/04.06.2021 Изследване здравината на адхезивната връзка на пулпопокривни средства и нанокомпозит при различни времеви условия**

**Изследователски екип:** Доц. Иванка Веселинова Димитрова, доктор

- Ас. д-р Десислава Цанова-Тошева

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра консервативно зъболечение, бул. „Георги. Софийски“ 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящото изследване е да се сравни и анализира якостта на срязване между obturorъчен материал и два вида калциево-силикатни цименти (КСЦ) при еднакви други условия. Изследваните КСЦ са: конвенционалният материал Biodentine (Septodont, France) и нововъведения в клиничната практика хибриден материал BioCal-Cap (Harvard, Germany). В проучването е използвано само един вид адхезивна система (Scotchbond 3MESPE, St. Paul, MN,US) и метакрилатен композиционен материал (Filtek Ultimate, 3M, USA). За целта са подготвени 60 образци с отвори с диаметър от 5 мм и височина от 2мм и разделени в 4 групи по 15 образца във всяка. Отворите при 30 образца бяха запълнени с Biodentine, а при останалите бе поставен хибриден материал BioCal-Cap. Изследвана и сравнявана е якостта на срязване след непосредствено

втърдяване на КСЦ и след отложено за срок от 14 дни поставяне на композиционния материал (КМ) за всеки материал поотделно. За статистически анализ на резултатите е използван Mann-Whitney test и Wilcoxon Signed Ranks Test. Анализите показват наличие на статистически значима разлика в якостта на срязване между двата използвани КСЦ при непосредствено поставяне на КМ ( $p < 0,05$ ). При сравняване на резултатите от якостните изследвания между двата материала при отложено поставяне на КМ също има установена статистически значима разлика ( $p < 0,05$ ). Няма, обаче, установена статистически значима разлика ( $p > 0,05$ ) на стойностите якост при непосредствено и отложено поставяне на КМ за всеки отделен вид материал самостоятелно. Данните ясно показват, че не се наблюдава влияние на времевия фактор на нанасяне на обтуровъчния материал за всеки един от изследваните КСЦ върху якостта на срязване.

#### **Научни публикации и прояви:**

- И. Димитрова, Д. Цанова-Тошева. Изследване на якост на срязване между пулпопокривни средства и метакрилатен наноккомпозит, Дентална медицина 2022;104(2):85.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-96/04.06.2021 Анализ на превантивната дейност при работа с рисков биологични и химични фактори в денталната медицина**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Бойко Костов Бонев, доктор

- Доц. д-р Тодор Узунов, дм
- Д-р д-р Ралица Раденкова

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина; Катедра „Протетична дентална медицина“, ул. Св. Георги Софийски 1.

**РЕЗУЛТАТИ:** Работният процес при осъществяване на протетично дентално лечение е тясно обвързан с пренос на информация от устната кухина на пациента през членовете на денталния екип до зъботехническата лаборатория под формата на аналогов отпечатък, който представлява път за кръстосана инфекция. От съществено значение за здравето на всички участници в този процес е определяне на значимостта на този път за кръстосана инфекция и разработване на ефикасни методи за контрол и превенция. Проучени са общо 63 отпечатъка снети с цели стандартни метални лъжици от горна и долна челюст на пациенти, на които се провежда протетично лечение. Използвани са три вида отпечатъчни материали: поликондензационни силиконови материали (Si-C); адиционни силикони (Si-A) и необратим хидроколоид (А). Приложен е микробиологичен метод с посявка върху хранителни среди. На 24-тия час посявките са отчетени и микробния растеж се идентифицира на апарат MALDI-TOF. Микробиологичното изследване на отпечатъците е проведено след дезинфекция по три метода;

- Напръскване със спрей - Zeta 7 и Bossklein;

- Накисване в разтвор - Zhermack Zeta 7

- Потопяне в ултразвукова вана с дестилирана вода.

При изследваните отпечатъци, независимо от вида на материала се изолират различни микроорганизми с умерен до обилен растеж. След микробиологичното изследване се установи, че няма микробен растеж върху отпечатъците независимо от какъв материал са те и с какъв метод на дезинфекция са обработвани. Микробиологичните изследвания доказват, че най-често използваните методи на дезинфекция, в ежедневната дентална практика са ефективни и могат да бъдат използвани за контрол на кръстосаната инфекция. Същите отпечатъчни материали (ОМ) и същите методи на дезинфекция са изследвани с 3-D принтер за да се проследи променя ли се остротата на отпечатъците.



Линейната устойчивост на всички ОМ след първо третиране с някой от избраните методи за дезинфекция не оказва влияние върху надеждността на пренесената информация. Линейната устойчивост на А се променя значително над допустимите норми след второто дезинфекционно третиране, докато за Si-A и Si-C се забелязва незначителна влошаване при аналогичните действия. По отношение на релефната устойчивост Si-A и Si-C имат аналогично поведение с това на линейната им устойчивост. За целия диапазон от методи и третирания Si-A показва най-малка склонност към промени. Si-C е с 7 до 12% по-лош показател спрямо Si-A, за разлика от А, който при същите сравнения има влошаване на това си качество в интервала от 32 до 50%.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Vaskova.R., T. Uzunov, N. Apostolov, P. Bojinov, B. Bonev. Analyses of disinfection methods of impression materials used in prosthetic dental medicine for reduction of cross- infection transmission. Helt and science magazine, issue 1-2/ 2022. ISSN 1314-3360

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-97/04.06.2021 Влияние на температурните промени при синтероване на керамика върху механичните качества на метални субструктури, произведени чрез CAD/CAM технологии**

**Изследователски екип:** Доц. Тодор Цонков Узунов, доктор

- Д-р Христина Галева
- Йоан Стоев, студент

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра Протетична дентална медицина, бул. Георги Софийски 1, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проведените изследвания е да се установи влиянието на многократните температурни промени при синтероването на керамика върху механичните качества на неблагоприятната Co – Cr метална сплав, използвана при изработката на металокерамични протезни конструкции. Изследвано е влиянието на същите температурни промени при метални структури, изработени с помощта на CAD/CAM технологии. Изработени са общо 54 бр. метални опитни тела от Co – Cr сплав. За изработката им са използвани 3 метода – фрезование, лазерно принтиране и метално леене. На базата на използвания метод са обособени 3 големи групи – Milling (M), Lazer Printing (LP), Lost Wax (LW). Всяка от тях съдържа по 18 бр. опитни тела. Всяка от трите групи съдържа по три подгрупи, според броя преминати термични цикли на обработка. Първите подгрупи се състоят от изцяло метални образци, втората – от метални образци с нанесени и термично обработени 3 слоя керамични маси, а последната група – от метални образци с нанесени и термично обработени 4 слоя керамични маси. Всички групи и подгрупи са изследвани за микротвърдост по Vickers. Приложена е тежест от 1кг. в продължение на 20сек. Якостните качества на образците са изпитани с апарат MultiTest 2.5-I и е приложена сила от 1N. Научната хипотеза е частично потвърдена. По отношение на използвания метод за изработка на опитните тела тя е потвърдена. Най – високи механични качества показват лазерно принтираните опитни тела (средна твърдост 509, средна якост на опън – 690, средна якост на натиск – 646) , следвани от фрезованите (средна твърдост – 509, стрена якост на опън – 690, средна якост на натиск – 630), а с най – ниски такива са летите метални опитни тела (средна твърдост – 401, средна якост на опън – 645, средна якост на натиск – 625). Нулевата хипотеза не е потвърдена по отношение влиянието на броя преминати термични цикли върху механичните качества на металната сплав. Термичната обработка

слабо повлиява механичните им качества, като те са най – високи при втората подгрупа, която е подложена на 3 броя термични цикли (средна твърдост – 462, средна якост на опън – 717, средна якост на натиск – 687). Според нулевата хипотеза те трябва да са най – високи при изцяло металните образци.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Galeva H, Uzunov T, Sofronov Y, Todorov G, Accuracy comparison of intraoral versus laboratory scanners used in the contemporary dental practice, VEIT 2021, Созопол, 20 – 24 Септември 2021

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-98/04.06.2021 Флавоноиди в *in vitro* култури от *Astragalus hamosus***

**Изследователски екип:** Проф. Илина Николаева Манова, дфн

- Проф. Илиана Йонкова, дфн
- Гл. ас. Александър Шкондров, дф
- Павлинка Попова

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по фармакогнозия, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** *Astragalus hamosus* съдържа ценни биологично активни вещества. Изследвана е възможността за *in vitro* култивиране на вида като потенциален източник на важни флавоноиди. Установени са надземни части и калусни култури. Те са успешно култивирани върху различни по състав хранителни среди, допълнени или не с регулатори на растежа. Чрез ултра-високоэффективна течна хроматография – мас-спектрометрия с електроспрей йонизация с висока разделителна способност (UHPLC-HRESIMS) е проведен качествен и количествен анализ на непречистени метанолови екстракти от получените *in vitro* култури. Определено е, че културите натрупват рутин в сравнимо количество. Интересно е, че както надземните части, така и калусните култури продуцират редките тригликозиди алцесефолизид и мауритианин. Количеството мауритианин, синтезирано от надземните части, е значително по-високо от това в калусните култури. Алцесефолизид е в по-ниско количество и в двете култури, в сравнение с мауритианин. В допълнение, калусните култури произвеждат алцесефолизид като издънки, освен тяхното по-ниско ниво на диференциация. Тези открития могат да послужат като първоначално изследване за установяване на стойността на *in vitro* култури от *A. hamosus* като алтернативно средство за производство на фармацевтично важни флавоноидни гликозиди.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Shkondrov A, Popova P, Ionkova I, Krasteva I Flavonoids in *in vitro* cultures of *Astragalus hamosus*. Pharmacia. 2021;68(4): 927–31. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e76460>

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-99/04.06.2021 LC-MS и GC-MS анализи на пирилизидинови алкалоиди в сложни матрици**

**Изследователски екип:** Доц. Юлиан Тенчев Войников, дф

- Доц. Ренета Гевренова, дф

- Доц. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Доц. Параскев Недялков, дф
- Доц. Нико Бенбасат, дф
- Борис Стоянов, студент

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра Химия, ул. Дунав 2р ФФ-МУ-София

**РЕЗУЛТАТИ:** Разработени са подходи за автоматизирано хроматографско и масспектрално охарактеризиране на пиролизинови алкалоиди (PAs) и техните N-оксиди (PANOs) в сложни матрици. Чрез обстойно изследване на хроматографско и масспектрално поведение на комерсиални стандарти и преглед на научната литература са подбрани масспектрални характеристики за филтриране на получени спектри, потенциално принадлежащи на някоя подгрупа PAs/PANOs. На програмният език R е разработен скрипт който автоматизирано да филтрира и обединява масспектри по зададени критерии, както и да селектира най-вероятната елементна композиция. Създаден е подход за полуколичествено определяне на тотална концентрация на дадена подгрупа PAs/PANOs с калибрационни прави на налични комерсиални стандарти. Установена е зависимост между използваните екстрагенти и методи за пречистване на пробите с получените качествени и количествени резултати. Така разработеният работен процес позволява автоматизираното откриване и полуколичествено определяне на PAs/PANOs в различни сложни матрици.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-100/04.06.2021 Молекулно моделиране, синтез и изследване на MAO инхибиращ ефект на нови N-пиролил карбоксамиди**

**Изследователски екип:** Проф. Александър Борисов Златков, дфн

- Гл. ас. Ива Вълкова
- Ас. Емилио Викторов Матеев
- Борислав Ангелов, докторант

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, Фармацевтична химия, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Основна цел на настоящия проект бе получаването на нови N-пиролил карбоксамиди, повлияващи ЦНС и възможността за използването им като матрица за създаване на структури с друга биологична активност. В допълнение бе извършена *in silico* оценка на проявяваната MAO В инхибиторна активност. Бе изследвана *in vitro* потенциалната антиоксидантна и инхибиторна MAO В активност на новополучените съединения. Бяха разработени и валидирани подходящи методи за молекулен докинг на пирол-1-карбоксамидни деривати в активния център на MAO-B. За целта бяха приложени ре-докинг и симулации чрез кръстосано докване на 21 кристалографски MAO-B структури придобити от протеинова банка. MAO-B кодовете 1S3B, 3PO7 и 6FVZ демонстрираха най-висок потенциал след прилагане на гореспоменатите тестове. В някои случаи бе постигнато по-високо лигандно обогатяване след ригидно докване. Най-висок резултат постигна кристалографската MAO-B структура с код 1S3B. След 200 000+ докинг симулации бе открито, че ансамбъл симулациите показват ниска способност за идентифициране на активни молекули от неактивни такива. Въпреки това, комплексът от 1S3B-1OJA-1OJC кристалографски MAO-B структури успя да постигне фактор на обогатяване равен на 9. След валидиране на докинг протокола последва синтез и *in vitro* охарактеризиране на пирол-базирани молекули. Бяха синтезирани две нови N-пиролил карбоксилни киселини и 8 амидни деривати на последните. Новосинтезираните

структури бяха напълно охарактеризирани чрез ЯМР, ИЧ, МАС. Техните температури на топене и ТСХ характеристики също бяха определени. Всички нови съединения бяха оценени за техните радикал-улавящи способности (DPPH и ABTS тестове), както и за техния MAO-B инхибиращ капацитет. Предполагаемата активна конформация на най-активния амиден представител в ензима MAO-B бе визуализирана чрез осъществяването на молекулен докинг. Анализът на възникналите междумолекулни стабилизиращи и отблъскващи връзки показва наличието на няколко стерични пречения между активните аминокиселини и най-перспективният амид **4A5**. С оглед на това, последващата работа в тази насока би следвало да отчете тези особености с цел получаване на оптимална MAO-B инхибираща активност.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Mateev E, Angelov B, Kondeva-Burdina M, et al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of pyrrole-based compounds as antioxidant and MAO-B inhibitory agents, FARMACIA (ISSN: 0014-8237; eISSN: 2065-0019), 2022;70(2):344-54. (IF = 1.433 (2020))
- Mateev E, Valkova I, Angelov B et al. Validation through re-docking, cross-docking and ligand enrichment in various well-resoluted MAO-b receptors, Int. J. Pharm. Sci., 2022;13(3):1099-1107.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-101/04.06.2021 Разработване на RP-HPLC метод за фармако-аналитично охарактеризиране на анаболния стероид Methenolone acetate в хранителни добавки**

**Изследователски екип:** Доц. Лили Пламенова Пейкова, дф

- Проф. Вирджиния Цанкова, дф
- Доц. Мая Георгиева, дф
- Гл. ас. Явор Митков, дф
- Гл. ас. Деница Алуани, дф
- Гл. ас. Диана Цанкова, дф

**Базова организация:** МУ - София, МУ - София, Фармацевтичен факултет, Катедра по фармацевтична химия, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Необходимостта от намирането на подходящ метод за анализ на анаболни стероиди в хранителни добавки се основава на заниженият контрол в областта на хранителните добавки и възможността за повлияване здравето на пациенти, неподозиращи употребата на такъв тип субстанции. Това наложи разработването на нов RP-HPLC метод за аналитично охарактеризиране на анаболния стероид Метенолон ацетат в хранителна добавка. Изборът на анализираният продукт се основава на вредните и често токсични ефекти при нерегламентирана употреба, както на Метенолон, така и на продукти от групата на анаболните стероиди. Съществен елемент от анализа е намирането на метод, даващ възможност за едновременно идентифициране и количествено определяне както на самият Метенолон, така и на най-често използваният негов естер – Метенолон ацетат. Оптималните хроматографски условия за анализ на така подобрите продукти бяха постигнати с помощта на аналитична колона Kintex 5µm EVO C18 (100 × 4,6 mm); подвижна фаза ацетонитрил:вода в съотношение 60:40, v/v; скорост на потока, 1.0 mL/min; UV-детекция при 240 nm и температура на колоната 25 °C. Разработеният RP-HPLC метод е валидиран по отношение на параметрите заложи в ICH протокола: специфичност, линейност, точност, прецизност. Определените валидационни характеристики удостоверяват валидността на предложеният метод.

Получените резултати водят до заключението, че посоченият в етикета на анализирана проба Метенолон ацетат се намира по-скоро като примес, отколкото като основна съставка, което е подвеждаща пациента информация, застрашаваща правилната употреба на търговският продукт.

#### Научни публикации и прояви:

- Tzankova D, Mateeva A, Mitkov J, et.al. Development and validation of RP-HPLC method for analytical characterization of the anabolic steroid Methenolone acetate in food supplements. *Pharmacia*. 2022;69(1): 151-155.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-102/04.06.2021 Хемофенетични аспекти в триб *Senecioneae* (сем. *Asteraceae*): комбиниране на морфометрични и фитохимични анализи в търсене на специализирани природни продукти

Изследователски екип: Доц. Димитрина Живкова Желева-Димитрова, дф

- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Доц. Юлиан Войников, дф
- Доц. Ренета Гевренова, дф
- Десислава Станимирова, студент

Базова организация: МУ - София, ФФ, Катедра по фармакогнозия, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Род *Senecio*, триб *Senecioneae*, е най-големият и сложен род в *Asteraceae* и включва повече от 1500 вида. Хемофенетичните аспекти в няколко вида *Senecio* (*S. hercynicus*, *S. ovatus* и *S. rupestris*) и *Jacobaea* (*J. panicii* и *J. maritima*) от триб *Senecioneae* (сем. *Asteraceae*) са изследвани, като за целта се комбинират морфометрични и фитохимични методи за анализ. Морфометричните данни от 12 наблюдавани параметри са обработени чрез линеен дискриминантен анализ (Linear discriminant analysis, LDA) и анализ на главните компоненти (Principal component analysis, PCA). Анализът на данните е извършен на R програмен език (R version 4.0.2 (2020-06-22)). Метаболитното профилиране на растителните екстракти е проведено с ултра високо-ефективна течна хроматография, комбинирана с Орбитрап високоразделителна мас спектрометрия (UHPLC-HRMS). Дерепликацията е осъществена в отрицателен и положителен режим на сканиране. Идентифицирането или предварителната структура на вторичните метаболити е на базата на точните маси, MS/MS спектрите, относителния интензитет на фрагментните йони, елементния състав и сравнение с референтни стандарти и литературни данни. LDA и PCA на морфологичните белези на изследваните таксони успяват да предскажат правилно принадлежността към видовете на всичките 12 наблюдавани параметри, като се открива припокриване между *S. hercynicus* и *S. ovatus* по изследваните белези/параметри. Метаболитните UHPLC-HRMS профили на изследваните екстракти се характеризират със следните групи съединения: 34 хидроксibenзоени и хидроксиканелени киселини и техни производни, 5 моноацилхинни, 8 ди- и 2 триацилхинни киселини, 7 флавоноидни агликони и 14 гликозида, и 6 сесквитерпенови лактона. PCA по отношение състава на специализираните метаболити показва значителни разлики между двата изследвани рода (*Jacobaea* и *Senecio*). В допълнение, *J. panicii* и *J. maritima* показват сходство във фитохимичния състав. *S. hercynicus* и *S. ovatus*, които са от групата на *S. nemorensis* имат сходни метаболитни профили, различавайки се значително от *S. rupestris*. Предложеният хемофенетичен подход е ефективен инструмент при хемотаксономичното категоризиране на растителни видове и в рационалното търсене на специализирани природни продукти.

### Научни публикации и прояви:

- Balabanova V, Gevrenova R, Voynikov Y, Zengin G, Zheleva-Dimitrova D. Another view on *Senecio hercynicus* Herborg. (Asteraceae). International Conference on plant systems biology and biotechnology. Golden sands resort, Bulgaria. 14-17 June 2021. Book of abstracts, p. 37 - доклад.
- Voynikov Y, Balabanova V, Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D. Chemophenetic approach to selected Senecioneae species, combining morphometric and UHPLC-HRMS analyses. *Plants* 2023; 12(2): 390; <https://doi.org/10.3390/plants12020390>. IF(2021) 4.658
- Zheleva-Dimitrova D, Voynikov Y, Balabanova V, Gevrenova R. The reliability and limitation of UHPLC-HRMS in the sesquiterpene lactones dereplication: a case study of two Asteraceae species. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 2022; 68(2) 29-30, Online ISSN 1857 – 8969. DOI: 10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.04.009. Short communication

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-103/04.06.2021 In vitro проучване на ефектите на наноразмерни лекарство-доставящи системи с комбинирано натоварване на доксорубицин и антиоксиданти

**Изследователски екип:** Проф. Вирджиния Йорданова Цанкова, дф

- Проф. Красимира Йончева, дфн
- Доц. Борислав Цанков, дф
- Гл. ас. Деница Стефанова, дф
- Гл. ас. Йордан Йорданов, дф
- Доц. Христина Войчева, дф
- Гл. ас. Цветомир Маринов, дм
- Гл. ас. Марта Славкова-Василева, дф
- Гл. ас. Диана Цанкова, дф
- Александра Тошева, докторант

**Базова организация:** МУ - София, МУ - София, Фармацевтичен факултет, Катедра „Фармакология, фармакотерапия и токсикология“ р ул.”Дунав” 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е разработване на наноразмерни лекарство-доставящи системи с двойно натоварване на доксорубицин (Dox) и антиоксиданти (кверцетин (QR) и CAPE) и установяване на тяхната *in vitro* цитотоксичност в лимфомни клетъчни линии, както и профила им за безопасност в кардиомиоцити. Използвани са мезопорести силикатни наночастици MCM-41 (за DOX/QR, самостоятелно и в комбинация) и съполимерни мицели, изградени от три блокови съполимери на полиетиленов оксид с поли(ε-капролактон и поли(акриловакиселина)(за DOX/CAPE, самостоятелно и в комбинация). Направена е сравнителна оценка на цитотоксичния потенциал на двойно натоварените системи върху L5178Y и мултирезистентни L5178 MDR1 лимфомни клетки. Оценка на цитотоксичността е извършена комплексно, използвайки батерия от тестове (Alamar blue, МТТ-тест, GSSH/GSH ratio) след инкубиране на клетките с двойно натоварените наночастици, свободни лекарства и комбиниран разтвор на двете активни съединения за период 24, 48 и 72 часа. Резултатите показват, че разработването на лекарствени форми за едновременно доставяне на доксорубицин и антиоксиданти (кверцетин и CAPE), двойно натоварени в носители от различен произход (полимерни мицели, неорганични силикатни наноматериали MCM-41) е перспективен подход за подобряване на

цитотоксичните ефекти на доксорубин в резистентни лимфомни L5178 MDR1 клетки. Интерес за клиничното приложение на DOX представляват и данните, че цитотоксичните ефекти на двойно натоварените системи (DOX и антиоксидантите кверцетин / CAPE) са постигнати при по-ниски концентрации на активното вещество, в сравнение със свободното лекарство, което е перспективно от гледна точка на подобряване на профила на безопасност на антрациклиновия антибиотик доксорубин. Проведените *in vitro* тестове в кардиобластна клетъчна линия H9C2 показват позитивите от двойното натоварване на DOX и QR, което се изразява в по-ниска токсичност сравнение с ефектите на ненатоварения доксорубин. Представените наноразмерни системи биха имали потенциал за разработване, като средства за повлияване на оксидативните лезии в кардиомиоцитите, след приложението на доксорубин. Те представляват обещаващ подход за подобряване на антипролиферативните ефекти на доксорубин и повишаване на неговата ефикасност при резистентни тумори.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Stefanova, D., Tzankov B., Voycheva C., Slavkova M., Popova T., Yordanov Y, Yoncheva K, Tzankova V, Doxorubicin and quercetin double loading in mesoporous silica nanoparticles (MCM-41) enhances antiproliferative effects *in vitro*, 5-th Annual Conference „New Diagnostic and Therapeutic Tools Against Multidrug Resistant Tumours”, Coimbra, Portugal, 29 June- 1 July 2022.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-104/04.06.2021 Разработване на HPLC метод за определяне на пирол-съдържащи хидразони с MAO-B активност в биологична среда**

**Изследователски екип:** Доц. Мая Боянова Георгиева, дф

- Проф. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Доц. Лили Пейкова, дф
- Ас. Александрина Матеева

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, катедра по Фармацевтична химияр ул. Дунав 2, София, 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Намирането на подходящ бърз, точен и възпроизводим метод за установяване наличието на вероятни метаболити, продукти на биотрансформацията на новополучени биологично активни съединения е от съществена важност при дизайна и предлагането на такива продукти като бъдещи лидери. Това насочва интереса на изследователския екип към разработването на подходящ точен, бърз, селективен и възпроизводим RP-HPLC метод за идентифициране и определяне на вероятни метаболити на пирол-съдържащи хидразони с установена MAO-B инхибиторна активност. След направената литературна справка и необходимите експерименти за най-подходящи условия бяха избрани мобилна фаза със следния състав: CH<sub>3</sub>CN/ фосфатен буфер pH 3.5/ CH<sub>3</sub>OH: 57/38/5 (v/v/v), скорост на потока от 1 mL/min и термосатиране на обратнофазова колона при 25°C. Детектирането бе осъществено чрез DAD детектор като предварително бе снет UV- спектър на целевото съединение показващ абсорбционен максимум при 272 nm. Разработеният метод бе валидиран спрямо изискванията на ICH. Успешно бе приложен за проследяване на метаболитните промени в изследваните пиролови деривати. Получените резултати демонстрираха, че протичат метаболитни процеси, които водят до получаването на изходните хидразид и салицилалдехид. Освен това бе установено наличието на новополучено вещество с различно време на задържане от горе споменатите съединения. От получените резултати бе заключено, че целевото пиролово производно подлежи на чернодробна трансформация протичайки по два

механизма. Първият включва хидролитично разкъсване на хидразоновата група, а вторият води до получаването на неидентифициран метаболит.

**Научни публикации и прояви:**

- Mateeva A, Peikova L, Kondeva-Burdina M, et.al. Development of new HPLC method for identification of metabolic degradation of N-pyrrolylhydrazide hydrazones with determined MAO- B activity in cellular cultures. *Pharmacia*. 2022; 69(1): 15-20.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-105/04.06.2021 Стимулиране продукцията на флавоноиди в ин витро култури на *Gypsophila glomerata*, (Caryophyllaceae)**

**Изследователски екип:** Проф. Илиана Илиева Йонкова, дфн

- Гл.ас. Янчо Зарев, дф
- Павлинка Попова

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по фармакогнозия, Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящото проучване бе създаване на ин витро култури от *Gypsophila glomerata* чрез прилагане на биотехнологични подходи и стимулиране продукцията на флавоноиди (сапонарин) в култивирани растителни клетки чрез оптимизиране състава на хранителната среда. Изследвани са ефектите от повишената концентрация на калциев хлорид върху растежа и производството на флавоноиди в новосъздадени надземни и калусни ин витро култури от *Gypsophila glomerata*. Най-значимо влияние  $\text{CaCl}_2$  върху индекса на растеж е определено при калусни култури ( $\text{GI}=0,92$ ), докато в надземни култури третирането с калций намалява количеството биомаса ( $\text{GI}=0,38$ ). Общите флавоноиди в надземни култури, отглеждани върху MS среда и MS среда, допълнена с двойно количество  $\text{CaCl}_2$ , са  $0,36 \text{ mg/g d. w.}$  И в двете калусни култури общите флавоноиди бяха количествено определени -  $2 \text{ mg/g d. w.}$  надземни култури и калус, отгледани върху немодифицирана среда, натрупват  $0,02 \text{ mg/g d. w.}$  производни на кверцетин. За разлика от тях, както надземни, така и калусът, отглеждани върху обогатена с калций среда, натрупват  $0,03$  и  $0,05 \text{ mg/g d. w.}$  производни на изорамнетин. In vitro надземни култури, отгледани върху MS среда, обогатена с двойно количество  $\text{CaCl}_2$ , натрупват най-голямото количество сапонарин ( $0,138 \text{ mg/mg}$  сухо тегло). Калусните култури продуцират общи флавоноиди, изразени като рутин в количества, три пъти повече от надземните култури. Нашите резултати показват, че *G. glomerata* може да служи като алтернативен начин за производство на флавоноиди, особено на С-гликозил флавоноиди, които се срещат доста рядко в природата. В допълнение, разликите в съдържанието на флавоноиди в установените култури ще послужат не само като основа за оптимизиране на култивационните среди, но и като водеща точка за in vitro култивиране на редки калцифилни таксони.

**Научни публикации и прояви:**

- Pavlinka Popova, Yancho Zarev, Aleksandar Shkondrov, Iliana Krasteva, Iliana Ionkova, In vitro production of flavonoids in cultures of *Gypsophila glomerata*, *Pharmacia*, 2022;69(1): 107-111.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-106/04.06.2021 Фармакологични изследвания на оригинални новосинтезирани производни на креатина**

**Изследователски екип:** Гл. асистент Иванка Иванова Костадинова, дф

- Проф. Николай Данчев, дм
- Проф. Бойчо Ланджов, дм



- Гл. ас. Любомир Маринов, дф
- Гл. ас. Добрина Цветкова, дф
- Ивалина Иванова, студент
- Проф. Любомир Везенков, дхн

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, Катедра „Фармакология, фармакотерапия и токсикология“, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Оригинално синтезираният креатин лизинат е практически нетоксичен при изследване на остра токсичност (LD<sub>50</sub> над 4000 mg/kg телесна маса) след перорално и интраперитонеално прилагане. Креатин лизинат (в доза 3,0 g и 6,0 g) и референтната субстанция креатин монохидрат (в доза 1,5 g и 3,0 g) понижават нивата на кръвната глюкоза след 3-седмично приложение, което говори за хипогликемичен ефект. Креатин лизинат (в доза 3,0 g и 6,0 g) и референтната субстанция креатин монохидрат (в доза 1,5 g и 3,0 g) понижават нивата на ензима креатинкиназа, което говори за намаляване на увреждането на мускулните клетки при физическо натоварване. Двете съединения – креатин монохидрат в доза 3 g и креатин лизинат в доза 3 g повишават физическата издръжливост при мишки (тест плуване с натоварване), особено при креатин лизинат на 1-ва, 2-ра и 3-та седмица. Установена е антидепресивна активност при теста на Porsolt на креатин лизинат в доза 6 mg/kg т.м. Creatine lysinate (IC<sub>50</sub> = 73.75 mM) е по-активен спрямо DPPH в сравнение с Creatine monohydrate (IC<sub>50</sub> = 102.48 mM), но са по-слабо активни от стандарт Trolox. Creatine lysinate (IC<sub>50</sub> = 64.63 и 14.71) е по-активен спрямо ABTS от Creatine monohydrate (IC<sub>50</sub> = 100 mM и 26.64) за метанолни и етанолни разтвори, но са по-слабо активни от стандарта Trolox. В заключение може да се отбележи, че новосинтезираният креатин лизинат по патентован метод превъзхожда креатин монохидрат по редица физикохимични и фармакологични параметри. Креатин лизинат намалява кръвната глюкоза и оксидативния стрес, както и нивата на креатин киназата. Това, заедно с факта, че е практически нетоксичен при оценката на остра и хронична токсичност, го прави особено подходящ за по-нататъшни фармакологични и токсикологични изследвания с оглед създаване на ефективна и безопасна хранителна добавка.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Tsvetkova D, Kostadinova I, Landzhov B, Vezenkov L, Marinov L, Ivanova I. Application of ABTS method for assessment of radical-binding effect of Creatine monohydrate. J Adv Pharm Educ Res. 2023;13(2):92-8.
- Tsvetkova D, Kostadinova I, Landzhov B, Vezenkov L, Marinov L, Ivanova I. Application of DPPH assay for the evaluation of the antiradical activity of Creatine Lysinate. J Adv Pharm Educ Res. 2023;13(1):162-169.

Научният отчет е приет със **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-118/04.06.2021 Определяне множественната резистентност на щамове *Helicobacter pylori* при българските деца**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Петьо Георгиев Хаджийски, доктор, дм

- Гл. ас. Петьо Хаджийски, дм
- Проф. Людмила Боянова, дмн
- Проф. Румяна Марковска-Давидкова, дм
- Гл. ас. Даниел Йорданов, дм

**Базова организация:** МУ - София, СБАЛДБ „Проф. Иван Митев“ ЕОД, бул. „Акад. Иван Гешов“ 11, 1606 София, Медицински факултет на МУ-София; Катедра по педиатрия

**РЕЗУЛТАТИ:** Антибиотичната резистентност на *Helicobacter pylori* изолати от 106 симптоматични деца беше проучена според граничните стойности по EUCAST и беше анализиран процентът на множествена лекарствена резистентност (MDR). Общите нива на резистентност бяха за amoxicillin 7.5%, metronidazole 25.5%, clarithromycin 34.0% и ciprofloxacin 14.1%. Не бяха намерени значими разлики в четотите на резистентността в зависимост от пола и възрастта на пациентите (2-6-годишни и 7-18-годишни). Общият процент на резистентност беше 19.8%, вкл. двойна, тройна и четворна резистентности съответно при 13.2% (14 изолата), 5.7% (6) и 0.9% (1) изолата. MDR беше открита при 5.9% (5/84) от децата с гастрити и при две от четирите деца с цъолиакия. MDR доказахме при три деца на възраст 4-6 години и четири деца на възраст 10-17 години. Общата честота на MDR (6.6%) сред българските деца през 2012-2021 г. беше по-висока, отколкото в други проучвания, основаващи се на гранични стойности по EUCAST, например сред педиатрични пациенти в Словения в периода 2011-2014 г.(3.8%), Литва през 2013-2015 г. (0%) и Испания през 2014-2019 г. (0%), но по-ниска от проучвания в Китай през 2019 г. (20.7% сред нелекувани и 47.0% при лекувани деца). В обобщение, това че MDR може сериозно да ограничи избора на терапия срещу *H. pylori* при едно от всеки 15 деца у нас, е повод за безпокойство, както и това, че общата резистентност към metronidazole и clarithromycin може да възпрепятства лечението на 15.1% от педиатричните пациенти. Насочената според in vitro чувствителността на изолата ерадикационна терапия за *H. pylori* следва по-често да се прилага при симптоматичните деца за да се избегне рискът както от самата инфекция, така и от прилагането на множество курсове с антибиотици.

**Научни публикации и прояви:**

- Boyanova L, Hadzhiyski P, Markovska R, Gergova R. Investigation of multidrug-resistant *Helicobacter pylori* in pediatric patients: A Bulgarian study and literature data. Acta Microbiol Immunol Hung. 2022 Feb 2.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-94/24.06.2020 Проучвания върху ехографските екстрахепатални промени и лабораторната диагностика в хода на вирусен хепатит А в детска възраст

**Изследователски екип:** Гл. Ас. Валери Рангелов Велев, дм

- Ас. д-р Методи Попов
- Ас. д-р Ралица Йорданова
- Гл. ас. Мария Павлова, дб,
- Мария Дикнова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина, СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, Детска клиника

**РЕЗУЛТАТИ:** Вирусът на хепатит А (HAV) е една от най-честите причини за остър вирусен хепатит в света. България, за разлика от останалите страни в Европейския съюз (ЕС), е със сравнително висока заболяемост. Проучени във връзка с проекта бяха 91 деца до 14 години, от които 75 с доказан вирусен хепатит А. Бяха разгледани и 22 деца като контролни групи. Приложени лабораторни изследвания: пълна кръвна картина, AST, ALT, GGT, общ и директен билирубин, албумин, общ белтък, фибриноген, хемостазни фактори, anti-HAV-IgM чрез методите CLIA или ELISA и абдоминална ехография; изследване на фекален антиген на HAV чрез бърз тест. От позитивните за anti-HAV-IgM деца се вземаше серум, като 15 проби бяха подложени на пилотно изолиране на HAV-RNA чрез RT-PCR. Бързият тест беше позитивен при 76.5% от болните с ХА и затова приемаме, че той може да се използва като алтернативен диагностичен метод в определени случаи. Установихме вiremия (HAV-RNA) в серума на болни от ХА за сравнително продължителен период от началото на симптоматиката, вкл. при болни с късна сероконверсия. Това показва, че методът може да се използва като надежден диагностичен тест. Проучване на деца със серологично доказан ХА с абдоминална ехография в началото на заболяването и съпоставянето им с деца от контролна група установи най-често задебелена жлъчна стена. Често имаше и разслояване или перихолецистичен оток. Контрахирианият жлъчен мехур беше много честа находка у нашите болни. Хепатомегалията също беше сериозно застъпена в групата на болните от ХА деца; статистически значима беше и честотата с която локализирахме увеличени лимфни възли около porta hepatis. Комбинацията от две или повече от тези белези, особено с клинични или биохимични прояви на остър чернодробен процес могат с голяма вероятност да ни насочат към диагнозата още преди серологичното му потвърждение.

### Научни публикации и прояви:

- Велев В, Попов М, Велчева Д, Павлова М, Голкочева-Маркова Е. Проучвания върху вiremия при деца с вирусен хепатит А. Медицински преглед, 2021, 57 (3), 42-45.
- Голкочева-Маркова Е, Попов М, Йорданова Р, Велчева Д, Велев В. Вiremия при деца с вирусен хепатит А. XI Национален виртуален конгрес по инфекциозни болести, 08-10.10.2020 г., София

- Велев В, Попов М, Томов Л, Йорданова Р, Павлова М, Голкочева-Маркова Е. Участие на жлъчния мехур в хода на вирусен хепатит А в детска възраст. XVIII Национален конгрес по клинична микробиология и инфекции на БАМ, 30.09-02.10.2020 г, София.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-95/24.06.2020 Проучване състава на бактериалния биофилм при различни временни имплантатни протезни конструкции с молекулярно-гетичен метод**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Райна Цветанова Гергова, дм

- Ас. д-р Вирна-Мария Циту, дм
- Ас. д-р Димитриос Ралис
- Гл.ас. д-р Мариана Янкова, дм
- Доц. д-р Тодор Узунов, дм
- Проф. д-р Божидар Йорданов, дм
- Доц. д-р Камен Коцилков

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, МУ - София, Медицински факултет, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящето проучване е да се изследва микробния биофилм при използване на временни протезни конструкции с помощта на молекулярно-генетични методи. Пробите са разделени в две групи А. взети от лигавицата около конструкциите В. взети от всяка конструкция. Допълнително се подразделят на а.) в момента на протезирането б.) два месеца след протезирането. Временните надимплантни протетични конструкции са два типа, според вида пластмаса и обработката. Периодонтопатогенните бактерии в биофилма са определяни с PCR в реално време, с търговски кит за доказване на *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis* и *Prevotella intermedia*. 10% от първоначалните биофилми от гингива съдържаха *F. nucleatum*. Два месеца след протезирането отново фузобактериите бяха най-чести, но предимно в асоциация с други анаероби в 10% с *P. endodontalis*, в 6,67% с *T. forsythia*, *P. intermedia* или с *P. gingivalis*, 3,33% с *T. forsythia*. Същите видове се доказваха и в биофилма от протезите, без статистическа разлика ( $P=1,0000$ ). В 10,00% от повторните проби имаше порфиромонаси и/или превотели. 16,67% от пробите без установени рискови патогенни агенти в момента на интервенцията, два месеца след протезирането показаха статистически по-често ( $P=0,0237$ ) анаероби, предимно от оранжевия комплекс (*P. intermedia*, *P. endodontalis*, *F. nucleatum*), както в гингивата, така и върху протезите. В изследваните материали не бяха установени високо-рисковите *A. actinomycetemcomitans* и *T. denticola*. Половината проби в момента на протезиране и при проследяването не показаха наличие на патогенни бактерии. В заключение, 16,67% от пациентите бяха колонизирани с рискови причинители след протезирането. Първият тип конструкция се колонизира по-силно от втория ( $P=0,0237$ ). Липсата на високо- или средно-рискови причинители в половината от двойните проби показва, че тази група кинично здрави пациенти не променя своя локален статус след поставяне на конструкциите и поддържа отлична устна хигиена, което е предпоставка за успешни резултати.

### Научни публикации и прояви:

- Гергова РЦ, Раллис ДП, Узунов ТЦ и съавт. Проучване на бактериалния биофилм при различни временни имплантатни протезни конструкции с молекулярно-генетичен метод. Мед. преглед. 2022; 2:28-34.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-106/24.06.2020 Нива на секреторния имуноглобулин А и лактоферина в слюнката при пациенти с подпротезен кандидозен стоматит

Изследователски екип: Проф. д-р Божидар Иванов Йорданов, дм

- Д-р Мариана Янкова, дм
- Проф. д-р Мариана Димова-Габровска
- Доц. д-р Валентин Лозанов
- Ас. Весела Лозанова
- Ас. Анелия Василева

Базова организация: МУ - София, Факултет по Дентална медицина, Катедра „Протетична дентална медицина;

**РЕЗУЛТАТИ:** Беше изследвана обща нестимулирана слюнка на 36 изцяло обеззъбени пациента на възраст от 48-90 години (средна възраст  $68.06 \pm 9.39$ ). Целта на това изследване беше да се определи ролята на защитните механизми на слюнката за развитието на подпротезен стоматит при пациенти, лекувани с конвенционални цели протези и цели протези, подплатени с еластични силиконови материали. За определяне на вида и количеството на *Candida spp.* в обща нестимулирана слюнка бяха използвани следните методи – култивиране на клиничен материал на твърди и течни хранителни среди за доказване на микотичен причинител; ферментационни и асимилационни тестове и спектрофотометричен анализ за идентификация на различни видове *Candida spp.* За определяне нивата на LF и sIgA бяха използвани ELISA китове. На шестия месец след протезиране бяха установени повишени количества на *C. tropicalis* при пациенти от групи В-1 и В-2. Диагностицираният подпротезен стоматит беше с изолация предимно на *C. tropicalis* в количества над  $10^8$  CFU/ml. Установено беше статистически значимо покачване на стойностите на лактоферина (LF) след протезиране и при трите експериментални групи и силно намаляване на стойностите на секреторния имуноглобулин А (s IgA). Зависимостта на LF спрямо количеството на *Candida spp.* слюнката беше потвърдена. Потвърдена беше и неговата имуномодулаторната активност, фунгицидна и противовъзпалителна функция. По категоричен начин е отхвърлена хипотезата, че подпротезния стоматит зависи от нивата на LF и sIgA. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-107/24.06.2020 Сравнително изследване адхезивната връзка на два вида циркониева керамика в зависимост от вида на циментиращото средство (in vitro изследване)

Изследователски екип: Доц. д-р Елка Николаева Радева

- Доц. д-р Тодор Узунов

- Гл. ас. д-р Иван Герджиков

**Базова организация:** МУ-София, Факултет по Дентална медицина, Катедра по Консервативно зъболечение

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта е да се изследва адхезионната връзка на различни видове циментиращи средства към два вида циркониева керамика. Материали и методи: Използвани са 70 екстрахирани зъба, от които са изработени дентинови срезове с дебелина  $2,2 \pm 0,4$  mm. С помощта на CAD софтуер EхoCad е създаден дигитален дизайн на опитно тяло от циркониева керамика – цилиндър с размери диаметър – 9 mm, височина – 8mm. Изработен е дигитален модел на цилиндър, който е принтиран от течен фотополимер чрез стереолитографско 3D принтиране. В този модел се осъществява циментирането (циркониева керамика-циментиращо средство–дентинов срез) под натиск от 500 гр. В зависимост от вида на керамиката, опитните образци са разделени в две групи: 1гр. - IPS e.max ZirCAD Multi (n=48). 2 гр. - IPS e.max ZirCAD Prime. Във всяка група има 6 подгрупи в зависимост от използвания цимент (Fuji Plus, RelyX Luting Plus, Variolink Esthetic, TheraCem, Panavia V5, Speed Cem Plus). За всяка подгрупа са подготвени по осем образца (по n=8) с обработка на циркониевата повърхност с въздушна абразия с алуминиев оксид  $Al_2O_3$  50  $\mu$ m и контролна група за всеки цимент (по n=4) – без обработка на циркониевата повърхност. Адхезионната връзка на различните видове цименти е изследвана чрез метода якост на опън (mTBS). Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 25.0, ниво на значимост  $p < 0.05$ . Резултати: За обработените циркониеви повърхности статистически значима разлика се установи при 4 от изследваните видове цимент - Fuji Plus (1,05 MPa за Multi 1,60 MPa за Prime), RelyX Luting Plus (2,35 MPa за Multi и 1,86 MPa за Prime), Panavia V5 (1,72 MPa за Multi и 2,80 MPa за Prime) и Speed Cem Plus (2,25 MPa за Multi и 3,25 MPa за Prime). Значимо по-високи средни стойности на обработената керамика IPS e.max ZirCAD Multi има при RelyX Luting Plus, докато при останалите три вида – при IPS e.max ZirCAD Prime. Необработените повърхности постигат по-ниска адхезионна якост, която е в интервала 0,2 - 0,7 MPa за комбинациите на Multi и 0,5 - 1,2 MPa за комбинациите на Prime. Установи се, че адхезионната якост при натоварване на опън, независимо от вида на приложеното циментиращо средство, е в интервала 1,1 – 2,4 MPa за IPS e.max ZirCAD Multi и 1,6 – 3,3 MPa за IPS e.max ZirCAD Prime. Изводи: Предварителното пясъкоструйно обработване на циркониевата повърхност с  $Al_2O_3$  осигурява по-висока якост на опън, която в зависимост от вида на керамиката е в границите от 1,7 до 4,5 пъти. Силата на връзката се увеличава при използването на композитни цименти с праймери, като оптимални резултати се получават при тези съдържащи MDP (Panavia V5). IPS e.max ZirCAD Prime с малки изключения (Rely X Luting Plus) показва по-добра адхезия с използваните цименти.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Gerdzhikov I., E. Radeva, T. Uzunov. Possibilities of Improving the Shear Strength between Different Type of Cements and Zirconia Ceramics: Literature Review. J of IMAV, 2021, 27(1):3557-3563
- Gerdzhikov I., T. Uzunov, E. Radeva.: Evaluation of Microtensile Bond Strength of Luting Cements to Zirconia Ceramics. Wulfenia Journal, 2021, 28(12):2-11
- Узунов Т. Безметални възстановявания-новият протетичен стандарт. IX Национален форум по дентална медицина, 01-03. 10. 2021, гр. Банско, България

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-109/24.06.2020 Бруксизъм и зъбно изтриване в детска възраст – епидемиология, рискови фактори, клинични характеристики, превенция и лечение**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Мая Рашева Рашкова, дм

- Доц. д-р Надежда Митова, дм
- Ас. д-р Марианна Димитрова
- Ас. д-р Димитър Костурков, дм

**Базова организация:** МУ - София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото изследване е проучване разпространението, рисковите фактори, клиничните характеристики, превенцията и лечението при бруксизъм и зъбно изтриване в детска възраст. Обект на епидемиологично изследване бяха 222 деца на възраст от 3 – 7 години, на които беше приложен анкетен и клиничен метод. За проучване на особеностите на нощния бруксизъм бяха изследвани 27 деца с бруксизъм, на възраст от 4-10 години чрез разработена от екипа методика за оценка на съня. Клиничните характеристики на зъбното изтриване бяха проучени върху 10 деца с бруксизъм чрез дигитална фотографска и фотометрична методика с цел установяване на разпространението тежестта и диференциране на патологично изтриване от физиологично. Върху 10 деца с бруксизъм приложихме миофункционални апарати, който повлиява орофациалните структури, както и предотвратява последващо зъбно изтриване. Резултатите показаха, че нощен бруксизъм се среща при 29% от децата на възраст от 3 – 7 години, по-често при момчета. Децата с бруксизъм по-често имат прекъсвания на съня и сутрешни неразположения след събуждане. При децата с бруксизъм се установява по-често хипертрофия на масетерните мускули, отколкото при тези без. Бруксизмът се доказва като рисков фактор за наличие на загуба на зъбни структури. Зъбно изтриване се установява при 2/3 от изследваните деца, като най-често засегнати са кучешките зъби, след тях – резците и най-рядко – моларите. Чрез фотометричен анализ на зъбите с изтриване можем да установим дали се касае за физиологична или патологична загуба на зъбни структури, както и да проследим прогресията ѝ. Резултатите от оценката на съня на децата с бруксизъм показаха, че най-често те спят в стаята на родителите си и при тях се установява умерена степен на мускулна активност на масетерните мускули. Муофункционалните апарати са подходящи за лечение на нощен бруксизъм и ограничаване на зъбното изтриване в детска възраст.

**Научни публикации и прояви:**

- Dimitrova M, Georgieva M, Sleep bruxism in children - symptoms, sleep features, risk factors and treatment, Problems of dental medicine, 2020, 46(1), p.13-18.
- Dimitrova M, Contemporary diagnosis of bruxism and tooth wear in children, Dental medicine, 2020, 1(1), p.51-56.
- Dimitrova M, Rashkova M, Mitova N. Tooth wear in children - prevalence, clinical features and risk factors. J of IMAV. 2021 Oct- Dec;27(4):4020-4024.
- Dimitrova M, Rashkova M, Mitova N, Tooth wear in children - prevalence, clinical characteristics and risk factors. 30th Jubilee Assembly of IMAV. Online forum.18-21 October 2020.p.44.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-110/24.06.2020 Сравнително разглеждане на имплантатните супраструктури в зависимост от биомеханичните характеристики на използваните дентални материали

**Изследователски екип:** Доц. д-р Димитър Андонов Филчев, дм

- Гл.ас. д-р Георги Илиев, дм
- Ас. д-р Антон Тумбалов
- Д-р Нели Николова-Цветанска, дм
- Ас. д-р Даниела Стоева

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по Дентална медицина, катедра Протетична дентална медицина

### РЕЗУЛТАТИ:

по задача 1:

Цел: Да се изследват якост на умора и удар на надимплантатни супраструктури, комбинация от стандартни и индивидуализирани надстройки и монолитни възстановявания от различни материали в лабораторна среда. Материал и методи: 30 броя пробни тела, създадени по изцяло дигитален протокол на работа, бяха разделени на три групи според използваните материали, както следва: Група А- монолитни имплантатни коронки от циркониев диоксид върху титаниева база; Група В- монолитни имплантатни коронки от литиев дисиликат с индивидуална надстройка от титаниева сплав; Група С- имплантатни коронки от циркониев диоксид с индивидуална надстройка от титаниева сплав. Всяка основна група е разделена в две подгрупи: фронтална (горночелюстен централен резец) и дистална (горночелюстен първи молар). Супраструктурите бяха подложени на динамично натоварване в дъвкателен симулатор CS-4 (SD-Mechatronik, Westerham, Germany). Групите на фронталните зъби бяха подложени на натоварване 50N, а дисталните-150N с честота 2Hz. Всички пробни тела бяха подложени на 250 000 цикъла, отговарящи на 1 клинична година експлоатация. След тестването пробните тела бяха прегледани от един опитен специалист под микроскоп и оценени по следните критерии: деформация на свързващия винт, деформация на надстройката, фрактурна линия или пукнатина на монолитната корона, видимо разрушаване на адхезивната връзка между монолитната корона и надстройката, разрушаване на монолитната корона или титаниевата надстройка. След това пробните тела бяха подложени на тест за якост на удар в универсална изпитателна машина (Instron ElectroPuls; Instron Corp., Norwood, MA). Резултати: Всички проби преминаха изследването в дъвкателния симулатор на 100%. Обследването под увеличение показва липса на отклонение от нормата при всеки един показател за всяка изследвана група. Тестът за якост на удар при групите на резците А1/ф, В1/ф и С1/ф показва близки резултати за трите групи, но най-нисък беше при група В1/ф – 1000,3 N, последван от група А1/ф- 1095,3 и група С1/ф- 1225,5. Тестът за якост на удар при групите на моларите А2/д, В2/д, С2/д показва по-голяма устойчивост при монолитните възстановявания от циркониев диоксид спрямо тези от литиев дисиликат. Средните стойности на фрактурна устойчивост при групи А2/д и С2/д са много близки : 3130,2 за А2/д и съответно 3819,5 за С2/д. При група В2/д са отчетени по-ниски стойности – 2156,5. Заключение: Монолитните надимплантатни възстановявания от циркониев диоксид върху индивидуализирана титаниева надстройка във фронтален и дистален участък, проявяват най-висока фрактурна устойчивост от изследваните групи, а супраструктурите от литиев дисиликат в комбинация с индивидуализирана надстройка – най-ниски. Супраструктурите, комбинация от циркониев диоксид и индивидуализирана надстройка биха могли да се използват като оптимално средство за избор, когато високите механични качества са от особено значение. Изследваните пробни тела бяха



подложени на дъвкателен тест, който симулира една година клиничен живот, което е ограничението на това изследване. Необходими са допълнителни изследвания, които да включват по-дълъг период на експлоатация.

По задача 2:

Цел: Изработване на 27 винтово фиксирани постоянни коронки по дигитален протокол на работа и проследяването на биомеханичните им характеристики за период от шест месеца. Материал и методи: 27 пациента бяха разделени в три групи, според използваните дентални материали за изработване на супраструктурите, а всяка група - на две подгрупи ( фронтална и дистална). Група А - монолитни имплантатни коронки от циркониев диоксид върху титаниева база; Група Б - монолитни имплантатни коронки от литиев дисиликат с индивидуална надстройка от титаниева сплав; Група В имплантатни коронки от циркониев диоксид с индивидуална надстройка от титаниева сплав. Всички супраструктури бяха изработени по дигитален протокол на работа. Пациентите бяха проследявани 2 седмици и 6 месеца след дефинитивното протезиране. Бяха изследвани следните показатели- функционален, биологичен, естетичен. Резултати: И трите тестови групи имат сходно механично поведение за период от бмесеца и липса на костна загуба. Най-добри биологични характеристики притежава група Б, но по отношение на естетичния визуален критерий – най-ниски. Изследваните супраструктури от Група А имат по-нисък плак индекс от тези в Група В, но по отношение на фактор кървене при сондиране резултатите показват по-ниски стойности при група В спрямо група А. Група В има по-добри индекси по Jempt спрямо група А, което определя по-добрите й естетични характеристики. Заключение: При надимплантатно протезиране във фронталния участък за оптимален избор за възстановителен материал може да се счита циркониев диоксид - супраструктура от стандартна титаниева база и монолитна корона от циркониев диоксид или индивидуализирана титаниева надстройка в комбинация с монолитна корона от циркониев диоксид в случаите, когато ангулацията на имплантата и клиничният случай не позволяват работа със стандартна права надстройка. При възстановяване на единичен обеззъбен участък в дисталната зона- оптимален вариант по отношение на биомеханичната поносимост може да се считат монолитни възстановявания от литиев дисиликат в комбинация с индивидуализирана титаниева надстройка в случаите, когато естетиката не е от първостепенно значение или протезиране със супраструктура от индивидуализирана титаниева надстройка в монолитна корона от циркониев диоксид.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-111/24.06.2020 Подобряване на детското орално здраве чрез мобилна игра**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Наталия Христова Грънчарова, дм

- Ас. д-р Здравка Янева

**Базова организация:** МУ - София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото изследване е да се изработи и приложи мобилна игра за деца от предучилищна и ранна училищна възраст за подобряване на оралното здраве. Обект на епидемиологичното изследване бяха 152 деца на възраст 6-8 години, на които беше приложен анкетен и клиничен метод. 100 от децата бяха включени в експериментална група, която получи разработената мобилна игра за подобряване на орално-хигиенни и хранителни навици Tooth Stars за период от 1 месец. Контролната група се състоеше от 52 деца, които получиха единствено по класическия начин

инструкции за поддържане на оралното си здраве. Резултатите от първоначалното анкетно проучване показаха, че и в двете групи има грешки в оралната хигиена и храненето на децата. След края експеримента беше доказано подобрене в оралния статус на децата от двете групи по отношение на DMF (T+t), ОНI, обратимите (активни) кариозни лезии. Подобриенето при децата от експерименталната група е значително по-голямо и при статистическото сравнение на данните беше доказана достоверна разлика между двете групи. Достоверно по-голяма част от родителите и децата от експерименталната група оценяват играта Tooth Stars като полезна, споделят, че са придобили нови знания от нея и биха я използвали за по-продължителен период от време. Според мненията на децата и родителите, събрани чрез финални анкети, Tooth Stars е лесна за възприемане, приятна, интересна и е довела до позитивна промяна в отношението на детето към оралното му здраве. Над 90% от децата са започнали сами да се сещат, че трябва да мият зъбите си. Този дял е достоверно по-голям от останалите деца. Всички родители на деца от експерименталната група споделят, че движенията на четкане са се подобрили след експеримента. В края на изследването се е повишила инициативността на децата от експерименталната група за извършване на орална хигиена и се е увеличила продължителността на процедурата.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Yaneva Z. Making a Mobile Game for Children's Oral Health Improvement 31<sup>st</sup> Annual Assembly of IMAV. Online forum; 28-31 October 2021
- Янева З., Подобряване на детското орално здраве чрез компютърни игри (обзорна статия) – „Дентална медицина“ 2022;2(2):114-122
- Янева З., Подобряване на детското орално здраве с мобилната игра Tooth Stars. Дентална медицина 2022;2(2):79-84

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-112/24.06.2020 Геометрична точност на протезните конструкции, изработени чрез аналогови и дигитални методи за снемане на отпечатък и производство**

**Изследователски екип:** Доцент д-р Тодор Цонков Узунов, дм

- Ас.д-р Христина Галева
- Гл.ас. д-р Иван Герджиков, дм
- Йоан Стоев

**Базова организация:** МУ – София, Факултет по дентална медицина, Катедра по Протетична дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проекта е да се определи и сравни точността на протезни конструкции, създадени чрез аналогови и дигитални методи за отпечатване и производство. Върху пластмасов модел е препариран зъб за металокерамична корона и са снети аналогови отпечатъци. Първият отпечатък е използван за направата на стандартен гипсов модел, който е сканиран с три различни лабораторни скенера. Вторият отпечатък е сканиран със същите скенери. Протезното поле е сканиран с 2 различни интраорални скенера, както и с контактен скенер. Дигиталният образ, получен от контактния скенер е използван като дигитален еталон, с който са сравнени всички останали (8бр.) дигитални копия на протезното поле. С помощта на компютърна програма е създаден дигитален дизайн на бъдещата метална субструктура за всеки един

от осемте дигитални образа на протезното поле. Произведени са общо 50бр. метални субструктури, по 4 различни производствени методи: класическа технология на метално леење, хибридна технология, фрезование и лазерно принтиране. Използвана е неблагородна Co-Cr сплав. Вършната структура на всяка конструкция е изследвана с контактен скенер и е получен дигитален образ. Той е сравнен с дигиталния еталон на протезното поле. Резултатите са представени под формата на цветни карти, отразяващи отклоненията от референтния модел. За оптимални резултати са определени отклонения от референтния модел в рамките на +0.02 до -0.02мм. при сравнението на отпечатъчните методи и 0.05мм при сравнението на производствените методи. При сравнението на видовете сканиране най-добри резултати са получени за интраоралните скенери (38.6% за Ios и 50.9% Zhf), следвани от сканирането на отпечатък с лабораторен скенер (18.6% за Ceramill map 400, 16% за Ceramill map 600 и 15.9% за Zhf). Най-ниски резултати показва сканирането на гипсов модел, като там разликата между видовете скенери е малка (Ceramill map 400- 14.5%, Ceramill map 600- 14.2%, Zhf- 12.6%). По отношение на производствените методи, най-високи резултати показват конструкциите, направени чрез фрезование, следвани от лазерно принтираните. С най-малка точност са конструкциите, направени по хибридна технология.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Galeva H, Uzunov T, Sofronov Y, et al. Investigation of the deviation during the information transfer from the prosthetic field to the laboratory scanners. 2021 IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 1056 012010
- Galeva H, Uzunov t, Sofronov Y, et al. “Accuracy evaluation of fixed prosthetic constructions made by milling and printing technologies and the influence of temperature changes. Journal of Physics Conference Series 2021; 1859(1):012064

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-113/24.06.2020 Епидемиология, диагностика, лечение и профилактика на плак-индуцирани гингивити в детско юношеска възраст**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Надежда Георгиева Митова, дм

- Проф. д-р Мая Рашкова, дм
- Ас. д-р Христина Танкова-Златева
- Ас. д-р Димитър Костурков, дм

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра Детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването беше проучване разпространението на плак-индуцирани гингивити при деца от 10-14 г., контрол на субгингивалната микрофлора при лечение с допълнителна фотодинамична терапия на деца с плак индуциран гингивит, както и създаване и апробиране на профилактична програма за пародонтално здраве. Обект на изследването бяха 457 деца за епидемиологично проучване, 34 деца за проследяване на субгингивални пародонтопатогени в хода на лечение (16 деца с допълнителна фотодинамична терапия и 18 деца контролна група) и 21 деца за групово профилактична програма. Чрез епидемиологичен метод беше установено разпространението и рисковите фактори за плак индуцираните гингивити при деца от 10-14г.. Проведе се проспективно клинично изследване на деца с плак индуциран гингивит

в хода на лечение (регистриране на следните гингивални индекси: SBI, GI, BOP). Чрез PCR Real time бяха изследвани 9 контролни щама от сборна проба за контрол на субгингивалната микрофлора на същите деца. Резултатите показаха разпространение на гингивално възпаление обхващащо 65% от децата на възраст 10-14г. Децата имат относително ниско плаконатрупване съсредоточено във фронталните участъци на двете челюсти и добри орално-хигиенни навици. Използваната електронна пародонтална сонда с подходящ софтуер е предпоставка за по-точна и прецизна гингивална диагностика. Кумулативният ефект от влиянието на проведената фотодинамична терапия води до по-изразен терапевтичен ефект върху гингивалните тъкани на изследваните деца. При деца със средно тежък плак индуциран гингивит водещата субгингивална микрофлора е комбинация от представители на оранжевия и на червения комплекс по Сокрански, като *P. gingivalis* се изолира относително по-рядко, но в най-високи количества. В хода на лечение на фона на относително непроменения микробен товар, пародонтопатогените намаляват по вид и количество още на втората седмица, което е валидно и за броя МО в микробните асоциации, които намаляват чувствително. Предложената групова програма за профилактика на пародонталните заболявания демонстрира ефективност за създаване и утвърждаване на правилно поведение за поддържане на пародонтално здраве при деца.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Tankova H, Mitova N., Rashkova M., Popova H.- Risk factors and gingival inflammation in children aged 10 to 14 years - an epidemiological study. Journal of IMAV 2021;27:4092-7.
- Tankova H., Lazarova Z., Rashkova M. Evaluation of an electronic periodontal probe versus a manual probe in periodontal diagnosis of children aged 12-14 years. Journal of IMAV2021;27:4087-91.
- Tankova H, Mitova N., Rashkova M., Popova H.- Risk factors and gingival inflammation in children aged 10 to 14 years - an epidemiological study – Участие в 30-та Юбилейна Асамблея на IMAV, дати на конгреса 18-21 October 2020,стр.38
- Tankova H., Lazarova Z., Rashkova M. Evaluation of an electronic periodontal probe versus a manual probe in periodontal diagnosis of children aged 12-14 years – Участие в 30-та Юбилейна Асамблея на IMAV, дати на конгреса 18-21 October 2020,стр.39

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-115/24.06.2020 Съвременни аспекти в превенцията и ранното лечение на оклузални кариозни лезии на постоянни молари**

**Изследователски екип:** Гл.ас. д-р Красимир Митков Христов, дм

- Проф. д-р Росица Кабакчиева, дм
- Проф. д-р Наталия Грънчарова, дм
- Ас. д-р Недана Георгиева

**Базова организация:** МУ - София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото изследване е да приложим и оценим ефективността на съвременни методи за диагностика – директно визуално наблюдение, наблюдение с дентален оперативен микроскоп (ДОМ) и интраорална камера SorproLife (в два режима на работа – “day light” и “blue light”) на начални оклузални емайлови кариозни лезии и тяхното проследяване след проведено неинвазивно лечение с три терапевтични средства – конвенционален силант, ГЙЦ и нисковискозна пластмаса за период от 12 месеца при първи постоянни молари. Обект на епидемиологично изследване бяха 250 деца на възраст от 6 – 9 години и 1000 първи постоянни молара. В изследването взеха участие 50 деца на възраст от 6 – 9 години и на случаен принцип бяха избрани 150 зъба – 60

диагностицирани като здрави, 90 – с начална оклузална кариозна лезия. Клиничното изследване установи припокриване на критериите на начална оклузална кариозна лезия. Установихме висока степен на корелация между директната визуална оценка и използването на светлинна флуоресценция. Със съпоставката доказахме, че въведените критерии на международната система ICDAS II се определят като „златен стандарт“ в диагностиката на кариозни лезии. Също така се установиха и предимствата от помощна диагностика със съвременни средства, които да уловят и най-ранните промени в повърхността. В настоящето изследване беше доказана важноста на превенцията на здрави оклузални повърхности, която се осъществява чрез превантивното им покритие. Използваните средства – конвенционален силант и ГЙЦ, показаха отлични механични качества - висока износоустойчивост и запазване на маргиналната си цялост, което да осигури оптималното запечатване на повърхността и предпазване появата на кариозна лезия. Терапевтичният подход за лечението на начални оклузални кариозни лезии се измества от оперативен към неоперативен. С помощта ранната диагностика и избора на оптимални средства за изследвания период не се наблюдава прогресия на установените и обработени кариозни лезии. Съвременната инфилтрационна техника – Icon DMG показва отлични резултати при използването ѝ върху оклузалните повърхности.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Nedana Georgieva, Krasimir Hristov, Nataliya Grancharova; Evaluation of the effectiveness of conventional sealant and glass-ionomer cement as a preventive sealing material for first permanent molars. Medinform 2021;8:1355-63.
- Nedana Georgieva, Nataliya Grancharova, Comparative assessment of the effectiveness of different methods for diagnosis of initial occlusal carious lesions of the first permanent molars – poster - Joint Forum: 11 th South-East European Conference of Chemotherapy, Infections and Cancer and 31-st Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria 28–31 October 2021, Plovdiv, Bulgaria.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-116/24.06.2020 Ендодонтско и хирургично лечение на хронични грануломатозни периодонтити-рандомизирано клинично изследване**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Жанет Кирилова Николова, дм

- Доц. д-р Елица Деливерска-Александрова, дм
- Доц. д-р Димитър Киров, дм
- Доц. д-р Димитър Йовчев, дм
- Проф. д-р Снежанка Топалова-Пиринска, дм

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра по консервативно зъболечение

**РЕЗУЛТАТИ:** Въвеждането на плазмотерапията и графтните материали в регенеративната ендодонтска терапия отбелязва важен напредък в денталната медицина, тъй като представлява приложение на тъканното инженерство за лечение на хроничните периапикални лезии. Целта на проведеното изследване е да се сравнят клинично и рентгенологично резултатите от комбинирано ендодонтско-хирургично лечение на пациенти с хроничен периодонтит чрез три различни хирургични протокола като се проследят запълването на периапикалната лезия с костна тъкан за период от шест месеца и степента на болка непосредствено след проведеното хирургично лечение. Материал и методи: Изследването се извършва на 23 пациенти върху 30 зъба с диагноза хроничен

грануломатозен периодонтит (дифузен или локализиран), подбрани и разпределени в 3 групи по десет зъба: Гр.1 пациенти. Класическа апикална остеотомия. Гр.2 пациенти. Класическа апикална остеотомия. Костната рана се запълва с парченца от мембрана изготвена от A-PRF+ кръвен концентрат богат на растежни фактори и същата мембрана върху раната. Гр.3 пациенти Класическа апикална остеотомия. Костната рана се запълва с „sticky bone“ и алографтен материал и мембрана изготвена от A-PRF+ кръвен концентрат богат на растежни фактори върху раната. Резултатите се проследяват чрез СВСТ шест месеца след оперативната интервенция. Резултатите се обработват статистически. Резултати: Класическата апикална остеотомия без допълнителна стимулация на оздравителния процес, както е в група 1, на шестия месец от изследването отчита едва около 39.0677 степен на запълване на обема, докато в гр.2 и гр.3 степента на запълване на обема достига 90.801 -95.23. Постоперативният период е свързан с незначителна болка за пациентите(гр.2 и гр.3), докато в гр.1 степента на болка е статистически значимо по-силна. Изводи: Доказва се клинично, че поставянето на A-PRF+ кръвен концентрат богат на растежни фактори самостоятелно или в комбинация с алопластичен графт след проведена по класическа методика апикална остеотомия на зъби с периапикални хронични грануломатозни периодонтити (дифузни и локализирани) води до значителна степен на запълване на костния дефект на шестия месец и е съпроводено със слаба болка при изследваните пациенти.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Kirilova J, Deliverska E, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn. Regenerative endodontic therapy -plasmotherapy. Review Part I. Medinform.2021; 8(1):1328-1332.
- Kirilova J, Deliverska E, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn. Regenerative endodontic therapy - bone materials and techniques. Review Part II. Medinform.2021; 8(1):1333-1338.
- Kirilova J, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn, Deliverska E (2022) Endodontic and surgical treatment of chronic apical periodontitis: a randomized clinical study, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 36:1, 737-44.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-128/24.06.2020 Копептин като биомаркер за диагностика на остра екзацербация на ХОББ или изострена ХСН при пациенти с диспнея**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Венцислава Пенчева Пенчева-Генова, дм

- Проф. д-р Огнян Георгиев, дм
- Гл. ас. д-р Виктор Манолов, дм
- Ас. д-р Диян Генов

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Пропедевтика на Вътрешните болести, УМБАЛ „Александровска“

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е да се анализира ролята на копептина за диференциална диагноза между остра екзацербация на Хронична обструктивна белодробна болести (ОЕХОББ) и сърдечна недостатъчност (СН) при пациенти с остро настъпила диспнея. 50 пациенти с остра диспнея в резултат на ОЕХОББ или СН са включени в проспективно проучване. Средната възраст на участниците е  $68.32 \pm 8.321$  години, като съотношението мъже/жени е 32/18 (64% мъже и 36% жени). Събрани са анамнестични и основни демографски данни. При всички участници са проведени хематологични и биохимични тестове. Копептин, N-терминален про-предсърден натриуретичен пептид (NT-proBNP) и прокалцитонин са измерени с помощта на ELISA методи. При всички пациенти са направени електрокардиограма, спирометрия,

рентгенова снимка на гръдния кош и ехокардиография. При необходимост са извършвани абдоминална ехография и кръвно-газов анализ. В зависимост от причината за диспнеята, пациентите са разделени в две групи – такива с ОЕХОББ (27 пациента) и такива с изострена СН (23 пациента). Средната концентрация на копептин е статистически значително по-ниска при пациенти с ОЕХОББ ( $160.574 \pm 112.768$  pg / ml) в сравнение с пациентите с СН ( $402.0187 \pm 54.4$ pg / ml);  $p = 0,001$ . Налице е положителна корелация между нивата на серумен копептин и нивата на прокалцитонин ( $r = 0,231$ ;  $p = 0,025$ ), както и между серумните нива на копептин и нивата на NT-proBNP ( $r = 0,396$ ;  $p = 0,004$ ). Нивата на копептин корелират добре и с С-реактивния протеин (CRP) ( $r = 0,258$ ,  $p = 0,022$ ). Стойности на копептин  $> 317,875$  pg / ml при постъпването са с чувствителност 71,3% и специфичност 82,4% при прогнозиране на СН като причина за остро настъпила диспнея (AUC: 0,884, 95% CI: 0,814-0,955,  $p < 0,001$ ). Копептинът е нов обещаващ показател за диагностика на пациенти с остра диспнея. Използването на този маркер в рутинната практика може да бъде много полезно за лесна диференциална диагноза между ОЕХОББ и СН.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Пенчева В, Манолов В, Манов Е, Георгиев О, Генов Д. Копептин – биомаркер за диференциална диагноза на остра диспнея. Медицински преглед. 2021;5:36-42.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-129/24.06.2020 Проучване и оценка на диагностичната и прогностичната роля на острофазовите протеини IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 и прокалцитонин като предиктори за ранна инсуфициенция на анастомозата след предна резекция на ректума – продължение**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Димитър Иванов Буланов, дм

- Проф. д-р Атанас Йонков, дм
- Доц. д-р Сашо Бонев, дм
- Гл. ас. д-р Драгомир Дарданов, дм
- Гл. ас. д-р Евгени Живков, дм
- Гл. ас. д-р Иванка Станчева, дм
- Гл. ас. д-р Елена Арабаджиева, дм
- Гл. ас. д-р Емилия Тошева, дм
- Д-р Лилия Симонова, дм
- Гл. ас. д-р Жулиета Христова-Димитрова, дм
- Ас. д-р Пламен Петков
- Ас. д-р Васил Солункин
- Ас. д-р Живко Шавалов

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по обща и оперативна хирургия, УМБАЛ „Александровска“, ЕАД, Клиника по обща хирургия „Проф. Параскев Стоянов“ (I хирургия)

**РЕЗУЛТАТИ:** Инсуфициенцията на атастомозата, при предна резекция на ректума, е актуален проблем в коремната хирургия. Цел: Да се проучи предиктивната роля на IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 и Прокалцитонин, за инсуфициенция на анастомозата след резекция на ректума. Използвани методи: Клинично-лабораторно изследване на IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 и Прокалцитонин, при 20 пациенти на 2 и 5 СОД, от венозна кръв и от секрет на дренаж, както и обединяването им с резултатите на предходен грант (2017) и статистическа

обработка. Резултати и изводи: От изследваните протеини IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 и Прокалцитонин, при общо 40 пациенти, установихме, че статистически значими резултати за потенциална предиктивна роля за инсуфициенция на анастомозата имат Прокалцитонин, TNF- $\alpha$ , IL-6.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-130/24.06.2020 Маркери за овариална дисфункция при синдром на поликистозни яйчници**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева, дм

- Проф. д-р Здравко Каменов, дмн
- Гл. ас. д-р Аделина Цакова, дм
- Д-р Пламена Кабакчиева-Георгиева

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, Клиника по ендокринология

**РЕЗУЛТАТИ:** Фоликулогенезата в яйчниците изисква фин баланс между екстра- и интра-овариални фактори. Ендоканабиноидите играят важна роля в нормалния фоликуларен растеж и овулация. Дисбалансът в секрецията им доказано е свързан с нарушена фоликулогенеза, узряване на овоцитата и съответно инфертилитет. Целта на проучването е да анализира нивата на 2-арахидоноилглицерол (2-AG) сред пациенти със синдром на поликистозни яйчници (СПЯ) и връзката им с хормоналните и метаболитните промени, както и най-честите характеристики, свързани със синдрома като овулаторна дисфункция и поликистозна морфология на яйчниците (ПКМЯ). Проучването включваше общо осемдесет участници - 54 пациенти със СПЯ и 26 здрави контроли. Критериите за включване за всички участници са възраст (18-38 години); постменархе (> 3 години) и ИТМ (18-40 кг/м<sup>2</sup>). Пациентите със СПЯ са диагностицирани според Ротердамските критерии и допълнително са категоризирани във фенотипни групи. Пълна медицинска история, клинични изследвания, антропометрични измервания, лабораторни тестове и ултразвуково изследване са проведени във фоликуларна фаза. Серумните нива на 2-AG са измерени чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA). Пациентките със СПЯ и здравите контроли показват сходни метаболитни параметри и антропометрични характеристики. Пациентките със СПЯ са с изразен хирзутизъм спрямо здравите жени ( $p = 0,001$ ). Съотношението LH/FSH и всички андрогени са значително по-високи в пациентката група, отколкото в тази на контролите. Серумните нива на 2-AG са значително по-високи при фенотип В пациентите и здравите контроли в сравнение с групата на фенотип А, докато между фенотип В и контролите нивата останаха сходни. Пациентките със СПЯ и ПКМЯ имат значително по-ниски нива на ендоканабиноида в сравнение с пациентите без поликистозни яйчници и контролите. В обобщение серумните нива на 2-AG не могат да бъдат диагностичен маркер за СПЯ, но най-вероятно променената им секреция повлиява нормалните фоликуларни процеси.

**Научни публикации и прояви:**

- Кабакчиева П, Гатева А, Великова Ц, Георгиев Ц, Каменов З. 19-ти международен конгрес по ендокринология, Виртуален, 24-28 февруари 2021 г. 262-263.
- Kabakchieva P, Gateva A, Hristova J, Georgiev T, Kamenov Z. Analysis of 2-Arachidonoylglycerol Levels in Polycystic Ovary Syndrome in the Context of



Hormonal and Metabolic Alterations and Across the Classical Phenotypes. Cannabis Cannabinoid Res. 2023 Aug;8(4):634-641.

- Kabakchieva P, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Yamanishi K, Okamura H, Kamenov Z. Elevated levels of interleukin-18 are associated with several indices of general and visceral adiposity and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. Arch Endocrinol Metab. 2022 Mar 8;66(1):3-11.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-132/24.06.2020 Скрининг за фибромускулна дисплазия (FMD) в България и генетични аспекти**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Рая Стефанова Иванова, дм

- Д-р Теодора Янева-Сиракова, дм
- Проф. д-р Добрин Василев, дм
- Д-р Павел Николов, докторант
- Румяна Додова, дмб

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра вътрешни болести, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, Клиника по кардиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Фибромускулната дисплазия (FMD) представлява идиопатично, сегментно, неатеросклеротично и неинфекциозно заболяване на мускулния слой на артериите, което води до стенозиране на малките и средни по размер артерии. Генетичните аспекти са в процес на изясняване, като за България липсват такива данни. Един от гените, за които в литературата съществуват данни, че е свързан с повишаване на риска от FMD, е този за *PHACTR1* (phosphatase and actin regulator). Методи: Бяха изследвани 11 пациенти с доказана ангиографски FMD, 108 пациенти с артериална хипертония, 89 с доказана ангиографски ИБС, 112 здави популационни контроли. Скринингът на подбрания полиморфизъм в гена *PHACTR1*, който по литературни данни се свързва с предразположението към FMD, се извърши на апарат за PCR в реално време с помощта на TaqMan™ технология (Applied Biosystems). Статистически анализ – SPSS 19, ниво на значимост 0.05, доверителен интервал 95%. Резултати: Честотите на вариантите на rs9349379 в българската популация са без значима разлика с Европейската. Показа се (без да се достига статистическа значимост по-висока честота на алел А при FMD, което съответства с международните литературни данни. Установи се (без да се достига статистическа значимост) тенденция за асоциация на алел G с ИБС. Заключение: Първоначалните данни за асоциация на rs9349379 в гена *PHACTR1* са негативни за българската популация, но т.к. групата пациенти с FMD е малка, е необходимо потвърждаване в по-голяма група пациенти. Изясняването на генетичните аспекти на FMD може да помогне за изясняване на патогенезата, отключващите фактори и регулатори на патологичния процес. Това ще подобри скрининга, ранното откриване и профилактиката на това заболяване.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-133/24.06.2020 Роля на биохимични биомаркери за невронална активност и клинични невропсихологични тестове при пациенти с каротидно стентирание**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Теодора Иванова Янева-Сиракова

- Проф. д-р Добрин Василев, дм
- Акад. проф. д-р Лъчезар Трайков, дм, дмн
- Доц. д-р Кирил Карамфилов, дм
- Ас. д-р Аделина Цакова
- Гл. ас. д-р Жулиета Христова-Димитрова, дм
- Ас. д-р Ния Милева-Петрова
- Ас. д-р Моника Шумкова, дм
- Анастас Димов

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра вътрешни болести, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, Клиника по кардиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Каротидното стентирание става все по-актуално. Необходими са показатели, по които да се оценява неговата ефективност по отношение на мозъчен кръвоток и когнитивни функции. Потенциална възможност са биомаркерите за невронална активност Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) и Neural Growth Factor (NGF), чиято серумна концентрация е свързана с мозъчната хемодинамика и функция. В изследването бяха включени 78 пациенти: 39 със значими стенози на каротидните артерии и 39 контроли – без. При всички беше проведена ултразвукова диагностика, бяха изследвани серумни нива на BDNF и NGF чрез ELISA метод. При пациентите с хемодинамично значими стенози маркерите за невронална активност бяха изследвани на три етапа: преди (n34), 24 ч. след каротидно стентирание (n22) и поне 1 месец след това (n18). Когнитивните функции оценихме с MMSE и MoCA, на база на които пациентите бяха разделени в групи с или без насочваща диагноза леко когнитивно нарушение (ЛКН). За статистически анализ използвахме SPSS 19(IBM),  $p < 0.05$ , CI 95%. Получиме: значима разлика между BDNF преди и след каротидно стентирание ( $p < 0.0001$ ); в BDNF [ $p = 0.001$ , CI (-5.11- -1.44)] и NGF [ $p = 0.049$ , CI (0.64-347.75)] между пациентите със значими стенози/каротидно стентирание и контролите без. Перипроцедурната хипотония, преживян инсулт или ЛКН не се отразиха на стойностите на биомаркерите. Корелационният анализ показва умерена по сила положителна зависимост за систолно, диастолно, пулсово налягане и биомаркерите в определени периоди на взимане. Тази връзка се потвърди за систолното налягане и в регресионния анализ. Средните стойности на BDNF при каротидно стентирание се показваха, а на NGF намаляваха. Необходими са по-голям брой пациенти, които да потвърдят получените първоначални резултати, че: 1. Артериалното налягане е важен фактор за концентрацията на BDNF и NGF в серум; 2. Зависимостта на концентрацията на тези биомаркери от интервенционалното лечение е възможно да не е линейна; 3. Серумните стойности на биомаркерите за невронална активност при пациентите с хемодинамично значими стенози и без се различават значимо.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-135/24.06.2020 Миниинвазивна глаукомна хирургия-гониотомия с двойното острие на Kahook при откритоъгълна глаукома**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Борислав Михайлов Кючуков, дм

- Ас. д-р Нора Великова-Павлова
- Ас. д-р Наталия Боцевска
- Ас. д-р Мирела Петрова

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра "Спешна медицина", УМБАЛ "Царица Йоанна-ИСУЛ", Очна клиника

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Проспективно проучване с цел анализ на профила на ефикасност и безопасност на ексцизионната гониотомия, извършена с Kahook Dual Blade, при пациенти с откритоъгълна глаукома като самостоятелна процедура или в комбинация с факоемулсификация за 12-месечен период. Метод и материали: Участници: Възрастни пациенти с откритоъгълна глаукома и необходимост от намаление от вътреочното налягане поради недостатъчен контрол и/или прогресия на глаукомния процес и/или нуждата от намаление на хипотензивните локални медикаменти. Първични цели: Оценка ефективността на процедурата по отношение намаление на ВОН и хипотензивните локални медикаменти при цялата популция пациенти и в двете групи. Вторични цели: изследване на профила на безопасност - честота и наличие на усложнения, оценка на нуждата от допълнителни антиглаукомни процедури; стабилност на лечебния ефект(вариации на ВОН при всяка визита); пропорция на пациентите с постигнат успешен лечебен ефект; разлики между двете групи. Резултати: 15 участници(16 очи) са включени, по 8 очи във всяка група. При цялата популация пациенти за 12-месечен период се установява средна редукция на ВОН от  $-12.81 \text{ mmHg}$ , с  $-44.59\%$ (от  $27,5 \pm 6.26 \text{ mmHg}$  предоперативно до  $14.62 \pm 1.99 \text{ mmHg}$ ). При общата популация пациенти, при поддържане на ВОН под  $18 \text{ mmHg}$ , броят медикаменти намалява средно с  $1,75(-39.68\%)$  от предоперативния (от  $3.93 \pm 0.92$  на  $2.25 \pm 0.93$ ). Най-честото наблюдавано интраоперативно усложнение е рефлукса на кръв от Шлемовия канал - при  $100\%$  от пациентите; най-честото ранно постоперативно усложнение - бързопреходна хифема (в рамките на 7 дни) - при  $43\%$ , а късно постоперативно усложнение – задно отлепване на стъкловидно тяло - при  $6,25\%$  от пациентите. Заключение: Ефектът на намаляване на ВОН и броя хипотензивни локални медикаменти на гониотомията с Kahook Dual Blade, извършвана както като самостоятелна процедура, така и в комбинация с факоемулсификация, покрива критериите за ефективност на European Glaucoma Society и на American Academy of Ophthalmology's Preferred Practice Pattern (PPP) за лека и средна тежест на глаукома. За 12-месечен период не се наблюдаваха застрашаващи зрението усложнения и не се наложиха допълнителни антиглаукомни процедури.

**Научни публикации и прояви:**

- Великова Н., Анализ на резултатите след гониотомия с Kahook Dual Blade при възрастни пациенти с откритоъгълна глаукома за 12-месечен период, XIV-ти Конгрес на Българско Дружество по Офталмология, съвместно с Конференция "Новости в Офталмологията" и XV-ти Витреоретинален Симпозиум, Боровец, България, 14-17/10/2021

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-136/24.06.2020 Роля на *N. pylori* инфекцията и стомашната атрофия в развитието на метаболитния синдром и дисрегулацията на свързаните с апетита хормони**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Борислав Георгиев Владимиров, дм

- Проф. Йордан Генов, дм
- Ас. д-р Мила Ковачева-Славова, дм
- Ас. д-р Климентина Герджикова, дм
- Д-р Теодора Комитова, дм

- Ас. д-р Христо Вълков

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по гастроентерология, УМБАЛ "Царица Йоанна-ИСУЛ", Клиника по гастроентерология

**РЕЗУЛТАТИ:** Ролята на *H. pylori* (HP) инфекцията и атрофичният гастрит в развитието и прогресията на метаболитния синдром, неалкохолна стеатозна чернодробна болест (NAFLD) и дисрегулацията на свързаните с апетита хормони все още се изучава. Целта на настоящето изследване е провеждане на скрининг за HP-инфекция и изследване на свързаните с апетита хормони сред пациенти с NAFLD с оценка на стомашната структура и функция и връзката помежду им. Скринингът на HP-инфекция и оценката на стомашна атрофия се осъществиха чрез GastroPanel, включващ пепсиноген-I (PGI), пепсиноген-II (PGII), гастрин-17 (G-17), *H. pylori* IgG; както и хормоните лептин и адипонектин, използвайки ELISA метод. Изследването включва 72 лица (33 мъже, средна възраст  $48,51 \pm 17,46$  г): 50 с NAFLD и 22 здрави контроли. HP-инфекция имат 32% от пациентите, което е значимо повече спрямо контролите. Стомашната лигавица е сигнификантно по-увредена сред пациентите. При мъжете се наблюдава по-честа *H. pylori* инфекция ( $p=0,035$ ) и тенденция към по-високостепенни структурни промени в стомашната мукоза ( $p=0,063$ ). Пациентите с NAFLD са изложени на по-висок висок от развитие на атрофичен гастрит и метаболитен синдром в по-млада възраст. Установяваме статистически значимо по-високи нива на лептин и по-ниски на адипонектин при пациентите спрямо здравите контроли ( $p=0,015$ ). Нивата на PGI, PGI/PGII, HP и адипонектин се влияят значимо от възпалителните и атрофични промени в стомашната лигавица. С намаляване нивата на PG-I и PG-II във връзка и с развитие на стомашната атрофия се увеличават нивата на лептин и се намаляват тези на адипонектин. Наблюдаваме по-висок ИТМ и тенденция за повишени нива на чернодробни ензими при пациентите с *H. pylori* инфекция. При пациентите с инсулинова резистентност наблюдаваме значимо по-ниски нива на адипонектин ( $p=0,04$ ). Спазването на диагностичния алгоритъм за *H. pylori* и атрофичен гастрит позволява ранното им откриване и лечение с последваща профилактика на асоциираните малигнитет и малабсорбционни усложнения.

**Научни публикации и прояви:**

- Management of series of complications after a laparoscopic Nissen fundoplication. G. Yankov, E. Mekov, B. Vladimirov, M. Kovacheva-Slavova - Chirurgia 2023;36:52-5.
- Национална конференция по гастроентерология, 15 – 16 Октомври 2021, София - Helicobacter pylori инфекция и екстрагастрални заболявания, д-р Мила Ковачева
- Национална конференция по гастроентерология, 15 – 16 Октомври 2021, София - Автоимунен гастрит - проф. д-р Б. Владимир

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-137/24.06.2020 Роля на серумните маркери за фиброза - алфа 2-макроглобулин (Alpha 2-Macroglobulin - A2M) и хиалуронова киселина (Hyaluronic acid - HA) като предиктори за наличието и определяне на степента на езофагеални варици при пациенти с хронично чернодробно заболяване**

**Изследователски екип:** Доц. Бранимир Стефанов Големанов, дм

- Проф. д-р Борислав Владимир, дм
- Д-р Тодор Ангелов

- Д-р Станислав Чурчев
- Доц. Георги Янков, дм

**Базова организация:** Медицински Факултет, Катедра по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“ ЕАД, Медицински Университет - София

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Изследване на серумни нива на неинвазивни маркери за фиброза - Alpha 2-Macroglobulin (A2M) и Hyaluronic acid (HA) при пациенти с хронично чернодробно заболяване с цел предвиждане на степента на езофагеалните варици. Материал и методи: Осемдесет пациенти с чернодробна цироза с различна етиология (преобладаваща алкохолна и вирусна такава) разделени в три групи според наличието и степента на езофагеални варици от проведена ЕГДС (тежкостепенни варици, лекостепенни варици, липса на варици). При всички пациенти бяха изследвани нива на Alpha 2-Macroglobulin (A2M) и Hyaluronic acid (HA) чрез ELISA метод. Резултатите бяха обработени на IBM SPSS 19. Резултати: В проучването не се установява статистически значима разлика между групите по отношение нивата на A2M, HA, както и при нивата на албумина, тромбоцитите и наличието на асцит при пациентите. До голяма степен колектива обяснява това със сложната патогенеза на порталната хипертония и възможностите за образуването на различни порто-системни колатерали при пациентите с чернодробна цироза. На този етап не може да се препоръча измерване на серумни нива на A2M и HA с цел предвиждане на наличието и степента на варици на хранопровода.

**Научни публикации и прояви:**

- Т. Ангелов, С. Чурчев, Х. Вълков, Б. Асенова, М. Четирска, Р. Вачева-Добревска, Б. Владимиров, Б. Големанов. Роля на серумните маркери за фиброза алфа 2-макроглобулин и хиалууронова киселина като предиктори за наличието на гастроезофагеални варици. *Обща медицина* 2021 23 (5): 54-56.
- Т. Ангелов, С. Чурчев, Б. Асенова, М. Четирска, Р. Вачева-Добревска, Б. Владимиров, Б. Големанов. Алфа 2-макроглобулин и хиалууронова киселина като предиктори за наличието и размера на езофагеални варици – предварителни резултати. VII Национална среща по хепатология. НДК 26-27 Ноември 2021

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-138/24.06.2020 Ролята на microRNA-21 и microRNA-31 като маркери за диагностика на спорадичния и колит-асоциирания колоректален карцином**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Пламен Иванов Пенчев, дм

- Ас. д-р Христо Вълков - докторант
- Ас. д-р Мила Ковачева-Славова, дм
- Ас. д-р Иван Лютаков, дм
- Ас. д-р Славяна Ушева, дм
- Проф. д-р Радка Кънева, дм
- Вероника Петкова, дм
- Гергана Станчева

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра гастроентерология, УМБАЛ „Царица-Йоанна-ИСУЛ, ЕАД, Клиника по гастроентерология

**РЕЗУЛТАТИ:** Микро-РНКите (miRNAs) са малки, некодиращи РНКи с невероятна стабилност, което ги прави обещаващи потенциални биомаркери. Чрез изследване на плазмената експресия на miRNA-21-5p и miRNA-31-5p да се проучи тяхната

диагностична и етиопатогенетична роля при пациенти с хронични възпалителни чревни заболявания (ХВЧЗ), в прогресията към колит-асоцииран колоректален карцином (КРК) и при пациенти със спорадичен КРК. Включихме 100 възрастни пациенти (60 с ХВЧЗ; 30 с КРК и 10 здрави контроли [ЗК]). Изолира се тотална РНК, а експресията на двете miRNAs се доказва чрез RT-qPCR. За постигане целите на проекта бяха използвани нормализираните  $2^{-\Delta Ct}$  стойности на двете miRNAs. Чрез експресия на miRNA-31 могат да се разграничат по отделно пациенти с ХВЧЗ и КРК от ЗК. Това не се демонстрира за miRNA-21. Cut-off стойност 0,160 на miRNA-31 разкрива 100,0% чувствителност и 80,0% специфичност за различаване на КРК от ЗК. Cut-off стойност 0,251 на miRNA-31 демонстрира същата чувствителност и специфичност за различаване на ХВЧЗ от ЗК. Стойностите на miRNA-31 позволява и отграничаването на ХВЧЗ от КРК. miRNA-21 може да различи пациенти с ХВЧЗ и активност от тези в ремисия. Чрез стойностите на двете miRNAs не могат да се разграничат типовете ХВЧЗ като тези две miRNAs не корелират нито със скоростите за активност нито с параклиничните маркери за възпаление при ВЧЗ. Двете miRNAs не могат да разграничат пациентите с ХВЧЗ и дисплазия или КРК от болните с ХВЧЗ без такава придружаваща патология. Стойностите на двете miRNAs не корелират с TNM стадия на спорадичния КРК и с туморните маркери при пациентите с тази неоплазия. miRNA-31 изглежда по-обещаващ маркер от miRNA-21. Необходими са още данни по темата.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Вълков Х. MicroRNA-21 и MicroRNA-31 като биомаркери за възпалителни чревни заболявания с колонна локализация и спорадичен колоректален карцином. Национален конгрес по гастроентерология, Гранд хотел Милениум София. 13-15 октомври 2022.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-139/24.06.2020 Изследване на метилмалонова киселина за оценка на витамин В12 статус при пациенти със захарен диабет тип 2**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Невена Янкова Чакърлова, дм

- Проф. д-р Цветалина Танкова, дмн
- Проф. д-р Георги Георгиев, дм
- Гл. асист. д-р Румяна Димова-Драганова, дм
- Ас. Весела Лозанова, дб
- Паулина Сугарева

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Ендокринология, УСБАЛЕ „Акад.Иван Пенчев“ ЕАД, Втора Клиника по Диабетология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото изследване е да се направи оценка на диагностичната стойност на метилмалоновата киселина (ММА) в определянето на витамин В12 статуса при пациенти със захарен диабет тип 2 (ЗД тип 2). Материал и методи: Изследвани са 303 пациенти със ЗД тип 2 на средна възраст  $60.32 \pm 10.46$ , среден ИТМ  $32.04 \pm 5.99$  кг/м<sup>2</sup> и средна давност на заболяването  $2.87 \pm 8.34$  години. Изследването на ММА в серум е осъществено по метода на течната хроматография (Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS-MS)). За cut-off, дефиниращ дефицит на В12, са приети нива на ММА > 260 nmol/l. Резултати: Средните стойности на ММА в групите с дефицит, гранично и нормално ниво на В12 са съответно 109.1 nmol/l, 65.3 nmol/l и 64. 6 nmol/l. Нивото на ММА е значимо по-високо в групата с дефицит на В12 спрямо групите с ниско-нормално и нормално ниво на В12 ( $p = 0.016$ ,  $p = 0.034$ ). Ниво на ММА > 260 nmol/l се установява при 1.6% от цялата изследвана популация, при

4.8% от групата с дефицит на В12 и при 0% от групите с гранично и нормално ниво на В12. Установява се значима негативна корелация между серумните нива на В12 и ММА ( $r = -0.220$ ,  $p < 0.0001$ ). Изводи: Изследването на ММА в изследваната популация няма допълнителна диагностична стойност и на практика не разширява оценката на витамин В12 статуса в сравнение със самостоятелното изследване на В12. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-140/24.06.2020 Комплексна оценка на липидния профил в ранните етапи на нарушения в глюкозния толеранс**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Румяна Бойкова Димова-Драганова, дм

- Проф. д-р Цветалина Танкова, дмн
- Проф. д-р Георги Георгиев, дм
- Доц. Валентин Лозанов, дб
- Гл. ас. д-р Грета Грозева-Дамянова, дм
- Гл. ас. д-р Невена Чакърва, дм
- Д-р Ани Тодорова
- Д-р Мина Сердарова
- Д-р Полина Царкова
- Паулина Сугарева

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Ендокринология, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ ЕАД, Втора Клиника

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Целта на изследването е да се направи комплексна оценка на липидния профил при лица в ранните етапи на нарушения в глюкозния толеранс и да се оцени връзката на тези показатели с кардио-метаболитния риск. Материал и методи: Общо 90 участника (21 мъже/69 жени) на средна възраст  $46.7 \pm 10.5$  години, със среден ИТМ  $32.0 \pm 6.3 \text{ kg/m}^2$  са включени в настоящото изследване. Те са разделени в три групи според глюкозния толеранс - 19 с нормален глюкозен толеранс (НмГТ), 22 с НмГТ и глюкоза на 60 минута  $> 8.6 \text{ ммол/л}$ , и 49 с нарушен глюкозен толеранс (НГТ). При всички участници са измерени антропометрични показатели. Глюкозният толеранс е оценен посредством стандартен ОГТТ според критериите на СЗО от 2006г. Изследвани са: имунореактивен инсулин и С-пептид в хода на ОГТТ. Изчислени са индекси за инсулинова чувствителност и бета-клетъчна функция. На гладно са изследвани: НВА1с, hsCRP, креатинин (изчислена е GFR-EPI), трансаминази, АСР, липиди и липопротеини: общ холестерол, HDL-холестерол, LDL-холестерол, триглицериди, Lp(a), ApoA1, ApoB. Извършен е липидомен анализ посредством течна хроматография в съчетание с високо разделителна мас-спектрометрия за измерване на церамиди и мастни киселини. Разпределението на мастната тъкан в тялото е оценено посредством биоимпедансен анализатор (Inbody720, Biospace). Тъканните крайни продукти на гликирането (AGEs) са оценени неинвазивно с апарат AGE-Reader (DiagnOptics TM, NL). Резултати: Нивата на церамид С24:1 показват тенденция към покачване в групата с НГТ спрямо НмГТ с гранична значимост ( $p=0.053$ ). Класическият липиден профил корелира с възрастта, показателите за мастно натрупване и гликемия, бъбречна функция, hsCRP, трансаминази, показатели за инсулинова чувствителност и бета-клетъчна функция. Отношенията ApoB100/ApoA1, LDL/ApoB100 и триглицериди/HDL са свързани с висцералната мастна тъкан, гликемията, инсулинемията и hsCRP. Капринова киселина (C10:0), арахидоновата киселина (C20:4), арахидова киселина (C20:0) и докозанова киселина (C22:0) са свързани

с АСR, като докозанова киселина (С22:0) корелира с hsCRP, инсулинемията. Изводи: Изследването на разширен липиден профил дава допълнителна информация за кардио-метаболическия риск при лица в ранните етапи на нарушен глюкозен толеранс. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-141/24.06.2020 Антинуклеарни антитела – честота, имунофлуоресцентно светене и специфични субтипове у родственици първа степен на болни със системен лупус – клинични, лабораторни, серологични и имунологични корелации**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Доброслав Станимиров Кюркчиев, дмн

- Доц. д-р Симеон Монов, дм
- Доц. д-р Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Ас. Калина Гумангелова-Юзеир, дм
- Д-р Георги Василев, дм
- Богдан Пенев
- Д-р Росица Дачева

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Клинична имунология, УМБАЛ „Свети Иван Рилски” ЕАД, Лаборатория по Клинична имунология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е да изследва наличието на ранни белези на съединителнотъканно заболяване, рискови фактори (тютюнопушене и прием на естрогенови препарати), нива на антинуклеарни антитела (АНА), VLYS, IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , anti-EBV viral capsid antigen (VCA) сред роднини първа степен (РПС) на болни със СЛЕ, здрави контроли и болни със СЛЕ. Методи: Изследвани бяха 43 РПС, както и контролна група от 15 здрави лица и 15 болни със СЛЕ. РПС и здравите лица попълниха скринингов въпросник за ранни белези на СЗСТ, пушене и употреба на естрогенови препарати и бяха изследвани за АНА чрез ИИФ и за характерни субтипове чрез имуноблот), VLYS, IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , anti-EBV VCA. Резултати: При над половината от РПС се установи АНА 1:160 или повече, предимно АС-4 светене по Международния консенсус за АНА светения (ICAP) в сравнение с АС-0 или АС-1, най-често наблюдавано съответно при здрави контроли и пациенти. У РПС също така се намери и корелация между АНА-титър и брой оплаквания, особено валидна за титри над 1:320, при които по-често се наблюдаваха кожни оплаквания, косопад и орални афтоподобни оплаквания. Нивата на TGF- $\beta$  у РПС бяха междинни по отношение на същите у болните и здравите контроли. По отношение на пушенето и естрогеновия прием не се установиха сигнификантни разлики между трите групи. Установи се корелация между титъра на АНА и нивата на антитела срещу EBV при здравите лица (контроли и РПС). Заключение: Получените резултати показват РПС като междинна група по отношение на здрави и болни от СЛЕ в имунологично отношение. Наблюдава се и корелация между АНА титър и оплаквания, някои от които могат да се интерпретират като много ранни прояви на системна болест.

**Научни публикации и прояви:**

- Bogdan Penev, Georgi Vasilev, Dobroslav Kyurkchiev, Simeon Monov. First degree relatives of patients with systemic lupus erythematosus - clinical, serological and immunological correlations. EULAR Congress. Paris. 2-5 June 2021. 1432.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.



## Договор Д-142/24.06.2020 АДМА - биомаркер за бъбречна увреда в условията на компенсирани и декомпенсирани цироза

**Изследователски екип:** Доц. д-р Атанас Иванов Кундурджиев, дм

- Проф. д-р Красимир Антонов, дмн
- Гл. ас. д-р Мария Христова, дм
- Д-р Ирена Иванова, дм

### **Базова организация:**

МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД, Клиника по нефрология

**РЕЗУЛТАТИ:** В проучването бяха включени общо 40 пациента с чернодробна увреда - 20 с влошена бъбречна функция с креатининов клирънс  $<90\text{мл/мин/}1.73\text{м}^2$  без ехографски данни за структурни промени и 20 със запазена бъбречна функция, служещи като контролна група. Пациентите с чернодробна увреда бяха разделени в 3 подгрупи - такива с наличие на фиброза, компенсирани и декомпенсирани чернодробна цироза. Получените резултати показаха тенденция към повишаване на серумните нива на АДМА с прогресиране на чернодробното заболяване, която обаче не достигна статистическа значимост, вероятно поради малкия брой изследвани пациенти. В подкрепа на връзката между чернодробната дисфункция и АДМА е установената в настоящото проучване корелация между АДМА и АЛАТ, която до този момент по литературни данни е описана само в животински модели. Липсата на статистически значими различия в нивата на АДМА при пациенти с цироза със запазена или нарушена бъбречна функция показва, че основна роля за метаболизма на АДМА има черният дроб и ролята АДМА като предиктор на бъбречна увреда в хода на чернодробно заболяване е лимитирана. Теоретичните изводи, които може да се направят от отсъствието на корелация между резистивния индекс на бъбречните сегментни съдове и нивата на АДМА са, че в хода на чернодробното заболяване освен АДМА, влияние върху ендотелната дисфункция и съдовия тонус оказват и други системни и/или локални медиатори. По литературни данни най-важни сред тях са NO, ендотелин-1, симетричен диметиларгинин, вазопресин и е необходимо едновременното изследване на панел от биологични маркери. Липсата на подобна възможност беше основен лимитиращ фактор на проучването и не позволи да се разшири анализа в практическа насока. Установената статистически значима негативна корелация между нивата на АДМА и фракцията на изтласкване потвърждават ролята на АДМА като маркер за повишен сърдечно-съдов риск. Заключение: Получените резултати показаха тенденция към повишаване на серумните нива на АДМА с прогресиране на чернодробното заболяване. Основна роля за метаболизма на АДМА има черният дроб и ролята му като предиктор на бъбречна увреда в хода на чернодробна цироза е лимитирана.

### **Научни публикации и прояви:**

- Христова М, Пенчев Х, Василев и др. Асиметричен диметиларгинин - биомаркер за ренална увреда в условията на компенсирани и декомпенсирани цироза Българска хепатогастроентерология бр.1/2023

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-143/24.06.2020 Функционални автоантитела, апоптоза и фактори за оцеляване на В лимфоцитите при пациенти с ранна форма на прогресивна системна склероза**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Рашо Колев Рашков, дмн

- Проф. д-р Доброслав Кюркчиев, дн
- Доц. д-р Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Д-р Екатерина Куртева, дм
- Ас. Калина Тумангелова-Юзеир, дм
- Доц. д-р Любомир Маринчев, дм
- Гл. ас. Д-р Валентина Решкова, дмн
- Гл. ас. Д-р Десислава Калинова, дм
- Д-р Цветелина Димитрова Йонева
- Д-р Рада Ганчева, дм
- Д-р Яна Здравкова
- Д-р Първолета Методиева
- Д-р Милена Иванова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД, Клиника по Ревматология, ул. Урвич, ул. „Урвич“ 13, 1612 Хиподрума, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Да се изследват в серума на пациенти с ранна форма на SSc, в сравнение с пациенти с разгърната форма на заболяването и със здрави лица, някои функционални автоантитела: анти-ендотелноклетъчни автоантитела (anti-endothelial cell antibodies, AECA) и анти-ендотелин-1 тип А рецептор (anti-ET<sub>A</sub>R antibodies), както и въввличения във В клетъчното развитие и активация лиганд BAFF (B cell activating factor, BLys), в серума на пациенти с ранна форма на SSc. Да се извърши и флоуцитометрично определяне на процент В клетки и измерване на процент В клетъчната апоптоза, в периферна кръв на изследваните групи пациенти и здравите лица. Да бъдат потърсени асоциации между изследваните показатели с типа кожно и органно засягане, както и със стадия и активността на SSc. Материали и методи: Бе извършен проспективен подбор на 40 пациента със SSc, на средна възраст 51±13 години, с Med [Min;Max] 53[21;75] години, от които 33 жени и 7 мъже. Сред изследваните 40 пациента със SSc, 25 пациента са *de novo* диагностицирани с ранна форма на прогресивна системна склероза (SSc) според VEODSS Критерии на EUSTAR, 2011 и/или според Класификационните критерии на ACR/EULAR при SSc, 2013. Изследвани бяха 15 пациента с разгърната форма на SSc. Набрана бе и контролна група от 10 здрави лица (5 мъже и 5 жени), на средна възраст 36±12 години, Med [Min;Max] 40[21;53] години. Бе извършено флоуцитометрично определяне на процент В лимфоцити, маркирани с моноклонално мише анти-човешко CD19 антителио, в пълна периферна венозна кръв на пациентите със SSc и на здрави лица. Флоуцитометрично определихме и процент В клетъчна апоптоза, в пълна периферна венозна кръв на изследваните пациенти и здравите лица. Използвахме ELISA метод за откриване на анти-ендотелноклетъчни автоантитела (anti-endothelial cell antibodies, AECA) и анти-ендотелин-1 тип А рецептор (anti-ET<sub>A</sub>R antibodies), както и на въввличения във В клетъчното развитие и активация лиганд BAFF (B cell activating factor, BLys) в серумите на изследваните пациенти и на здравите лица. Резултати: Не намерихме статистически значима разлика между общия процент В лимфоцити в периферната кръв на здравите лица и на пациентите със SSc. За сметка на това, открихме сигнификантно по-ниско ниво на експресия на CD19 (MFI) при пациентите със SSc спрямо здравата контролна група,  $p < 0,001$ . По отношение на В-клетъчната апоптоза, се наблюдава

значимо увеличен процент В-клетъчна апоптоза в периферната кръв на пациентите със SSc в сравнение със здравите лица. При пациентите със SSc намерихме сигнификантно по-висок процент В лимфоцити в ранна апоптоза спрямо здравите лица  $p = 0.006$ , без сигнификантна разлика по отношение на MFI. Намерихме сигнификантно по-висок MFI на В-клетъчната апоптоза при пациентите с dcSSc спрямо пациентите с lcSSc,  $p = 0,036$ . Не намерихме значима разлика по отношение нивата на BAFF при пациентите със SSc спрямо здравата контролна група, нито вътрегрупово между пациентите със lcSSc и dcSSc. За сметка на това, при пациентите с ранна SSc, нивото на BAFF в периферна кръв бе намерено по-високо от това при пациентите с клинично разгърната SSc, с гранична сигнификантност,  $p = 0.05$ . По отношение на функционалните автоантитела АЕСА, които бяха определени качествено чрез ELISA, всички здрави контроли показаха отрицателен резултат за наличие на АЕСА в периферна венозна кръв, а от пациентите със SSc, едва 4 пациента дадоха положителен резултат. По отношение на анти-ендотелин-1 тип А рецептор автоантителата (anti-ETAR antibodies), всички 40 изследвани пациента със SSc дадоха положителен резултат ( $>17$  U/ml), докато всички изследвани здрави лица показаха отрицателен резултат в периферна кръв ( $<10$  U/ml). Не бяха намерени корелации между нивата на anti-ETAR автоантителата, белодробното засягане, протеинурията или степента на кожно засягане при пациентите със SSc. Изводи: Необходимо е по-нататъшно изследване на разширане кохорта от пациенти със SSc за да се потвърди повишения процент периферна В-клетъчна ранна апоптоза както и уточняване, по възможност, за сметка на коя/и субпопулации В клетки се установява. Изследването на АЕСА при пациенти с повишен риск от развитие на тежък васкулит в контекста на SSc биха могли да служат като прогностичен маркер, ако резултатите се потвърдят при изследване на по-голяма кохорта. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-145/24.06.2020 П-6 – един прогностичен фактор за късни неврологични увреждания при недоносени новородени /26-32г.с./**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Боряна Петрова Слънчева, дм

- Ас. д-р Виолета Димитрова
- Гл. ас. д-р Лилия Вакрилова
- Гл. ас. д-р Таня Праматарова
- Гл. ас. д-р Петя Радулова
- Гл. ас. д-р Станислава Хитрова-Николова

**Базова организация:** Медицински Университет - София, Медицински факултет, Катедра Акушерство и Гинекология, СБАЛАГ „Майчин дом“, Клиника по Неонатология  
**Адрес за контакти:** ул. „Здраве“ № 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Недоносените новородени под 32 г.с. са рисковата група за развитието на тежки неврологични увреждания, дължащи се на интравентрикуларни кръвоизливи (ИВК) и перивентрикуларна левкомалация (ПВЛ). Нарастващ е интересът към използването на биомаркери, които да насочат към ИВК и ПВЛ преди клиничната им изява. Множество проучвания изследват ролята на проинфламаторните цитокини, в частност интерлевкин-6 (IL-6), като маркери на невронална увреда при недоносените. Повишената плазмена стойност на IL-6 над 11 pg/ml е основен независим рисков фактор за последващото развитие на неонатална заболеваемост, след корекции за гестационна възраст и други фактори. В настоящето проучване бяха обхванати 47 недоносени новородени с гестационна възраст между 26 г.с. и 32 г.с. При постъпването в Неонаталното интензивно отделение се вземаше кръв за изследване на IL-6, но не по-

късно от шести час след раждането. Проведе се ултразвукова оценка за наличие или липса на мозъчни промени по протокол. Новородените се разделиха в две групи:

1. с повишени нива на IL-6 ( $> 11,0 \text{ pg/ml}$ ) след раждането (11 новородени)
2. с нормални нива на IL-6 (36 новородени)

Бяха анализирани 64 показателя. В групата с повишен IL-6 се отчетоха значително по-високи стойности на CRP, позитивни хемокултури и периферни секрети при раждането, по-висока честота на ранен неонатален сепсис. В същата група се наблюдават два пъти по-често тежките мозъчни кръвоизливи - ИВК III и IV степен на фона на общо по-ниска честота ултразвукови отклонения спрямо групата с нормални стойности на IL-6. Такава зависимост не се открива по отношение на ПВЛ в настоящето проучване. По-висока е честотата на ретинопатията на недоносеното и отклонения в слуховия скрининг в групата с повишен IL-6. Настоящото проучване потвърждава високият диагностичен потенциал на IL-6 за ранно определяне таргетната група недоносени новородени (26г.с. – 32г.с.), рискови за развитие на ранен неонатален сепсис, тежки неврологични усложнения (в това проучване ИВК III-IV степен), ретинопатия на недоносеното, слухови нарушения. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ

## „ГРАНТ’ 2021”

### Договор Д-91/04.06.2021 Значимост на генен полиморфизъм на Интерлевкин -13 на позиция (-1112) при пародонтит

**Изследователски екип:** Гл. ас. Величка Теодосиева Досева-Панова

- Ас. Здравка Пашова-Тасева, докторант
- Доц. Антоанета Млъчкова
- Проф. Алексей Савов

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра „Пародонтология“, Бул. „Св. Георги Софийски” 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящия научен проект бяха включени 100 лица, от които 70 пациенти с диагноза пародонтит и 30 контролни индивиди, които са диагностицирани с пародонтално здраве. На всички участници е направена детайлна пародонтална диагностика – клинични измервания и рентгенографски анализ. От всички изследвани лица е изолирана геномна ДНК с цел изучаване на единичен генен полиморфизъм на Интерлевкин – 13 – 1112. Използван е комплект за изолиране Nucleo Spin MACHERRY-NAGEL, а генотипизирането е направено чрез RFLP-PCR метод. Получените данни са обработени със статистическия пакет PCA – IBM SPSS Statistics Version 22. Резултатите показваха доминиране на СС-генотип, последван от СТ-генотип и ТТ-генотип, изолиран само при един пациент с пародонтит. Потвърди се поставената хипотеза за податливост към тежък пародонтит по отношение на един от генотиповете- доминиращият СС-генотип. Отговорът на пациентите с този генотип към зъбната плака е свързан с тежка загуба на клиничен аташман  $\text{CAL} \geq 5\text{mm}$ , при равнище на значимост  $p < 0.05$ . Също така е установена и корелация при същите пациенти между процента на заети с бактериална плака места и кървенето при сондиране от дъното на пародонталния джоб при равнище на значимост  $p < 0,1$ . Тези данни дават основание да се предположи, че при хомозиготните по С-алел индивиди протичането на пародонталното заболяване е по-

тежко, базирано на параметъра загуба на клиничен аташман и белегът за активност на заболяването, регистриран с BoP.

**Научни публикации и прояви:**

- Zdravka Pashova-Tasseva, Velitchka Dosseva-Panova, Ekaterina Tosheva, Alexey Savov, Antoaneta Mlachkova. Influence of gene polymorphism of IL-13 and smoking on periodontitis. Medinform.2022; 2: 1473-1483.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-92/04.06.2021 Възможности за диагностика на орален карцином и орални пренеоплазии чрез количествено определяне на цитокини и други имуно-реактивни и регулаторни молекули в слюнка**

**Изследователски екип:** Проф. Павел Кирилов Станимиров, доктор

- Доц. Теодора Болярова-Копова
- Доц. Зорница Михайлова
- Доц. Снежина Кандиларова
- Д-р Ангел Адамов
- Д-р Петя Янкова

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра по Дентална, орална и лицево-челюстна хирургия, гр. София, 1431, ул. Св. Георги Софийски 1

**РЕЗУЛТАТИ:** Настоящото изследване е концентрирано върху проучване на промените в концентрациите на BDNF, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, IL-1RA, LIF и TNF- $\alpha$  в слюнката при пациенти с орален карцином, орални пренеоплазии и пародонтит спрямо здрави контроли. Научната идея е чрез промените в слюнчените нива на цитокините да се изследва отговора на организма при изброените патологични състояния и значението на тези цитокини като биомаркери за съответната патология. Това би подпомогнало диагностиката на оралните заболявания и би дало яснота за значението на пародонтита върху нивата на цитокините като се сравнят с тези при орален карцином и пренеоплазии. Изследваха се посочените цитокини в цяла нестимулирана слюнка при 107 пациенти, разделени в четири групи – орален карцином (43 пациенти), орални пренеоплазии (21 пациенти), пародонтит (21 пациенти) и клинично здрави контроли (22 пациенти). Слюнчените проби се стабилизираха с ензимен инхибитор SigmaFast Protease inhibitor, Sigma-Aldrich Co и изследването се проведе с флуорометричен мултиплексен метод като се използва ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay. Статистическата обработка включи дескриптивна статистика, корелационен анализ и дисперсионен анализ /ANOVA-test/. При четири от изследваните цитокини – IL6, IL8, IL1RA и LIF, се открива разлика в концентрацията в слюнката при пациенти с орален карцином в сравнение с пациенти с пренеоплазии, пародонтит и здрави с много голяма статистическа значимост (съответните p-value са:  $p = 0.000105$ ;  $p = 0,006215$ ;  $p = 0,00212$ ;  $p = 0,033518$ ). Групата на пренеоплазиите показва значимо повишени нива спрямо здравите за IL6, IL8, IL10 и TNF $\alpha$ . Единствено при IL8 се наблюдава значима разлика между групите на пренеоплазии и пародонтит. Значимо повишение показват IL6 и TNF $\alpha$  при пародонтит и пренеоплазии спрямо здравите контроли. Силно повишените нива на IL6, IL8, IL1RA и LIF в слюнката на пациенти с орален карцином позволяват да допуснем, че тези цитокини могат да имат значение на биомаркери при орален карцином.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-93/04.06.2021 Сравнително изследване на регенеративния потенциал на богатия на тромбоцити фибрин (PRF) и Emdogain® при хирургичното лечение на F<sub>2</sub> фуркационни дефекти на долни молари**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Антоанета Митева Млъчкова, дм

- Доц. д-р Камен Коцилков, дм
- Ас. д-р Христина Майналовска
- Ас. д-р Денислав Емилов

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра по пародонтология, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** В изследването взеха участие 21 пациента с диагноза втори клас вестибуларен фуркационен дефект на долен молар. Установените 30 лезии бяха разпределени в две групи по 15. При първата група беше извършено хирургично лечение с приложение на богат на тромбоцити фибрин (PRF), а при втората – с емайлови матриксни деривати (Emdogain®). Целта на проучването беше да се оцени регенеративния потенциал на богатия на тромбоцити фибрин като се сравни с доказани биоактивни агенти, каквито са емайловите матриксни деривати. При сравнителния анализ на двата подхода за емайловите матриксни деривати беше доказано, че се постига статистически значима по-голяма редукция на дълбочината на сондиране спрямо богатия на тромбоцити фибрин. В полза на Emdogain беше и промяната в рентгенографски анализираната хоризонтална костна загуба. По отношение на загубата на клинични прикрепване, хоризонтална дълбочина на сондиране, вертикална костна загуба, позиция на маргиналия ръб, както и в процеса на ранно оздравяване не бяха доказани статистически значими разлики между PRF и Emdogain. Клинично, при групата, третирана с Emdogain, три от дефектите бяха изцяло разрешени – шест месеца постоперативно не се установи хоризонтална дълбочина на сондиране в мястото на фуркационния вход. Останалите дефекти бяха конвертирани от втори в първи клас. При групата, лекувана с PRF, само за 30% от лезиите беше постигнат по-нисък клас увреждане, а останалите, независимо от редукцията на хоризонталната дълбочина на сондиране, останаха втори клас. Към днешна дата лечението на фуркационните дефекти е все още непредвидимо и идентифицирането на клинични подходи с влияние върху резултатите му са критични за оптимизиране на ефекта от хирургичната пародонтална терапия. Богатият на тромбоцити фибрин е лесен за манипулиране биоактивен агент, с автоложен произход и с ниска цена. Изследването ни показва, че ефектите му в регенеративната терапия на фуркационните дефекти се доближават до тези на емайловите матриксни деривати, но въпреки това не успява да постигне идентични клинични резултати по отношение на елиминирането на фуркационния дефект.

**Научни публикации и прояви:**

- Maynalovska H, Mlachkova A, Kotsilkov K. Bioactive molecules in the treatment of furcation defects – online списание на БЗС, 1/2022

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-94/04.06.2021 Сравняване на механичните качества на различни материали за инлеи, онлеи и овърлеи - лабораторно изследване**

**Изследователски екип:** проф. д-р Радосвета Иванова Василева

- Доц. д-р Жанет Николова, дм

- Доц. д-р Димитър Киров, дм
- Д-р Кристиан Божковски
- Гл. ас. д-р Георги Илиев, дм

**Базова организация:** МУ –ФДМ, София, МФ, Катедра по консервативно зъболечение, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Последните две десетилетия компютърно-асистираните технологии (Computer Aided Design -CAD) се утвърждават в денталната практика. Чрез тях се изработва дигитален модел и дизайн на бъдещата конструкция. Върху дигиталния модел се очертават границите на протезното поле и се моделира протетичното възстановяване. Изследването на механични показатели като умора и якост на удар на индиректни зъбни възстановявания от различни материали в дисталните участъци на зъбната редица ще доведе до създаване на препоръки за тяхното оптимално приложение спрямо степента на натоварване в зоната на възстановяване и желаната функция и естетика. Цел на настоящото изследване е установяване на якост на умора и удар на модели на онлеи, изработени от различни материали (композитни блокчета с керамични частици, литиево дисиликатни блокчета, фотокомпозит за принтиране и циркониева керамика) в дъвкателен симулатор. Материал и методи. В това проучване са изготвени зъбни пълнети, а върху тях онлеи от различни видове материали (литиев дисиликат-гр.А, композитни блокчета с керамични частици- гр.В, принтирани от фотокомпозит-гр.С, циркониева керамика-гр.Д) и подложени на динамично натоварване в дъвкателен симулатор (CS-4, SD Mechatronik, Westerham, Германия) за тестване на якост на умора. Резултати. Използван е постхок тест на Туки HDS (Tukey), който показва, че средноаритметичната стойност за група А е статистически значимо различна от средноаритметичните стойности за групаите С и Д. Група А не е статистически значимо различна от група В. Заключение. В рамките на това лабораторно изследване е установено, че с добри показатели са изработените от циркониев диоксид онлеи, следвани от литиево-дисиликатните, и изработените от композиционен материал с керамични частици (Cerasmart). А фотополимерния композитен материал, който е принтиран са с най-устойчив на фрактурна резистентност. Необходими са допълнителни изследвания върху механичните качества на фотополимерните композити за принтиране за индиректни възстановявания за допълване на получените резултати.

**Научни публикации и прояви:**

- Пиев G, Vasileva R, Petrova V, Bozhkovski C, Kirov D, Kirilova J. 3D printed, and CAD/CAM milled indirect restorations from hybrid polymers. Mechanical properties. A Literature Review. Medinform 2022;9(3);1535-1543.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-110/04.06.2021 Проучване върху приложението на Indocyanine Green за оценка на чернодробната функция с цел прогнозиране на риска за развитие на следоперативна чернодробна недостъпност**

**Изследователски екип:** Проф. Атанас Стефанов Йонков, дм

- Проф. д-р Димитър Буланов, дм
- Доц. д-р Сашо Бонев, дм
- Гл. ас. д-р Елена Арабаджиева, дм
- Гл. ас. д-р Евгени Живков, дм

- Гл. ас. д-р Лилия Симонова, дм
- д-р Георги Коруков
- Ас. д-р Живко Шавалов
- проф. Добрин Свинаров, дмн
- доц. Милена Велизарова, дм
- Гл. ас. д-р Иванка Станчева, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по обща и оперативна хирургия, бул. "Св.Георги Софийски" N 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Постоперативната чернодробна недостатъчност (ПОЧН) е едно от най-тежките усложнения в коремната хирургия, тъй като появата му често е свързана с неблагоприятен изход въпреки прилаганите диагностично-лечебни мероприятия. *Цел:* Да се проучи ролята на Indocyanine Green (ICG) и Indocyanine Green Retention rate (ICG-R15) за оценка на чернодробната функция с цел прогнозиране на риска от ПОЧН. *Материал и Методи:* През 06.2021г. – 11.2022 г. се проведе проспективно проучване, включващо 20 пациенти, хоспитализирани в УМБАЛ „Александровска“ поради злокачествени чернодробни новообразувания. Чернодробната функция бе оценена чрез статични биохимични показатели и прилагане на ICG интравенозно (0.5мг/кг), целящо измерването на остатъчната концентрация в кръвта на 15-тата мин. (ICG-R15). Резултатите и вероятната корелация с клинично-морфологичните характеристики бяха обработени статистически. *Резултати и Дискусия:* Проучването обхвана 13 мъже (65%) и 7 жени (35%) с първични (5) и метастични (15) чернодробни тумори. Извършени бяха 13 малки (под 3 сегмента) и 7 големи чернодробни резекции. ICG-R15 варираше 2-40%. Средните стойности на T-Bil при абнормен ICG-R15 са по-високи спрямо тези при нормален ICG-R15. Няма статистически значима зависимост между останалите статични лабораторни показатели и ICG-R15. Ранната следоперативна смъртност бе 0%. Транзиторна ПОЧН (15%) е наблюдавана само при пациентите със завишен ICG-R15 ( $p=0,001$ ) Статистически значима зависимост има между завишения ICG-R15 и общия брой усложнения. При ICG-R15 >15% големи чернодробни намеси не са предприемани ( $p=0.001$ ). В групата ICG-R15 <15%, независимо от проведената голяма резекция, ПОЧН не е наблюдавана. Липсата на съществени отклонения в статичните чернодробни показатели при изразени различия в ICG-R15 ясно показва необходимостта от комбиниране на методите на изследване за по-прецизна оценка на чернодробната функция. Установената ПОЧН бързо е овладяна поради съобразяване на обема на резекцията с ICG-R15.

*Заключение:* ICG-R15 тестът е лесно изпълним, безопасен и ценен инструмент за оценка на чернодробната функция и идентифициране на пациенти в риск от развитие на ПОЧН. Необходими са допълнителни проучвания, тъй като за България настоящото проучване е пилотно.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Г. Коруков, Е. Арабаджиева, С. Бонев, Съвременни методи за оценка на чернодробната функция с цел превенция на следоперативната чернодробна недостатъчност, Хирургия, 2022, vol. 86, 1: 5-12.
- Elena Arabadzhieva, Sasho Bonev, Dimitar Bulanov, Liliya Simonova, Evgeni Zhivkov, Georgi Korukov, Zhivko Shavalov, Milena Velizarova, Dobrin Svinarov, Atanas Yonkov, Indocyanine green fluorescence liver assessment and imaging-guided resection for colorectal liver metastases, Acta Medica Bulgarica 2023;30(1):54-58.
- Е. Арабаджиева, С. Бонев, Д. Буланов, Д. Дарданов, Г. Коруков, Ж. Шавалов, Л. Симонова, Е. Живков, Д. Свинаров, М. Велизарова, А. Йонков, Приложение на Indocyanine Green за оценка на чернодробната функция и ролята му в



прогнозирането на риска за следоперативна чернодробна недостъпност, Хирургия (под печат)

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-111/04.06.2021 Идентифициране на генни мутации, водещи до наследствена детска катаракта при български пациенти чрез новогенерационно секвениране**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Невяна Валентинова Велева–Кръстева, дм

- Проф. д-р Александър Оскар, дм
- Доц. д-р Галина Димитрова, дм
- Гл. ас. д-р Огнян Младенов, дм
- Ас. д-р Павлин Кемилев
- Гл. ас. д-р Васил Хайкин, дм
- Д-р Габриел Димитров –докторант
- Д-р Неда Сергеева - докторант
- Кунка Каменарова, дб
- Калина Михова
- Проф. Радка Кънева, дб

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Офталмология. ул. „Св. Георги Софийски” 1, гр. София, пощенски код 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** За целите на проекта беше осъществен ретроспективен анализ на медицинската документация на всички деца с катаракта, преминали и лекувани в Очна клиника, УМБАЛ „Александровска“ в периода януари 2013 – май 2021 г., както и проспективно на всички случаи на детска катаракта в периода юни 2021 г. – юли 2022 г. Беше осъществен клинично-епидемиологичен анализ на случаите на детска катаракта в България. При 6 пациенти с наследствена катаракта (синдромна и несиндромна) беше проведен пълен офталмологичен преглед и генетично изследване чрез новогенерационно секвениране – с панел за прицелно секвениране на клиничен екзом Trusight One за едновременен анализ на 4 813 гена на територията на Сектор „Геномика“ към Център по молекулярна медицина, Катедра „Медицинска химия и биохимия“. Бяха установени 5 случая на синдромна катаракта и 1 случай на несиндромна, изолирана катаракта. При случаите, при които бяха установени варианти с неясно клинично значение, се планира анализ за носителство, който ще даде възможност да бъде променена класификацията на тези промени на „вероятно патогенна“ или „патогенна“. Това ще позволи поставянето на точна генетична диагноза на пациента и ще даде възможност да се определи риска от предване на генетичния дефект към потомството. При петима от пациентите генетичният резултат даде основание те да бъдат насочени за консултации с други медицински специалисти с оглед диагностицирането на неустановена до момента патология, което ще подобри лечебния процес и ще предотвърти бъдещи усложнения - хематологични, бъбречна патология, ранни артропатии и скелетни деформации, загуба на слуха, отлепване на ретината. Получените резултати потвърждават необходимостта от мултидисциплинарен подход при всички пациенти с наследствена катаракта и особено в случаите, когато катаракта е проявена във възрастта преди 10-годишна възраст. Всяка детска двучна катаракта трябва да се разглежда като „синдромна“ до доказване на противното. Обстойното и продължително изследване на тези деца е ключово с оглед на

факта, че катаратата често е първа проява на синдромни заболявания, част от които са животозастрашаващи заболявания.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Й. Кънева, Н. Велева, А. Оскар и кол. Детска катаракта – епидемиологична и клинична характеристика. XIV Конгрес на Българското Дружество по Офталмология. Хотел Рила Боровец. 14 – 17.10.2021 г. Електронен постер

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-112/04.06.2021 Въвеждане на нов радиофармацевтик (68 Ga PSMA) за позитронно емисионна томография/компютърна томография (PET/CT) при пациенти с биохимичен рецидив след радикална простатектомия**

**Изследователски екип:** Доц.д-р Валерия Христова Хаджийска-Попова, дм

- Доц.д-р Красимир Янев, дм
- Гл.ас д-р Александър Тимев, дм
- Доц. Светла Георгиева

**Базова организация:** МФ София, Катедра по нуклеарна медицина, лъчелечение и медицинска онкология, Катедра по урология, ул. „Св. Георги Софийски“ 1, гр. София 1606

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани бяха 200 пациенти с биохимичен рецидив и PSA>0.2, при които останалите образни методи не са открили причината за покачането на туморния маркер. Патологично включване на 68Ga-PSMA се откри при 140 (70%) от 200 пациенти с наличие на поне една положителна лезия. Патологичното включване в 68Ga PSMA PET/CT беше установено при 24 (42%) от 56 пациенти с нива на PSA между 0,2 и 0,5 ng/mL, 15 (53%) от 28 пациенти с нива на PSA между 0,51 и 1 ng/mL, 20 (71%) от 28 пациенти с нива на PSA между 1,01 и 2 ng/mL, 22 (81%) от 27 пациенти с нива на PSA между 2,01 и 5,0 ng/mL, 59 (97%) от 61 пациенти с нива на PSA над 5,01 ng/mL. Шесдесет и седем (33%) от пациентите бяха диагностицирани с локален рецидив. При 60 пациенти се откриха PSMA-положителни лимфни възли, при 52-ма (26%) - костни лезии, а при 6 (3%) - далечни метастази с друга локализация. Значително по-висок процент на PSMA-положителен скен ( $p<0,001$ ) се откри при пациенти, които са имали предишна или съпътстваща ADT ( $n=111$ ) - 80 % от тях, докато PET/CT е положителен при 57% от пациентите, които не са лекувани с ADT ( $n=89$ ). Откри се статистически значима разлика в степента на откриване на PET/CT при пациенти с скор по Gleason 7 - 75 % (113 от 151) и пациенти с скор по Gleason < 7 - 55 % (27 от 49). ( $p<0,03$ ). Изводи: Провеждането на PSMA PET/CT доведе до промяна в терапевтичния подход спрямо първоначалния терапевтичен план при близо 40 % от пациентите. В резултат на прилагането на комплексния хибриден образен метод значително се скъси времето за откриване и доказване на причината за покачането на туморния маркер (PSA) след радикална простатектомия (биохимичен рецидив) и вземане на най-правилно решение за терапевтичния подход при всеки отделен пациент чрез провеждане на еднократно комплексно изследване.

#### **Научни публикации и прояви:**

- В. Хаджийска, Дянкова М., Чаушев Б., Тимев А., Младенов В., Младенов Б., Анакиевски Д. 68Ga-PSMA PET/CT при Пациенти с Биохимичен Рецидив след Дефинитивна Терапия на Простатен карцином. Резултати от Първо Българско

Перспективно, 2-Центрово Проучване, Национален симпозиум по Урология и Ендурология, Сандански, 10-12 юни, 2021, 13 стр.

- В. Хаджийска. Диагностика с Ga-PSMA на локални рецидиви след проведено дефинитивно и следоперативно лъчелечение при тумори на простатата. Панагюрище, Трета национална среща по радиохирургия. 1-3 април 2022,

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-113/04.06.2021 Роля на висцералната мастна тъкан и скелетната мускулатура в патогенезата на синдрома на поликистозни яйчници**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева, дм

- Проф. д-р Здравко Каменов, дмн
- Гл. ас. д-р Явор Асьов, дм
- Д-р Пламена Кабакчиева-Георгиева

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, ул. Св. Георги Софийски 1, гр. София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Инсулиновата резистентност (ИР) е сред най-доказаните патогенетични механизми при синдрома на поликистозни яйчници (СПЯ), в които висцералната мастна тъкан и скелетната мускулатура играят важна роля. Целта на проучването е да се анализират адипокините - zonulin и meteorin-like (Metrnl) и миокинините - IL-15, мионектин и brain-derived neurotrophic factor (BDNF) в контекста на хормоналните и метаболитните нарушения при СПЯ. Включени са общо 88 жени - 58 жени със СПЯ и 30 здрави контроли. Диагнозата СПЯ е поставена на базата на Ротердамските критерии на ESHRE/ASRM. Пълна медицинска история, клинични, антропометрични, биохимични и хормонални измервания са проведени във фоликуларна фаза. Серумните нива на адипо- и миокините са измерени чрез ELISA. Пациентите и контролите се различават сигнификантно по съотношение LH/FSH, всички андрогени и хирзутизма. Серумните нива на зонулин, Metrnl, мионектин и BDNF са сходни между тях. Жените със СПЯ имат сигнификантно по-ниски нива на IL-15 спрямо здравите контроли ( $p=0,027$ ). Нивата на Metrnl са сигнификантно по-високи сред жените с наднормено тегло/затлъстяване спрямо тези с нормално тегло ( $p<0,001$ ). Множествен линеен регресионен анализ показва, че възрастта, ИТМ и НОМА-IR предсказват нивата на Metrnl сред СПЯ,  $F(3; 54) = 8,75$ ,  $p<0,001$ ,  $R^2 = 0,327$ , от които само НОМА-IR добавя статистическа значимост към модела,  $p = 0,001$ . IL-15 корелира негативно с WHR, нивата на гликемията и инсулина. ROC анализ показва, че AUC за IL-15 диференциращ СПЯ от здрави е 0,644 и определи 23,5 pg/mL като гранични нива с чувствителност 63,3% и специфичност 62,1%. Повишените серумни нива на Metrnl се асоциират с няколко индекса за генерализирано и висцерално затлъстяване, ИР и проинфламаторния маркер – IL-18 при СПЯ. За разлика него IL-15 показва негативна връзка с хипергликемията, хиперинсулинемията, ИР и висцералния тип затлъстяване. Нивата му са значимо по-ниски сред пациентите в сравнение със здравите и би могъл да бъде диагностичен маркер за СПЯ.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-114/04.06.2021 Пандемията от COVID-19 и психосоциалните последици от нея като рискови фактори за влошаване на пациенти с депресивни и тревожни разстройства, сравнени със здрави контроли**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Весела Стоянова Стоянова, дм

- Гл. ас. д-р Росица Владимирова, дм
- Д-р Ивайла Илиева - докторант

**Базова организация:** МУ – София, Медицински Факултет, Катедра по Психиатрия и Медицинска Психология, ул. Георги Софийски 1, гр. София, 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Да се анализира влиянието на COVID-19 върху пациенти с депресия и тревожност, сравнени със здрави контроли с/без фамилна анамнеза за психично заболяване. Да се идентифицират рискови фактори, които водят до високи нива на пандемичен стрес и да се определи до каква степен психично заболяване е рисков фактор. Метод: Проучването е срезово, неинтервенционно, включващо пациенти с депресивно и тревожно разстройство, амбулаторно влошени и в ремисия за периода юли-октомври 2020г. Анализирани са социо-демографски и клинично-психологични фактори и самооценъчни скали за депресия и тревожност (HADS-D/A), самота (UCLA-LS3), възприет стрес (PSS-10), базисна (STAI-T) и ситуативна тревожност (STAI-S). Резултати: Включени са 185 лица разпределени в 6 групи: влошено депресивно разстройство (ВДР); депресивно разстройство/ремисия (ДРР); влошено тревожно разстройство (ВТР); тревожно разстройство/ремисия; здрави контроли (ЗК); контроли/родственици (КР). Всеки втори пациент с депресия има значимо нарушение на професионалното функциониране по време на пандемията ( $p=0,036$ ). Пациентите с ВДР и КР имат значимо повече соматична коморбидност ( $p=0,046$ ) и медицински притеснения ( $p=0,002$ ), свързани с COVID-19. КР се явяват най-уязвими по отношение на нарастването на ситуативната тревожност, свързана с COVID-19 спрямо базисната ( $p=0,011$ ). Лицата в ремисия не се различават от контролите по нивата на PSS-10. ROC curve анализ установява прагови величини за HADS-D( $\geq 2,50$ ), STAI-T( $\geq 38,5$ ), STAI-S( $\geq 39,5$ ) ( $p<0,001$ ) и UCLA-LS3( $\geq 3,50$ ) ( $p=0,007$ ), които определят покачване на риска за умерен/висок стрес, съответно 2,5; 3,4; 6,5 и 2,4 пъти. Женският пол и работата от вкъщи повишават риска съответно 2,6 и 4 пъти. Изводи: Пациентите в ремисия са съпоставими със здрави контроли по нивото на възприет стрес в условията на COVID-19, което подчертава важността на стабилната клинична ремисия. КР се явяват най-уязвими по отношение на нарастването на ситуативната тревожност, свързана с COVID-19. Нивата на депресия, тревожност, самота с предиктивна стойност за възникване на умерен/висок стрес спадат значително в сравнение с установените в популацията при непандемични условия и са значими рискови фактори. Същото важи и за женския пол и работата от вкъщи. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д -115/04.06.2021 Изследване на панкреасната екзокринна функция при пациенти с панкреасни заболявания**

**Изследователски екип:** проф. Борислав Георгиев Владимиров, дм

- Гл.ас. д-р Мила Ковачева-Славова, дм
- Ас. д-р Христо Вълков, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по гастроентерология,  
ул. „Бяло море” 8, София 1527

**РЕЗУЛТАТИ:** Прогресията на хроничен панкреатит (ХП) води до развитие на панкреасна екзокринна и ендокринна недостатъчност (ПЕН) и свързаните с тях

усложнения. Определи се панкреасната екзокринна функция с индиректни методи с цел диагностициране на ПЕН и проследяване на ефекта на приеманата панкреасна ензимна заместителна терапия (ПЕЗТ). Панкреасните морфологични промени се стадираха спрямо Cambridge класификацията. Определи се сърдечно-съровият риск (ССР) чрез скорови системи SCORE, FRS, липиден профил и аполипопротеини (апо). Включени бяха 20 пациента с ХП - 14 мъже, средна възраст 65±14.32г. 7 от пациентите приемаха ПЕЗТ. 53,85% от скринираните пациенти са с ПЕН, от които 71,43% са със структурни промени степен 4. Степента на структурните промени корелира с развитието на ПЕН. Субоптимална ПЕЗТ приемат 42,86%. Тип 3с захарен диабет се установява при 13,33%. Статистически значими корелации има между ССР (SCORE) и пол, възраст, захарен диабет, non-HDL, VLDL, триглицериди, TC/HDL; степента на тежест на ХП. За разлика от SCORE, при пациентите с висок ССР (FRS) наблюдаваме сигнификантно по-високи нива апоВ, по-ниски нива апоА и повишен риск от ОМИ спрямо съотношението АпоВ/АпоА. Липсва значима взаимовръзка със захарен диабет, ПЕН и морфологичните промени при ХП. Наблюдава се статистически значимо по-висок ИТМ при пациентите с висок ССР. Дислипидемия с гранично високи и високи нива на атерогенните TC/триглицериди/LDL има при 45% от пациентите. Липсва корелация между нивата на липидите и ПЕН, ЗД и вредности (алкохол, тютюнопушене). Високи нива на TC/HDL съотношението се наблюдават при 40% от пациентите. Липсва значима разлика в честотата на дислипидемия и тежестта на ХП и структурните промени. Ниски нива на апоА наблюдаваме при 30%. Високи нива на АпоВ имат 40%. Рискът от ОМИ е висок в 50% от мъжете и 40% от жените. Липсва корелация между ЗД и аполипопротеини и липиди. Своевременното верифициране на ПЕН при ХП с цел започване на индивидуална субституираща терапия може да намали усложненията, свързани с основното заболяване.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Yankov, G.S., Keltchev, A.S., Neutov, A.S., Kovacheva-Slavova M.D. Radical Open Resection of Incidentally Discovered Stage IB Synovial Sarcoma of the Diaphragm in a 64-Year-Old Man. Indian J Surg (2023). <https://doi.org/10.1007/s12262-023-03794-0> - (Impact factor)
- М. Ковачева-Славова. Нутритивни дефицити при пациенти след гастроинтестинални резекции. Трета научна конференция Хронични заболявания - патогенеза, диагностика, клиника и превенция. 11-14 май 2023, гр. Несебър

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-116/04.06.2021 Определяне на диагностичната точност на контрастно-усилената ендоскопска ехография в сравнение със стандартните образни методи при пациенти с кистични и солидни неопластични лезии на панкреаса**

**Изследователски екип:** доц. д-р Бранимир Стефанов Големанов, дм

- Проф. д-р Борислав Владимиров, дм
- Д-р Станислав Чурчев
- Д-р Тодор Ангелов

**Базова организация:** МУ–София, МФ, Катедра по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“, София, ул. „Бяло море“ 8, 1527 София

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Определяне на диагностичната точност на контрастно-усилената ендоскопска ехография в сравнение със стандартните образни методи при пациенти с

кистични и солидни неопластични лезии на панкреаса. Материал и методи: Проспективното проучване включва 33 пациенти с огнищни панкреасни лезии. Всички пациенти са хоспитализирани в Клиника по гастроентерология, Катедра по гастроентерология при УМБАЛ “Царица Йоанна - ИСУЛ“, София. На всички пациенти са проведени EUS и CE-EUS, при 20/33 CE-CT и при 22/33 MR/MRCP. Пациентите са разделени в групи спрямо диагнозата от различните образни изследвания, като се сравни диагностичната точност на методите спрямо окончателната диагноза, приета от хистологичен резултат или при клиничното проследяване. Резултатите са обработени на IBM SPSS 20. Резултати: В нашето проучване се установява 70% съвпадение с окончателната диагноза при провеждане на CE-CT, 77.3% при провеждане на MR/MRCP, 79% за конвенционален EUS и 87.9% при CE-EUS. Следователно MR/MRCP и конвенционалният EUS имат съпоставима диагностична точност, по-висока спрямо CE-CT, а при осъществяване на CE-EUS се подобрява диагностичната точност на метода с около 8%. Първоначалните резултати потвърждават, че EUS е методът с най-висока чувствителност за откриване на панкреасни огнищни лезии и провеждането на CE-EUS потенциално допълнително подобрява диагностичната точност.

#### **Научни публикации и прояви:**

- С. Чурчев, Т. Ангелов, Я. Валериева, Н. Колев, Д. Пейчинов, Г. Желев, П. Гецов, Н. Пенков, Б. Коруков, Б. Владимиров, Б. Големанов. Приложение на ендоскопска ехография за предоперативна диагностика на субепителни тумори на стомаха. XVII национален конгрес по хирургия. Парадайс Блу Хотел к.к Албена, 30 Септември – 02 Октомври 2021:119-120(9.3)
- С. Чурчев, Т. Ангелов, Я. Валериева, Н. Колев, Д. Пейчинов, Г. Желев, П. Гецов, Н. Пенков, Б. Коруков, Б. Владимиров, Б. Големанов. Приложение на ендоскопска ехография за предоперативна диагностика на субепителни тумори на стомаха. Сборник с доклади от XVII национален конгрес по хирургия. 2021;2:167-172
- Churchev S, Angelov T Vladimirov B, Golemanov. B. Duodenal metastatic malignant melanoma: case report. Br J Hosp Med – ahead of print

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-117/04.06.2021 Специфични ренални маркери, отличаващи началната диабетна нефропатия от доброкачествена транзиторна микроалбуминурия при юноши с тип 1 захарен диабет**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Мария Симеонова Гайдарова, дм

- Доц. д-р Радка Христова, дм
- Ас. д-р Искра Модева
- Гл. ас. д-р Аделина Цакова, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра педиатрия, СБАЛДБ „Проф. Иван Митев“, Клиника по ендокринология, диабет и генетика, бул. Ак. Иван Гешов, 11, София, 1612,

**РЕЗУЛТАТИ:** Като златен стандарт за ранна диагностика на диабетната нефропатия е наложено изследването за микроалбуминурия (МАУ). Клиничната практика, обаче показва, редица несъвършенства в специфичността и предсказващата й стойност. Възниква необходимостта от изследване на нови по-ранни и специфични маркери. В настоящото проучване се изследват за първи път едновременно четирите уринарни показателя нефрин, трансферин, ТНФ-алфа и колаген тип IV при юноши с тип 1 захарен

диабет, с цел оценка на приложимостта им като ранни маркери за диабетна нефропатия. В проучването се включиха 85 юноши. Уринарните маркери нефрин, трансферин, ТНФ-алфа и колаген тип IV се изследваха в първа сутрешна урина. Изчислиха се съотношенията между посочените маркери и креатинин от същата проба. МАУ се оцени чрез изследване на 24-часова уринна секреция на микроалбумин и отношение МАУ/креатинин в първа сутрешна урина. Нивото на метаболитен контрол се оцени чрез изследване на гликиран хемоглобин (HbA1c) и липиден профил. Бъбречната функция се оцени чрез изследване на бъбречни показатели и изчисляване на GFR по формулата на Шварц. Резултатите се обработиха статистически чрез непараметричен анализ Kruskal-Wallis тест и Wilcoxon signed-rank тест. Пациентите се разделиха в 3 групи според гликемичния контрол: група 1- HbA1c<7%; група 2- HbA1c 7-9%, група 3- HbA1c>9%. В зависимост от наличието на микроалбуминурия пациентите се разделиха на 2 групи: група с МАУ и без МАУ. Съпоставката на средните стойности между групите с различен гликемичен контрол откри статистически значима разлика между групите при съотношенията нефрин/креатинин ( $p=0.013$ ), ТНФ-алфа/креатинин ( $p=0.006$ ), колаген тип IV/креатинин ( $p=0.024$ ). Стойностите на коефициентите са в положителна зависимост от HbA1c. Съпоставката на средните стойности между двете основни групи с или без МАУ откри статистически значима разлика между групите при съотношенията трансферин/креатинин ( $p=0.002$ ), колаген тип IV/креатинин ( $p=0.002$ ), ТНФ-алфа/креатинин ( $p=0.019$ ). При пациентите с микроалбуминурия стойността на съотношенията на посочените маркери е по - висока. Резултатите сочат, че изследваните показатели показват значителен потенциал за ранни и специфични маркери при диабетна нефропатия при деца с тип 1 захарен диабет.

#### **Научни публикации и прояви:**

- И. Модева, Р. Савова, М. Гайдарова Диабетна нефропатия, диагностични маркери и нови перспективи. GP News бр 11/2022

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-119/04.06.2021 Приложимост на симулатор за минимално инвазивна ринг-анулопластика на митрална клапа**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Димитър Иванов Кючуков, дм

- Гл. ас. д-р Светослав Димитров, дм
- Ас. д-р Станислава Стойчева,

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра “Сърдечно-съдова хирургия и инвазивна кардиология“, УМБАЛ “Св. Екатерина“, Бул. П. Славейков 52А, гр.София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Следоперативните резултати при пластика на митралната клапа са пряко свързани с качеството на хирургичната техника и тренировъчната крива. Въз основа на това заключение Катедрата по сърдечно-съдова хирургия и инвазивна кардиология избра, и благодарение на Медицински университет София се придоби симулатор за минимално инвазивна хирургия на митралната клапа, разработен в Университета в Маастрихт, Холандия. Цел: Целта на този проект е да се определи способността на симулатора да генерира възпроизводими умения позволяващи извършване на миниинвазивна ринг-анулопластика на митралната клапа. Материали и методи: Обект на изследването бяха 20 хирурзи. Според квалификацията си участниците бяха разделени на две групи. Група 1 – 10 хирурзи, със специалност. Група 2 – специализанти. Статистическите сравнения на резултатите между двете групи се извършиха с Тестът Man-Whitney U. За да се оцени напредъкът във всяка от групите, беше направено допълнително сравнение, като се използва анализ на дисперсията

(ANOVA). Статистическите изчисления бяха извършени с помощта на софтуера на програмата SPSS Statistics 28.0.1. Стойността на  $p < 0,05$  се счита за статистически значима. Резултати: Първоначалните резултати показаха значителна разлика между изходните нива на групите (Среден резултат  $\pm$  SD;  $3,2 \pm 0,91$  в група 1 срещу  $2,0 \pm 0,81$  в група 2;  $p = 0,015$ ). След сесията за запознаване и двучасово обучение със симулатора, статистическият анализ не показва значима разлика между две групи във втората и третата времеви точки: ( $4.3 \pm 0.82$  срещу  $4.0 \pm 0.66$ ;  $p = 0.624$  и  $4.1 \pm 0.56$  срещу  $4.0 \pm 0.47$   $p = 0,764$ ). Заключение: Използването на симулатор за придобиване на умения за въвеждане на нови методики и техники в кардиохирургията е оправдано. Проектът документира предложената методика на обучение като притежаваща необходимите качества за въвеждане в системата на специализация.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Kyuchukov D, Dimitrov Sv, Stoycheva St, et al. Commissioning of simulation learning for minimally invasive ring-annuloplasty of the mitral valve. Bulgarian Thoracic, Cardiac and Vascular Surgery. 2022;1(5):64-5.
- Кючуков Д, Димитров Св, Стойчева Ст, Въвеждане на Симулационно обучение за минимално инвазивна ринг-анулопластика на митралната клапа. Девети конгрес на Българската асоциация по Гръдна, Сърдечна и Съдова Хирургия. Варна, България. 13-15.05.2022.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-120/04.06.2021 Влияние на симпатиковата нервна система, катехоламините, и техния регулатор реналаза за развитието на поликистозен овариален синдром и неговите клинични прояви**

**Изследователски екип:** Доц. д-р Ралица Николаева Робева, доктор

- Доц. д-р Атанаска Еленкова
- Д-р Ивайла Узунова
- Д-р Николина Арнаудова

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по ендокринология, УСБАЛЕ “Акад. Ив. Пенчев“, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Влиянието на симпатиковата нервна система и катехоламините при пациентки със синдром на поликистозните яйчници (ПКОС) не е проучено. Затова настоящият проект си постави за **цел** да изследва ролята на катехоламиновите метаболити - метанефрин (МН) и норметанефрин (НМН), техния регулатор реналаза, както и невралния растежен фактор 1 (НРФ1) за развитието и клиничната изява на ПКОС. Бяха изследвани 51 болни с ПКОС и 30 здрави доброволки. Бяха събирани антропометрични, биохимични и хормонални данни от всички участнички. Бяха сравнени нивата на плазмени и уринни МН и НМН, серумните нива на реналаза и НРФ1 между двете групи изследвани жени. Резултатите показаха значимо по-високи нива на плазмените НМН при пациентки с ПКОС в сравнение със здравите контроли, като подобни разлики в уринните метаболити не бяха установени. Нивата на НРФ1 също бяха значимо по-високи при пациентките с ПКОС в сравнение със здравите доброволки. Повишените нива на плазмените НМН се оказаха значим рисков фактор за развитието на ПКОС, менструални нарушения и хирзутизм. По-ниските нива на уринни МН бяха значим рисков фактори за хронична ановулация при младите жени. Нивата на плазмените НМН бяха правопрпорционални на НРФ1, анти-Мюлеровия хормон, лутеинизиращия хормон, пролактина и 17-хидроксипрогестерона. В групата на жените с ПКОС, тези с по-високо артериално налягане показаха значимо по-ниски нива на



реналаза в сравнение с жените с по-ниско артериално налягане. В обобщение, нашите резултати водят до следните основни изводи:

- ПКОС е синдром, свързан с изразена симпатикотония и повишени нива на плазмените НМН и НРФ1 независимо от фенотипа;
- повишените нива на плазмени НМН и НРФ1 са свързани с повишена секреция на ЛХ и пролактин, което може да модулира стероидогенезата;
- нивата на реналаза модулират артериалното налягане при пациентките с ПКОС;
- тези резултати може да повлияят терапевтичните подходи при ПКОС и хипертония.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Robeva R, Arnaudova N, Kirilov G, Elenkova A, Zacharieva S. Metanephrine and Normetanephrine Urine Excretion in Patients with PCOS. Acta Medica Bulgarica 2022; 49(2):5-10.
- Robeva R, Elenkova A, Kirilov G, Zacharieva S. Plasma-free metanephrines, nerve growth factor, and renalase significance in patients with PCOS. Endocrine, 2023, <https://doi.org/10.1007/s12020-023-03404-9>

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-121/04.06.2021 Промени в костната минерална плътност при първичен хиперпаратиреоидизъм и аутоимунен тиреоидит на Хашимото**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Русанка Димитрова Ковачева-Георгиева, дм

- Доц. д-р Александър Шинков, дм
- Д-р Инна Янкова, докторант

**Базова организация:** МУ–София, МФ, Катедра по ендокринология, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ ЕАД, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Да се сравни костната минерална плътност (КМП) при лица с първичен хиперпаратиреоидизъм (ПХПТ) с и без аутоимунен тиреоидит (АТ), както и такива само с АТ; да се определи влиянието на двете заболявания, заедно и поотделно, върху костния метаболизъм. Материал и методи: От всички 251 пациента с доказан ПХПТ, преминали през УСБАЛЕ за периода на проекта, бяха включени 70 пациента - 35 само с ПХПТ и 35 с ПХПТ и АТ. Определиха се две контролни групи: 20 лица само с АТ и 21 здрави лица, без ПХПТ и без АТ. При всички участници бяха изследвани показатели на калциево-фосфорна обмяна и се измери КМП на лумбални прешлени (BMD L1-L4) и дистална трета на радиус (BMD DR). Резултати: Честотата на АТ сред пациентите с ПХПТ беше 38.2% (95% CI 33-43%) и не се отличаваше значимо от тази в общата популация, 32.5% (95% CI 30-35%),  $p=NS$ . Не се установи статистически значима разлика във възрастта, ИТМ, рутинните показатели на калциево-фосфорната обмяна и КМП при пациентите с ПХПТ с и без АТ. Нямаше разлика в изследваните показатели и между здравите лица и тези с АТ ( $p>0.05$ ). BMD L1-L4 и BMD DR бяха значимо по-ниски при пациентите с ПХПТ в сравнение с контролните групи ( $0.97\pm 0.14$  срещу  $1.06\pm 0.16$ ,  $p=0.002$  за BMD L1-L4 и  $0.55, 0.44 - 0.61$ , срещу  $0.59\pm 0.07$ ,  $p=0.003$  за BMD DR). Установи се статистически значима отрицателна корелация на КМП с нивата на калций и ПТХ ( $p<0.001$ ). Не се установи зависимост между КМП и наличието на АТ. Изводи: Всички участници с ПХПТ бяха с по-ниска КМП. Съпътстващият АТ не оказва влияние върху КМП при пациенти с ПХПТ. Липсваха доказателства за асоциация между ПХПТ и АТ. Остава необходимостта от по-нататъшни изследвания за изясняване на проблема.

Научният отчет е приет с ***ДОБРА*** оценка по скалата на СМН.



**Договор Д-108/24.06.2020 Барieri за достъп до дентално здраве от страна на пациента и влиянието им върху денталното здраве****Изследователски екип:** Доц. Бойко Костов Бонев, дм

- Ас. Станислав Ненов
- Гл. ас. Петър Божинов
- Доц. Николай Христов

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по дентална медицина, Катедра „Обществено дентално здраве“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведено е национално епидемиологично изследване на хората на възраст 18-65 години. Прегледани са 416 души в шест областни града. Целта на проучването е да се установят основните барieri за достъп до дентална помощ, денталният и пародонталният статус на пациентите, както и зависимостите между тях. В резултат от изследването се установи, че разпространението на денталния кариес (ЕТ) сред популацията е 52.7%, а интензитетът (DMF) е 16. Засегнати от кариес (D) са 11.13% от изследваните зъби, като се наблюдават средно по 3.4 кариозни зъби на едно лице. Процентът на екстрахираните зъби (М) е 9.24%, при средно 2.4 извадени зъба. Лекувани (F) са средно по 9.95 зъба на пациент, като 32.3% от всички изследвани зъби са претърпели дентално лечение. При лицата, посещаващи редовно дентален кабинет се наблюдават по-малък брой кариеси и екстрахираните зъби. При 83.65% от пациентите е установена пародонтална патология като по-тежките форми засягат предимно долния фронтален участък, докато по-често здрав пародонт се регистрира в горна челюст с превес във фронталния участък. Основните барieri за достъп до дентално здраве са от страна на пациентите (67.09%) като водеща е липсата на субективни оплаквания (31.21%), следвана от психо-социалните фактори като липса на време (17.8%) и страхът от дентални манипулации (16.67%), както и цената на лечението (15.54%), като 46.15% от пациентите посочват наличието на повече от една барiera. По-голям брой кариозни зъби се наблюдават при пациентите, посочващи като пречка цената на лечението, както и миналия лош опит от дентално лечение. От тези резултати можем да направим следните заключения: Незадоволителното състояние на денталното здраве на българското население показва необходимостта от разработване на национална здравна стратегия за неговото подобряване с фокус върху профилактиката на денталните и пародонталните заболявания. За намаляване влиянието на барierите за достъп до дентална помощ, е необходимо повишаване на здравната култура на населението и активното утвърждаване на принципите на промоция на здравето.

**Научни публикации и прояви:**

- Nenov St, Bonev B, Bozhinov P, et al. Barriers for access to dental services related to patients and their impact on dental health - pilot study. Problems of dental medicine. 2020; 46(2):52
- Nenov St, Bonev B, Bozhinov P, et al. Dental Status of Active Age Population in the Republic of Bulgaria. C. R. Acad. Bulg. Sci. 2022;75:612-9.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-125/24.06.2020 Измерване на здравната грамотност на населението и организациите в Р. България

**Изследователски екип:** Проф. Антония Йорданова Янакиева, дм

- Проф. д-р Каролина Любомирова, дм
- Проф. д-р Цветомир Димитров, дм
- Доц. Александрина Воденичарова, дм
- Гл.ас. Елисавета Петрова-Джеретто, дм
- Ас. Кремена Иванова
- Доц. Тодор Кундуржиев, дм

**Базова организация:** МУ - София, ФОЗ „Проф. д-р Ц. Воденичаров, дмн“, Катедра Оценка на здравните технологии

**РЕЗУЛТАТИ:** Резултатите от второто европейско проучване на здравната грамотност в 17 европейски държави показа, че много европейци се затрудняват да преценят различните възможности за лечение, да използват медийна информация за предотвратяване на заболяване и да намерят информация за това как да се справят с психичните проблеми. Десет години след първото европейско проучване на здравната грамотност (HLS-EU) в осем държави от ЕС, резултатите от второто европейско проучване на здравната грамотност (HLS19) са въз основа на опита на 42 445 респонденти в 17 страни от европейския регион на СЗО. Включените държави са Австрия, Белгия, България, Чехия, Дания, Франция, Германия, Унгария, Ирландия, Израел, Италия, Норвегия, Португалия, Руската федерация, Словакия, Словения и Швейцария. Новоразработените и валидирани инструменти за измерване се фокусираха върху общата и специфични видове здравна грамотност, например здравна грамотност за навигация, комуникативна здравна грамотност с лекари, цифрова и свързана с ваксинацията. Освен това здравната грамотност и качеството на живот бяха анализирани във връзка с разходите за здравеопазване. Основни резултати от изследването:

- Между 25%-72% от респондентите са идентифицирани като имащи предизвикателства в областта на здравната грамотност, като по този начин, в зависимост от държавата, между един от четири до три от всеки четири жители имат ограничена здравна грамотност.
- По отношение на навигационната здравна грамотност, участниците намериха за най-трудно разбирането на информацията за реформите в здравеопазването, преценката за пригодността на здравните услуги, научаването за правата на пациентите и преценката на степента на здравноосигурително покритие.
- По отношение на комуникативната здравна грамотност най-трудно е да имат достатъчно време с лекаря и да изразят лични възгледи и предпочитания. Освен това е установено, че участниците с по-ниска здравна грамотност имат повече контакти с общопрактикуващи лекари и спешната помощ.

**Научни публикации и прояви:**

- Jürgen M. Pelikan (International PI), Christa Straßmayr (Coordination), Thomas Link, Dominika Mikšová, Peter Nowak; Austria: Robert Griebler, Christina Dietscher; Belgium: Stephan Van den Broucke, Rana Cheruffedine; Antoniya Yanakieva, et al: International Report on the Methodology, Results, and Recommendations of the European Health Literacy Population Survey 2019-2021 (HLS19) of M-POHL, Dec 2021

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-126/24.06.2020 Проучване ефективността на иновативен модул за повишаване компетентността по оказване на помощ при спешни състояния сред студенти от Медицински колеж „Й. Филаретова“**

**Изследователски екип:** Проф. Мая Любомирова Визева, дм

- Доц. д-р Мая Ляпина, дм
- д-р Николай Хубанов, дм
- Елена Георгиева, дм
- Доц. д-р Дончо Етугов, дм
- Гл. ас. Камелия Богданова, дм
- Мария-Магдалена Петрова
- Петър Иванов

**Базова организация:** МУ - София, Медицински колеж „Йорданка Филаретова”

**РЕЗУЛТАТИ:** Непрестанното актуализиране на учебните програми, разработването и въвеждането на иновативни модули и схеми на обучение във връзка с готовността на специалистите по здравни грижи за оказване на спешна помощ, понастоящем е от съществена важност, на фона на възможните извънредни ситуации за общественото здраве. Целта на проведеното изследване включваше два основни аспекта: оценка на теоретичните познания и практически умения за оказване на медицинска помощ при спешни състояния в началото на проучването; разработване и приложение на иновативен модул в обучението и оценка на ефективността му. За началната оценка на нивото на теоретични познания и практически умения на студентите, беше проведено анкетното проучване сред 84 студенти от трети курс от специалностите медицински лаборант, рентгенов лаборант и рехабилитатор. За разработването и последващото прилагане на иновативния метод в обучението за усвояване на нови практически умения и манипулативни бяха закупени подходящи мулажи и медицински консумативи. Ефективността от въвеждането на модула оценихме чрез анализ на обобщените данни от анонимна анкета за удовлетвореността на участниците от обучението. Анкетиранияте студенти единодушно посочиха, че той е бил много полезен, като 94,3% от тях изразиха пълна си удовлетвореност от него, демонстрираха голям интерес към модула и изявиха желанията си такъв тип обучение да бъде провеждано по-често по време на курса на обучението им в колежа. Студентите отправиха и някои практически препоръки по отношение актуализиране и допълване на учебните програми по долекарска помощ и грижи за болния, като основен акцент те поставиха върху необходимостта от повече часове за практически занятия, особено във връзка с усвояването на инжекционните техники. Извършените дейности по разработването, внедряването и провеждане на обучението по иновативния модул обогатиха спектъра на прилаганите практически подходи и манипулативни техники и повишиха ефективността на подходите за намаляване на риска при спешни случаи, налагащи животоспасяващи мероприятия.

**Научни публикации и прояви:**

- Визева М, Савова З, Ляпина М, и др. Обучение на студентите от професионално направление здравни грижи с колежанско образование за участието им в оказване на спешна помощ. *Здраве и наука*, 2020;1-2:9 -12.
- Ляпина М, Савова З, Георгиева Е, и др. Проучване ефективността на приложението на иновативен модул за повишаване компетентността по оказване на помощ при спешни състояния сред студенти от Медицински колеж „Й. Филаретова”. *Здраве и наука*, 2021, 1-2, с. 51-55

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-127/24.06.2020 Сравнителна оценка на съдържанието на антиоксидантни полифенолни съединения в медицински растения, техни плодове и хранителни добавки**

**Изследователски екип:** Доц. Силвия Парашкевова Цанова-Савова, дм

- Доц. Стефан Великов, дм
- Пепа Николчова
- Славейка Панева, дм
- Петя Колева
- Доц. Николов Етугов, дм

**Базова организация:** МУ – София, Медицински колеж „Йорданка Филаретова“

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящето изследване е сравнителна оценка на антиоксидантния полифенолен състав в български лечебни растения, техни плодове и съдържащи ги хранителни добавки, чрез определяне на степента на подобие. В настоящето проучване са изследвани 18 различни български лечебни растения (стрък, цвят, лист или плод) и 5 вида хранителни добавки. Общите феноли и флавоноиди бяха определени посредством спектрофотометрични методи, съответно с реактив на Фолин-Чокалто и с алуминиев трихлорид. За определяне на флавоноидите – катехин, епикатехин и рутин бе разработен и валидиран ВЕТХ метод с УВ фотодиодна детекция. Извършена е сравнителна характеристика на избраните лечебни растения, плодове и хранителни добавки, чрез прилагане на изчислителни методи и клъстерен анализ. Резултатите от изследваните водните извлеци на плодове и дроги показват че най-високо съдържание на общи феноли съединения се установява в инфузия на глог, цвят- 191.35 mg GAE/100 ml, декокт от шипка, плод - 166.5 GAE/100 ml и инфузия от жълт кантарион, стрък -103.61 GAE/100 ml. Съдържанието на общи флавоноиди е най-високо при глог, цвят (178.31 mg RE/100 ml), следвано от шипка, плод (85.45 mg RE/100 ml) и риган, стрък (78.16 mg RE/100 ml). Анализът на данните показва, че цветовете и плодовете на черен бъз са най-богатият източник на рутин в избраните изследвани растения. Сред хранителните добавки, сиропът от черен бъз, съдържащ стандартизиран екстракт на *Sambicus nigra* е най-богатият източник на общи феноли и общи флавоноиди, а хранителната добавка, съдържаща мента, глог и валерина е с най-високо съдържание на рутин. Резултатите показват, че инфузии от цветовете на глог имат най-високи стойности на полифеноли, образувайки отделен клъстер при йерархичния клъстерен анализ. Сред плодовете няма единствен лидер по отношение на съдържанието на общите феноли и общите флавоноиди. Оценката на степента на подобие на полифенолното съдържание на лечебните растения и техните плодове предоставят количествени данни, които могат да бъдат използвани за разработване на ефективни антиоксидантни растителни комбинации.

**Научни публикации и прояви:**

- Николчова П, Колева П, Цанова-Савова С, Панева Сл, Великов С, Етугов Д, Полифеноли в български медицински растения, Информационен материал, София, 2021 г.
- Колева П, Панева Сл, Цанова-Савова С. Съдържание на фенолни съединения в инфузии и декокти на български медицински растения. Деветнадесета национална научна сесия за студенти и преподаватели. Медицински университет – Плевен,

Медицински колеж, Плевен, 28-29 октомври 2021. Издание в електронен вид, Издателски център на МУ-Плевен, ISBN 978-954-756-266-0, 123-130.

- Цанова-Савова С, Колева П, Панева Сл, Николчова П, Антиоксидантът рутин в български медицински растения, Презентационен форум на Медицински колеж „Йорданка Филаретова” – София, Международно изложение Булмедика, Булдентал, Интер Експо Център – София, 2-4.06.2021 г.
- Цанова-Савова С, Николчова П, Панева Сл, Колева П, Антиоксидантен ефект на лечебните растения. Здраве и наука. 2020, година X, брой 3-4 (039-040): 25-31.
- Paneva S, Tsanova-Savova S, Velikov S, Total Phenolic and Total Flavonoids Content of Bulgarian Medical plants, Abstracts Book, 4th International Conference on Innovative Studies of Cotemporary Science. July 29-31, 2021.
- Koleva P, Tsanova-Savova S, Paneva S, Velikov S, Savova Z, Polyphenols content of selected medical plants and food supplements present at Bulgarian market. Pharmacia, 2021, 88(4):819-826.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-107/04.06.2021 Изследване на дишането при жени в  
трудоспособна възраст (18-64 години) от сферата на здравните грижи**

**Изследователски екип:** Проф. Галина Стамова Чанева, дм

- Доц. Пепа Бикова–Иванова, дм
- Доц. Деляна Хаджиделева, дм
- Доц. д-р Даниела Гавраилова, дм
- Доц. Александрина Воденичарова, дм
- Доц. Милена Янчева-Стойчева, дм
- Гл. ас. д-р Снежина Лазова, дм
- Доц. Нели Градинарова, дм
- Гл. ас. Жулиета Геренова, дм
- Доц. Анушка Димитрова, дм
- Гл. ас. Камелия Богданова, дм
- Гл. ас. Таня Ангелова, дм
- Гл. ас. Боряна Симеонова, дм
- Антоанета Димитрова, дм
- Галя Заякова, докторант
- Марин Маринов, докторант
- Ас. Димитрина Миликина, докторант
- Ас. Илиана Соколова, докторант
- Маргарита Станоева
- Кръстина Терзиева, студент
- Маргарита Стоичкова, студент
- Катрин Личева, студент
- Мелани Волева, студент
- Диляна Никова–Пейчева, студент
- Борислав Петров, студент
- Едуарда Иванова, студент

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по Обществено здраве „Проф. д-р Цекомир Воденичаров, дмн“, Катедра по Здравни грижи, ул. „Бяло море“ 8, гр. София 1527

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е да се проведе изследване на дишането чрез спирометрия и да се анализират някои фактори, които имат влияние върху състоянието на дихателната система. В проучването са включени студенти от Факултета по Обществено здраве „Проф. д-р Ц. Воденичаров, дмн“; професионалисти по здравни грижи от лечебните заведения на гр. София и от структури на Столично общинско здравеопазване. Използваните методи са спирометрия, антропометрични изследвания, анкетно проучване и статистически анализи. Извършено е функционално изследване на дишането – чрез спирометър – Minispir, като са анализирани някои от показателите на дишането - форсиран витален капацитет FVC\_Pred%, форсирания експираторен обем за първата секунда от експириума FEV1\_Pred % и коефициента на Tiffneau FEV1/FEV\_Pred% представени като процент. Анализирани са соматичните показатели на изследваните лица (тегло, ръст, индекс на телесна маса) и някои от рисковите фактори като тютюнопушене, преболедували от Covid-19 и усложнения от страна на дихателната



система. При анализиране на кривата от спирометрията се установи, че в зелената зона са 72,20%, в жълтата зона – 26,20%, в червената зона са 1,6%. Съсловието на медицинските сестри, акушерките и останалите професионалисти по здравни грижи са подложени на редица рискови фактори, които водят до негативно влияние върху състоянието на дихателната система, а от там и на тяхната трудоспособност. Наднорменото тегло при жените от сферата на здравните грижи се увеличава, с увеличаването на възрастта. Тютюнопушенето е сериозно разпространено в средите на медицинските специалисти, което налага въвеждането на програми насочени към ограничаване на този рисков фактор за дихателната система. Значителна част от професионалистите по здравни грижи са преболедували от COVID-19, като голяма част от тях имат усложнения от страна на дихателната система. За да се предотвратят още по-сериозни увреждания на белия дроб е необходимо разработването и бързото въвеждане на програми за превантивни грижи и рехабилитация за всички професионалисти, които са боледували от коронавирусната инфекция, независимо от тежестта на протичането ѝ.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Чанева Г., К. Богданова, Д. Миликина, Влияние на някои фактори върху дихателната система при професионалистите по здравни грижи. International Journal MEDIS, Vol1, № 2, 2022.
- Хаджиделева Д., С. Лазова, М. Янчева-Стойчева, Д. Гавраилова, К. Богданова. Функционално изследване на дишането при професионалисти по здравни грижи, като гаранция за запазване на тяхната трудоспособност и здраве. Сп. Здравни грижи, бр. 2, 2022 г. (под печат)
- Чанева, Г., П. Бикова-Иванова, Милена-Янчева Стойчева, И. Соколова, Ж. Геренова. Потребност от промотивни и превантивни програми за професионалистите по здравни грижи относно съхраняване и подобряване на дишането. Сп. Здравни грижи, бр. 2, 2022 г. (под печат).
- Бикова-Иванова, П., Д. Гавраилова, К. Богданова, И. Соколова, М. Стоичкова. Компетенции на студентите от специалност медицинска сестра относно функционалното изследване на дишането. Сп. Сестринско дело, бр. 3, 2022 г. (под печат).
- Чанева Г., Д. Хаджиделева, А. Димитрова, С. Лазова, К. Богданова. Влияние на Covid-19 – инфекцията върху дихателната система при жени от сферата на здравните грижи. Сп. Сестринско дело, бр. 3, 2022 г. (под печат).

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-109/04.06.2021 Видеоалгоритмите, като средство за повишаване качеството на обучение по здравни грижи в електронна среда**

**Изследователски екип:** Проф. Павлинка Петкова Добрилова

- Доц. Галя Янкова
- Доц. Калина Стефанова
- Гл. ас. Цветанка Джиганска
- Ас. Любомир Маринов
- Силвия Петрова, студент

**Базова организация:** МУ - София, Филиал „Проф. д-р Иван Митев“, гр. Враца, Катедра „Здравни грижи“, бул. „Втори юни“ 179, гр. Враца

**РЕЗУЛТАТИ:** Научното изследване установи, че прилагането на видеоалгоритмите в образователния процес води до повишаване качеството на обучение по здравни грижи и

способства за изграждане на психомоторни умения и професионална компетентност на студентите обучавани в електронна среда. Видеоалгоритмите посрещат новите образователни нужди, възникващи в условията на хибридно обучение и имат ключово значение за качеството на учебния процес. Използването на видеоалгоритми при провеждането на практически упражнения за превързочна техника води до повишаване нивата на усвояване на знания и формиране на манипулативни умения, както и позволява на студентите да работят самостоятелно, което е особено подходящо при провеждане на обучението в електронна среда. Доказано бе, че въвеждането на видеоалгоритми в образователния процес води до усъвършенстване уменията на студентите и повишава тяхната удовлетвореност от практическото обучение, което е предпоставка за по-добре подготвени и добре обучени професионалисти по здравни грижи в сферата на здравеопазването. Разработените видеоалгоритми за превързочна техника са внедрени в преподаването по учебните дисциплини „Сестрински грижи при болни с хирургични заболявания“, „Специални грижи за бременни и родилки с хирургични заболявания“ и „Десмургия“ на студентите от специалностите „медицинска сестра“, „акушерка“ и „лекарски асистент“ във Филиал „Проф. д-р Ив. Митев“, гр. Враца към МУ - София.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Pavlinka P. Dobrilova, Galya T. Yankova, Analysis of the need to introduce video didactic materials in health care education, International Scientific Publications: Education, Research and Development, 2021, Volume 19, ISSN 1314-7277, www.sciencebg.net, 108-114
- Galya T. Yankova, Pavlinka P. Dobrilova, Role and place of video algorithms in teaching bandaging techniques, International Scientific Publications: Education, Research and Development, 2021, Volume 19, ISSN 1314-7277, www.sciencebg.net, 403-410
- Доброилова, П. Янкова, Г., Видеоалгоритмите като средство за повишаване на практическите умения на студентите от професионално направление „Здравни грижи“, сп. Сестринско дело, 2022, 54(2): 3-8
- Янкова, Г., Доброилова, П., Учебните видеоалгоритми – нова парадигма в преподаването на превързочни техники на студентите по здравни грижи, сп. Сестринско дело, 2022, 54(2): 31-38
- Джиганска, Цв, Стефанова, К., Проучване нагласите на студентите за обучение по десмургия чрез видеофилми, Пета юбилейна научна конференция с международно участие „Съвременни предизвикателства пред здравните грижи“, Сборник доклади, Враца, ISBN 978-619-7491-49-4, ЦМБ, МУ - София, 2021, 131-134
- Янкова, Г., Доброилова, П., Електронното обучение – предизвикателство за студентите по здравни грижи по време на пандемия, Пета юбилейна научна конференция с международно участие „Съвременни предизвикателства пред здравните грижи“, Сборник доклади, Враца, ISBN 978-619-7491-49-4, ЦМБ, МУ - София, 2021, 135-140

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### Договор Д-74//24.06.2020 Генетични фактори, повлияващи възрастта на начало на заболяването при пациенти с транстиретинова амилоидоза в българската популация

**Докторант:** Зорница Николова Павлова

**Научен ръководител:**

- Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн
- Проф. Албена Тодорова, дбн

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра „Медицинска химия и биохимия“, ул. Здраве № 2, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Наследствената транстиретинова амилоидоза (АТТР) е автозомно-доминантно генетично заболяване, причиняващо се от патогенни варианти в *TTR* гена. Те водят до натрупване на амилоидни фибрили в различни тъкани, поради което заболяването е с мултисистемно засягане. Неврологично, кардиологично или смесено засягане може да се наблюдава при различните патогенни *TTR* варианти, но се наблюдават разлики в клиничната изява дори в рамките на една и съща популация носители на един патогенен *TTR* вариант. С настоящата разработка бяха анализирани 124 ДНК проби на носители на ендемичния за България Glu89Gln *TTR* вариант. Целта беше изследване на предварително подбрани 8 единични нуклеотидни полиморфизма с доказан ефект върху възрастта на начало на заболяването при европейска популация от Val30Met АТТР пациенти. Избраните полиморфизми бяха изследвани чрез директно секвениране по Sanger и резултатите послужиха за последващ статистически анализ. Генотип-фенотипна корелация беше изследвана в контекста на възрастта на начало на заболяването и първоначалното системно засягане. Бяха използвани методи за определяне на статистическа значимост на хипотезата чрез прилагане на Хи-квадрат метода, имплементиран в софтуера за анализ SPSS. При алфа ниво на значимост 0.05 не беше установена корелация в нито един от тестваните модели: корелация при ранно начало под 40 год. и под 50 год., както и корелация с първоначалното системно засягане. Теоретичен хаплотип на изследваните пациенти беше реконструиран въз основа на изследваните полиморфизми чрез използване на програмата Arlequin v.3.01. Резултатите показаха, че 75 % от хоромозомите са с един и същ теоретичен хаплотип, което подкрепи първоначалните данни за ефект на родоначалника. Получените резултати показват, че изясняването на причината за хетерогенността в клиничната изява на АТТР пациентите, носители на най-честия за България вариант Glu89Gln все още не може да бъде доказана. Установяването на причините за различията в клиничната изява остава ключова за прогнозирането и генетичното консултиране на семействата с доказана АТТР патология и би допринесло за развитието на правилна и навременна диагностика и терапия.

Оценки по скалата на СМН

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## Договор Д-77//24.06.2020 Експериментално нутритивно модулиране на експресията на гени от инсулиновия сигнален път

**Докторант:** д-р Ивелина Димитрова Михалева

**Научен ръководител:**

- Доц. Павлина Гатева, дм,
- Проф. Иванка Димова, дм

**Базова организация:** МУ - София, Катедра по Фармакология и Токсикология, МФ, МУ – София, ул. Здраве № 2, гр. София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Кетогенната диета (КД) представлява нисковъгледехидратна високомазнинна диета, която се прилага при различни здравословни състояния. Има положителни ефекти върху сърдечно-съдовите параметри, мастната тъкан, а също и подобрява компоненти от метаболитния синдром. Въпреки че броят на проучванията върху ефикасността и метаболитните ефекти на КД се увеличават с годините, ефектите на макронутриент-контролираните диети остава противоречив. От друга страна се набират все повече данни за положителните ефекти на витамин Д върху инсулиновата чувствителност. Целта на нашето проучване е да анализира експресионните нива на гени, свързани с инсулиновата секреция, в панкреас на мишки. Материали и методи: мишките бяха разделени на 4 групи (n=10): хранени с КД, приемащи витамин Д, на суплементация с КД и витамин Д, и контроли. След 1 месец се изолира РНК от панкреасите и след обратна транскрипция чрез real time PCR се анализираха следните гени: *INS* (кодиращ инсулин), *GCK*(кодиращ глюкокиназа), *ABCC8* и *KCNJ11*(кодиращи двете субединици *SUR1* и *Kir6.2* на АТФ-чувствителния калиев канал). Изследваха се и някои биохимични показатели, а също и активността на хистондеацетилазата във всяка от групите. Резултати: Животните във всяка от групите статистически значимо повишаваше теглото си ( $p < 0.001$ ). В сравнение с контролната група и трите третирани експериментални групи показаха значително по-ниско тегло след първия месец ( $p < 0.001$ ). КД намалява експресията на гените *INS*, *GCK*, *ABCC8* and *KCNJ11*; прилагането на витамин Д заедно с КД повишава транскрипционните нива на инсулиновия ген около 3 пъти, без да се достига стойността на контролите; витамин Д сигнификантно увеличава транскрипционните нива на инсулиновия ген в панкреас на мишки. Хистондеацетилазата показва по-ниски стойности в групите, третирани с кетодиета, със или без суплементиране с витамин Д ( $p < 0.01$ )

Gene	Relative pancreatic expression (RQ)
<i>Ins1</i>	0.24
<i>ABCC8</i>	0.21
<i>KCNJ11</i>	0.32
<i>Gck</i>	0.54

**Научни публикации и прояви:**

- Михалева И., Кюркчиян С., Строкова - Стоилова М. и др. Промени в експресията на инсулиновия ген след кетогенна диета и суплементация с витамин Д. Ендокринология. 2021;2:92-7.

Оценки по скалата на СМН

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-87/24.06.2020 СИНТЕЗ НА 1,3,4-ОКСАДИАЗОЛОВИ ПРОИЗВОДНИ И *IN VITRO* ОЦЕНКА НА ВЪЗМОЖНАТА ИМ НЕВРОПРОТЕКТИВНА И MAO-B ИНХИБИТОРНА АКТИВНОСТ**

**Докторант:** маг.фарм. Валентин Росенов Карабелъов

**Научен ръководител:**

- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Доц. Виолина Стоянова, дх

**Базова организация:** МУ-София, Фармацевтичен факултет, Катедра „Фармакология, фармакотерапия и токсикология“, ул. „Дунав“ № 2, София, 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** В този проект са синтезирани и изследвани ефектите на 14 новосинтезирани съединения (1,3,4-оксадиазолови производни и ароилхидразонови производни). Невропротективният им ефект е изследван след самостоятелно приложение и в комбинация с 6-OHDA върху изолирани мозъчни синаптозоми на плъх. Определен е и MAOB инхибиторният им потенциал. Съединенията се синтезират чрез едноетапни реакция между киселинни хидразиди и карбоксилни киселини, като се използва фосфорен оксихлорид (POCl<sub>3</sub>) като дехидратиращ агент (3a-3g) и заместени карбалдехиди и хидразиди (5a-5g). Основните определяни параметри, характеризиращи функционално-метаболитния статус на синаптозомите, са: синаптозомална жизненост и ниво на редуциран глутатион (GSH). Флуориметрично е определена и инхибиращата им MAOB активност. От първата серия 3a-3g, съединенията 3a и 3d, приложени самостоятелно, не показват невротоксични ефекти, докато останалите са с ниска невротоксичност. Двете съединения не променят статистически значимо синаптозомалната жизненост и нивото на GSH. Заместителите във 2-ра позиция на 1,3,4-оксадиазоловия пръстен като 4-хлорофенил в 3a и 3-индолил в 3d значително намаляват невротоксичността и показват добра MAOB инхибиторна активност. Единствено двете вещества проявяват и добър невропротективен ефект при модел на 6-OHDA-индуциран оксидативен стрес. Съединенията от серията 5a-5g променят статистически значимо изследваните параметри, както следва: понижават синаптозомална жизненост между 15-20% и нивото на GSH - между 25-30%, в сравнение с контролата (нетретирани синаптозоми). Те не проявяват статистически значима MAOB инхибиторна активност. Веществата обаче проявяват статистически значим невропротективен ефект при модел на 6-OHDA-индуцирана невротоксичност. Като молекули с потенциална невропротекция и MAOB инхибиторна активност се оформят съединенията 3a и 3d.

**Научни публикации и прояви:**

- Karabelyov V, Kondeva-Burdina M, Angelova VT, Synthetic approaches to unsymmetrical 2, 5-disubstituted 1, 3, 4-oxadiazoles and their MAO-B inhibitory activity. A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2021, 29, 115888. Impact factor 2020 – 3.073
- Karabelyov V, Stoyanova V, Kondeva-Burdina M, *In vitro* effects of newly synthesized 1,3,4-oxadiazole derivatives, administered alone, on isolated rat brain synaptosomes. Third Scientific Conference „Neurosciences – from the Theory to the Experiment And Practice“, Vachinovo, Bulgaria, 23-25.10.2020, (30).

**Оценки по скалата на СМН**

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор Д-124/04.06.2021 Роля на Herpes simplex virus 1/2 (HSV1/2) инфекцията, като кофактор за повишен риск от агресивен клиничен ход на заболяването простатен карцином при български пациенти след радикална лапароскопска простатектомия**

**Докторант:** Светослав Пламенов Маринов

**Научен ръководител:** Проф. д-р Красимир Янев, дм и Проф. д-р Маринчо Георгиев, дм  
**Базова организация за изпълнение на проекта:** МУ - София, МФ, Катедра по Урология, ул. "Св. Георги Софийски" № 1, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Простатният карцином е вторият по честота рак сред мъжете. В световен мащаб тенденцията е към диагностициране на все повече случаи, като до 2040 год. се очаква нарастване на броя заболели с до 79%. В България ПК заема първо място сред онкологичните заболявания на пикочо-половата система (заболеваемост 259 на 100 000 души). Простатният карцином е полиетиологично заболяване. Ролята на инфекцията на простатната тъкан с редица вируса представлява обект на множество научни проучвания. Целта на изследването е да се проследи ролята на инфекция на простатната тъкан с Herpes Simplex Virus 1 и 2 (HSV1/2) в комбинация с определени клинични и хистопатологични фактори свързани с повшен риск от агресивен клиничен ход на ПК. За период от около една година бяха извършени тридесет радикални лапароскопски простатектомии. Кохортата от пациенти бе проследена по показатели възраст, PSA, Глийсън сбор, TNM стадий на заболяването. От премахнатата простата след радикална простатектомия бях взети тъканни проби посредством Tru-cut биопсия. Последва изолиране на ДНК и се извърши специфичен PCR за вирусния геном на HSV1/2 вирус в простатната тъкан. Тъй като в рамките на ограничената кохорта не се идентифицира HSV1/2 инфекция в простатна тъкан, се извърши сравнителен анализ спрямо серия пациенти с доказана HSV1/2 инфекция и ПК от друго проучване. Комплексния сравнителен анализ показва, че наличието HSV1/2 инфекция корелира с по-висока стойност на ПСА: 37.3 ng/ml срещу 18.01 ng/ml, както и с влошено разпределение по ГС (HSV 1/2 (-) срещу HSV 1/2 (+)): ГС 6 – 3.3% срещу 0%; ГС 7 – 73.3% срещу 62.5%; ГС 8 – 10% срещу 12.5%; ГС 9 – 13.3% срещу 25%) и Т-стадий: стадий  $\leq$  T3 100% срещу 87.5%; стадий T4 – 0% срещу 12.5%. Не се установи статистически значима разлика по отношение на средната възраст: 66 срещу 68.9 години Като допълнителна находка при двама пациенти бяха изолирани вирусни геноми на CMV и HHV7.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор Д-125/04.06.2021 Молекулярно-генетични основи на хипертрофичната кардиомиопатия в България**

**Докторант:** Петя Пламенова Ангелова

**Научен ръководител:** Акад. проф. д-р. Ваньо Митев, дм, дбн и Проф. Албена Тодорова–Георгиева, дбн

**Базова организация:** Медицински Факултет, Катедра „Медицинска Химия и биохимия“, Секция „Биохимия“, ул. Здраве № 2, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Хипертрофичната кардиомиопатия (ХКМП) е най-честото генетично сърдечно заболяване, което представлява водеща причина за внезапна сърдечна смърт. ХКМП се причинява от мутации в поне 11 гени, кодиращи саркомерните и саркомер-свързаните протеини и се характеризира с изключителна хетерогенност. Съвременните препоръки за диагностициране и лечение при пациенти с ХКМП включват провеждането на генетични изследвания с цел потвърждаване на диагнозата при клинична несигурност и установяване на роднини в риск от заболяването чрез каскаден скрининг. С настоящата разработка, бяха проведени молекулярно-генетични изследвания при 20 пациенти с ХКМП в България с цел определяне на наличието и честотата на мутации и варианти, характерни за заболяването в българската популация. Генетичен материал беше изолиран от венозна кръв на български пациенти, диагностицирани с ХКМП. Изолираната пациентска ДНК беше подложена на цялостно екзомно секвениране. Получените данни бяха анализирани със специфичен софтуер. Сегрегационен анализ в семействата за потвърждаване на патогенните находки беше извършен чрез директно секвениране по Sanger. Получените резултати бяха интерпретирани, като беше определена честотата на идентифицираните генетични находки при български пациенти. Резултатите бяха сравнени с тези в научната литература и докладвани в световните бази данни. Получените резултати от настоящата разработка показват наличие на генетични варианти при 65% от изследваните български пациенти с ХКМП, като ~ 50% от идентифицираните генетични находки са нови варианти, които досега не са докладвани. Приблизително половината от установените генетични находки са локализиращи в саркомерните или саркомер-свързаните гени, а при 15% от пациентите бяха идентифицирани варианти в гени, свързани с функцията на митохондриите. При ~1/3 от пациентите е установено наличието на повече от един вариант. Получените резултати от настоящата разработка могат да послужат за основа на бъдещи проучвания относно изясняването на патогенната природа на установените варианти в засегнатите семейства, както и по отношение на изясняването на генотип-фенотипните корелации при ХКМП в България.

**Научни публикации и прояви:**

- Angelova P, Velchev V, Stoyanov N, Ategin S, Todorov T, Tourtourikov I, Mitev V, Todorova A. Novel insights on *GTPBP3*-associated hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Med Genet A*. 2023 Apr 7. DOI: 10.1002/ajmg.a.63205
- Angelova P, Velchev V, Stoyanov N, et al. Mutations in the *GTPBP3* are associated with hypertrophic cardiomyopathy with rapid progression to burn out phase complicated by severe systolic dysfunction and ventricular tachycardia. European Society of Human Genetics conference (ESHG 2022), Vienna, Austria, June 11-14, 2022
- Todorova A, Angelova P, Ategin S, et al. WES and its application for diagnostic purposes in hypertrophic cardiomyopathy. European Society of Human Genetics conference (ESHG 2022), Vienna, Austria, June 11-14, 2022

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.



## **Договор Д-127/04.06.2021 Анализ на генетичните полиморфизми на OСТ1, MATE1, MATE2 и GLP1R при плъхове с експериментално-индуцирано затлъстяване и въглехидратни нарушения**

**Докторант:** Мария Калинова Калинкова

**Научен ръководител:** Доц. д-р Теодора Ханджиева-Дърленска, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Кафетерийната диета е лесен модел за експериментално предизвикано затлъстяване при плъхове. Целта на нашето проучване беше да се разработи експериментален модел на затлъстяване с кафетерийна диета и да се проследи ефективността на две лекарства за лечение на затлъстяване при плъхове. Материали и методи: 50 мъжки плъхове порода Вистар бяха разделени на случаен принцип в две групи: контролна група (n=11), хранена със стандартна лабораторна храна и експериментална група (n=28), хранена с кафетерийна диета. Всички животни имаха достъп до стандартна лабораторна храна и вода ad libitum. Кафетерийната диета се състоеше от висококалорични, вкусни храни и сок. Моделът на затлъстяването продължи 19 седмици. В края на периода на експеримента плъховете бяха разпределени в три групи: С (контролна група, n=11), М (метформин хидрохлорид, 250 mg/kg/дневно, n = 17), L (лираглутид, 75mcg/kg/ дневно, n=11). Третирането продължи още шест седмици. Всички плъховете получаваха стандартна лабораторна храна или кафетерийна диета и вода ad libitum. Телесното тегло се измерваше всяка седмица. На края на експеримента плъховете бяха анестезирани и декапитирани. Всички животни бяха оценени както за антропометрични, така и за биохимични параметри. Изследвани бяха генетичните вариации в рецепторите за метформин ( MATE1, MATE2, OСТ1) и GLP-1 ( GLP1R). Резултати: Плъхове на кафетерийна диета, третирани с метформин или лираглутид, показват значително по-ниски плазмени нива на глюкоза, общ холестерол, HDL-холестерол, LDL-холестерол в сравнение с контролната група (p<0.05). Въпреки това, в групите не е открита разлика в плазмените нива на VLDL, триглицериди и инсулин. Антропометричните параметри (телесно тегло, индекс на Лий) не показват значителна промяна по време на изследването. Генетичният анализ показва, че всички изследвани плъхове са „див тип“, тоест не се наблюдават изменения в съответните гени. Заключение: Резултатите показват, че кафетерийната диета е ефективен модел за развитие на метаболитни промени при плъхове. Още повече, кафетерийната диета може да използва за проследяване на ефекта от лекарствата за лечение на затлъстяването.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-130/04.06.2021 Оценка на нивата на прооксидантни, антиоксидатни и метаболитни показатели при опитни животни с различни хранителни режими**

**Докторант:** Д-р Маргарита Владимирова Строчкова-Стоилова – редовен докторант

**Научен ръководител:** Проф. Павлина Гатева и Доц. Даниела Попова

**Базова организация:** МУ-София, Медицински факултет, Катедра по фармакология и токсикология, ул. „Здраве“ 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Оксидативният стрес е ключов фактор за здравето и патогенезата на редица обменни заболявания. Той настъпва, когато производството на реактивни кислородни видове (ROS) надвишава ендегенната антиоксидантна активност. Кетогенната диетна, нисковъгледриатна диета богата на мазнини, може да повлиява оксидативния стрес, въздействайки на митохондриалното количество и/или качество и вероятно да спомага за удължаване на живота. Суплементирането с витамин Д може да намали нивата на чернодробен оксидативен стрес и да подобри възпалението чрез намаляване на липидната пероксидация и производството на цитокини. Целта на настоящето проучване е да оценим метаболитните показатели, както и нивата на Глутатион пероксидаза като антиоксидантен маркер и 8-OHdG като прооксидантен маркер при опитни животни, подложени на кетодиета, суплементирани с Витамин Д, приемащи кетодиета и витамин Д едновременно и контролна група на стандартна диета. Методи: 80 броя опитни животни (мъжки мишки) бяха разделени на четири групи (n=20 във всяка група) и бяха подложени на различни хранителни режими и суплементиране за 30 дни. Резултати: Най-високи нива на антиоксидантния маркер глутатион пероксидаза и най-ниските нива на прооксидантния маркер (8-OHdG) са наблюдавани в групата с кетодиета + витамин Д, показвайки най-високата антиоксидантна сила на тази комбинация. Стимулирането на митохондриалната активност при кетодиета, както и антиоксидантният ефект на витамин Д показват синергично действие по отношение на нивата на оксидативен стрес. Само Витамин Д и само кетодиетата показват по-високи нива на глутатион пероксидаза и по-ниски нива на 8-OHdG в сравнение с контролната група. Прилагането на кетодиета, както и суплементирането с витамин Д има антиоксидантен ефект, но най-силен е той при комбинирането им. Нивата на глюкозата в групата на кетодиета са сходни с тези в контролната група. При добавяне на витамин Д при стандартна и кетодиета се отчитат статистически по-ниски нива на кръвната захар. Нивата на инсулина не се различават статистически между групите. Не се отчитат разлики в общия холестерол и кетотелата. Суплементирането с витамин Д благоприятно повлиява въгледриатната обмяна и маркерите на оксидативния стрес при стандартна диета. Този ефект е още по-изразен при суплементиране с витамин Д на фона на хронично прилагана кетодиета. Необходими са допълнителни проучвания, които изследват задълбочено влиянието на различни хранителни режими и суплементирането а витамини за оптимално повлияване на оксидативния стрес и клетъчното стареене.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Strokova-Stoilova, M.; Popova, Daniela V. Et al; Assessment of the levels of pro-oxidative and anti-oxidative markers in experimental animal models with different dietic regimens; Endocrinology 2022, 2, 84-92

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-131/04.06.2021 Експериментален модел на изследване на забавената контактна свръхчувствителност (ЗКС) при плъхове**

**Изпълнител:** Д-р Веселина Георгиева Михайлова

**Научен ръководител:** Доц. Теодора Ханджиева- Дърленска и Доц. Развигор Дърленски

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра: „Фармакология и токсикология“, ул. „Здраве“ 2, 1431 Център, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на проучването: Да се създаде експериментално индуциран модел на затлъстяване с цел определяне на забавена контактна свръхчувствителност при плъхове. Материали и методи: Опитът включваше 30 мъжки плъхове порода Wistar на възраст от два месеца. На случаен принцип бяха разделени на две групи: контролна група (n=15) и експериментална група (n=15). Експерименталната група в продължение на 9 седмици получаваше кафетерийна диета (три високо-енергийни храни, две от които сладки и една солена), стандартна лабораторна храна (пелети) и вода ad libitum. Контролната група получаваше стандартна лабораторна храна и вода ad libitum. Животните бяха настанени в групи по четири в клетка на стайна температура от 20-22 градуса, на стандартен 12-часов режим на сън/бодърстване. Телесното тегло се измерваше веднъж седмично. В края на 9-седмичния период на опита плъховете бяха третирани с 1-chloro-2,4-dinitrobenzene по схема за предизвикване на контактна свръхчувствителност. В края на този период бяха измерени индекса на телесна маса и индекса на Лий, показатели за оценка на затлъстяването при плъхове.

Резултати: Данните показват, че плъховете, хранени с кафетерийна диета достигат статистически значимо по-голямо телесно тегло в края на експеримента, респ. 465 гр и 422 гр,  $p=0.02$ . Също така, ИТМ е статистически повишен в експерименталната група в сравнение с контролната група,  $p=0.002$ . След направения хистологичен анализ се установи статистически значимо по-малка инфилтрация с мастоцити в ушната мида на плъховете със затлъстяване в сравнение с контролната,  $p=0.01$ . По отношение на натрупването на еозинофили няма разлика между двете групи. Заключение: Кафетерийната диета е лесен модел на човешко затлъстяване, което може да се използва за оценка на проинфламаторните процеси, характерни за затлъстяването и контактната свръхчувствителност. Натрупването на по-малко количество мастоцити в периферията е за сметка на акумулацията на тези проинфламаторни клетки във висцералната мастна тъкан, характерна за затлъстяването.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Darlenski R, Mihaylova V, Handjieva-Darlenska T. The Link Between Obesity and the Skin. Front Nutr. 2022 Mar 10;9

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

- **НЕЗАДОВОЛИТЕЛНА** - за извършената научноизследователска дейност;
- **ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;
- **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-138/04.06.2021 In vitro оценка ефектите на холин върху активността на някои изоформи на Цитохром P450 (CYP3A4, CYP2D6)**

**Докторант:** маг фарм. Антоанета Венциславова Балканска, задочен докторант

**Научен ръководител:** Проф. Магдалена Кондева-Бурдина, дф и Доц. Мария Димитрова, дф

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящото проучване са проследени ефектите на холин (0,150  $\mu\text{M}$ ; 0,250  $\mu\text{M}$ ; 0,500  $\mu\text{M}$ ; 0,750  $\mu\text{M}$  и 1  $\mu\text{M}$ ), влизащ в състава на различни хранителни добавки за повлияване функцията на черния дроб, върху ензимната активност на две изоформи на Цитохром P450 – човешки рекомбинантен CYP3A4 и CYP2D6. Ефектите са сравнени с ефектите на съответните инхибитори. Ензимната активност е определена флуориметрично със съответните китове. Установи се, че от изследваните пет

концентрации на холин, единствено 1  $\mu\text{M}$  проявява слаб статистически значим инхибиторен ефект върху ензимната активност на изследваните изоформи на Цитохром P450. Активността на CYP3A4 е понижена с 20 %, а на CYP2D6 – с 15 %. Наблюдава се по-голям афинитет на холин към CYP3A4, в сравнение с CYP2D6. Получени резултати дават основание да се смята, че съществува минимален риск от възможни лекарствени взаимодействия между лекарства, субстрати на двете изоформи и хранителни добавки, съдържащи холин.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса на получените резултати;

**ВИСОКА** - за приноса на реализираната разработка.

### **Договор Д-139/04.06.2021 *In vitro* оценка ефектите на пиролови производни върху изолирани плъши мозъчни синаптозоми и върху активността на CYP1A2 изоформата на Цитохром P450**

**Докторант:** маг фарм. Борислав Анатолиев Ангелов, редовен докторант

**Научен ръководител:** Проф. Магдалена Кондева-Бурдина, дф и Проф. Вирджиния Цанкова, дф

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, ул. Дунав 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** В този проект са проучени ефектите на общо 30 пиролови производни, разпределени в две серии – 11 и 12. Върху изолирани мозъчни синаптозоми от плъх, невротоксичният им ефект е изследван след самостоятелно приложение, а в комбинация с 6-хидроксипамин (6-OHDA) е проучена тяхната възможна невропротекция. Определен е и CYP1A2 инхибиторният им потенциал. Основните определяни параметри, характеризиращи функционално-метаболитния статус на синаптозомите, са: синаптозомална жизненост и ниво на редуциран глутатион (GSH). Флуориметрично е определена и потенциалната им инхибираща CYP1A2 активност. Прави впечатление, че приложени самостоятелно, в концентрация 100  $\mu\text{M}$ , веществата от СЕРИЯ 12 са с по-слаба невротоксичност, в сравнение с веществата от СЕРИЯ 11. От двете серии, с най-слаб невротоксичен ефект върху изследваните параметри са съединенията 11, 111 и 12, 12а. Тези вещества проявяват и добър невропротективен ефект при модел на 6-OHDA-индуциран оксидативен стрес. Установява се, че 11, 111 и 12, 12а не повлияват статистически значимо активността на CYP1A2 изоформата. Като молекули с потенциална невропротекция се оформят съединенията 11, 111 и 12, 12а. Липсата на CYP1A2 инхибираща активност за тях осигурява намален риск от възможни лекарствени взаимодействия.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса на получените резултати;

**ВИСОКА** - за приноса на реализираната разработка.

## Договор Д-140/2021 Дизайн и цитотоксична активност на нови производни на квадратната киселина

**Докторант:** Нина Константинова Русева

**Научен ръководител:** Проф. Адриана Бакалова и Доц. Емилия Чернева

**Базова организация:** МУ - София, ул. Дунав 2, Фармацевтичен факултет

**РЕЗУЛТАТИ:** При кондензация на диетиловият естер на квадратната киселина със съответните аминопиридини в присъствието на  $\text{Et}_3\text{N}$ , по метод описан от *Titze*, са синтезирани нови моно- и дискварамид. Моноскварамидът е използван като лиганд за получаването на нов Pt- комплекс. Структурите на новосинтезираните скварамиди и Pt-комплекс са изследвани чрез елементарен анализ, ИЧ, ЯМР спектрални методи. Чрез монокристална рентгенова дифракция е установена кристалната и молекулна структура на моноскварамид. Последният кристализира нецентросиметрично. Успоредно с това са извършени и квантово-химични пресмятания, използващи теорията на функционала на плътността (DFT), с цел изясняване на структурите и вибрационните характеристики на новосинтезираните съединения. DFT данните са в добро съответствие с вибрационните честоти на изследваните съединения. Новосинтезираните съединения са изследвани за антипролиферативна активност *in vitro* върху две човешки туморни клетъчни линии с помощта на МТТ тест на Mosmann. Анализът показва липса на цитотоксична активност.

**Научни публикации и прояви:**

- Ruseva N, Cherneva E, Bakalova A, A concise review on application of squaric acid derivatives and their metal complexes in medicine, *Arkivoc*, 2022, (review) (in press).
- Ruseva N, Cherneva E, Bakalova A, Experimental, computational and anticancer studies of new squaramide derivative and its platinum complexes, XVIII Scientific poster session for young scientists, PhD students and students, UCTM, Sofia, 25 July, 2021. (poster presentation)
- Ruseva N, Bakalova A, Cherneva E, Synthesis and investigation of new pyridine containing squaramides, Student's scientific session of organic chemistry, Plovdiv University "Paisii Hilendarski", Department of Organic chemistry, Plovdiv, 15-16 July, 2022. (oral presentation)

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## Договор Д-141/04.06.2021 Сравнително *in vitro* изследване на капацитета на новосинтезирани комплекси на La(III) и Sm(III) с триазолов лиганд да участват в реакции на електронен обмен и отдаване на водороден атом

**Докторант:** Лозан Трайков Годоров

**Научен ръководител:** Проф. Ирена Костова, дх, дхн

**Базова организация:** МУ - София, Фармацевтичен факултет, Катедра „Химия“, ул. „Дунав“ 2, София 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Обект на настоящия отчет е определяне антиоксидантните свойства на новосинтезирани комплекси на лантан(III) и самарий(III) с триазол-съдържащия лиганд натриева сол на 2-(4-хлорофенил)-5-(пиролидин-1-ил)-2Н-1,2,3-триазол-4-карбоксилна киселина (BNP01). Бяха проучени потенциалните механизми на антиоксидантно

действие. Съставът и строежът на лиганда и комплексите бяха доказани с помощта на елементен анализ, FT-IR и Раманова спектроскопия. Техни разтвори бяха изследвани за влияние върху моделни системи, генериращи хидроксилен радикал – UV-индуцирана радиолита на водата и реакция на Фентън. Хидроксилните радикали представляват високо реактивоспособни, неселективни реактивни частици със съществено значение за патогенезата на голям брой заболявания. Бяха изучени потенциалните механизми на антиоксидантно действие – отдаване на водороден атом (DPPH-тест) и обмен на електрон (ABTS-тест). Въз основа на проведените експерименти бяха направени следните изводи:

- BNP01 и комплексите му с лантан и самарий участват слабо в обмяната на водород със стабилния радикал DPPH•. Участието им в обмен на електрон със стабилния радикал ABTS•<sup>+</sup> се проявява при концентрация  $3 \cdot 10^{-5}$  M, при която ефектът на комплексите е по-силен, отколкото на лиганда.

- Въпреки слабото си взаимодействие с DPPH• BNP01, LaBNP01 и SmBNP01 значително потискат деградацията на 2-дезоксирибоза при модела на UV-индуцирана радиолита на водата. При еквимоларни концентрации над  $3 \cdot 10^{-6}$  M комплексите се проявяват като по-силни антиоксиданти от лиганда.

- Лигандът и двата комплекса значително засилват превръщането на МТТ във формазан при моделната система с реакция на Фентън – сигурен белег, че при тези условия действат като мощни прооксиданти. Бе установено, че в присъствие на  $3 \cdot 10^{-4}$  M BNP01, прооксидантния ефект на водороден пероксид значително нараства. Добавянето на железен дихлорид в реакционната смес допълнително засилва наблюдавания ефект от порядъка на десет пъти.

- Различията във вибрационните отнасяния на двата комплекса предполагат разлики в разпределението на електронната плътност в молекулите на лиганда, което би могло да доведе до относителни разлики в поведението на комплексите спрямо приложените радикал-генериращи моделни системи. Данните от извършените експерименти потвърждават това предположение.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Студентска научна сесия по органична химия – Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, Пловдив 15-16 април, 2022. Участие с устен доклад на тема: „Изследване *in vitro* на капацитета на триазолов лиганд да встъпва в реакции на електронен обмен (SET) и отдаване на водород (НАТ)“

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор Д-75/24.06.2020 Оценка на алергичното възпаление на носната и бронхиална лигавица, чрез изследване на цитокинов профил в периферна кръв**

**Докторант:** д-р Кремена Николаева Найденова

**Научен ръководител:**

- Проф. Васил Димитров, дмн
- Доц. Мария Стаевска-Коташева, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Алергология, Клиника по Клинична Алергология, УМБАЛ "Александровска" ЕАД, бул. Св. Георги Софийски № 1

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследване на възпалителните цитокини (IL5, IL13, IL17, IL33) от горни дихателни пътища при алергичен ринит във връзка с възникване на алергично възпаление в долните дихателни пътища би подкрепило учението за „единен дихателен път - една болест“. Ранното лечение на алергичното възпаление на горните дихателни пътища ще подобри качеството на живот на пациентите, да предотврати прогресията на алергичният ринит в бронхиална астма, както и да подобри състоянието на вече проявила се такава. Целта на изследването е да се представи участието на цитокините IL5, IL13, IL17 и IL33 при алергичното възпаление, засягащо целият дихателен път. Използвахме следните изследователски методи: клинично изследване на пациентите, кожно-алергични проби, функционално изследване на дишането при пациенти със симптоми от долни дихателни пътища, риноскопия, вземане на венозна кръв от периферна вена за изследване на маркери на алергично възпаление - IL5, IL13, IL17, IL33 чрез ELISA метод и статистически методи за обработка на резултатите. За IL-5 не установихме значими разлики между серумните нива на здрави лица и пациентите. Установихме значимо по-високи нива на IL-17 в серума на всички пациенти спрямо здрави лица ( $p < 0.001$ ), както и трикратно по-високи нива на IL-13 при всички пациенти спрямо здрави ( $p < 0.001$ ). Нивата на IL-33 бяха значимо по-високи при здрави, отколкото при двете групи пациенти с алергичен ринит и тези с алергичен ринит и развили бронхиална астма ( $p < 0.001$ ). Не намерихме значима разлика в нивата на IL-13 и IL-33 в двете подгрупи пациенти. Не установихме зависимости между нивата на цитокините и функционалното изследване на дишането или с резултатите от кожно-алергичните проби. В заключение, липсата на значими разлики в нивата на изследваните цитокини в двете подгрупи пациенти, може да се обясни с по-леката тежест на протичане на бронхиалната астма при нашите пациенти и вземане на кръвния серум извън поленов сезон, период в който се наблюдава минимално персистиращо възпаление и значително по-ниски нива на медиаторите на алергично възпаление.

**Научни публикации и прояви:**

- Naydenova K, Dimitrov V, Velikova T. Study of some aspects of IL-5 role in the allergic respiratory pathology - allergic rhinitis and associated bronchial asthma. American International Journal of Biology and Life Sciences 2021;3(1):33-9.
- Найденова К, Великова Ц, Димитров В. Оценка на алергичното възпаление на носната и бронхиална лигавица чрез изследване на цитокини в периферна кръв във връзка с диференциалната диагноза на бронхиалната астма. Торакална медицина 2020;12(2-3)

Оценки по скалата на СМН

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор Д-76//24.06.2020 Ролята на Онкостатин М в патогенезата на хроничните възпалителни чревни заболявания и употребата му като предиктор за отговор към терапията**

**Докторант:** Христо Янков Вълков

**Научен ръководител:**

- проф. д-р Пламен Пенчев, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по гастроентерология, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ “Царица Йоанна-ИСУЛ“

**РЕЗУЛТАТИ:** Oncostatin M (OSM) е част от IL-6 цитокиновата фамилия. През последните няколко години този цитокин се проучва като нов биомаркер при пациентите с възпалителни чревни заболявания (ВЧЗ). Цел: Да се изследва ролята на OSM в серум и фецес като потенциален прогностичен, диагностичен и терапевтичен биомаркер при ВЧЗ и да се изясни неговото значение в развитието на екстраинтестиналните прояви (ЕИП). Методи: Включихме 120 възрастни пациенти (100 пациенти с ВЧЗ и 20 контроли). Стойностите на OSM във фецес и серум бяха измерени чрез ELISA. Проведах се корелационни тестове между маркерите за възпаление, вкл. фекален калпротектин (ФКП) със стойностите на OSM. OSM беше корелиран и със скоростите за активност като Endoscopic mayo score (EMS) и Mayo score при Улцерозен колит (УК) и Crohn's Disease Activity Index (CDAI) при Болест на Крон (БК). Детерминираха се пациентите с ВЧЗ и ЕИП, за да се проверят различията между техните стойности на OSM с тези при пациентите без ЕИП. За да оценим ролята на OSM като предиктивен маркер за отговор към терапията ние измерихме изходните стойности на OSM и на втора седмица от терапията с Метилпреднизолон при 41 пациенти както и изходните му стойности и на шеста седмица от терапията с anti-TNF и JAK/STAT инхибитор при 9 пациенти. Резултати: Чрез стойностите на OSM можем да разграничим пациентите с ВЧЗ с активност от тези в ремисия. Въпреки, че OSM в серум не корелира с маркерите за възпаление, OSM в изпражнения корелира сигнификантно с CRP и ФКП. Фекалният OSM корелира сигнификантно с CDAI. Няма статистически значими разлики между серумния и фекалният OSM при пациенти с ВЧЗ и ЕИП и тези без ЕИП. Изходният серумен и фекален OSM не може да предиктира терапевтичния отговор. Заключение: Фекалният OSM има по-голямо значение от серумния при ВЧЗ. Предиктивната роля на OSM в терапевтичния отговор и в развитието на ЕИП е съмнителна. Необходими са още данни, за да се изясни значението на OSM.

Оценки по скалата на СМН

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.



## Договор Д-78/24.06.2020 Биоактивни obtурационни композиционни системи и вторичен кариес във временното съзъбие

**Докторант:** Виктория Велизарова Гатева

**Научен ръководител:**

- Проф. д-р Наталия Гатева-Грънчарова

**Базова организация:** МУ - София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването беше да се направи оценка на възможностите за намаляване риска от развитие на вторични кариозни лезии във временното съзъбие при приложението на биоактивни obtурационни композиционни системи, съдържащи флуор. Във връзка с изпълнението на целта бяха заложили 4 задачи. Първата задача беше да се изследва граничната зона между дентин и адхезивна система, състояща се от адхезивен и хибриден слой. В изследването бяха включени 40 екстрахирани интактни временни зъби, разпределени в 4 групи и obtурирани с всяка една от четирите изследвани obtурационни композиционни системи – Fuji IX GP (конвенционален глас-йонномерен цимент с флуор), Evetric (самоецващ адхезив без флуор) с Dyract XP (компомер, съдържащ флуор), Clearfil SE Protect (самоецваща двустъпкова адхезивна система с флуор) с Beautifil II (гиомер, съдържащ флуор) и Bond Force II (самоецващ адхезив с флуор) с Estelite Sigma Quick (композиционен материал, несъдържащ флуор). С помощта на сканиращ микроскоп бе изследвана морфологията на адхезивния и хибридният слой на скенограми, направени на граничната повърхност между използвания адхезив и зъбните структури. Според получените резултати аплицирането на всяка от адхезивните системи е довело до образуването на адхезивен и хибриден слой. Адхезивен слой с най-голяма средна дебелина е получен при образците от група 3, obtурирани с комбинация от съдържаща флуор адхезивна система Clearfil SE Protect и гиомер Beautifil II. При същите образци се наблюдават и най-голям брой адхезивни крачета в дентина. Най-дебел хибриден слой бе получен при образците от група 2, obtурирани с комбинация от адхезив, несъдържащ флуор Evetric, и компомер с флуор Dyract XP. Втората задача беше да се изследва здравината на адхезивната връзка чрез тест за микроопън. Изследването включваше 120 екстрахирани интактни временни молари, подготвени и obtурирани по аналогичен на образците от първа задача начин. За да бъде възможно провеждането на теста за микроопън, от подготвените образци бяха изработени призматични тела. Според резултатите от теста за микроопън, здравината на адхезивната връзка е достоверно най-голяма при образците от група 3, obtурирани с комбинация от съдържаща флуор адхезивна система Clearfil SE Protect и гиомер Beautifil II. Третата задача бе да се оцени повърхностната грапавост на четирите obtурационни материали, обект на изследването. За изпълнението на задачата бяха изработени по 5 цилиндрични образци от всеки от четирите изследвани obtурационни материали. Анализът на стойностите за четирите изследвани материали показва, че глас-йонномерният цимент демонстрира достоверно по-изразена повърхностна грапавост от компомера, гиомера и нанофилния композиционен материал. Четвърта задача включваше оценка на антимикробните свойства на obtурационните материали. За тази цел бяха изработени по 10 цилиндрични образци от всеки от тях. Нито една от повърхностите, изработени от изследваните флуорсъдържащи obtурационни материали, не демонстрира антибактериални свойства - регистрира се липса на зона на инхибиция на бактериалния растеж. Този резултат може да се обясни с липсата на такива свойства при изследваните материали или с неточности при изпълнението на микробиологичното изследване.

Оценки по скалата на СМН

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

**Договор Д-79/24.06.2020 Взаимовръзка между експресията на муциновите гени и капацитета за формиране на бактериални биофилми в областта на ушите, носа и гърлото**

Докторант: д-р Георги Кирилов Попов

Научен ръководител:

- Проф. д-р Диана Попова, дмн

Базова организация: МУ - София, МФ, Катедра по ушни, носни и гърлени болести, Клиника по ушни, носни и гърлени болести, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ” ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** В хода на изследването се набраха общо 70 пациенти с хронична патология на носа и околоносните кухини, от които поради лошо качество на взетите проби отпаднаха 5 души. Бяха набрани и 14 пациенти с травматична патология на носа за контроли. От събраните проби бе изолирана тотална иРНК с RNeasy Plus Micro Kit (Qiagen), част от всяка проба бе хомогенизирана, след което пречистена от геномна ДНК с метод на центрофужни колонки, промиване и елуиране. Концентрацията и качеството на изолираната иРНК се измери спектрофотометрично с Nanodrop2000. По протокол на производителя се синтезира кДНК от изолираната тотална РНК с помощта на кит High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit и ензим обратна транскриптаза. Проведе се RT-qPCR с QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen) и праймери QuantiTect Primer Assay (Qiagen). Направи се експресионен анализ на MUC гените чрез  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  метода и се изведоха RQ стойности. Обособиха се три групи проби (пациенти) според експресията на муциновите гени – със свръхекспресия, с нормална и с понижена експресия. Описаният анализ се осъществи за гени за муцините MUC5AC и MUC5B. Получените резултати показват:

- свръхекспресия на MUC5AC в 23 от 65 пациенти в основната група (35,4%) и в 2 от 14 при контролите (14,3%)
- свръхекспресия на MUC5B в 35 от 65 пациенти в основната група (53,8%) и в 4 от 14 при контролите (28,6%)
- свръхекспресия на един от двата или и на двата муцинови гена в 42 от 65 пациенти в основната група (64,6%) и в 6 от 14 (42,9%) от контролите

Оценки по скалата на СМН

*ЗАДОВОЛИТЕЛНА - за извършената научноизследователска дейност;*

*ВИСОКА - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

*ВИСОКА - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

**Договор Д-80/24.06.2020 sVAP-1 и оксидативен стрес в спектъра на метаболитното здраве, нарушенията на глюкозната обмяна и прогнозирания сърдечносъдов риск сред пациенти с хронична бъбречна болест 1-4 ст.**

Докторант: Андрей Богомилов Илиев

Научен ръководител:

- Проф. д-р Борис Богов, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, Клиника по нефрология, трансплантация и диализно лечение, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** Хроничната бъбречна болест (ХББ) се съпровожда от нискостепенно възпаление, чийто основен механизъм е оксидативният стрес. За развитието и усилването на този процес сред недиализно зависими пациенти с хронична бъбречна болест допринася натрупването на мастна тъкан. Все още не са напълно изяснени взаимоотношенията между разтворимия съдов адхезионен протеин 1 (sVAP-1) като маркер на атеросклерозата и 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$  като маркер на оксидативния стрес от една страна, и скоростта на гломерулната филтрация (eGFR), уринната екскреция на албумина (UACR), точковата оценка на 10-годишния риск за атеросклеротична сърдечносъдова болест (ССБ), метаболитния синдром, нарушенията на глюкозната обмяна и антропометричните измервания на затлъстяването от друга. В настоящото проучване бяха набрани 80 пациенти с ХББ. Съотношението мъже/жени беше 1:1. Нивата на sVAP-1 бяха негативно асоциирани с eGFR, докато липсваше взаимоотношение между нивата на 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$  и eGFR. Обаче, нивата и на двата маркера бяха позитивно асоциирани с уринната екскреция на албумина. В настоящото проучване не се намери взаимоотношение между на sVAP-1 и ВМІ и неговите категории, но се прояви позитивна асоциация между 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$  и ВМІ и неговите категории. Комбинацията от абдоминално затлъстяване (WHtR >0,5) и нискостепенно възпаление (hsCRP > 3,0 mg/l) идентифицираше жени с по-висока точкова оценка на 10-годишния риск за атеросклеротична ССБ и по-висока серумна концентрация на sVAP-1. Съчетанието от централно затлъстяване (WHtR >0,5) и атерогенна дислипидемия (TChol/HDL при мъже и Tg/HDL при жени) идентифицираше пациенти с по-висока точкова оценка на 10-годишния риск за атеросклеротична ССБ и по-висока плазмена концентрация на 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$ . Това ще подпомогне изготвянето на ефективни стратегии за откриването на пациентите с висок сърдечносъдов риск въз основа на рутинни лабораторни показатели като общ холестерол (TChol), триглицериди (Tg) и HDL и лесни за измерване и изчисление антропометрични показатели като обиколка на талията, ръст и тяхното отношение.

Оценки по скалата на СМН

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-81/24.06.2020 Оценка ефективността на алергенна имунотерапия чрез клинични и биологични показатели при алергичен ринит**

**Докторант:** д-р Пламена Иванова Новакова

**Научен ръководител:**

- Доц. д-р Мария Стаевска-Коташева, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Алергология, УМБАЛ „Александровска“

**РЕЗУЛТАТИ:** Алергенната имунотерапия (АИТ), проведена субкутанно или сублингвално, е доказано ефикасно лечение на АР и/или бронхиалната астма, което води до сигнификантно намаляване на симптоми, на нужда от фармакотерапия, както и до значително подобряване на качеството на живот. Това е единственият подход, който

осигурява дълготраен ефект и след приключване на лечението, което се обяснява с механизма ѝ на действие. Целта на проекта е да се установи наличие на дългосрочен ефект от алергенна имунотерапия при пациенти с алергичен ринит въз основа на оценка на имунологични и клинични показатели. Включени са 69 пациента (Мъже: 43, средна възраст 31,7 (SD 12.04), възрастов интервал: 18-56). 44 пациента са с коморбидна астма. Минимум две години след спиране на алергенната имунотерапия се установиха нисък симптомен и медикаментозен скор. Регистрира се висок процент контролирани пациенти чрез RCAT въпросника. Преобладават пациенти с добро качество на живот както по отношение на отделните домени, така и по отношение на цялостната оценка (RQLQ). Резултатите показват висока степен на удовлетвореност от провежданата алергенна имунотерапия за продължителен период след нейното приключване. Имунологичното изследване на специфични IgG4 антитела по метода ImmunoCAP показва сигнификантно по-високи нива на блокиращите IgG4 антитела при контролираните в сравнение с неконтролираните пациенти ( $p < 0.05$ ). Резултатите потвърждават ключовия механизъм на алергенната имунотерапия - образуването на блокиращи алерген специфични IgG4 антитела с дълъг живот и висок афинитет към IgE дори след спиране на лечението. Проектът разкрива наличието на дългосрочен имунологичен толеранс в резултат на имунотерапията и корелацията между имунологични биомаркери и клинични показатели

Оценки по скалата на СМН

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-82/24.06.2020 Влияние на IFN- $\gamma$ върху свойствата на мезенхимни стволови клетки изолирани от тъкан от пъпна връв**

**Докторант:** Калина Петева Белемезова

**Научен ръководител:**

- Проф. д-р Доброслав Кюркчиев, дмн

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Клинична имунология, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“, Лаборатория по Клинична имунология

**РЕЗУЛТАТИ:** Мезенхимните стволови клетки (МСК) се откриват в почти всички тъкани. Възпалителните фактори продуцирани по време на имунен отговор активират имуносупресивния капацитет на МСК. Разбирането за промените, които настъпват в МСК би било от голямо значение за правилното им използване при терапията на редица заболявания. В литературата данните даващи отговори не са твърде много и отговорът на този въпрос беше основната цел на нашия проект, като изследваме как МСК от пъпна връв реагират на процесите на възпаление, проследявайки характерните за тях свойства и функции под действието на провъзпалителен цитокин интерферон- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Човешки МСК от пъпна връв бяха изолирани, култивирани *in vitro* и третираны с IFN $\gamma$ . Третираните клетки бяха анализирани за да се определи способността им да образуват колонии, тяхната морфология, пролиферация и степен на апоптоза. Флоуцитометричен анализ беше използван, за да се изследва експресията на характерните за МСК маркери, плюс HLA-I и PD-1L. За да се установи потенциала за диференциация на третираните с IFN $\gamma$  клетки бяха култивирани в условия индуциращи остеогенна и адипогенна диференциация. Цитогенетичен метод беше използван, за да се проследи хромозомната стабилност на третираните клетки. Резултати показаха, че МСК от пъпна връв, които са култивирани в присъствие на IFN $\gamma$  променят своята типична фибробластоподобна

морфология. Клетките запазиха експресията на типичните за МСК маркери и останаха негативни за хематопоетични маркери, но IFN $\gamma$ , засили интензитета на повърхностната експресия на HLA-I и PD-1L. Под действието на IFN $\gamma$  клетките имаха по-кратко време за популационни удвояване и формираха повече колонии. Третираните с IFN $\gamma$  загубиха способността си да се диференцират остеогенно и адипогенно. IFN $\gamma$  повиши процента на клетките намиращи се в ранна/късна апоптоза, както и общия процент клетки в апоптоза, но клетките запазиха хромозомната си стабилност. В заключение, нашите резултати показват, че основните характеристики на МСК от пъпна връв се повлияват от факторите на системно и локално възпаление.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Belezmezova K, Bochev I, Ivanova-Todorova E, et al. A study of the transformation of umbilical cord mesenchymal stem cells by interferon-gamma. Iran J Basic Med Sci, 2021; 24(9):1203-10.
- Belezmezova K, Dimova I, Kyurkchiev D. Effect of interferon-gamma on chromosomal stability of human umbilical cord mesenchymal stem cells. Bulgarian Journal of Clinical Immunology. 2021;13 (2): 14-19.
- Belezmezova K, Bochev I, Ivanova-Todorova E, et al. Interferon-gamma affects the properties of human umbilical cord mesenchymal stem cells. Autoimmunity 2021, Virtual congress, 28 May – 1 June 2021.

#### Оценки по скалата на СМН

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-83/24.06.2020 Роля на UKL-40, IL-17, Lp-PLA2, Hyaluronidase и Heparanase като маркери за сърдечно-съдово заболяване, асоциирано с псориатичен артрит**

**Докторант:** Александър Красимиров Ангелов

#### **Научен ръководител:**

- Проф. д-р Мариана Гойчева дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра Вътрешни Болести/Ревматология, Клиника по Ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД;

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това изследване е да анализира ролята на Интерлевкин-17 (IL-17), Липопротеиновата фосфолипаза А2 (Lp-PLA2), UKL-40, Хиалуронидаза (HYAL) и Хепараназа (HPSE) като маркери за сърдечно-съдово заболяване (ССЗ), асоциирано с псориатичен артрит (ПсА). Включена е група с ревматоиден артрит (РА) за да се изследва дали специфичната нозологична единица или инфламаторния товар е предиктивен за ССЗ. Изследването е кроссекционно и включва 32 пациенти с ПсА, 30 пациенти с РА и 20 здрави контроли. Анализирани бяха обширен набор от демографични, клинични, образно-диагностични и лабораторни данни, включително нивата на изследваните биомаркери в серума. Използваха се различни инструменти за оценка на болестната активност, сърдечно-съдовия риск и качеството на живот. Проведоха се ултразвукови изследвания за оценка на глобалния лонгитудинален стрейн (GLS) и интима медиа дебелина (IMT) на каротидните артерии. Приложиха се статистически методи за корелационен и ROC крива анализ. Пациентите с ПсА и РА имат по-високи нива на IL-17 от контролната група. Има положителна корелация между HPSE и IMT при всички участници. HPSE има отлична предиктивна стойност за

разграничаване на пациентите с ПсА и РА от контролната група. УКЛ-40 има негативна корелация с HPSE и положителна корелация с IL-17 при всички участници. УКЛ-40 има отлична предиктивна стойност за разграничаване на пациентите с повишени нива на HPSE от тези с нормални нива. NYAL се корелира с HPSE, RF и UKL40, но няма статистически значима разлика между отделните групи. Изводите от това изследване са, че UKL-40, IL-17, Lp-PLA2, и HPSE са свързани със сърдечно-съдовото заболяване при пациентите с ПсА и РА. Тези биомаркери могат да имат роля в патогенезата на сърдечно-съдовите усложнения при тези заболявания и да служат като потенциални мишени за превенция и лечение. Това изследване предоставя ценна информация за взаимодействието между системните възпалителни заболявания и ССЗ и допринася за разширяване на нашето разбиране за този комплексен процес.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Ангелов АК, Василев Г, Йорданова А и др. Повишени серумни нива на TNF- $\alpha$  и IL-17 при псориатичен и ревматоиден артрит. Ревматология (България). 1:23-36.
- Ангелов АК, Великов Т, Копчев А и др. Рискови фактори за сърдечно-съдово ангажиране при възпалителни ставни заболявания. Роля на интима-медия дебелина и спекъл-трекинг ехокардиография. Национална конференция по Ревматология. Свети Влас. 16-19.09.2021 г. pp 12
- Ангелов АК, Великов Т, Василев Г и др. Сърдечно-съдов риск и ендотелна дисфункция обусловени от системното възпаление при псориатичен артрит. Национална конференция по Ревматология. Пранец. 15-18.10.2020 г. pp 36

#### Оценки по скалата на СМН

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта

### **Договор Д-85/24.06.2020 Хиперандрогенизъм при синдром на поликистозни яйчници и изследване на връзката му с PSA и серумни маркери за ранна хрущялна загуба**

**Докторант:** д-р Пламена Петрова Кабакчиева-Георгиева

#### **Научен ръководител:**

- Проф. Здравко Каменов, дм, дмн

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра Вътрешни болести, Клиника по ендокринология, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, гр. София

**РЕЗУЛТАТИ:** Въведение: Целта на нашето изследване беше да анализираме връзката между хиперандрогенизма и ранните клинични прояви на остеоартроза (ОА), дебелината на хрущяла на колянна става, серумните нива на cartilage oligomeric matrix protein (sCOMP) и prostate-specific antigen (PSA) при пациенти със синдром на поликистозни яйчници (СПЯ), както и да ги сравним със тези при здрави доброволци. Методи: В изследването бяха включени 54 пациенти със СПЯ, които съответстваха на фенотипове А, В и С, съгласно Ротердамските критерии за диагноза. Те бяха сравнени с 26 съответстващи по възраст и индекс на телесна маса (ИТМ) здрави контроли. Подробни антропометрични измервания и клинична оценка за хиперандрогенизма бяха извършени при всички участници, които също така попълниха въпросник - Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). Допълнително, лабораторни изследвания, включително измерване на sCOMP, общ и свободен PSA и хормонални тестове, бяха извършени на гладно. На произволно избрана група от 56 участници в изследването

беше извършена ултразвукова оценка на двете коленни стави. Резултати: Жените от СПЯ имат по-често симптоми, свързани с колянната става ( $p=0,035$ ) и при тях са по-изразени нарушенията в ежедневните дейности ( $p=0,001$ ), отколкото при контролите. Дебелината на хрущяла на левия и десния медиален кондил и на левия латерален кондил е значително по-голяма в групата на жените със СПЯ ( $n=41$ ), отколкото в контролната група ( $n=15$ ) ( $p=0,05$ ,  $p=0,006$  и  $p=0,036$ , съответно). sCOMP корелира значително и отрицателно с нивата на тестостерона ( $p=0,029$ ,  $r=-0,297$ ) при жените със СПЯ, като корелацията остава сигнификантна след контролиране на ИТМ. Заключение: Жените със СПЯ имат по-често симптоми, свързани с колянната става и свързани с това нарушения в ежедневните дейности. При тях дебелината на коленния хрущял е по-изразена. Въпреки че нивата на sCOMP не се различават значително между изследваните групи, по-ниските нива на sCOMP са присъщи за СПЯ пациентите с по-високи нива на тестостерона.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Kabakchieva P, Georgiev T, Gateva A, et al. Polycystic ovary syndrome and (pre)osteoarthritis: assessing the link between hyperandrogenism in young women and cartilage oligomeric matrix protein as a marker of cartilage breakdown. Clin Rheumatol. 2021 Oct;40(10):4217-23.
- Kabakchieva P, Georgiev T, Gateva A, et al. Assessment of knee-related symptoms, activities, and quality of life in patients with polycystic ovary syndrome. Annual European Congress of Rheumatology EULAR, 2-5 June, 2021. Ann Rheum Dis. 2021: 1332-3.

#### Оценки по скалата на СМН

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта

### **Договор Д-86//24.06.2020 Нови маркери за оценка на макросъдовия риск при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна**

Докторант: д-р Ивета Славянова Недева

#### **Научен ръководител:**

- Проф. Здравко Каменов, дмн

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, Клиника по Ендокринология и болести на обмяната

**РЕЗУЛТАТИ:** Известно е, че захарния диабет е заболяване, асоциирано с повишен микро и макросъдов риск като макросъдовите усложнения и особено сърдечно-съдовите заболявания са основна причина за заболяемост и смъртност при пациенти с диабет. Предполага се, че ранните етапи на съдовата увреда започват още във фазата на предиабета. Непрекъснато се откриват нови биомаркери, корелиращи със съдовата увреда като особено интерес представлява връзката им с различните етапи на нарушена глюкозна хомеостаза и сърдечно-съдов риск при пациенти със затлъстяване. В нашето проучване бяха изследвани 80 души на средна възраст  $55,48 \pm 9,98$  години, разделени в три групи - група 1 със затлъстяване без въглехидратни нарушения ( $n=40$ ), група 2 с предиабет ( $n=20$ ) и група 3 ( $n=20$ ) с новооткрит захарен диабет. Проследихме нивата на ТМАО в целия спектър на въглехидратните нарушения. Не установихме значима разлика в нивата на ТМАО при лицата със затлъстяване, без въглехидратни нарушения, предиабет и новооткрит ЗД2. Липсваше статистическа разлика в нивата на серумния ТМАО при индивидите с и без метаболитен синдром, с и без инсулинова резистентност,

с и без дислипидидемия. По-високи нива на ТМАО отчетохме при тези с артериална хипертония. От проведения корелационен анализ не установихме зависимост между нивата на ТМАО изследваните лабораторни и антропометрични показатели, както и проведените инструментални изследвания за микро и макросъдови усложнения. По отношение на сортилина не се установи разлика в нивата му сред изследваните групи, както и при тези с и без метаболитен синдром, с и без инсулинова резистентност. По-високи бяха нивата на сортилина при лицата с дислипидемия в сравнение с тези без съответното нарушение. Позитивна корелация се констатира с гама-глутамилтрансферазата и HbA1c%. Умерена негативна връзка се установи между нивата на сортилина и индекса глезен-мишница.

#### Оценки по скалата на СМН

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта

### **Договор Д-88/24.06.2020 Промени в някои маркери на костния метаболизъм при първичен хиперпаратиреозидизъм и автоимунен тиреоидит на Хашимото**

**Докторант:** Инна Ангелова Янкова

**Научен ръководител:**

- Проф. д-р Русанка Ковачева-Георгиева, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по ендокринология, Трета клиника по ендокринология и болести на обмяната, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Да се сравнят нивата на някои маркери на костен обмен - бета изомеразния С-терминален телопептид на колаген тип I (bСТх) и остеокалцин (Ost), при лица с ПХПТ с и без автоимунен тиреоидит (АТ), както и такива само с АТ; да се определи влиянието на двете заболявания, заедно и поотделно, върху костния метаболизъм. Материал и методи: От всички 251 пациента с доказан ПХПТ, преминали през УСБАЛЕ за периода на проекта, бяха включени 100 пациента - 50 само с ПХПТ и 50 с ПХПТ и АТ. Определиха се две контролни групи: 35 лица само с АТ и 35 здрави лица, без ПХПТ и без АТ. При всички участници бяха изследвани показатели на калциево-фосфорна обмяна, bСТх и Ost. Резултати: Честотата на АТ сред пациентите с ПХПТ беше 38.2% (95% CI 33-43%) и не се отличаваше значимо от тази в общата популация, 32.5% (95% CI 30-35%), p=NS. Не се установи статистически значима разлика във възрастта, ИТМ, рутинните показатели на калциево-фосфорната обмяна, bСТх и Ost при пациентите с ПХПТ с и без АТ. Нямаше разлика в изследваните показатели и между здравите лица и тези с АТ (p>0.05). Серумните нива на bСТх и Ost бяха значимо по-високи при пациентите с ПХПТ в сравнение с контролните групи (6.08, 2.94-13.65 pg/ml срещу 4.52, 1.78-7.07 pg/ml, U=2514.5, p=0.002 за bСТх и 44.72, 16.9-108.2 ng/ml срещу 21.44, 5.22-54.19 ng/ml за Ost). Установи се статистически значима положителна корелация на изследваните костни маркери с нивата на калций и ПТХ и отрицателна корелация с неорганичните фосфати. Изводи: По-високите нива на bСТх и Ost при пациентите с ПХПТ предполагат по-голямо костно засягане при това заболяване. Липсваха доказателства за асоциация между ПХПТ и АТ. Остава необходимостта от по-нататъшни изследвания за изясняване на проблема.



#### Оценки по скалата на СМН

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта

### **Договор Д-89/26.04.2020 Метастатичен потенциал на ларингеален карцином при променена експресия на LAD1**

**Докторант:** д-р Венелин Маринов Маринов

**Научен ръководител:**

- доц. д-р Юлиан Рангачев, дм

**Базова организация:** МУ - София, Клиника по УНГ-болести към УМБАЛ “Царица Йоанна-Исул“; Център по Молекулна Медицина МУ-София

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Доказване на различни нива на генна експресия за LAD1 и EGFR гените при изследваните 20 пациенти с патохистологично доказан ларингеален карцином. Използвана методика: Извършен е подбор и колекция на тъканни проби от 20 пациент с патохистологично доказан ларингеален карцином. Извършени са РКН-изолиране, Обратна транскрипция и синтез на кДНК, Провеждане на PCR в реално време, Генно-експресионен анализ, анализ и систематизация на данните. Резултати: Доказани са вариабилни нива на генна експресия на LAD1 и EGFR в проби от тумор сърцевина, тумор периферия и лв суспектни за метастатични. Забелязано е по-тежко протичане на заболяването при пациент с ъпрегулация в тъканните проби, както и е установена връзка между по-висок TNM -грейдинг, по-висок Глийсън скор, и нива на генна експресия в тъканите на пациентите. Изводи: При наличие на даунрегулация, тоест понижена експресия на EGFR, вероятно пациентът не би имал добър отговор към таргетна терапия с EGFR- инхибитор. Ниво на експресия на EGFR- предиктор за отговор на пациента към таргетна терапия. Практичен резултат. -предиктор към резистентност към EGFR -инхибитор. На медицинския пазар е налично е антитяло, срещу LAD1-белтъчен продукт(ладинин), чиято експресия може да бъде оценена чрез имунохистохимично изследване на рутинен хистологичен срез. От своя страна това би довело, до по-добро прогнозиране на пациентите. При всички изследвани пациенти са установени разлики между нивата на генна експресия в тумор сърцевина, тумор периферия и ЛВ. Установена е разлика в генетичния състав на тумор и лимфен възел.

**Научни публикации и прояви:**

- В. Маринов, Ю. Рангачев, Г. Станчева, Р. Кънева. Участие в X-та пролетна научна конференция по оториноларингология с презентация на тема“Роля на LAD1 при пациенти с ларингеален карцином“
- V. Marinov, J. Rangachev, G. Stancheva, R. Kaneva, D. Kisova. Changes in gene expression of EGFR and LAD1 in patients with metastatic squamous cell laryngeal carcinoma: International Bulletin of Otorhinolaryngology 2022;1:7-10.

#### Оценки по скалата на СМН

*ВИСОКА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор Д-122/04.06.2021 Комплексна оценка на гликемичния контрол при пациенти преминали на терапия с инсулинова помпа****Докторант:** Полина Валентинова Царкова**Научен ръководител:**

- Проф. д-р Цветалина Танкова, дмн

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по ендокринология, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е да се оцени ефектът от лечението с инсулинова помпа върху гликемичния контрол чрез изследване на класически (HbA1c) и нови краткосрочни (гликиран албумин и 1,5-анхидроглюцитол) показатели за гликемичен контрол изходно и 6 месеца след инициране на терапията, както и да се оцени информативната стойност на изследваните маркери в посочената популация пациенти. Включени са 90 възрастни лица със захарен диабет тип 1, преминали на терапия с инсулинова помпа. При всички изходно и на 6-ти месец от проследяването са изследвани гликиран хемоглобин в цяла кръв по имунотурбидиметричен метод, гликиран албумин (ГА) и 1,5-анхидроглюцитол (1,5-АГ) в серум по ELISA метод. Средната кръвна захар, стандартното отклонение и коефициентът на вариабилност са изчислени изходно и на 6-ти месец на базата на 9-кратен кръвно-захарен профил от капилярна кръв. На 6-ти месец след началото на терапия с инсулинова помпа се установява значимо понижаване на нивото на HbA1c от 8.3% (+/-1.62) на 7.2% (+/-1.19) ( $p<0.0001$ ), понижаване на стойността на средната КЗ от 9.12 (+/-2.17) на 7.36 mmol/l (+/- 1.13) ( $p<0.0001$ ), понижаване на SD от 3.41 (+/- 1.19) на 1.99 (+/-0.77) ( $p<0.0001$ ), понижаване на CV% от 38.1% (+/- 11.55) на 27% (+/- 8.58) ( $p<0.0001$ ) и понижаване на ГА от 1136 (+/-426.6) на 1004 (+/-405) (pmol/ml) ( $p=0.054$ ). Отчетено е и несигнификантно покачване на нивото на 1,5-АГ от 19.8 (7.55-81.4) на 20.6  $\mu\text{g/ml}$  (11.8-76.5) ( $p=0.762$ ). Установена е корелация между ГА и HbA1c изходно ( $r=0.330$ ,  $p=0.003$ ) и между ГА и 1,5-АГ на 6-ти месец от проследяването ( $r=-0.503$ ,  $p<0.001$ ). 1,5-АГ корелира със средната КЗ на 6-ти месец от проследяването ( $r=-0.311$ ,  $p<0.037$ ).

Установено е значимо подобрене на гликемичния контрол при пациентите, преминали на терапия с инсулинова помпа, обективизирано чрез понижението на HbA1c, средна кръвна захар, коефициента на вариабилност и гликирания албумин. Гликираният албумин може да се приеме като допълнение или алтернатива на гликирания хемоглобин при определени популации.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-123/2021 Изследване влиянието на разтворими фактори от кондиционирани среди на мезенхимни стволови клетки върху В-лимфоцити**

**Докторант:** Аделина Даниелова Йорданова

**Научен ръководител:** Доц. д-р Екатерина Иванова–Тодорова, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Клинична имунология, Бул. „Акад. Иван Евстр. Гешов“ 15, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Нарастващият брой автоимунни заболявания, алергии и атопични състояния през последните години изискват разработването на иновативни терапии, като тези, използващи стволови клетки с имунорегулаторна активност. Поради малкото и често противоречиви резултати в научната литература, все още не е сигурно дали мезенхимните стволови клетки (МСК) биха могли да бъдат терапевтична стратегия за повлияване на В-лимфоцитите и да бъдат полезни при лечението на автоимунни и алергични пациенти. Във връзка с гореспоменатото, периферни мононуклеарни клетки (PBMC) от здрави донори бяха изолирани и клетъчно култивирани *in vitro* в контролна среда и кондиционирана среда на МСК от пъпна връв (UC-MSC). Посредством флоуцитометрични и имуноензимни техники, успешно беше изследвано влиянието на секретирани фактори от МСК върху експресията на ключови мембранни и разтворими молекули, асоциирани с активацията, антиген-представящата функция и преживяването на В-лимфоцитите, включително определяне на процент В-клетки в ранна и късна апоптоза. Когато PBMC на здрави донори бяха култивирани *in vitro* с кондиционирана среда от UC-MSC, нашият екип установи значително по-висока степен на кълъстериране на клетките и сигнификантно по-висок процент на В-лимфоцити, експресиращи CD80 и CD86 молекулите. Противоположно на това, сигнификантно по-нисък беше процентът на В-клетките, които експресират BR3 рецептора и PD-1 молекулата на своята мембрана. Експресията на HLD-DR молекулата беше също понижена, а секрецията на BAFF лиганда, свързан с преживяването на В-клетките беше леко повишена отново под действие на МСК секретомата, но без налична сигнификантност между установените разлики. МСК оказват слабо влияние върху апоптозата на В-клетките, но все пак в насока стимулиране на механизмите на ранна и късна програмирана клетъчна смърт. В заключение, кондиционираната среда на МСК от пъпна връв показва тенденция да повлиява функциите, преживяването и цялостната биология на В-лимфоцитите.

### **Научни публикации и прояви:**

- Аделина Йорданова. Влияние на фактори секретирани от мезенхимни стволови клетки върху молекули на В лимфоцитите при пациенти със системен лупус еритематозус. Втора Конференция на Българска Ревматологична Асоциация; 17 – 19 март 2022.
- Adelina Yordanova, Dobroslav Kyurkchiev, Mariana Ivanova, Kalina Tumangelova, Yuzeir, Kalina Belemezova, Ekaterina Ivanova-Todorova. Secreted factors from Umbilical Cord-Mesenchymal Stem Cells affect CD86 expression on B lymphocytes and increase CCL5 chemokine secretion by healthy donors' PBMC. *Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences*, 2022; 75:11 IF: 0.329

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-126/04.06.2021 Роля на HLA клас I и клас II полиморфизми при орален спиноцелуларен карцином**

**Докторант:** Анастасия Иванова Орманджиева

**Научен ръководител:** Проф. Милена Иванова-Шиварова, дм

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Клинична имунология, ул. Св. Георги Софийски 1, 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** В световен мащаб ракът на устната кухина е причина за 2-4% от всички случаи на ракови заболявания. Този вид рак представлява група от неоплазии, засягащи регионите в устната кухина, фарингеалните участъци и слюнчените жлези. Оралният спиноцелуларен карцином (ОСК) произхожда от епидермалните кератиноцити и се характеризира с нарушено вроговяване. Механизмите за избягване на туморните клетки от имунния надзор имат ключова роля за развитието на различни видове ракови заболявания. Поради централната роля на Главния комплекс за тъканна съвместимост (HLA системата), при представянето на туморните антигени, определени алелни варианти в класическите HLA клас I и клас II гени вероятно участват в имунното редактиране на тумора и следователно са свързани с повишен или намален риск от развитие на заболяване. Настоящото изследване цели да се проучи HLA клас I и клас II полиморфизма, определен на алелно ниво чрез секвениране от следващо поколение (NGS), при пациенти с орален спиноцелуларен карцином от българската популация. За изследването използвахме генетичен материал (ДНК), изолиран от подбрана група от 47 пациенти диагностицирани с ОСК. Изолираната ДНК амплифицирахме чрез полимеразна верижна реакция (PCR), а получените ампликони обединенихме в ДНК библиотека с AlloSeq Tx17 (CareDx) кит и секвенирахме на NGS платформа MiniSeq (Illumina), която позволява точното определяне на HLA клас I и клас II алелните полиморфизми. Статистическият анализ за асоциация на HLA алели и хаплотипи с ОСК извършихме като включихме на 275 контроли от здрави индивиди от българската популация и използвахме статистически пакети за Python (PyHLA) и R (BIGDAWG). С теста за асоциация на HLA с ОСК установихме, че статистически значим алел с повишена алелна честота в групата на пациентите е HLA-A\*26:01:01 ( $p=0.0024$ ,  $OR=3.4667$ ). Провеждането на допълнителни изследвания с по-голяма група пациенти, би допринесло за затвърждаване на тезата че, A\*26:01:01 е предразполагащ алел за ОСК, което ще позволи включването му като имуногенетичен маркер.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## **Договор Д-128/28.04.2021 Изследване на генетичния спектър на вродените миотонии в България**

**Докторант:** Станислава Георгиева Благоева

**Научен ръководител:** Проф. д-р Ивайло Търнев, дмн и Доц. д-р Теодора Чамова, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по неврология; ул. Св. Г. Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Представям резултата от проведения молекулярно-генетичен анализ при пациентка –установена хетерозиготна мутация с.1333G>A (NM\_000334.4) в SCN4A гена, водеща до замяна на аминокиселината валин с метионин на позиция 445 в

аминокиселинната последователност, кодирана от *SCN4A* гена и обуславяща развитието на Натриево-канална вродена миотония. От неврологичния статус се установи наличие на перкусионен и акционен миотоничен феномен (особено добре изразен при затваряне и стискане на клепачите, и при стискане на ръката в юмрук). От изследването на серимната креатинфосфокиназа се установи нормална стойност на ензима. От иглената електромиография от *m. biceps brachii dextra* се отвеждат миотонични феномени в покой. При ЛМК- АП с нормална А, продължителност и конфигурация. Пациентката е с нормална сърдечна функция- без отклонения в резултатите от проведените електрокардиография и ехокардиография. Резултатите от функционалното изследване на дишането отразява нормални стойности на ФЕО1 и ФВК. От проведените скали за оценка на състоянието се прецени, че се касае за лека степен на заболяването, без да повлиява значително качеството на живот. От проведените изследвания се установи наличие на миотония (затруднена релаксация, след силно мускулно съкращение), без засягане на дихателната и сърдечната функция. Натриево-каналната вродена миотония е автозомно-доминантно заболяване обусловено от мутации в *SCN4A* гена, кодиращ *Nav1.4*  $\alpha$ -субединицата на скелетния мускулен натриев канал, локализиран в хромозома 17q23.1-25.3.6. При това разстройство, нарушеното функциониране на  $\alpha$ -субединицата на натриевия канал води до увеличаване на сарколемната възбудимост, което клинично се представя с наличие на миотоничен феномен- затруднена релаксация, продължаваща няколко секунди, след силно мускулно съкращение. Основен клиничен признак е стегнатост на мускулатурата, особено след почивка, подобряваща се след физическа активност. Начало на оплакванията при пациентката е в детска възраст и се изразява в стегнатост на мускулатурата, която преминава след раздвижване. Проведена терапия с Карбамазепин с добър субективен ефект.

#### **Научни публикации и прояви:**

- С. Благоева, Т.Чамова, Т. Тодоров, А. Тодорова, М. Господинова, И. Търнев- Национална научна конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие в София в „Парк хотел Москва“- 2-3 септември 2021г. орална презентация на тема: Генотип-фенотип корелации при вродените миотонии.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-129//04.06.2021 Генетична верификация и оценка на засягане на тънки немиелинизирани и слабомиелинизирани нервни влакна при Наследствена моторна и сетивна невропатия**

**Докторант:** Огнян Алексиев Асенов- редовна форма на обучение

**Научен ръководител:** Проф. Ивайло Търнев, дмн и Доц. Теодора Чамова, дм

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, УМБАЛ “Александровска“ ЕАД, Клиника по нервни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е генетична верификация на пациенти с наследствена сетивна и моторна невропатия и оценка на тежестта на засягане на тънките слабомиелинизирани и немиелинизирани нервни влакна чрез Судоскан и симпатиков кожен отговор. Изследвани са общо 5 пациенти (3 жени и 2 мъже) въз основа на анамнестични данни (за ранно начало на оплакванията преди първа декада, фамилна

обременност), неврологичен статус (полиневропатен сензомоторен синдром с двустранна тибиялна и по-изразена перонеална пареза, мускулни хипотрофии по дистални отдели на долни и горни крайници, сетивни нарушения по типа дистална хипестезия за повърхностна сетивност в долни и горни крайници и скелетни деформации по ходилата по типа пес кавус, еквиноварус, пес планус) и електроневрогравско изследване (демиелинизираща и аксонна периферностволова увреда в горни и долни крайници). Двама от засегнатите са с наличие на дупликация на PMP22, един хомозигот за мутация p.Arg37Pro в HINT 1 гена. При един от пациентите с дупликация на PMP 22 гена резултатите от судотеста показват умерена редукция на електрохимичната проводимост от ходила и длани, резултатите от симатиков кожен отговор липсващи отговори от долни крайници и намалени амплитуди в горни крайници, при липса на клинични прояви на автономна дисфункция. При останалите двама пациенти резултатите от проведените автономни тестове за оценка на засягане на тънки нервни влакна са нормални. Получените резултати от настоящето проучване са недостатъчни за оценка на засягане на тънките влакна при пациенти с наследствена сетивна и моторна невропатия поради малкия брой пациенти.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ДОБРА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ДОБРА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-132/04.06.2021 Ролята на биомаркера SFRP4 за оценка на промените в метаболитния профил при пациенти с обезитет преди и след бариатрична/метаболитна хирургия**

**Докторант:** д-р Антонина Георгиева Герганова

**Научен ръководител:** Проф. Здравко Каменов дмн

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Затлъстяването е хронично метаболитно заболяване представляващо значителен рисков фактор за развитие на редица усложнения – асоциира се с влошено качество на живот, загуба на трудоспособност и смъртност. Бариатричната (метаболитна) хирургия е най-ефективният подход за лечение при болестно затлъстяване и в случаите, когато всички други подходи са били неуспешни. В последните години нараства научният интерес за изясняване на механизмите, по които метаболитната хирургия води не само до редукция на телесно тегло, но и до лечение на асоциираните с обезитета усложнения. Целта на настоящето изследване бе да се оцени в рамките на проспективно проучване ефекта на бариатричната хирургия върху метаболитните промени при пациенти с обезитет преди и след метаболитна хирургия. Изследвани бяха 22 пациенти с обезитет с/без въглехидратно нарушения, които бяха проследени преди и след бариатрична хирургия. Установи се, че серумните нива на SFRP4 сигнификантно корелират със следните величини глюкоза на 60 мин от ОГТТ ( $r = 0,402$ ,  $p = 0,034$ ), инсулин на 120 мин от ОГТТ ( $r = 0,503$ ,  $p = 0,006$ ), CAVIR ( $r = 0,344$ ,  $p = 0,03$ ), (CAVIL -  $r = 0,350$ ,  $p = 0,027$ ), ТВImean ( $r = -0,480$ ,  $p = 0,002$ ) и ИТМ по импеданс ( $r = -0,363$ ,  $p = 0,002$ ). Установено бе, че намаляване на серумните нива на биомаркера SFRP4 води до увеличаване на риска за наличие на обезитет с  $OR = 0.557$ ;  $CI: 0,376 - 0,876$ ,  $p = 0,004$ . За първи път в света се установява, че бариатричната хирургия води до подобрене в АВІ индекса, което свидетелства за индиректните й позитивни ефекти на бариатричната хирургия по отношение на сърдечно-съдовия риск. Това се подкрепя и от наблюдаваната редукция с близо 20% в риска за автономна невропатия измерен чрез Sudoscan.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:  
**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;  
**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-133/04.06.2021 Ролята на нови адипокини в глюкозния континуум**

**Докторант:** Д-р Ивета Славянова Недева, редовен докторант

**Научен ръководител:** Проф. Здравко Каменов, дмн

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Известно е, че захарния диабет и затлъстяването са епидемични и пандемични заболявания. По-голяма част от пациентите със захарен диабет са със затлъстяване, което предполага тясна връзка между двете патологични състояния. Напоследък ендокринните аспекти на мастната тъкан се превърнаха в активна изследователска област като обект на особен интерес представляват отделящите се от мастната тъкан адипокини. Стана ясно, че нерегулираното производство на адипокини участва в развитието на метаболитни и съдови заболявания, свързани със затлъстяването. По този начин циркулиращите нива на адипокините могат да се използват като биомаркери с висока предиктивна стойност за развитието на усложнения, свързани със затлъстяването, включително захарен диабет и метаболитен синдром. В нашето проучване бяха изследвани 153 души на средна възраст  $52,05 \pm 11,74$  години, разделени в четири групи - група 1 със затлъстяване без въглехидратни нарушения ( $n=35$ ), група 2 с предиабет ( $n=38$ ) и група 3 ( $n=38$ ) с новооткрит захарен диабет и контролна група от здрави лица ( $n=42$ ). Проследихме нивата на аспрозин в целия спектър на въглехидратните нарушения като установихме сигнификантно по-високи нива при лицата с обезитет и гликемични нарушения спрямо контролната група. По-високи нива се констатираха и при лицата с обезитет и въглехидратни нарушения спрямо тези без съответните отклонения. От проведения корелационен анализ се отчете позитивна връзка между серумния аспрозин и повечето от антропометричните показатели, както и с кръвната захар на 60 мин в рамките на ОГТТ. По отношение на проведените инструментални изследвания се отчете позитивна връзка между аспрозин и индекса за периферна невропатия.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор Д-136/04.06.2021 г. Характеристика на освобождаването на флуорни йони от различни биоактивни obturationни материали**

**Докторант:** Виктория Велизарова Гатева

**Научен ръководител:** Проф. д-р Наталия Гатева-Грънчарова

**Базова организация:** МУ - София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина, гр. София, ул. Георги Софийски 1

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването беше да се оцени концентрацията и продължителността на освобождаване на флуорни йони от някои видове материали - глас йономерен цимент - Fuji IX GP (GC), компомер - Dyract XP (Dentsply Sirona) и

гиомер - Beautifil II (Токууама Dental), използвани като обтурационни материали във временното съзъбие. Във връзка с изпълнението на целта бяха поставени и изпълнени 2 задачи. Първата задача беше да се измери концентрацията на флуорни йони в дейонизирана вода след 24-часов престой в нея на образци от всеки един от изследваните материали. Втората задача бе оценка на промяната на концентрацията им във времето. За изпълнението на задачите бяха изработени по 20 цилиндрични образци от всеки от трите изследвани обтурационни материали. След изработването им, всички образци престояха в инкубатор, потопени в 5 мл дейонизирана вода, при 37°C, за 24 часа, за да се втвърдят напълно. Последва измерване на концентрацията на флуорните йони в средата с помощта на потопен в нея йон-селективен електрод за флуорни йони, свързан с йон-метър. След провеждане на теста, цилиндричните образци бяха промивани с прясна дейонизирана вода, подсушавани и преместени в нови флакони с 5 мл прясна дейонизирана вода. Процедурата се повтаряше всеки ден в продължение на 7 дни, след което на 14ти, 21ви и 28ми ден. Анализът на резултатите показва, че ГЙЦ превъзхожда компомера и гиомера по отношение освобождаването на флуорид за всички времеви интервали със статистически достоверна разлика. Разликата между компомера и гиомера не е достоверна, но компомерът демонстрира по-високи стойности за всички времеви интервали. И трите материала освобождават най-високи концентрации флуор през първия ден, след което настъпва рязък спад в отделянето на флуор и продължително излъчване на по-ниски нива при ГЙЦ и гиомера. При компомера такъв рязък спад не се наблюдава.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ЗАДОВОЛИТЕЛНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.



### **Договор Д-137/04.06.2021 Лонгитудинално проучване на качеството на живот и анализ на разходите за лечение на пациенти с акромегалия в България**

**Докторант:** Яница Антонова Русенова, задочен докторант

**Научен ръководител:** Доц. Мария Камушева, дф и Доц. Атанаска Еленкова, дф

**Базова организация:** МУ - София, ФФ, Катедра Организация и икономика на фармацията“, ул. „Дунав“ 2, гр. София, 1000

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването е да се оцени в дългосрочен план качеството на живот на пациенти с акромегалия в България, стойностната ефективност на прилаганото лечение и свързаните разходи. За постигане на поставените цели са приложени набор от инструменти: (1) систематичен преглед на литературата; (2) анкетно проучване със SF-36, EQ-5D и AcroQoL; (3) събиране на демографски и клинични данни ретроспективно за хоспитализираните пациенти с акромегалия УСБАЛЕ "Акад. Иван Пенчев", София; (4) Микростойносттаване на директните и индиректните разходи; (5) провеждане на анализ разход-ефективност; (6) статистически методи за обработка на данните. Повечето идентифицирани проучвания се основават на фармакоикономическото моделиране със сравнителни алтернативи соматостатинови аналози и pegvisomant. Литературният преглед показва важноста от анализиране на ефективността и стойностната ефективност на прилаганите терапии за акромегалия за целите на вземане на обосновани решения в здравеопазването. Систематичният преглед на проучвания за качеството на живот на пациенти с акромегалия потвърждава необходимостта от периодично проследяване и оценяване на качеството на живот. Проведеното собствено проучване на качеството на живот показва, че жените имат по-ниски стойности на AcroQoL от мъжете 50 vs. 66 ( $p < 0,05$ ). По-ниски стойности за качеството на живот при октреотид спрямо октреотид + pegvisomant са идентифицирани с всички въпросници: 57 срещу 67 AcroQoL ( $p = 0,0405$ ), 0,699 срещу 0,7586 EQ-5D ( $p = 0,0595$ ) и 57,94 срещу 66,06 SF-36 резултати ( $p > 0,093$ ). AcroQoL, EQ-5D и SF-36 са надеждни въпросници, приложими за българското население с акромегалия. Това пилотно проучване потвърди, че комбинираната терапия, която включва биологична терапия е свързана с по-високи резултати на AcroQoL относно външния вид отколкото монотерапията – заключение, което трябва да бъде допълнително потвърдено. Анализ разход-ефективност показва, че вероятността комбинираната терапия соматостатинови аналози + pegvisomant да е стойностно-ефективна спрямо монотерапията със соматостатинови аналози при измерител на резултата изменение на нивата на IGF-1 е около 70%, а при измерител на резултата QALY - около 23% при съответния праг на рентабилност.

#### **Научни публикации и прояви:**

- К. М. Нгуен, Я. Русенова, М. Камушева, К. Митов. Оценка на стойностната ефективност на терапията за акромегалия – литературен преглед. Медицински журнал УМБАЛ "Св. Анна". 2021;VII (1-3): 39-44.
- Rusenova, Y., Vandeva, S., Elenkova, A., Petrova, G., Kamusheva, M. Quality of life of patients with acromegaly: comparison of different therapeutic modalities, Expert Opinion on Orphan Drugs, 2022;10:1, 48-54, DOI: 10.1080/21678707.2022.2153670
- Първанова А, Русенова Я, Камушева М. и кол. Оценка на качеството на живот при пациенти с акромегалия - систематичен преглед. XII Национална

конференция за редки болести и лекарства сираци. 10-11 септември 2021 г. Виртуален Конгресен Център. 151.

- Русенова Я, Пешева М, Ганов Н. и кол. Оценка на стойностната ефективност на терапията за акромегалия в България – данни от реалната терапевтична практика. XIII Национална конференция за редки болести и лекарства сираци. 9-10 Септември 2022 г. Пловдив.

Научният отчет е приет със следните оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

# КОНКУРС „СТИМУЛИРАНЕ НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ В ОБЛАСТИ С ПОСТИГНАТИ ВИСОКИ ПОСТИЖЕНИЯ’

2020-2021

## Договор Д-38/04.03.2021 Ролята на нови биомаркери за сърдечно съдовия риск и метаболитните промени при пациенти с обезитет преди и след бариатрична/метаболитна хирургия

**Изследователски екип:** Проф. Здравко Асенов Каменов, дм, дмн

- Доц. д-р Антоанета Гатева, дм, дмн - МУ
- Доц. д-р Вера Карамфилова, дм
- Гл. ас. д-р Явор Асьов, дм
- д-р Антонина Герганова
- Ас. д-р Цветан Гатев
- Ас. д-р Ивета Недева, дм
- Проф. Костадин Ангелов, дм
- Доц. д-р Константин Гроздев, дм
- Гл. ас. Жулиета Христова-Димитрова, дм
- Проф. Радка Кънева, дм
- Вероника Петкова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ “Александровска“ ЕАД, ул. Св. Георги Софийски 1, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Затлъстяването е хронично метаболитно състояние, което представлява сериозен риск за различни здравословни проблеми. Свързано е с намалено качество на живот, намалена работоспособност и дори смъртност. Когато други методи са неефективни, бариатричната (метаболитна) хирургия е най-ефективният вариант за управление на тежкото затлъстяване. В последно време има нарастващ научен интерес за разбиране на механизмите, чрез които метаболитната хирургия не само довежда до отслабване, но и се справя със свързани с обезитета усложнения. Целта на изследването бе да се оцени в рамките на проспективно проучване ролята на нови биомаркери за сърдечно-съдовия риск и метаболитните промени при пациенти с обезитет преди и след метаболитна хирургия. Изследвани бяха 27 пациенти, подходящи за бариатрична хирургия ( $BMI \geq 40 \text{ kg/m}^2$  или  $BMI \geq 35$  със ЗДТ2), които бяха съпоставени с контролна група здрави доброволци ( $n=27$ ). Те бяха проследени в рамките на 6 месеца след оперативната интервенция (RYGB, ръкавна гастректомия, OAGB). В рамките на настоящето изследване се установи статистически достоверна разлика между нивата, както на Asprosin, така и на CTRP-1 при пациентите с обезитет преди бариатрична хирургия и здравите доброволци. Също така се установи и сходна разлика на 6 месец от постоперативното проследяване между пациентите подложени се на бариатрична хирургия и контролите. Отчете се и значима редукция в нивата им следоперативно, което се асоциира с редукцията в апетита и сърдечно-съдовия риск на пациентите. Намерени бяха значими корелации на серумните нива на Asprosin и съотношението талия/ханш

(Spearman's coefficient  $\rho = 0,308$ ,  $p = 0,038$ ), с Fat% (Spearman's coefficient  $\rho = -0,384$ ,  $p = 0,007$ ), с метаболитна възраст (Spearman's coefficient  $\rho = 0,536$ ,  $p = 0,000$ ) и със средна стойност на индекса за дебелина на интима-медиа индекс (Spearman's coefficient  $\rho = 0,522$ ,  $p = 0,000$ ). Необходими са допълнителни проучвания с проспективен характер при голяма група пациенти с оглед задълбоченото проучване на промените, които настъпват при пациентите подложени на бариатрична хирургия.

#### **Научни публикации и прояви:**

- “Serum CTRP-1 levels in patients with obesity before and after bariatric/metabolic surgery” – submitted abstract, ID: 163, IFSO World congress of Bariatric and metabolic surgery, 30.08-01.09.2023, Naples, Italy

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-39/04.03.2021 Оценка на прогресивното васкуларно ремоделиране на мозъчните артерио-венозни малформации**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Станимир Стефанов Сираков, дм

- Ас. д-р Александър Сираков, дм
- Д-р Ирена Иванова, дм
- Ас. д-р Димитър Монов
- Ас. д-р Николай Лилянов

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по образна диагностика; Сектор Интервенционална рентгенология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД  
**Адрес за контакти:** бул. Акад. Иван Гешов № 15, пощенски код: 1431, София

**РЕЗУЛТАТИ:** Мозъчните артерио-венозни малформации (АВМ) се асоциират със значителен риск от руптура и последващ фатален интракраниален кръвоизлив поради нарушено шънтиране на артериалната кръв във венозната компонента и липсата на капилярно русло. Механизмите, участващи в растежа, прогресията и развитието на АВМ, не са добре изучени. Целта на настоящето изследване бе да оцени прогресивното васкуларно ремоделиране на мозъчните артериовенозни малформации посредством клинично-лабораторни методи. Установена бе връзката между възрастта и серумните нива на матриксната металопротеиназа – 9. С всяка следваща година от напредването на възрастта нива на MMP-9 сигнификантно намаляват с 0,644%. Не бяха установени прагови нива за MMP-9 и за ICAM-1, както във венозна, така и в артериална кръв за разграничаване на пациентите с кървели, спрямо тези с некървели мозъчни АВМ. Не бяха установени прагови нива за MMP-9 и за ICAM-1 в периферна венозна кръв за разграничаване на пациентите с мозъчни АВМ спрямо здравите контроли. Установява се, че има статистически достоверна разлика между нивата на MMP-9 в кръвта взета проксимално от артерията хранеща артерио-венозната малформация и периферна венозна кръв изходно, на 24 час след ендоваскуларната интервенция и на 7 постоперативен ден ( $p=0,012$ ). Не се установи статистически достоверна разлика между нивата на ICAM-1 в кръвта взета проксимално от артерията хранеща артерио-венозната малформация и периферна венозна кръв изходно, на 24 час след ендоваскуларната интервенция и на 7 постпроцедурен ден ( $p=0,595$ ). Не се установи връзка между пола и кръвоизлива като първоначална изява на мозъчната артерио-венозна малформация ( $p=1,000$ ). Необходимо е да се проведат по-нататъшни изследвания при голяма популация от пациенти с кървели и некървели мозъчни артерио-венозни малформации с оглед по-задълбочени изследвания на съдовото ремоделиране.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-42/08.03.2021 Въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на динамична експанзия в гена ATXN2 при пациенти с амиотрофична латерална склероза

**Изследователски екип:** Проф. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дбн

- Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн
- Гл.ас. Биляна Георгиева, дб
- Проф. Ивайло Търнев, дмн
- Янка Дангулова
- Тихомир Тодоров, дб
- Славко Орманджиев

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, МУ-София, Катедра по Медицинска химия и биохимия, Секция Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Болестта Амиотрофична латерална склероза (ALS) е рядко и нелечимо невродегенеративно заболяване с летален изход. Целта на научната разработка беше въвеждане и оптимизиране на метод за анализ на динамичната (CAG)<sub>n</sub> експанзия в ATXN2 гена при пациенти с предполагаема клинична диагноза ALS сред българската популация. Беше разработен и оптимизиран метод за анализ на експанзии в ATXN2 гена. PCR базираният метод за детекция чрез фрагментен анализ беше успешно приложен, за откриването на (CAG)<sub>n</sub> експанзии в ATXN2 гена. На базата на проведените молекулярно-генетични изследвания бяха генетично потвърдени 9 пациента с предполагаема клинична диагноза ALS, като открихме 7 експанзии в рамките на 27-30 CAG повтора и 2 гранични стойности от 26 CAG. Бяха генетично потвърдени и двама асимптоматични родственици на двама от изследваните пациенти, като открихме 28 повтора при единия от тях и граничните 26 повтора при другия, отговарящи на генотипа на индексните пациенти. При проведеното изследване на ATXN2 гена наблюдавахме честота на експанзиите от 4,5% при български пациенти, която е близка до тази от литературната справка (~4,7%) за всички случаи на ALS [Elden et al., 2010]. Броят на изследваните пациенти е малък, но се установява ясна корелация между генотип и фенотипния белег „начало на заболяването“: по-ранно начало при наличие на по-големи CAG експанзии. При вертикално проследяване на унаследяването на 28 CAG експанзията при родствениците на индексния пациент, установихме стабилно преминаване в поколението (28 CAG > 28 CAG). Граничните стойности (26 CAG повтора) трябва да се интерпретират в контекста на клиничната изява. Тези гранични експанзии могат да се развият в големи експанзии в следващото поколение, които на пръв поглед не засягат пациента, но имат импакт върху поколението, вследствие на антиципация. Амиотрофичната латерална склероза е рядко невродегенеративно заболяване, за което липсват генетични данни за българските пациенти. Настоящата разработка допринесе за генетичното изясняване на 4,5% от 200 пациента, с което се обогатяват световните бази данни с данни за българската популация.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-43/08.03.2021 Молекулно-генетични варианти в гена *BTB*, кодиращ ензима биотинидаза в България**

**Изследователски екип:** Гл.ас. Биляна Георгиева Георгиева, дб

- Проф. Албена Тодорова-Георгиева, дб, дбн
- Гл.ас. Силвия Календерова-Вълкова, дб
- Мария Дюлгерова
- Янка Дангулова
- Гл.ас. Ани Митева
- Славена Атемин
- Иглика Йорданова, дб

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по Медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на проучването бе да установим спектъра от молекулно-генетични варианти в *BTB* гена и техния ефект върху активността на ензима биотинидаза. Със специфичен софтуер GenSearchNGS (1.7.03) преанализирахме налични данни от NGS анализи от 135 пациента с разнообразни клинични диагнози с оглед търсене на различни молекулни варианти в *BTB* гена, които потвърдихме и със секвениране по Сангер. С директно секвениране проверихме наличието на мутацията p.Asp444His при 100 здрави, нормални, неродствени контролни проби, използвани за дефинирането на контролните граници на нормална биотинидазна активност. Установихме, че честотата на носителство на p.Asp444His в България е по-висока (11,53%) от публикуваната в световната литература. Дефинираме контролните граници на нормална биотинидазна активност при неносители на p.Asp444His – средно 5,34 pmol/min/диск (при граници 3,70 - 6,96 pmol/min/диск). При носителите на p.Asp444His установихме биотинидазна активност средно 3,69 pmol/min/диск (около 69% от средната нормална ензимна активност). Установихме, че само на базата на биотинидазната активност не може да се потвърди или отхвърли носителство на „леката“ мутация p.Asp444His. При преанализиране на NGS резултатите на пациенти с разнообразни клинични диагнози открихме 7 публикувани молекулни варианти в *BTB* гена – 2 патогенни варианта: с.1330G>C (p.Asp444His) и с.625C>T (p.Arg209Cys), 4 непатогенни варианта: с.1413T>C (p.Cys471Cys), с.1171C>T (p.Pro391Ser), с.261C>T (p.Asn87Asn) и с.645C>T (p.Leu215Leu), и 1 вариант с неопределено значение: с.133G>A (p.Gly45Arg), с което разширяваме познанията по вече известните молекулни варианти в гена. Открихме двама пациента, при които е много вероятно да се касае за частичен биотинидазен дефицит – единият пациент е хомозигот за честата мутация p.Asp444His, а другият е двоен хетерозигот за p.Asp444His и p.Arg209Cys. И при двамата пациента до момента никога не е била допускана като вероятна клинична диагноза биотинидазен дефицит, което показва, че нашите лекари специалисти би трябвало да се запознаят детайлно с характеристиките на това заболяване, за да може да се предложи на семействата правилна диагностика, навременна терапия и адекватна генетична консултация. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-44/08.03.2021 Присъствие на ниско, средно и високорискови типове човешки папиломни вируси в тъканни материали на пациенти с доброкачествена простатна хиперплазия, преанцерозни състояния и/или простатен карцином**

**Изследователски екип:** Гл. ас. Силвия Георгиева Календерова-Вълкова, дб

- Проф. Албена Тодорова-Георгиева, дбн
- Гл. ас. Биляна Георгиева, дб
- Ас. Анита Кавръкова, дб
- Кремена Месечкова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по Медицинска химия и Биохимия, ул. Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Има данни, показващи позитивна асоциация на високорискови човешки папиломни вируси (ЧПВ) с поява и прогресия на простатен карцином (ПК), на база онкогенната им биологична активност. Тествахме български пробанди за наличие на ниско, средно и високорискови ЧПВ при ПК. Изследвахме 55 “tru-cut” биопсии с доказан ПК и 17 с доброкачествена простатна хиперплазия (ДПХ). Приложихме ДНК/РНК екстракция, PCR- базиран хибридизационен метод. Създадохме ДНК/РНК банка от проби на пациенти с диагноза ПК и ДПХ с детайлно описани предклинични и клинични характеристики. Детектирахме ЧПВ в 9,09 % от “tru-cut” биопсиите с ПК и 5,88 % с ДПХ. Детектираните нискорискови типове ЧПВ са 42 и 54/55, а високорисковите са 18 и 51. Хистологичното изследване показва наличие на високо и умерено диференциран ацинарен аденокарцином в комбинация с ДПХ, ПИН и възпаление. Нашите резултати подкрепят хипотезата, че дълговременната активна инфекция, предимно с високорискови ЧПВ допринася за интрапростатно възпаление, преанцерозни лезии и ДПХ, и по-късно за малигнизация/озлокачествяване. Планираме да разширим проучването си върху солидни простатни тумори.

**Научни публикации и прояви:**

- “Molecular and infectious profiling of prostate cancer” E. Todorova, A. Kavrakova, B. Georgieva, K. Mesechkova, K. Anachkov, K. Yanev, G. Ivanov, G. Derimachkovski, V. Mitev and A. Todorova. Международния конгрес ESHG 2022, 11-14.06.2022, Виена, Австрия.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## **Договор Д-45/08.03.2021 Епидемиологично типизиране с молекулярно-генетични методи на изолати *Staphylococcus aureus* от различни инфекции**

**Изследователски екип:** Проф. д-р Райна Цветанова Гергова, дм

- Асист. д-р Вирна-Мария Циту, дм
- Асист. Адиле Мухтарова, дм
- Проф. Радка Кънева, дм
- Калина Михова

**Базова организация:** МУ - София, Медицински Факултет, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това проучване е да се изследва молекулярната епидемиология на клинично значимите изолати на *S. aureus* и да се оцени връзката с техните фактори на

вирулентност и антибиотична резистентност. Резултати: Общо 558 инвазивни и неинвазивни клинични щамове *S. aureus*, изолирани през 2016-2020 г. от болници в София, бяха идентифицирани чрез фенотипни методи, вкл. за тяхната резистентност към антимикробни средства и съхранявани при -70°C с техните ДНК екстракти за следващо молекулярно-генетични изследвания. Всички MRSA и представителен брой MSSA бяха проучени и оценени за разпределението на стафилококовия RAPD тип и MLST - секвенционен тип (ST). Епидемиологичното типизиране по RAPD метода показва широко разпространено нозокомиално разпространение на 24 клона и дивергенция на MSSA в периода 2016-2020 г. Доминиращият тип А, който циркулира по-интензивно през 2016 и 2017 г., показва висок епидемичен и инвазивен потенциал. Изолатите от по-новия клон I, от 2018 г., показват значително по-висока вирулентност и устойчивост на макролиди в 42,9%, кодирани от *ermB* и *ermC*. 15 MRSA клона бяха идентифицирани чрез RAPD и пет клонални комплекса и 11 ST типа съответно чрез MLST методи. Сред тях доминиращият тип последователност е ST5CC5 - известен международен епидемичен клон (EMRSA), съответстващ на RAPD клона а и персистиращ през целия период на изследване с висок епидемичен и инвазивен потенциал. Секвенционният тип ST582CC15, съответстващ на клон b, отново съдържа щамове с висока вирулентност и епидемичност от трите болници. Клон с, който съответства на ST217CC22, показващ значителна хетерогенност, е открит само в 1 болница и при амбулаторни пациенти. Клон d, респ. ST8-CC8, съдържащ само инвазивен HA-MRSA, е известен също като международна EMRSA. Заключение: Това изследване на вирулентността, механизмите на антимикробна резистентност, разпространението на серотиповете и молекулярната епидемиология на клинично значимите стафилококови изолати създава основата за бъдещо наблюдение на еволюцията и генетичната връзка на българските щамове *S. aureus* в сравнение с глобалното разпространение на резистентни клонове.

#### Научни публикации и прояви:

- Вирна-Мария Ставрос Циту, Микробиологични и генетични проучвания върху вирулентността, резистентността и молекулярната епидемиология на клинични изолати *Staphylococcus aureus*, Дисертация, София, 2021
- Raina Gergova, Virna-Maria Tsitou, Svetoslav G. Dimov, Lyudmila Boyanova, Kalina Mihova, Tanya Strateva, Ivanka Gergova and Romyana Markovska.. Molecular epidemiology, virulence and antimicrobial resistance of Bulgarian methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2022;69(3):193-200

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-46/08.03.2021 Оценка на инкретинов отговор при различни степени на отклонения в глюкозния толеранс**

Изследователски екип: Проф. Цветалина Иванова Танкова, дмн

- Гл.ас. д-р Грета Грозева-Дамянова, дм
- Гл. ас. д-р Невена Чакърва, дм
- Гл. ас. д-р Румяна Димова-Драганова, дм
- Гл. ас. д-р Мария Бояджиева-Владиминова, дм
- Д-р Мина Сердарова
- Д-р Ани Тодорова, дм
- Д-р Полина Царкова
- Д-р Мартина Салкова



- Д-р Теодора Янакиева

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Ендокринология, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, Клиника по Диабетология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването е да се направи оценка на нивото на GLP-1 и връзката му с инсулиновия отговор в хода на ОГТТ при различни степени на нарушения в глюкозния толеранс. Изследвани са 90 лица -28 мъже и 62 жени, на средна възраст  $47.1 \pm 10.6$  години, среден ИТМ  $31.7 \pm 6.1$   $\text{kg/m}^2$ ). Глюкозният толеранс е оценен с ОГТТ с разширено пробовземане и на 60-та мин. Участниците са разделени в три групи – 29 с нормален глюкозен толеранс (НормГТ), 30 с нормален глюкозен толеранс и висока кръвна захар на 60-та мин (НормГТ+висока КЗ 60мин) и 31 с нарушен глюкозен толеранс (НГТ). Изследвани са имунореактивен инсулин, С-пептид, GLP 1 total и GLP 1 active на трите точки от ОГТТ по ELISA метод. Статистическият анализ е осъществен с SPSS v.21.0. Не се установиха статистически значими разлики в хормоналния отговор – инсулинов и инкретинов, между изследваните групи и не се установи значима корелация между тях. Очертаха се количествени тенденции за нарастване на инсулиновия и намаляване на инкретиновия отговор при прехода от НормГТ към НормГТ+висока КЗ 60мин и НГТ. Независимо от недосгнатия статистически праг за значимост, на базата на получените резултати може да се приеме, че инкретиновият отговор, оценен посредством нивата на основния инкретинов хормон GLP 1, показва количествени различия и вероятно е намален при състояния на предиабет. Популацията лица с НормГТ+висока КЗ 60мин, вероятно представляват отделно звено от ранните етапи на нарушения в глюкозния толеранс и вероятно следва да се разглеждат като отделна категория на повишен риск, различна от нормалния глюкозен толеранс. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-47/08.03.2021 Зависимост между присъствие на генен полиморфизъм на IL- 23 и тежест на пародонтита**

**Изследователски екип:** Доц. Антоанета Митева Млъчкова, дм

- Ас. Здравка Пашова-Тасева
- Проф. Христина Попова
- Д-р Мая Кичева

**Базова организация:** МУ - София, Факултет по Дентална Медицина, Катедра „Пародонтология“

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящия научен проект участие взеха 83 индивида – 62 пациенти с умерен и тежък пародонтит и 21 здрави контролни индивиди. При всички изследвани лица е проведена обстойна пародонтална диагностика, взета е епителна проба „букална мукоза“, която е подложена на генетичен анализ чрез RFLP-PCR метод относно генен полиморфизъм на IL-23. Данните са подложени на статистически анализ чрез PCA – IBM SPSS Statistics Version 22 като е установено, че за SNP на IL-23 са изолирани два генотип –GG и GA. Масово разпространеният генотип GG за SNP на IL-23 не показва значима връзка с тежестта на пародонтита. Въпреки това се установяван по-високи стойности на CAL и BI/Age при пушачи от мъжки пол. При двамата пациенти, носители на GA алел, се регистрират високи стойности на показателя BI/Age. Не се установява зависимост между посоченият генен полиморфизъм и тежестта на пародонтита, но се маркират тенденции относно по-тежко протичане на пародонтита при определени генотипове. Поради

малката представителна извадка резултатите не могат да бъдат абсолютизирани. Необходими са допълнителни изследвания сред по-голям брой участници.

**Научни публикации и прояви:**

- Пашова-Тасева З, Попова Х, Тошева Е, и кол. Проинфламаторни цитокинови полиморфизми тежест на пародонтита в кохорта от български пациенти. *Acta Medica Bulgarica*. 2022;49(4):31-37
- Пашова-Тасева З, Млъчкова А. Взаимовръзка между проинфламаторни цитокини и пародонтит. 20-ти научен конгрес на БЗС. Бургас. 16-18 юни 2022 г.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор Д-213/15.12.2021 Разпространение на SARS-CoV-2 мутантен вариант (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) в българска извадка с позитивни пациенти и връзката му с характерна клиника**

**Изследователски екип:** Гл. ас. д-р Биляна Георгиева Георгиева, дб

- Проф. д-р Албена Тодорова-Георгиева, дбн
- Д-р Анита Кавръкова, дб
- Мария Дюлгерова
- Янка Дангулова
- Кремена Месечкова, редовен докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра „Медицинска Химия и Биохимия“, София, ул.Здраве 2, София, п.к. 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: Да се проучи евентуалното разпространение или липса на SARS-CoV-2 мутантен вариант (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) в българска извадка с позитивни пациенти и връзката му с характерна клинична картина. Материали и методи: Концентриране и стабилизация на изолираните РНК матрици, RT-PCR, качествен и количествен Real-Time PCR и др. Резултати: Таргетният SARS-CoV-2 мутантен вариант (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) е детектиран в 10,11 % от българска извадка с позитивни за SARS-CoV-2 пациенти. Всички позитивни за прицелния мутантен вариант пациенти са с удължена активна инфекция и продължаване на карантинния период. Повечето от позитивните за SARS-CoV-2 мутантен вариант (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) попадат в групата на лека до средно тежка клиника, както и останалите пациенти в извадката. Има само няколко тежки клинични случая, завършили с хоспитализация и летален изход. Отчитат се разнообразни и дълго развиващи се пост-ковид усложнения при позитивните за SARS-CoV-2 (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) мутантен вариант пациенти като: лек задух месеци след инфекцията, перманентна умора, мигренозно главоболие, болки в гърба, безсъние, косопад, аритмия и др. При един от пациентите се достига до постковид сърдечно увреждане и респективно смяна на аортна клапа. Изводи: Доказахме ефективна миграция на таргетния мутант от първичната му локализация към Европа чрез масовата глобализация и пътувания. SARS-CoV-2 (делеция в *ORF8* от 382 н.дв.) мутанта предизвиква удължена активна фаза на вирусната инфекция. Независимо от по-леката клинична изява и последици сред пациентите носители на таргетния мутант, доказахме че той е способен да предизвиква пневмонии с намалена сатурация и разнообразни и дълговременни постковид усложнения. Интересен факт е, че данните за най-тежка клиника са концентрирани в имунокомпроментирани пациенти с диагнози като тиреоидит на Хашимото, болест на Бехтерев. Считаме, че диференциалната диагностика и разграничаване на SARS-CoV-2 геномните варианти има пряко терапевтично значение. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-214/15.12.2021 Изследване на глюкозо-зависим инсулинотропен полипептид (GIP) при състояния на предиабет

**Изследователски екип:** Проф. Цветалина Иванова Танкова, дмн

- Гл.ас. д-р Грета Грозева-Дамянова, дм
- Доц. д-р Невена Чакърлова, дм
- Доц. д-р Румяна Димова-Драганова, дм
- Д-р Мина Сердарова

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Ендокринология, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ ЕАД, Клиника по Диабетология, ул.Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването е да се направи оценка на нивото на глюкозозависимия инсулинотропен полипептид (GIP) и връзката му с показателите на глюкозната хомеостаза при състояния на предиабет – нарушена гликемия на гладно (НГГ) и нарушен глюкозен толеранс (НГТ). Изследвани са 90 лица -28 мъже и 62 жени, средна възраст  $47.7 \pm 10.9$  години, среден ИТМ  $31.5 \pm 5.8$  кг/м<sup>2</sup>. Глюкозният толеранс е оценен с ОГТТ, допълнително е изследван HbA1c. Участниците са разделени в три групи – 29 с нормален глюкозен толеранс (НормГТ), 30 с НГГ и 31 с НГТ. Изследвани са имунореактивен инсулин, С-пептид, GIP обща фракция в хода на ОГТТ по ELISA метод. Глюкозната вариабилност е представена като коефициент на вариабилност в проценти на базата на суровите данни от продължително глюкозно мониториране със сензор Libre Pro. Статистическият анализ е осъществен с SPSS v.21.0. Не се установиха статистически значими разлики в GIP - инкретиновия хормонален отговор между изследваните групи и не се установи значима корелация между инкретиновия отговор и показателите на глюкозната хомеостаза. Очертаха се количествени тенденции за нарастване на инкретиновия отговор, намаляване на инсулиновата чувствителност и бета-клетъчна функция и увеличаване на глюкозната вариабилност при прехода от НормГТ към предиабет като за групата НГТ коефициента на глюкозна вариабилност е значимо повишен ( $p < 0.001$ ). Получените резултати подкрепят хипотезата за предимно качествени промени - нарушено инкретиново действие/резистентност, а не количествени различия в инкретиновия отговор при състояния на предиабет.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## Договор Д-216/15.12.2021 Разширяване на молекулната патология при пациенти с късна малкомозъчна атаксия, негативни за експанзии на динамични повтори, чрез новогенерационно секвениране

**Изследователски екип:** Проф. Радка Петрова Кънева, доктор

- Проф. Албена Йорданова, доктор
- Проф. Ивайло Търнев, дн
- Доц. Теодора Чамова, дн
- Ас. Невяна Иванова, доктор
- Калина Михова
- Стоян Бичев
- Стиляна Панова
- Мартин Георгиев

**Базова организация:** МУ - София, Медицински факултет, Катедра по медицинска химия и биохимия, Център по молекулярна медицина, ул.Здраве 2, София 1431

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото изследване бе разкриването на генетичните причини за развитието на късна малкомозъчна атаксия (КММА) при пациенти, при които са отхвърлени най-честите генетични дефекти – експанзии на динамични повтори. Идеята бе да се търсят друг тип варианти с помощта на пълно екзомно секвениране (WES). В настоящият проект бяха анализирани 50 неродствени пациента. Патогенни/потенциално-патогенни варианти бяха открити при 37 пациента. Мутационният спектър включва 29 гена, от които 19 са известни гени за КММА като най-многобройни са случаите на молекулни дефекти в гените PNPLA6, FAT2, PRKCG, PRNP, POLG и SPTBN2. Идентифицирани бяха варианти и в 3 нови кандидат-гена, за които до този момент имаше само единични съобщения (FAT1, MTL1, SPTAN1). При седем пациента бяха идентифицирани варианти в гени, свързани с други невродегенеративни и невромускулни заболявания (амиотрофична латерална склероза, болест на Паркинсон, спастична параплегия и миопатия), а при един пациент бе установен вариант в ген, свързан с цереброваскуларна болест (ADA2). Това потвърждава досега изнесените данни за клиничното и генетичното припокриване на тези заболявания. Поставянето на генетична диагноза се оказа ключово при дефинирането на комплексни фенотипи като синдром на Boucher-Neuhauser, ARSACS и прионова болест, за които до този момент, нямаше данни сред българските пациенти. При двама от пациентите, освен варианти в гени за КММА, бе намерен и втори генетичен вариант, свързан с друго неврологично заболяване (TGM6 и ADA2; DNMT и CPT1C). И в двата случая, повторната клинична оценка потвърди наличието на допълнителна симптоматика, която е възможно да се дължи на варианта във втория ген. Тези находки показват, че това, което ние виждаме като обща клинична картина, може да се дължи на молекулни дефекти в повече от един ген като всеки един от тях води до развитието на определена клинична симптоматика и се унаследява независимо. Възможно е дефектите в тези гени да следват различен модел на унаследяване, което би обяснило клиничната хетерогенност при пациентите в едно семейство.

**Научни публикации и прояви:**

- Ivanova N, Mihova K, Chamova T, Bichev S, Kamenarova K, Kachakova D, Georgiev M, Bozhilova R, Dimitrova I, Savov A, Turnev T, Jordanova A, Kaneva R. P11.011.C. Whole exome sequencing in Bulgarian patients with late-onset hereditary ataxia expands the genetic diversity of the disease. European Society of Human Genetics Conference. Glasgow, United Kingdom. 10-13 June 2023.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

# КОНКУРС „ИЗГРАЖДАНЕ НА ИНФРАСТРУКТУРА ЗА НАУЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ В МУ – СОФИЯ’ 2020 - 2021

## Договор Д-40/04.03.2021 Доизграждане на лаборатория за изследване на стойката и локомоцията към Катедрата по кинезитерапия във ФОЗ при МУ-София (II-ри етап)

**Изследователски екип:** доц. Стефан Недков Янев, дм

- Проф. д-р Ивет Колева-Йошинова, дмн
- Проф. д-р Йоаннис Папатансиу, дм
- Доц. Давид Кънчев, дн
- Доц. Ванина Михайлова-Алакиди, дм
- Доц. Тодор Димитров, дм
- Доц. Инна Иванова, доктор
- Гл. ас. Жулиета Геренова, дм
- Гл. ас. Елвира Никовска
- Проф. Антония Янакиева, дм
- Проф. Тодор Кундурджиев, дм
- Доц. д-р Георги Ангов, дм
- Гл. ас. Мариана Алберт
- Доц. Йордан Гавраилов
- Антоанета Байрактарова
- Атина Иванова
- Владимира Владимирова
- Николай Червенков
- Антоанет Василева

**Базова организация:** МУ - София, ФОЗ, Катедра по кинезитерапия

**РЕЗУЛТАТИ:** В доизградената на втори етап Лаборатория за изследване на стойката и локомоцията към Катедрата по кинезитерапия във ФОЗ при МУ – София е инсталирана SEMG апаратура, предоставяща възможност за провеждане на базови биомеханични, кинезиологични на здрави индивиди и патокинезиологични изследвания на пациенти. Спектърът от пациенти със заболявания, обект на лабораторията съдържа различни състояния след травми на долните крайници, таза и гръбначния стълб; болести на костно-мускулната система и на съединителната тъкан; болести на нервната система (централна и периферна); болести на вътрешното ухо; мозъчно съдови болести; вродени аномалии, деформации и хромозомни аберации и др. Използваният хардуер за SEMG (повърхностна електромиография), който придобихме е FREEEMG 1000 на италианската фирма BTS Bioengineering е със следните характеристики: водоустойчивост, безжична връзка с 20 м свободно разстояние между приемника и предавателите, резолюция: 16 бит, честота на придобиване на сигнала: 1 kHz, литиево йонни батерии със зарядно, холтер: до 5 часа за всеки сензор, вградена памет във всеки електрод, тегло около 10 грама с включена батерия. Прецизните дигитални измервания и анализ дават възможността за точно регистриране на симптомите, тяхната възпроизводимост и сравнимост във времето, чрез което се подпомага научната работа в клиниките по ортопедия и травматология, неврология, педиатрия, физикална и рехабилитационна медицина към университетските многопрофилни болници на МУ-София. Организиран са научни форуми и са проведени информационни срещи за популяризиране на

възможностите на лабораторията не само в медицинските среди, но и с партньори от други висши училища в България. Повишаване на качеството на обучението по специалност „Кинезитерапия“ и „Рехабилитатор“ в МУ-София, чрез провеждане на практически упражнения в лабораторията на студенти от специалността, както и чрез направена актуализация на учебните програми. Докторант от екипа придоби ОНС „доктор“ и един от хабилитираните преподаватели придоби НС „доктор на науките“ на теми, свързани с проекта.

#### **Научни публикации и прояви:**

- „Постуралната функция – основна и неразделна част от двигателната функция на човека в състояние на здраве и заболявания“ за придобиване на научна степен „доктор на науките“ - доц. Давид Руменов Кънчев
- “Роля на рехабилитацията за подобряване качеството на живот след артроскопски интервенции на колянна става“ за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ - Антоанета Петкова Байрактарова

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-41/08.03.2021 Изграждане на вътрешна мрежова инфраструктура за осигуряване на съхранението, трансфера и обработката на биологични сигнали и получени експериментални резултати от комплексни изследвания на животински модели на социално значими заболявания**

**Изследователски екип:** Доц. Юри Пенков Няголов, дм

- Проф. д-р Лазар Славов, дм
- Доц. д-р Мирослава Варадинова, дм
- Гл. ас. Надя Христова-Авакумова, дбф
- Ас. Петър Сомлев, дм
- Ас. Евгени Гъбев, дvm
- Андрей Попов
- д-р Петя Маркова, дм
- Николета Вулова

**Базова организация:** МУ-София, Медицински факултет, Катедра по физиология и патофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Реализирането на настоящия проект осигури съхранението, трансфера и достъпа за специфична обработка, на генерираните в лабораторията по хемодинамика и бъбречни функции масиви от данни на регистрирани биологични сигнали и на получени експериментални резултати от комплексни интердисциплинарни изследвания на животински модели на социално значими заболявания. Изградената мрежова и сървърна инфраструктура осигуряват интегриране в мрежа на наличната в Лабораторията по хемодинамика и бъбречни функции, Катедра по физиология и патофизиология, полифизиографска и аналитична апаратура и необходимото пространство за съхранение на получаваните данни. В лабораторията се провеждат комплексни изследвания на различни животински модели на заболявания, които се реализиран в сътрудничество със специалисти от катедрите по фармакология и токсикология, химия и биохимия, физика и биофизика, анатомия, хистология и ембриология в Медицински факултет, МУ-София, както и с научни колективи от други университети. Изграждането на инфраструктурата осигури и възможност за максимално ефективно използване на наличните софтуерни продукти в реално време, както за регистрация, така и за обработка на получаваната

информация от различни постове както на локално ниво и в отдалечен режим. Възможността за постоянен достъп до експерименталните данни и за комуникация между отделните изследователи осигурява гъвкав и ефективен режим на работа. Закупеният актуален, лицензиран статистически софтуерен пакет с графичен модул е основа за изграждане на унифицирани алгоритми за прилагане статистически методи за обработка експериментални данни, както и за обучението на млади изследователи от различни области с различните статистически методи за обработка и за визуализация на съхраняваните в базата данни експериментални резултати. Изграждането на модерна инфраструктура с възможности за достъп до резултати от мултидисциплинарни изследвания, ще даде възможност за разширяване на прилаганите методични подходи за обработване и широкообхватно и детайлно обсъждане на получаваните експериментални данни.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор Д-212/13.12.2021 Интеграция на дигитално-информационен модул на базата на cad/cam технологии в обучението на студентите от специалност “зъботехник” на Медицински Колеж “Йорданка Филаретова”**

**Изследователски екип:** Доц. д-р инж. Стефан Колев Великов

- Проф. Ралица Златанова-Великова, дм
- Проф. Николай Попов
- Доц. Радка Горанова-Спасова, дм
- Гл. ас. Спартак Янакиев, дм
- Надежда Костова-Камбурова
- Мила Московска, Докторант
- Гл. Ас. Дарина Димитрова-Стефанова
- Айлин Ахмед, студент
- Елина Мичева, студент

**Базова организация:** МУ - София, Медицински колеж „Йорданка Филаретова“ – София, ул. „Йорданка Филаретова“ 3, София, 1646

**РЕЗУЛТАТИ:** CAD/CAM (computer aided design/computer aided manufacturing) е технологичен метод, при който се използва специализиран софтуер и апаратура за дизайн и производство на различни видове протезни конструкции. Той е въведен в медицината като цяло и в денталната медицина и зъботехниката в частност. Целта на проекта е повишаване компетентността, качеството на обучение и конкурентноспособността на студентите от специалност „Зъботехник“, оценка на точността на новите дентални материали и апарати и създаване на възможности за професионална колаборация чрез изграждане и обновяване на инфраструктурата на МК “Й. Филаретова” със съвременни CAD/CAM технологии. Резултатите от изпълнение на проекта са: Осъвременяване на инфраструктурата на МК „Й. Филаретова“ в съответствие с актуалните тенденции, установените практики; Въвеждане на свободно избираеми дисциплини за работа с CAD/CAM технологии; Актуализация на учебните програми по профилните дисциплини в съответствие със съвременните тенденции в световен мащаб чрез интеграция на CAD/CAM теоретични и практически занятия; Разширяване на педагогически възможности и повишаване на качеството на онагледяване на учебния материал. Реализация на лабораторни изследвания относно точността на работни модели

от различни материали и възможност за сравнителен анализ и оценка на адаптацията на протезни конструкции към тях; Развиване на уменията на обучаващи и обучавани да използват съвременни CAD/CAM технологии и денталния; Разкриване на възможности за извършване на курсове за след дипломна квалификация на територията на колежа и университета. Усъвършенстването на инфраструктурата ще отвори нови възможности за научна и изследователска дейност в рамките на проекта и през следващите години. Наличието на CAD/CAM технологии дава възможност за успешна колаборация с други университети и колежи в чужбина, където тези методи са сериозен акцент в обучението. Популяризиране на резултатите от изпълнението на проекта повишава атрактивността на специалност „Зъботехник“ в Медицински колеж „Йорданка Филаретова“ и Медицински университет – София.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Янакиев С., С. Великов, Н. Костова-Камбурова, М. Московска, Е. Мичева, Нагласи и отношение на студентите от специалност „Зъботехник“ на МК „Й. Филаретова“ относно употребата на CAD/CAM технологиите в практиката и обучението по зъботехника – пилотно проучване, с, 3-4. 48-54, 2022г;
- Янакиев С., С. Великов, Н. Костова-Камбурова, М. Московска, Е. Мичева. Роля на CAD/CAM обучението в практическата и теоретична подготовка по технология на зъбните протези на първокурсниците от специалност „Зъботехник“ на МК „Й. Филаретова“, Здраве и наука, брой 1-2, 2023
- Янакиев С., Н. Костова-Камбурова, М. Московска, С. Симеонов, Е. Мичева, Триизмерно принтиране в денталната медицина и зъботехниката, Здраве и наука, 2023, под печат
- Spartak Yanakiev, Stefan Velikov, Nadezhda Kostova-Kamburova, Mila Moskova, Elina Micheva. Effect of the cad/cam education on the practical and theoretical training of dental technician students at Medical college "Y. Filaretova", Sofia, 7th Asia pacific International Modern Sciences Congress, November 4-5, 2022, Jakarta, Indonesia
- Spartak Yanakiev, Stefan Velikov, Nadejda Kostova-Kamburova, Mila Moskova, Elina Micheva. Attitudes of the students of the "Dental technician" specialty at Medical college "Y. Filaretova" on the use of CAD/CAM technologies, 8th International black sea coastline countries scientific research conference, , August 29-30, 2022 / Sofia, Bulgaria
- Янакиев С., Н. Костова-Камбурова, М. Московска, Е. Мичева, Триизмерно принтиране в денталната медицина и зъботехниката, Юбилейна научна конференция „Традиции и бъдеще в медицинското образование“ по случай 180 години от рождението на Йорданка Филаретова, 21 март 2023, София, България

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.



**SCIENTIFIC PROJECTS 2020 –  
2021**

**WITH FINANCIAL SUPPORT OF  
MEDICAL UNIVERSITY – SOFIA**

## GRANT 2020

### MEDICO-BIOLOGICAL AREA 2020

#### **Contract D-90/24.06.2020 Establishment and optimization of a method for analysis of a dynamic expansion in the *C9orf72* gene in patients with amyotrophic lateral sclerosis**

**Research team:** Prof. Albena Parvanova Todorova-Georgieva, DSc

- Assist. Prof. Bilyana Georgieva, PhD
- Assist. Prof. Silviya Kalendarova-Valkova, PhD
- Prof. Ivaylo Tournev, MD, DSc
- Mariya Dyulgerova, PhD
- Yanka Dangulova, PhD
- Assist. Prof. Ani Miteva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease, characterized by progressive degeneration of the upper and lower motor neurons, leading to loss of function, followed by muscle weakness, hypotrophy, swallowing and respiratory failure. ALS can be divided in two forms: sporadic (sALS) and familial (fALS). The most common is sporadic (90-95%), and the familial form can be seen in 5-10% of cases, associated with dominant inheritance. The cause of ALS is not yet fully understood, but there are more than 20 associated genes. The most common are *C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP* and *FUS* found in approximately 10% of patients. Variants in the *C9orf72* gene are the main cause of fALS - 25-40% of cases (and a small percentage of sALS). The goal of this scientific research was to clarify the molecular characteristics underlining the disease in patients with ALS, through the means of molecular genetic testing for the dynamic expansion in *C9orf72*. The analysis was carried out by determining the sensitivity and specificity of different *C9orf72* genotyping methods. In total 171 patients that had been diagnosed with ALS were selected, 7 of which (4,1%) turned out positive for expansion with more than 145 GGGGCC repeats. Short expansions or borderline values (24 to 30 repeats) were not detected. Published data shows variable percentage ratios for genetically verified cases (4-40%), which is mainly due to small sample counts and sALS-fALS ratios. Our patients' group also contains sALS and fALS cases, which explains the low percentage of genetic verification. The obtained results enrich the worldwide database and shed light onto genetically characterized Bulgarian ALS patients. Affected patients and their families can receive adequate medical-genetic consultation and prenatal diagnostic testing.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Ormandzhiev S, Todorov T, Angelov T, Chamova T, Mitev V, Todorova A, Tournev I. Targeted screening of the *C9orf72* gene in Bulgarian amyotrophic lateral sclerosis patients. Acta Medica Bulgarica.

#### **Contract D-91/24.06.2020 TRINUCLEOTIDE EXPANSIONS – MOLECULAR-GENETIC REASON FOR THE DEVELOPMENT OF SOME NEURODEGENERATIVE DISORDERS (ATAXIAS) IN BULGARIAN PATIENTS**

**Research team:** Assist. Prof. Bilyana Georgieva Georgieva, PhD

- Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD, Dsc
- Assist. Prof. Silviya Kalenderova-Valkova
- Maria Dulgerova
- Yanka Dangulova
- Assist. Prof. Ani Miteva
- Stoyan Bichev
- Tihomir Todorov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia.

**RESULTS:** Objective: The study aims to analyze 200 Bulgarian patients with genetically unspecified form of ataxia (Friedrich's ataxia, spinocerebellar ataxia, other type of ataxia) for the trinucleotide expansions CGG in the *FMRI* gene and GGC in the *NOTCH2NCL* gene. These expansions are the molecular-genetic causes of Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS, OMIM#300623) and Neuronal intranuclear inclusion disease (NIID, OMIM#603472), respectively. Methods: High molecular weight DNA extraction, polymerase chain reaction with two and three primers (three-primer CGG Repeat Primed PCR), agarose gel electrophoresis, capillary electrophoresis on automatic sequencer. Results: A premutation in the *FMRI* gene was found in one patient (95 CGG-motifs were detected) and the accurate molecular-genetic diagnosis of FXTAS was made. The same premutation was detected in his daughter, which allowed to identify the cause of the diagnosed Premature ovarian failure 1 (OMIM # 311360) in her. In total 58 patients were suspected of having NIID, because only one allele (homozygotes) with a normal number of GGC-motifs in the *NOTCH2NCL* gene was detected. These patients may have the same number of GGC-motifs on both alleles or the second allele is with an expansion that cannot be detected with the applied genetic technique. That group of patients requires further in-depth work to confirm/exclude the diagnosis NIID. Conclusion: The introduced methods allow to perform molecular-genetic diagnostics of two more neurodegenerative diseases in Bulgaria- FXTAS and NIID. This expands the possibilities for determining the precise genetic diagnosis, which is extremely important for predicting the disease course, for adequate genetic counseling and effective prevention in the affected families. The present work permitted the establishment of DNA bank of well-selected group of patients in whom a number of possible molecular-genetic diagnoses have been excluded. This group of patients is a good basis to continue research in the field of neurodegenerative diseases in Bulgaria.

**Contract D-92/24.06.2020 INTERACTION BETWEEN THE ENDOGENOUS CANNABINOID AND THE NITRIC OXIDE-ERGIC SYSTEMS IN THE PATHOGENESIS OF COLD STRESS**

**Research team:** Assoc. Prof. Hristina Hristova Nocheva-Dimitrova, MD, PhD

- Prof. Alexandar Stojnev, MD, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Roman Tashev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Rumen Nikolov, MD, PhD
- Assist. Prof. Georgy Bogdanov, MD, PhD
- Vesselina Mihajlova
- Teodor Angelov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Pathophysiology

**RESULTS:** The aim of the present study was evaluation of the effect of the cannabinoid and the nitric oxide-ergic systems in the pathogenesis of cold stress. Stress-induced decrease of pain

perception, known as stress-induced analgesia (SIA) was regarded as an indirect marker of the stress reaction. Both the endogenous and the nitric oxide-ergic systems were proved to take part in SIA development. Our experiments consisted in administration of CB1-receptors agonist/antagonist along with the NO precursor before exposing the animals to 1 hour of cold stress (1h CS). Pain perception was evaluated through mechanical and thermal stimuli. Analysis of results obtained revealed bidirectional influence of pain perception after mechanical (PP-test) and thermal (HP-test) stimulation:

- AEA, administered alone before 1h CS, increased PP-thresholds during the first 20 min of the experiment, while shortened HP-latency. On the contrary – L-arg decreased PP-thresholds, but led to prolonged HP- latency;

- administered together, AEA and L-arg decreased PP- thresholds compared to the animals after 1h CS, still PP- thresholds were higher than controls` values – i.e. SIA was established (even not as prominent as after 1h CS); HP-latencies instead were similar to the controls` – i.e. SIA was not estimated.

Explanation of the results obtained should take in consideration the following:

- different pathways conduce the information from mechano- and thermoreceptors to the central areas of analysis;

- the cannabinoid system participates in both stress-induced analgesia and anti-stress system of the body;

- the dual effect of nitric oxide in central and peripheral mechanisms of nociception.

Our results support the cannabinoids` participation in the stress response of the body – administration of AEA alone potentiates SIA, while CB1 antagonization suppresses it. It is also possible that AEA`s effect on PP-thresholds and HP-latency was partially due to decreased NO release and the subsequent effect on both the NO-mediated central sensibilization and secondary (peripheral) hyperalgesia.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Hristina HN, Encheva-Stoykova EN, Grigorov EE. Interaction between endocannabinoids and the adrenergic system before and after stress-exposure. *Pharmacia*. 69(1):249-254. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e80550
- Khan AA, Doubovina E, Oliveira N, et al. Cannabinoids and nitric oxide-ergic system in pathogenesis of cold stress-induced analgesia. *International Congress of Medical Sciences*. Sofia, Bulgaria. 13-16 May 2021, p 70.
- Iakovoglou D, Petrov K, Shah N, Nocheva H. The endogenous cannabinoid system and nitric oxide interact in modulation of cold stress-induced analgesia. *International Congress of Medical Sciences*. Sofia, Bulgaria. 13-16 May 2021, p 77.

#### **Contract D-93/24.06.2020 EXPANDING THE SCOPE OF GENETIC TESTING IN CHILDREN WITH STEROID RESISTANT NEPHROTIC SYNDROME THROUGH NEXT GENERATION SEQUENCING**

**Research team:** Assist. Prof. Olga Jivanova Beltcheva, PhD

- Kunka Kamenariva, PhD
- Assoc. Prof. Maria Gaydarova, MD, PhD
- Dimitar Roussinov, MD
- Kalina Mihova
- Assist. Galya Zlatanova
- Assoc. Prof. Polina Miteva-Shumnalieva,

- Felitsiya Shakova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, Zdrave 2 str., SBALAG Maichin dom, fl 14, 1431 Sofia

**RESULTS:** Nephrotic syndrome is a common childhood disorder, which usually resolves with corticosteroid treatment. However, 10-20% of the cases are resistant to therapy, steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) and often progress to end-stage renal disease. So far, more than 50 genes have been associated with the disease but most commonly affected are *NPHS1*, *NPHS2* and *WT1*. The goal of the project was to expand the scope of genetic testing in SRNS patients by employing next generation sequencing in identifying pathological changes in children with no mutations in *NPHS1*, *NPHS2* or *WT1*. Nine patients were recruited, all except one of which previously tested for mutations in those 3 genes. The single unscreened case was included due to the unusually severe phenotype, involving renal failure before age 10 and multiple brain infarctions. We used TruSight One Panel (Illumina) on MiSeq platform for identification of disease-causing variants and Sanger sequencing for confirming the mutations and establishing their origin. The pathogenicity of novel variants was evaluated based on the ACMG criteria. Disease-causing or potentially disease-causing variants were found in 6 children. A known homozygous mutation in *NOS1AP*, recently found to be associated with SRNS, was identified in one case. An additional rare *MYH11* variant may contribute to the cerebrovascular involvement in this child. A known pathogenic *TRPC6* variant is the cause for the disease in another child. Potentially pathogenic heterozygous variants in *CFHR5*, *ITGB3*, *ACTN4* and *LAMB2*, may account for four additional cases, but this will need to be confirmed in additional studies. The application of NGS for screening of SRNS patients confirmed our expectation for a wide variability in the molecular cause of the disease in Bulgaria. It allowed us to identify genetic cause of the disease in two of the SRNS patients and possible mutations in further four cases.

**Scientific publications and presentations:**

- R. Bozhilova, O. Beltcheva, G. Zlatanova, K. Kamenarova, K. Mihova, F. Shakola, D. Roussinov, M. Gaydarova, V. Mitev, R. Kaneva. Application of NGS sequencing for improved diagnosis in the pediatric nephrology setting. European Human Genetics Conference, Virtual Conference, AUGUST 28–31, 2021

**Contract D-96/24.06.2020 CLONAL AND SEROTYPIC DYNAMICS OF NONINVASIVE *S. PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED FROM CHILDREN DURING MASS IMMUNIZATION WITH THE PNEUMOCOCCAL CONJUGATE VACCINE**

**Research team:** Prof. Lena Petrova Setchanova, MD, PhD

- Assist. Prof. Alexandra Alexandrova, PhD
- Prof. Lena Setchanova, MD, PhD
- Petya Stankova, PhD
- Daniella Pencheva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology, 2, Zdrave Str, 1431 Sofia

**RESULTS:** Purpose The non-invasive pneumococcal disease (NIPD) is a common infection during childhood. We aimed to define the clonal spread of pediatric NIPD isolates recovered during the PCV10-period in Bulgaria concerning the serotype and antimicrobial

susceptibility. Materials and Methods Serogrouping/serotyping were performed using latex agglutination and quellung reaction. Serogroup 6 strains were subjected to serotype-specific PCR's. The antibiotic susceptibilities were assessed by broth microdilution. MLST was performed to define the clonal composition. Results We analyzed 202 pediatric NIPD *S. pneumoniae* isolates. The PCV10-vaccinated children were 94.1%. We disclosed 88% non-vaccinal serotypes (NVTs) and 12% PCV10 - serotypes. All common serotypes were NVTs: 19A (13%), 6C (12.3%), 3 (11%), 15A (7.8%) and 23A (5.2%). Antimicrobial non-susceptibility showed highest levels in erythromycin (50.0%), oral penicillin (49.4%), clindamycin (45.4%), trimethoprim-sulfamethoxazole (43.5%), tetracycline (42.2%), and ceftriaxone (14.3%). The multidrug-resistant strains (MDR) were 51.3%. MDR-serotypes were 6C (20.2%), 19A (17.7%), 15A (11.4%), 19F (10.1%), and 23A (8.9%). MLST presented 16 clonal complexes (CCs) with prevalence of CC320, CC386, CC505, CC8029 and CC2613 clustered 83% MDR isolates. Conclusions All emergent pediatric NIPD serotypes in our geographic area during the studied PCV10-period were NVTs (19A, 6C, 3, 15A, and 23A). The fifth widespread CCs: CC320, CC386, CC505, CC8029 and CC2613 clustered 83% MDR isolates. Future surveillance of vaccine-induced changes in the clonality and the antimicrobial resistance of the pneumococcal population is needed.

#### Scientific publications and presentations:

- Alexandrova A, Pencheva D, Mitov I, Setchanova L. Clonal distribution, antimicrobial resistance, and pilus islets in *S. pneumoniae* isolates recovered from PCV10-vaccinated children with suppurative AOM in Bulgaria (2015-2020). *Jpn J Infect Dis.* 2022;75(1):92-95. (IF<sub>2019</sub> - 1.240)
- Setchanova L, Y. Kalchev, T. Stoeva, M. Sredkova, G. Lazarova, A. Alexandrova and I. Mitov. The invasive pneumococcal disease and serotype replacement after the routine immunization with 10-valent conjugate vaccine (PCV10). *XVIII National Congress on Clinical Microbiology and Infections of BAM.* Sofia. 30.09-02.10. 2020, Abstr. Book, p. 44, Oral presentation.

#### **Contract D-97/24.06.2020 STUDY OF MEMBRANE ORGANELLE REORGANIZATIONS DURING MEIOTIC MATURATION AND AGING OF MOUSE OOCYTES USING VISUALIZATION WITH A LIPOPHILIC FLUOROCHROME**

**Research team:** Assoc. Prof. Maya Dyankova Markova, PhD

- Prof. Stefka Delimitreva, PhD
- Assoc. Prof. Ralitsa Zhivkova, PhD
- Assist. Prof. Venera Nikolova, PhD
- Assist. Prof. Irina Chakarova, PhD
- Assist. Prof. Anton Kolarov
- Assoc. Prof. Milena Mourdjeva-Andonova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Biology

**RESULTS:** The distribution of membrane organelles of various cell types was studied by staining with the lipophilic fluorochrome DiOC<sub>6</sub> combined with staining of DNA with Hoechst and of microfilaments with phalloidin-TRITC. This combined staining provided clear visualization and was found to be a fast and easy method to obtain information about size, shape and general structure of normal and apoptotic cells. The method was applied to mouse oocytes subjected to *in vitro* maturation or aging in normal condition or in the presence of the mediator of inflammation prostaglandin F<sub>2α</sub>, with parallel visualization of the meiotic spindle. In normal oocytes, membrane structures in metaphase I were concentrated in the central region, and in metaphase II showed a broader distribution which, however, still was not reaching the

cell periphery. Oocytes matured *in vitro* in the presence of prostaglandin F<sub>2</sub>α had the membrane labeling clustered in a relatively narrow central region and, in addition, a weaker diffuse reaction. Meiotic spindles had a decreased number of fibers and narrowed poles, and the cortical reaction for actin was diminished. Ovulated oocytes incubated for 3 hours with prostaglandin F<sub>2</sub>α were characterized by decrease and disappearance of intracellular membrane distribution gradients, and degeneration of the cytoskeleton, indicating that the mediator of inflammation significantly accelerated the postovulatory *in vitro* aging of oocytes.

**Scientific publications and presentations:**

- Kolarov A, Mladenov N, Chakarova I, et al. Fast, Easy Staining Method to Visualize Cell Morphology and Apoptosis. *Acta Morphol Anthropol.* 2020;27(3-4):3-7.
- Kolarov AI, Hadzhinesheva VP, Chakarova IV, et al. Prostaglandin F<sub>2</sub> alpha causes fast degenerative changes in ovulated mouse oocytes. *Folia Biol (Praha).* 2021;67(5-6):208-212.

**Contract D-98/24.06.2020 STUDY OF DIHYDROPYRIMIDINE DEHYDROGENASE (DPD) ACTIVITY AND PLASMA OXIDATIVE STATUS IN COLORECTAL CANCER PATIENTS TREATED WITH 5-FLUOROURACIL CAPECITABINE, OXALIPLATIN: RELEVANCE TO THERAPEUTIC EFFICACY AND ADVERSE REACTIONS**

**Research team:** Assoc. Prof. Dr. Rumen Pavlov Nikolov, PhD

- Prof. Dr. Slavina Surcheva, PhD
- Assis. Prof. Kalina Kamenova, PhD
- Assis. Prof. Nadya Christova-Avakumov, PhD
- Assis. Prof. Lilia Atanasova, PhD
- Velko Minchev, MD
- Marin Angelov, MD

**Organization unit:** Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, MU - Sofia, 2 Zdrave street, Sofia 1431

**RESULTS:** Colorectal cancer is the third of most common diagnosed malignancy after breast cancer in women and the second most common prostate cancer in men. Classical colorectal cancer therapy includes the pyrimidine analogs 5-fluorouracil (5-FU) and capecitabine, and a combination of fluorouracil and oxaliplatin. More than 80% of the administered dose of 5-FU is metabolized by the enzyme dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), and the reduced activity of the enzyme causes drug accumulation and subsequent toxicity. According to literature data, about 30% of patients receiving 5-FU have fluoropyrimidine toxicity, and of this population, about 50% of patients have DPD deficiency. The aim of the study was to investigate the activity of the enzyme DPD and the oxyreduction status of plasma in patients with colorectal cancer before and after chemotherapy with 5-FU, capecitabine, 5-FU and oxaliplatin. In the study we used clinical, diagnostic, biochemical, chemiluminescent, spectrophotometric and statistical methods. An ELISA method was performed to determine the activity of the DPD enzyme. We found that there was no statistically significant difference in the mean values of DPD in the blood plasma of the patients. The measured DPD levels were  $0.38 \pm 0.35$  ng/mL in men and  $0.35 \pm 0.26$  ng/mL in women. The results of the oxy-reduction status study showed that after a cycle of chemotherapy with 5-FU the values of the CL-SI index were reduced, ie the capacity of the blood plasma to eliminate the active forms of oxygen was reduced. In chemotherapy with fluoropyrimidines, the generated MDA - analogues, radicals (O<sup>2•</sup>) and CL-SI index increase. This is evidence of reduced capacities of the defense systems in the blood plasma to eliminate the radicals formed in the body and/or partially repair the damage caused by them. The applied ELISA test for determining the concentration of DPD in

blood plasma has good laboratory and economic indicators such as easy and fast performance, acceptable schemes for logistics organization and low cost. Chemotherapy with fluoropyrimidines decreases redox capacity in blood plasma, and this decrease is less pronounced at higher plasma DPD levels.

**Scientific publications and presentations:**

- Velko Minchev. Toxic and adverse effects of chemotherapy with 5-Fluoropyrimidine drugs. Could dihydropyrimifine dehydrogenase enzyme screening serve as prerequisite to successful chemotherapy? J. Biomed. Clin. Res. 2020; 13: 87-99.
- Minchev V, Kamenova K, Hristova-Avakumova N, Surcheva S, Nikolov R. DPD screening in blood plasma of cancer patients indicated to Fluoropyrimidine chemotherapy by ELISA method. Comp. Rend. Bulg. Acad. Sci. 2021;74(5):767-75 IF 0,343
- Velko Minchev, Nadya Hristova-Avakumova, Kalina Kamenova, Liliya Atanasova, Marin Angelov, Lozan Todorov, Slavina Surcheva, Rumen Nikolov. Does the level of Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) modulates antioxidant capacity in patients treated with 5-Fluorouracil. Folia Med (Plovdiv) . 2021 Oct 31;63(5):760-767.

**Contract D-99/24.06.2020 HELICOBACTER PYLORI IN CHILDREN WITH COMORBIDITY**

**Research team:** Assist. Prof. Daniel Valentinov Yordanov, MD, PhD

- Assist. Prof. Petyo Hadzhiyski, MD
- Prof. Lyudmila Georgieva, MD, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Polina Miteva-Shumnalieva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Radka Hristova
- Prof. Romyana Markovska-Davidkova, MD, PhD
- Assist. Prof. Petya Stankova

**Organization unit:** Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University of Sofia, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the present project was to evaluate the seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection and the seroprevalence of virulent infections by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for anti-*H. pylori* IgG and CagA IgG among children with insulin-dependent diabetes type I and chronic renal failure, hospitalized in pediatric university hospital "Prof. Ivan Mitev". Both *H. pylori* IgG and CagA IgG were found significantly more often in diabetic children (in 28.3% and 23.4% of cases, respectively) than in the control group without diabetes (14.8% for *H. pylori* IgG and 9.2% for CagA IgG;  $p < 0.001$  in both cases). Conversely, among children with chronic renal failure, the frequencies of *H. pylori* IgG and CagA IgG were 17.2% and 10.3%, respectively, without significant differences compared to the control group. In conclusion, a statistical relationship was found between the presence of type I diabetes in childhood and the incidence of both *H. pylori* infection and virulent CagA+ infections in Bulgaria. The results contribute to the understanding not only of the link between *H. pylori* infection and diabetes in children, but also of the association between the infections of more virulent strains in type 1 diabetic children. The diabetic children may be at higher risk of *H. pylori* acquisition; therefore, diagnosis of infection is particularly useful in monitoring these patients. Moreover, frequent infections requiring antibiotic therapy in diabetics are a prerequisite for the emergence or increase of multidrug-resistant *H. pylori* strains, which strongly limit the options for successful eradication. It is necessary to further optimize social and living conditions in childhood in order to reduce the acquisition of the infection, thus protecting the children from both the long-term risks of infection itself and the development of



diabetes. *H. pylori* eradication in children may reduce the risk of developing diabetes in childhood and later in life.

**Contract D-100/24.06.2020 IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF ENDOTHELIAL FACTORS AFTER SELECTIVE INHIBITION OF ENDOTHELIN RECEPTORS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS**

**Research team:** Prof. Lazar JeleV Slavov, MD, PhD

- Assoc. Prof. Miroslava Varadinova, Md, PhD
- Jenya Stefanova, MD
- Assist. Prof. Albert Gradev
- Nikoleta Vulova

**Organization unit:** Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Medical University-Sofia, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the study was to investigate changes in the localization and density of endothelial (eNOS) and neuronal (nNOS) nitric oxide synthase and endothelin A or endothelin B receptors in cardiac, renal and aortic tissue, as well as changes in fast fluctuations in cardiovascular variables after selective inhibition of endothelin A (ETA) or endothelin B (ETB) receptors in spontaneously hypertensive SHR rats. The experiments were performed on male normotensive Wistar and SHR rats aged 12-14 weeks, divided into 6 experimental groups, each containing 7 animals (n = 7): Wistar and SHR with intact endothelin receptors; Wistar and SHR with selectively blocked ETA receptors (BQ123, 16.4 nmol / kg / min); Wistar and SHR with selectively blocked ETB receptors (BQ788, 1mg / kg / min). Fast fluctuations in blood pressure and heart rate, in characteristic spectral bands, spontaneous baroreflex sensitivity, and sympatho-vagal balance were examined by spectral analysis in the arterial pressure wave. The localization and distribution of eNOS, nNOS and ETA, ETB receptors in the studied tissues were determined immunohistochemically. We found decreased power of humorally and sympathetically mediated fluctuations of cardiovascular variable in SHR. Our results showed altered sympathetic-vagal balance, as well as differences in the distribution of the studied isoforms of NOS, ETA, ETB in SHR. We found that endothelin, via ETA and ETB receptors, modulates fast fluctuations of blood pressure in SHR. The results obtained in our study showed the significant role of ETA receptors in the regulation of nNOS and eNOS expression in normotensive rats, as well as the determining role of endothelin receptor activity in the regulation of their expression in SHR. The obtained results give us reason to assume that the mechanisms responsible for the regulation of endothelin receptor expression are important for the specificity of the endothelin system in SHR, while endothelial imbalance in SHR could be due to impaired interaction between endothelin receptors and nitric oxide synthases.

**Scientific publications and presentations:**

- JeleV L, Pupaki D, Ankova D, Markova P: ENOS expression in the wistar rat kidney after selective blockade of endothelin-B receptors, XXV National congress of the bulgarian anatomical society with international participation, PLEVEN, 28-30 MAY 2021, published in: J Biomed Clin Res Vol. 14, No1, Suppl., 1, 2021, p. 30-31

**Contract D-101/24.06.2020 EFFECT OF BARIATRIC/METABOLIC SURGERY ON ADIPOKINE PROFILE AND ADIPOKINE-INDUCED INFLAMMATION**

**Research team:** Assoc. prof. Teodora Svetoslavova Handjieva-Darlenska, MD, PhD

- Dr Konstantin Grozdev, MD, PhD
- Maria Kalinkova

- Ivana Kalinkova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department of pharmacology and toxicology, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** Introduction: Severe obesity is a disease, characterized by excessive accumulation of adipose tissue and low-grade inflammation. Bariatric/ metabolic surgery is the gold standard in the treatment of severe obesity. Aim: The primary objectives of our study were to investigate and evaluate changes in serum levels of proinflammatory adipokines - apelin, resistin and apolipoprotein M in patients with severe obesity before and six months after bariatric/ metabolic surgery. The secondary objectives were to establish changes in anthropometric parameters such as body weight in kg and body mass index and fat mass in % and the visceral fat rating before and six months after the intervention. Materials and methods: We used various anthropometric and qualitative tissue analysis parameters, as well as ELISA methodology for determining serum levels of the above proinflammatory markers before and six months after bariatric/ metabolic surgery. Results: Our results showed a significant reduction in body weight, body mass index, fat mass in %, and visceral fat rating after six months of surgery. The results demonstrated an increase in serum concentrations of apelin, resistin and apolipoprotein M in the sixth month after surgery. Conclusion: The observed increase in the proinflammatory markers is most likely due to insufficient weight loss, especially in high-grade obesity, and continued low-grade inflammation in the sixth month after surgery. Another reason for the unexpected change in the markers of inflammation is the small number of participants involved due to the pandemic situation during the project.

**Contract D-102/24.06.2020 EXPANDING THE POSSIBILITIES FOR DIAGNOSIS, STAGING, PROGNOSIS AND FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH NEUROBLASTOMA THROUGH MOLECULAR GENETIC RESEARCH**

**Research team:** Assoc. Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

- Prof. Dobrin Konstantinov, MD
- Dr. Ivan Shtarbanov, MD
- Assoc. Prof. Maya Yordanova
- Dr. Ivan Boronsuzov, MD
- Gergana Stancheva, PhD
- Kalina Mihova, MSc
- Assoc.Prof Margarita Kamenova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The relevance of the research topic is determined by the high incidence of PST, their great malignancy potential, with high mortality rates and the possibility to offer the patients reliable therapy when timely and accurate diagnosis is made. In the present study we analysed the expression of TH and PHOX2B mRNA in 22 patients and 7 healthy peoples by real-time quantification PCR. The expression of TH was confirmed in 10 of 13 bone marrow samples, in 7 of 12 peripheral blood samples and in 4 of a total of 9 FFPE tumor materials. The PHOX2B expression was detected in 12 of 13 bone marrow samples, in 6 of 12 peripheral blood samples, and in 3 of a total of 9 FFPE tumor materials. The expression results obtained in bone marrow material were confirmed by those established by fluocytometry used for routine diagnosis. It is interesting to note that in patients with metastatic disease, studied expression markers in our investigation are also found in the peripheral blood, which shows the potential of the method as non-invasive and gentle.

**Scientific publications and presentations:**

- Gergana Stancheva, Kalina Mihova, Veronika Petkova, Vanio Mitev, Radka Kaneva. Establishment of biobank of patients with pediatric solid tumors. Oral presentation. 8-10.November 2021; EBW2021

**Contract D-103/24.06.2020 PHARMACOLOGICAL TREATMENT OF NEUROPATHIC PAIN CAUSED BY ANTITUMOR CHEMOTHERAPEUTICS****Research team:** Assist. Prof. Georgi Assenov Bogdanov, PhD

- Assist. prof. Kalina Koleva, PhD
- Assist. prof. Hristian Staykov
- Assoc. prof. Hristina Nocheva-Dimitrova, PhD
- Aleks Tsonev
- Assist. prof. Kalina Kamenova, PhD
- Assoc. prof. Rumen Nikolov, PhD

**Organization unit:** Department of pharmacology and toxicology, Faculty of Medicine, MU - Sofia, Zdrave street № 2, Sofia 1431

**RESULTS:** The aim of the study was to create a model of neuropathic pain in rats caused by the application of chemotherapeutics and then to investigate the therapeutic effect of some antidepressants on this chemotherapy-induced neuropathy. In addition, we compared the therapeutic effect of the antidepressant with complex mechanism of action – vortioxetine with the effects of other antidepressants from the group of the selective serotonin reuptake inhibitors (paroxetine) and with that of the classical tricyclic antidepressants – amitriptyline. Two models of neuropathic pain were used in which cisplatin or paclitaxel were injected intra peritoneally. In one of the models cisplatin (2 mg/kg) was injected once a week for four weeks with a cumulative dose of 8 mg/kg. In the other model paclitaxel (1 mg/kg) was injected on the 0<sup>th</sup> day, on the 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> day with a cumulative dose of 4 mg/kg. The experiments were conducted with male Wistar rats (n=5 in each group) with a body weight of 200-220 g. The analgesic effect of the drugs was determined with the “hot plate” method. The following substances were tested: amitriptyline (20 mg/kg i.p.), paroxetine (10 mg/kg i.p.) and vortioxetine (10 mg/kg i.p.). In the neuropathic model with cisplatin the prolongation of the reaction time, which is a sign for an analgesic effect, was demonstrated in 4 out of 5 animals after the application of amitriptyline, in 3 out of 5 animals after the application of paroxetine and in 2 out of the 5 animals after the application of vortioxetine. In the model with paclitaxel, increase in the reaction time was observed in 3 out of 5 animals which received amitriptyline, in 4 out of 5 animals that received paroxetine and in 3 out of 5 animals treated with vortioxetine. Paroxetine demonstrated similar efficacy with that of amitriptyline in both of the models for neuropathy, and vortioxetine did not reveal advantage compared to amitriptyline and paroxetine. The weaker effect of paroxetine and vortioxetine compared to the one of amitriptyline might be due to their action which is mainly focused on the reuptake of serotonin. Even though described in the literature, the role of serotonin on the suppression of neuropathic pain is probably auxiliary.

**Scientific publications and presentations:**

- Bogdanov, G., Koleva, K., Staykov, H. et al. Treatment of neuropathic pain caused by antitumor chemotherapeutics. Medical Review, 2021;5;12-21.

**Contract D-104/24.06.2020 INFLUENCE OF SOCIAL STRESS ON BEHAVIORAL PARAMETERS IN ADOLESCENT SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS: EFFECTS OF MESEMBRINE ALKALOIDS**

**Research team:** Prof. Dr. Alexander Stoynev, MD, DSci

- Assoc. Prof. Daniela Pechlivanova, PhD
- Assoc. Prof. Radka Tafradjiiska-Hadjiolova, MD, PhD
- Assist. Prof. Zafer Sabit, MD
- Assist. Prof. Dimitar Bakalov, MD

**Organization unit:** Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Medical University - Sofia, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The period of maturation is characterized by increased social activity aimed to accumulate the necessary knowledge to pass to the stage of maturity. Chronic social stress during adolescence leads to a deficit in working memory, which mainly affects the short-term memory and hippocampal-dependent spatial memory. Spontaneously hypertensive rats (SHRs) are characterized with deviations in basic behavioral parameters even before puberty. Our previous studies showed that the alkaloid fraction extract from the terrestrial parts of *Narcissus cv. Hawera* with a high content of mesembrenone (MZM) causes an antidepressant and anxiolytic effect, and an improvement of the habituation to an unfamiliar environment without significantly modifying the total motor activity in Wistar rats. The main aim of this project was to evaluate the degree of impact of chronic social stress on the main forms and parameters of social and cognitive behaviors in adolescent rats of the SHR strain, as well as the effects of alkaloids from *Narcissus cv. Hawera* (MZM) on these parameters. We used methods for assessing cognitive behavior (Open field, Novel object recognition, T-maze), anxiety and depression-like behavior (Elevated plus maze, Forced swimming), as well as biochemical methods for determining serum levels of BDNF. All data were statistically processed with two-factor ANOVA to determine the degree of significance. The results of the research show that the main adverse effects of social stress are the increase of the anxiety behavior and the impairment of recognition working memory in adolescent SHRs. They did not exhibit a depressive type of behavior and showed no impairment in their spatial memory. Chronic treatment with MZM showed no adverse side effects and significantly improved the working memory of stressed adolescent SHRs.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimitar Bakalov, Daniela Pechlivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiiska, Alexander Stoynev, Deleterious effects of chronic social stress on the cognitive behavior in spontaneously hypertensive rats, XXXI International Online Scientific Conference “Sixty Years Union of Scientists” - Stara Zagora, June 03-04, 2021, Abstract book – Section “Medicine”, pp. 27-28.

**Contract D-105/24.06.2020 CHARACTERISTICS OF THE SYSTEMIC LOW-GRADE INFLAMMATION IN ESSENTIAL AND SYMPTOMATIC (RENAL PARENCHYMAL HYPERTENSIONS WITHOUT PREGNACY AND PREECLAMPSIAS) HYPERTENSIONS BY HEMORHEOLOGICAL PARAMETERS AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF THE POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES**

**Research team:** Assist. Prof. Stilian Vasilev Stoeff, MD, PhD

- Assist. Prof. Blagowest Bechev, PhD
- Assist. Prof. Svetoslav Jovtchev, PhD
- Assist. Prof. Svobodan Alexandrov, PhD
- Assist. Prof. Svetla Miteva-Nicolova, PhD
- Assist. Prof. Jancho Ivanov
- Iliana Buteva- Christova, MD, PhD,
- Maria Vretenarska-Georgieva, MD

- Assist. Prof. Magdalena Pencheva-Demireva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Physics and Biophysics, 2 Zdrave Str., Sofia 1431

**RESULTS:** The gestational hypertension (GH) is a swift flowing form characterized only with raised arterial pressure in initially normotensive pregnant women (HP). Even in HP exist enhanced erythrocyte aggregation (EA) and leukocyte activation approved as systemic inflammatory response (SIR). Interactions of polymorphonuclear leukocytes (PMNL) during SIR in circulatory network with pathological sites molecules, blood cells, complement system, coagulation system and recovery system create PMNL with different functional states (FS). It is investigated if in GH exist change in the hemorheology and PMNL FS revealed as SIR. *Methods.* Investigated contingent comprise GH, HP and healthy nonpregnant women (HW). Zymosan stimulated whole blood PMNL are measured by chemiluminescence (CL). A probabilistic component model for CL analysis is applied, describing PMNL with different FS. Measured are EA, erythrocytes sedimentation velocity, whole blood viscosity (WBV). Clinic laboratory indices (CLI) for SIR (albumin, fibrinogen, RBC distribution width, neutrophil/lymphocyte ratio, thrombocytes, thrombocyte/lymphocyte ratio and mean platelet volume) are measured. *Results.* The developed thermoregulation system for the chemiluminometer LB953 is implemented. The method for studying the functional state of PMNL has been optimized. Altered PMNL parameters characterizing primed FS are observed. According to the CL component analysis from PMNL in pregnant women, PMNL are characterized by readiness for rapid response to stimuli, and after the generalized parameters "efficiency", "speed" and "capacity" FS "stand-by" is formed. In HP and GH are registered primed FS (stand-by state) of neutrophils vs HW neutrophils in resting state. EA show equalized value increase in HP and GH and exist equal WBV. CLI for SIR in pregnancy are in harmony with the primed FS got in CL method and are indication for prothrombotic risk in GH. *Conclusion.* Chemiluminescent analysis and hemorheological finding support the concept for SIR with primed FS of PMN during pregnancy. In pregnancy with and without GH is developed low-grade systemic inflammation with prothrombotic risk in GH.

**Scientific publications and presentations:**

- Bechev B, Buteva I, Magrisso M, Stoeff S, Jovtchev Sv, Miteva S et al. Neutrophils state and inflammation in pregnant women with hypertension. Series on Biomechanics 2022;36(2):162-7

**Contract D-114/24.06.2020 GUIDED ENAMEL REMINERALIZATION IN THE APPLICATION OF BIOMIMETIC SYSTEMS - IN VITRO STUDY**

**Research team:** Prof. Radosveta Ivanova Vassileva, DMD, PhD

- Assist. Prof. Alexander Bonchev, DMD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the present in vitro study is to investigate the remineralization potential of PDMAEMA/CaP and the self-assembling peptide P11-4 on an experimental model of artificial enamel caries. The study was performed on 40 extracted third molars. An artificial carious lesion was created on the buccal half of each tooth using a solution containing 0.1% lactic acid. The samples were randomly divided into four groups, and the lesions were treated with P11-4 and PDMAEMA/CaP, as well as artificial saliva and fluoride varnish. The teeth are then stored in a solution of artificial saliva for 1, 4 and 8 weeks. The results were evaluated by

computer microtomography (microCT), infrared spectroscopy and SEM. The results proved that the lactic acid solution (0.1M, pH = 4.5) applied for 6 days on enamel samples creates artificial carious lesions, which are similar in chemical composition, surface morphology and depth (~ 94 µm), which corresponds to the definition of an initial enamel carious lesion. This kind of enamel lesion represent a convenient object for analysis of the effect of the remineralizing systems. Lesions treated with fluoride varnish, P11-4, and PDMAEMA/CaP showed a decrease in the intensity of the radiolucency in the microCT study as the sample remained in the artificial saliva solution. In the fluoridated sample, the radiolucency is preserved in the deeper layers of the lesion, while in the group of the P11-4 and PDMAEMA a more uniform improvement is established in all areas of the enamel defect, which is evidence of the penetration of biomimetic systems into deeper areas on the enamel. The treatment of artificial enamel lesions with P11-4 and PDMAEMA/CaP leads to remineralization both on the surface and in the body of the lesion and their effect is proportional to the storage time of the samples in artificial saliva solution.

**Scientific publications and presentations:**

- Bonchev A, Vasileva R, Dyulgerova E. et al. Self-assembling Peptide P11-4: A Biomimetic Agent for Enamel Remineralization. *Int J Pept Res Ther* 2021; 27:899–907.
- Bonchev A, Vasileva R, Dyulgerova E. Guided enamel regeneration with self-assembling peptide P11-4. Jubilee Annual Assembly of IMAB, 18-21 October 2020, Varna, Bulgaria, p.52.
- Bonchev A, Vasileva R, Dyulgerova E. The effect of self-assembling peptide p11-4 on the microhardness of artificial enamel carious lesions (in vitro study). IVth Scientific Congress „Science and Practice – hand-in-hand“, 23-24 April 2021, Plovdiv, Bulgaria, p.26.

**Contract D-117/24.06.2020 MiRNA EXPRESSION PROFILE RESEARCH AMONG PATIENTS WITH AGGRESSIVE NON-FUNCTIONING PITUITARY ADENOMAS**

**Research team:** Assist. Prof. Silviya Georgieva Klenderova-Valkova, PhD

- Prof. Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Atanaska Elenkova MD
- Assist. Prof. Biliyana Georgieva, PhD
- Emiliya Nikolova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Introduction: Pituitary adenomas (PA) are one of the most common intracranial neoplasms and non-functioning pituitary adenoma (NFPA) accounts for one-third of all PA. The ability to predict tumour recurrence and invasion after the initial surgery will decrease morbidity and mortality rate. So far, no biomarkers for NFPA monitoring are available. Altered expression of miRNAs has been described implicated in the pathogenesis of various human diseases, including PA. The present study examined the onco-specific miRNA expression profiles in patients with NFPA and a specific microRNA signature, with diagnostic and prognostic potential, was selected. Material and methods: Total RNA was isolated by MiRNeasy Mini Kit and miRNA expression profiles were analysed by miRCURY LNA miRNA PCR (Qiagen). GeneGlobe platform and SPSS were used for data analysis. Un-paired, 2-tailed Student's t-test was used where appropriate, Pearson's correlation coefficient was used for correlation analysis between miRNAs and clinicopathological characteristics. ROC curve analysis evaluated the diagnostic ability of the selected miRNAs. P<0.05 was assumed for statistically significant. Results: Four miRs signature miR-106a, miR-17, miR-20, miR-210 had a very high diagnostic and prognostic accuracy for invasion of NFPA, with an AUR> 0.9 (95%

CI = 0.839-1). Furthermore, miR-20a, miR-16, miR-106a and miR-17 were up-regulated in recurrent NFPA (p<0.05). MiR-106a, miR-17, miR-20, miR-186 can be used as size-related biomarkers for differentiating macroadenomas from giant PA (AUC > 0.9, 95% CI = 0.873-1). Conclusions: The present study is the first in Bulgaria to suggest a miRNA signature with diagnostic and prognostic clinical application in patients with NFPA. Early identification of NFPA with aggressive behaviour is of major clinical importance, therefore the selected miRNAs profile possesses the potential for improving patient stratification, monitoring and survival.

**Contract Nr. D-118/24.6. 2020 VIRTUAL SCREENING AND HIT SELECTION OF NATURAL COMPOUNDS AS ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS – STAGE 2**

**Research team:** Assist. prof. Mariyana Dimitrova Atanasova, PhD

- Prof. Iринi Doytchinova, PhD, DSci
- Assoc. prof. Ivan Dimitrov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Chemistry Department

**RESULTS:** The amyloid plaques are a key hallmark of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Amyloidogenesis is a complex long-lasting multiphase process starting with the formation of nuclei of amyloid peptides: a process assigned as a primary nucleation. Curcumin (CU) is a well-known inhibitor of the aggregation of amyloid-beta (A $\beta$ ) peptides. Even more, CU is able to disintegrate preformed A $\beta$  fibrils and amyloid plaques. The aim of the study is to simulate by molecular dynamics the primary nucleation process of 12 A $\beta$  peptides and investigate the effects of CU on the process. Structure-based method molecular dynamics is used in the study. We found that CU molecules intercalate among the A $\beta$  chains and bind tightly to them by hydrogen bonds, hydrophobic,  $\pi$ - $\pi$ , and cation- $\pi$  interactions. In the presence of CU, the A $\beta$  peptides form a primary nucleus of a bigger size. The peptide chains in the nucleus become less flexible and more disordered, and the number of intermolecular interactions and hydrogen bonds between them decreases. For comparison, the effects of the weaker A $\beta$  inhibitor ferulic acid (FA) on the primary nucleation are also examined. Our study is in good agreement with the observation that taken regularly, CU is able to prevent or at least delay the onset of neurodegenerative disorders.

**Scientific publications and presentations:**

- Doytchinova I, Atanasova M, Salamanova E, et al. Curcumin Inhibits the Primary Nucleation of Amyloid-Beta Peptide: A Molecular Dynamics Study *Biomolecules* 2020;10(9):1323-37.

**Contract D-119/24.06.2020 INTEGRATED STRATEGY FOR SECONDARY METABOLITE IDENTIFICATION BASED ON ULTRA-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH HIGH PERFORMANCE MASS SPECTROMETRY. APPLICATION IN *RHAPONTICOIDES ICONIENSIS* (HUB.-MOR.) M.V.AGAB. & GREUTER (FAM. ASTERACEAE)**

**Research team:** Assoc. Prof. Dimitrina Zhivkova Zheleva-Dimitrova, PhD

- Assist. Prof. Vessela Balabanova-Bozushka, PhD
- Assoc. Prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Assoc. Prof. Yulian Voynikov, PhD
- Alexandra Stefanova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** *Rhaponticoides iconiensis* (Hub.-Mor.) M.V.Agab. & Greuter. (Asteraceae) is an endemic species spread in several small populations in the province of Konya (Turkey). It is critically endangered with an extremely high risk of extinction. *R. iconiensis* was formerly classified into the *Centaurea* genus. Recently, based on the molecular phylogenetic and eco geographical studies on Cardueae-Centaureinae, the genus *Rhaponticoides* Vaill. was separated from *Centaurea* L. Antioxidant properties and enzyme inhibition, as well as the phenolic and flavonoid contents, of methanol (Soxhlet extraction and maceration) and water (infusion) extracts of *R. iconiensis* leaves, roots, and flower heads were determined. An UPLC-HRMS strategy applies a combination of several data processing techniques, including mass defect filtering (MDF), diagnostic fragment ion filtering (DFIF) and neutral loss filtering (NLF) to achieve targeted detection and identification of potential biologically active compounds. The methanol extracts of *R. iconiensis* leaves contained the highest amount of phenolic compounds (52.37 and 54.37 mg gallic acid equivalent/g) and flavonoids (74.13 and 80.75 mg rutin equivalent/g). Accordingly, the leaves methanol extracts showed the highest antioxidant potential. Interestingly, the roots methanol extracts were the most potent acetylcholinesterase (4.75 mg galantamine equivalent/g) and butyrylcholinesterase inhibitors (5.26 and 5.14 mg galantamine equivalent/g). The leaves and roots methanol extracts exhibited high  $\alpha$ -glucosidase (2.48÷3.08 mmol acarbose equivalent/g) and  $\alpha$ -amylase (0.17-0.70 mmol acarbose equivalent/g) inhibition. The highest tyrosinase inhibition was recorded for leaves methanol extracts (138.79 and 140.34 mg kojic acid equivalent/g). In the present project, 87 secondary metabolites including hydroxybenzoic, hydroxycinnamic acids and their glycosides, sugar esters, acylquinic acids, flavonoids and anthocyanins were dereplicated in *R. iconiensis*. Key points for the dereplication of different classes secondary metabolites were in-depth characterized. The obtained strategy for the dereplication of specialized natural products in *Rhaponticoides iconiensis* extracts highlights UHPLC-HRMS as an effective tool in the investigation of less known medicinal plants.

**Scientific publications and presentations:**

- Zheleva-Dimitrova D, Zengin G, Sinan KI, et al. Identification of bioactive compounds from *Rhaponticoides iconiensis* extracts and their bioactivities: An endemic plant to Turkey flora. J Pharm Biomed Anal. 2020;190: 113537.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Balabanova V, et al. UHPLC-HRMS as an effective tool for the dereplication of specialized natural products in less known plants: two Asteraceae species (*Rhaponticoides iconiensis* and *Synedrella nodiflora*) as a case study. International conference on plant systems biology and biotechnology (ICPSBB), Golden Sands Black Sea Resort, Bulgaria, Hotel International, 14-17 June, 2021. Oral presentation, O14, Book of abstracts, p35.

**Contract D-120/24.06.2020 OPTIMIZED CELLULAR SYSTEMS FOR THE PREPARATION OF PHARMACEUTICALLY SIGNIFICANT LOW-TOXIC COMPOUNDS BY STRUCTURAL MODIFICATION OF NATURAL MOLECULES**

**Research team:** Prof. Iliana Ilieva Ionkova, DSci

- Assist. prof. Dr Jancho Zarev, PhD
- Pavlinka Popova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dep. Pharmacognosy

**RESULTS:** Biotransformation of exogenous flavonoids - quercetin, kaempferol and apigenin by suspension cultures of *Astragalus vesicarius* ssp. *carniolicus* to their monoglycosylated derivatives was performed. The maximal enzymatic potential of cells of *A. vesicarius* ssp. *carniolicus* was evaluated by different concentrations of flavonoids exposure. According to



quantitative ultra-high performance liquid chromatography-high resolution electrospray ionization mass spectrometry (UHPLC-HR-ESI-MS) analysis, the highest concentration of kaempferol O-glycoside (14.88 nmol/g dry weight, DW), apigenin O-glycoside (10.55 nmol/g DW) and quercetin O-glycoside (150.83 nmol/g DW) was achieved, when suspension cultures were treated with 4 mg/mL kaempferol, 4 mg/mL apigenin and 3 mg/mL quercetin, respectively. The glycosidic products of biotransformation were not detected in the untreated control. The high enzyme potential of conventional cells system of *A. vesicarius* subsp. *carniolicus* is established and an optimized model cell system for the production of pharmacologically active molecules is proposed.

**Scientific publications and presentations:**

- Pavlinka Popova, Yancho Zarev, Iliana Ionkova, Biotransformation of quercetin, kaempferol and apigenin to monoglycosylated derivatives by in vitro suspension cultures of *Astragalus vesicarius* ssp. *carniolicus*, *Pharmacia*, 2021, 68(2): 307–311

**Contract D-121/24.06.2020 RESPONSE TO TAFAMIDIS IN HEREDITARY ATTR AMYLOIDOSIS DUE TO GLU89GLN PATHOGENIC GENETIC VARIANT IN BULGARIAN COHORT OF ATTR AMYLOIDOSIS PATIENTS WITH MIXED PHENOTYPE**

**Research team:** Assoc. Prof. Vanya Nikolova Maslarska, PhD

- Prof. Ivailo Tournev, MD, DSci
- Assoc. Prof. Mariana Gospodinova-Milanova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Tsvetanka Doncheva, PhD
- Assist. Prof. Vera Damyanova, PhD
- Assist. Prof. Dragomira Nikolova, PhD
- Assist. Prof. Stanislav Bozhanov, PhD
- Assist. Miglena Smerikarova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy

**RESULTS:** Recently the scientists increasingly focused their research work on examination and developing of new therapeutic drug regimens for the treatment of rare diseases. A good example for this is transthyretin amyloidosis. Disease etiology and pathogenesis have already been established but the low prevalence significantly complicates the analysis of the appropriate therapeutic regimens. The pathogenic genetic variant with mixed phenotype Glu89Gln, mainly characteristic for the Balkan region, has been poorly studied. In connection with one of the most important stages of therapeutic drug monitoring – quantification of drug plasma concentrations, a HPLC method was developed. The method, quantifying the first and most widely prescribed transthyretin kinetic stabilizer – Tafamidis, was validated according to the ICH requirements for bioanalysis and distinguished for its precision, accuracy and high sensitivity. The developed method was applied for analysis of plasma concentrations in the Bulgarian cohort of patients with stage I transthyretin amyloidosis, carriers of the Glu89Gln mutation. Based on the results obtained for Tafamidis plasma concentrations and the results of the routine neurological and cardiac examinations, the relationship between plasma concentration levels and the degree of disease progression over the study period was monitored.

**Scientific publications and presentations:**

- Smerikarova M, Bozhanov S, Maslarska V. Analytical Methods for the Determination of the Transthyretin Kinetic Stabilizer Tafamidis in Biological Fluids: A Review. 10th International Conference on Biotechnology and Bioengineering (10th ICBB). 16

December 2020 Virtual event (TR). Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2021, Vol. 128, Suppl. 2, p.14.

- Smerikarova M, Bozhanov S, Maslarska V, et al. Determination of Tafamidis Plasma Concentrations in Amyloidosis Patients with Glu89Gln Mutation by HPLC – UV Detection. Journal of Chromatographic Science, 2021, 1–8.

**Contract D-122/24.06.2020 PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF ASTRAGALUS CORNICULATUS AND ASTRAGALUS HAMOSUS**

**Research team:** Prof. Iliana Nikolaeva Manova, PhD

- Assoc. Prof. Petranka Zdraveva, PhD
- Assist. Prof. Aleksandar Shkondrov, PhD
- Ivana Pankova
- Ivan Stambolov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** *Astragalus hamosus* and *Astragalus corniculatus* were examined for the presence of flavoalkaloids, acylated and highly glycosylated flavonoids. Non-purified extracts of the overground parts of the species were subjected to ultra-high performance liquid chromatography – high resolution electrospray ionisation mass spectrometry (UHPLC-HRESIMS) analysis and the results were compared to authentic reference substances. A flavoalkaloid of kaempferol was newly identified in an extract of *A. hamosus*. In addition, three compounds – quercetin and kaempferol flavonoids, acylated with hydroxymethylglutaric acid and alcesefoliside, were found in extracts of *A. hamosus* and *A. corniculatus* for the first time.

**Scientific publications and присъстваations:**

- Shkondrov A, Krasteva I. Liquid chromatography – high resolution mass spectrometry screening of *Astragalus hamosus* and *Astragalus corniculatus*. Pharmacia. 2021;68(1):135–9.

**Contract D-123/24.06.2020 UHPLC-HRMS ANALYSES OF SECONDARY METABOLITES IN HYDROMETHANOLIC EXTRACTS OF PORTULACA OLERACEA L.**

**Research team:** Assoc. prof. Yulian Tenchev Voynikov, PhD

- Assoc. prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Assoc. prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assist. prof. Vessela Balabanova-Buzhushka, PhD
- Assoc. prof. Paraskev Nedialkov, PhD
- Assoc. prof. Ivan Dimitrov, PhD
- Nedialka Iuseva
- Alexandra Petrova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy

**RESULTS:** Hydromethanolic extracts were obtained from the aerial parts of the plant *Portulaca oleracea* L. (purslane). These extracts were analyzed with ultra-high performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS). Two groups of natural secondary metabolites were sought to be determined:

- cyclo-dopa amides (CDA) or oleraceins and

- hydroxycinnamic acid amides (HCAA)

An effective workflow was developed for filtering the MS2 spectra by 1) diagnostic fragment filtering (DFF) and 2) diagnostic neutral loss filtering (NLF). This was achieved by an in-house written script in the programming language Python. This script is also able to combine similar MS2 spectra based on user-defined criteria. Using this strategy, 56 CDAs were identified and characterized. Of them, 35 are new, undescribed in the literature oleraceins. Also, 26 HCAAs we identified. The developed workflow allows the fast and effective screening of compounds based on their MS characteristics, and can be applied to various other groups of compounds in complex mixtures.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Voynikov Y, Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D, et al. UPLC-HRMS identification of cyclo-dopa amides in hydromethanolic extracts of *Portulaca oleracea* L. International Conference on Plant Systems Biology and Biotechnology (ICPSBB). Golden Sands, Sofia, Bulgaria. 14-17 June, 2021. 36p.
- Voynikov, Y., Nedialkov, P., Gevrenova, R., Zheleva-Dimitrova, D., Balabanova, V., & Dimitrov, I. UHPLC-Orbitrap-MS Tentative Identification of 51 Oleraceins (Cyclo-Dopa Amides) in *Portulaca oleracea* L. Cluster Analysis and MS2 Filtering by Mass Difference. *Plants*. 2021; 10(9), 1921. IF = 3.935

#### **Contract D-124/24.06.2020 DEVELOPMENT AND EVALUATION OF ORAL CARRIERS FOR PEDIATRIC PRACTICE.**

**Research team:** Prof. Milen Ventsislavov Dimitrov, PhD, MPH-HMP

- Assist. Prof. Dilyana Georgieva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Technology and Biopharmacy, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** The drug products used in pediatrics must often be adapted to the needs of children, as routine practice in pharmacies is to use commercially available products as starting materials for extemporaneous preparation of liquid formulations. After analysis of pharmacotherapeutic considerations for pediatric use, Celecoxib oral suspensions were prepared at a concentration of 10 mg/ml from celecoxib-substance and commercially available drug products using as a carrier purified water with added preservative (methyl-paraben), sugar or fructose syrup, or 1% aqueous solution of sodium carboxymethylcellulose and sugar syrup in a ratio (1:1). The influence of basic factors such as appearance, change in pH, sedimentation volume (F), assessment of resuspension potential, quantitative content of celecoxib, microbiological quality, and stability after first opening of the package on the stability of the prepared formulations was studied. The tested formulations remained unchanged in terms of appearance and showed chemical stability at storage temperatures of  $25^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$  (room) and  $5^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  (refrigerated) during the entire follow-up period. With the highest values of the sedimentation volume (F) and optimal physical stability, the model suspensions prepared with a sugar syrup carrier and the combination of sugar syrup + 1% aqueous solution of CMC sodium (1:1) stand out. The optimal number of shakes for resuspension is within the limits of  $3\pm 1$  reversible shakes, and the angle of rotation should not be less than  $90^{\circ}$ . The quantitative content of celecoxib in all prepared formulations remained above 95% w/v, within the study design, in the range of  $98.7\pm 0.41\%$  to  $101.8\pm 0.82\%$ , as formulations retaining their microbiological stability. The obtained results of the study of the stability after the first opening of the package reveal a potential possibility for the successful extemporaneous preparation of oral formulations with celecoxib and confirm that the studied formulations retain their

physicochemical and microbiological stability, within the performed simulations of real conditions of pediatric use.

**Contract D-131/24.06.2020 IDENTIFICATION OF GENETIC MUTATIONS CAUSING SYNDROMIC AND NON-SYNDROMIC FORM OF RETINITIS PIGMENTOSA IN BULGARIAN PATIENTS USING NOVEL TECHNOLOGIES FOR GENOMIC ANALYSIS**

**Research team:** Prof. Sylvia Zdravkova Cherninkova-Gopina, MD, PhD, DSci

- Kunka Kamenarova, PhD
- Olga Beltcheva, PhD
- Felitsiya Shakola, PhD
- Veronika Petkova, MSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurology, University Hospital “Alexandrovska”, Clinic of Neurology, 1 George Sofiiski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Inherited retinal diseases (IRD) are a heterogeneous group of diseases that mainly affect the retina; more than 300 genes have been linked to the disease and more than 20 different clinical phenotypes have been described. This heterogeneity at both the clinical and genetic levels complicates the identification of causative mutations. Therefore, a detailed genetic characterization is important for genetic counselling and decisions regarding treatment. Retinitis pigmentosa, RP, is the most common form of IRD, in which patients lose both types of photoreceptors. Our purpose was to identify causative mutations and characterize the phenotype associated with the genotype in six Bulgarian patients with nonsyndromic RP and to increase the knowledge about these dystrophies in our population. Clinical exome of each patient was analyzed using next-generation sequencing and prioritization of possibly pathogenic changes was performed after applying filtering criteria. A total of 5 pathogenic mutations, one of which was described in this study, were found in 67% of RP patients. Mutations in 4 of the most frequent RP genes, *RHO*, *RPGR*, *NRL* и *PRPF3*. Based on this, the genetic diagnosis of retinopathy in these patients was identified. Genotype-phenotypic correlations were studied, which allowed to determine the potential risk of developing retinal degeneration for their relatives. Identification of carrier frequency of detected mutations in the population, as well as finding of other families with hereditary retinal degenerations is extremely important for clarifying the genetic epidemiology of the disease in Bulgaria. From a methodological point of view, next-generation sequencing of clinical exome was successfully applied and this allowed simultaneous screening of the most common genes for retinal degeneration. A systematic pipeline for filtering pathogenic substitutions was applied which can be used for future research projects and diagnostics.

**Contract D-134/24.06.2020 STUDY OF THE POLYMORPHISMS RS2278329 AND RS2292016 IN THE ONCOSTATIN M RECEPTOR (OSMR) GENE AS A FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF DERMATOMYOSITIS IN ADULT PATIENTS**

**Research team:** Assoc Prof. Lyubomir Assenov Dourmishev, MD, PhD

- Prof. Radka Kaneva, PhD
- Maria Hristova, MD, PhD
- Radosveta Bozhilova
- Joana Pozharashka

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Dermatology and Venereology,

1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The polymorphisms rs2278329 and rs2292016 in the Oncostatin M receptor (OSMR) gene were analyzed in 64 patients with dermatomyositis (23 males and 41 females) and 95 healthy controls (24 males and 71 females) by real-time PCR. Among the whole cohort, only two patients with dermatomyositis are carriers of the heterozygous genotype rs2278329GA and only one control is a carrier of the heterozygous genotype rs2292016GT. The two polymorphisms showed similar allele and genotype distribution among the patients and the controls. The low frequency of the minor alleles (< 1%) does not allow to study their association with the clinical features of the disease. A larger patient cohort is needed in order to assess the impact of the studied polymorphisms on the development of dermatomyositis.

**Contract D-144/24.06.2020 NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) FOR THE IDENTIFICATION OF MUTATIONS IN THE UROMODULIN OR OTHER GENES, ASSOCIATED WITH VARIOUS DEGREES OF CHRONIC KIDNEY DISEASE AND HYPERURICEMIA/GOUT IN YOUNG INDIVIDUALS**

**Research team:** Assoc. Prof. Maria Simeonova Gaydarova, MD, PhD

- Head Assist. Prof. Olga Beltcheva, PhD
- Daniela Pencheva, PhD
- Assist. Prof. Galia Zlatanova-Rashkova, MD
- Assist. Prof. Stephka Tsocheva, MD
- Assist. Prof. Ventzislav Shurliev, MD, PhD
- Radosveta Bozhilova – PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics, SBALDB “Prof. Ivan Mitev” Ltd., Nephrology and Dialysis Clinic, “Acad. Ivan Geshov” 11 blvd. Sofia 1606

**RESULTS:** The aim of this project was to apply next generation sequencing (NGS) for genetic testing of young patients with chronic kidney disease and hyperuricemia/gout. After obtaining informed consent in writing, we collected samples from 5 patients, 3 women and 2 men. We used TSO gene panel which allows simultaneous sequencing of the coding sequences of 4 813 genes on the MiSeq platform (Illumina). For variant confirmation and segregation analysis we applied Sanger sequencing. The pathogenicity of each nucleotide change was evaluated based on the ACMG criteria (Richards S. et al., 2015). The data analysis revealed pathogenic or potentially pathogenic variants in several genes involved in maintaining the normal structure and function of the kidney, namely, *COL4A3*, *COL4A4*, *UMOD*, *GATM* and *SLC14A2*, which code for the  $\alpha 3$  and  $\alpha 4$  chains of type 4 collagen, uromodulin, the mitochondrial L-arginine:glycine amidinotransferase and UT2 urea transporter, respectively. We identified the disease-causing mutation in a family with multiple affected members in three generations, some of who progressed towards renal failure - p.Arg222Ser (rs1313544461) in *UMOD*. Up until now, that variant’s clinical significance was unknown, but the segregation analysis, which included 3 affected individuals, confirmed its pathogenic effect. Both *COL4A3/4* mutations, one of which novel, affect structurally important glycine residues, which makes them good candidates for disease causing variants. We expect to gain more information about their clinical effect through segregation analysis. Understanding the exact phenotypic effect of the suspect nucleotide changes in the other two genes, *GATM* and *SLC14A2*, will need further in-depth analysis. The present study is the first to try to identify the molecular causes behind hyperuricemia accompanied by impaired kidney function in Bulgaria. Our results will help in

the choice of better treatment options for the patients and will contribute to our understanding of the biological processes governing the normal renal function.

## **MEDICO-BILOGICAL AREA 2021**

### **Contract D-76/04.03.2021 MOLECULAR BASIS OF CONNECTIVE TISSUE PATHOLOGIES, ASSOCIATED WITH EHLERS-DANLOS DISEASE, IN BULGARIAN PATIENTS**

**Research team:** Prof. Albena Parvanova Todorova-Georgieva, DSc

- Acad. Prof. Dr. Vanyo Mitev, MD, DSc
- Assist. Prof. Bilyana Georgieva, PhD
- Yanka Dangulova, PhD
- Assist. Prof. Silviya Kalendarova-Valkova, PhD
- Mariya Dyulgerova, PhD
- Tihomir Todorov, PhD
- Slavko Ormandzhiev, MSc

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** Ehlers-Danlos syndrome (EDS) is a heterogeneous group of diseases, affecting the connective tissue, skin, tendons, blood vessels and internal organs. The goal of this scientific research was to implement and optimize a method for analysis of genetic variants in patients with EDS, in order to clarify the molecular basis and associated genes in Bulgarian patients. The next generation sequencing (NGS) method was applied, for the analysis of a gene panel. The NGS-based method for whole exome sequencing was successfully applied, to find variants in the *COL3A1*, *ADAMTS* and *CRTAP* genes. On the basis of the conducted molecular-genetic analysis, the genome analysis led to a variant in 1 of the samples (6,67%) in the gene *COL3A1* (c.2122G>C, p.Gly708Arg), which explains the clinical symptoms of the fetus sample, and has lead to an exact molecular-genetic diagnosis. Specifying the diagnosis gave the opportunity for conducting adequate prophylactics for the affected family, which showed that the variant is *de novo* - not inherited from the parents. For two other patients the genome analysis lead to variants of unknown significance in the genes *ADAMTS* and *CRTAP* (c.562G>C, p.Glu188Gln and c.583G>A, p.Glu195Lys). In 12 of the samples, the genome analysis did not lead to any pathological variants, due to which the patients are left with an unspecified genetic diagnosis. The results of this research are of great importance for the family of the analysed abortion material, due to the exact diagnosis on a molecular-genetic level. Only when an exact molecular-genetic diagnosis is apparent in the family, an adequate consultation, prenatal diagnostics and prophylactics of the disease can be offered.

### **Contract D-77/04.06.2021 INVESTIGATING THE EXPRESSION OF HIF-1ALPHA, HIF-2ALPHA AND PROANGIOGENIC MICRORNA MIR-1246 IN LARYNGEAL CARCINOMA – IN SEARCH OF TUMOR HETEROGENEITY**

**Research team:** Prof. Diana Petrova Popova, MD, PhD, DSc

- Assoc. Prof. Todor Popov, MD, PhD
- Prof. Dr. Lazar Slavov, MD, PhD
- Gergana Stancheva, PhD
- Assist. Prof. Tihomir Dikov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Tsvetomir Marinov, MD, PhD
- Dr. Julide Casaboglu

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of ENT

**RESULTS:** In samples from a group of 62 patients with advanced laryngeal carcinoma, miR-1246 expression was investigated by RT-PCR. From each patient, 4 samples were examined - control, normal peritumoral tissue and tumor in depth and surface. miR-1246 was found to be significantly dysregulated in advanced laryngeal carcinoma (in 78% of cases), miR-1246 overexpression was significantly higher in stage T4 compared to stage T3 and correlated with tumor size. The expression levels of miR-1246 were significantly higher in the tumor depth than at the tumor surface, ie. there is significant heterogeneity with respect to this microRNA. An important conclusion from the data is also the fact that the expression levels of MiR-1246 were positively associated with a higher risk of locoregional metastases in these patients. In a group of 25 patients, immunohistochemistry for HIF-1-alpha and HIF-2-alpha was performed. From the analysis of the expression of HIF-2-alpha in tumor tissue, a patchy distribution of the expression of this molecule without a diffuse one was found. The main source of expression is the tumor cells and, to a much lesser extent, the tumor stroma. The HIF-1 alpha antibody did not stain due to a possible quality problem.

**Scientific publications and presentations:**

- G. Stancheva, "Higher Expression Levels of miR-1246 in Advanced Laryngeal Carcinoma Are Associated with Elevated Risk of Locoregional Metastasis", *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, vol. 76, no. 3, pp. 464–472, Mar. 2023.

### **Contract D-78/04.062021 INVESTIGATION OF A PANEL OF MIRNAS AS NON-INVASIVE DIAGNOSTIC BIOMARKERS IN PROSTATE CANCER**

**Research team:** acad. Prof. Vanyo Ivanov Mitev, MD, PhD, DSci

- Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Darina Kachakova -Yordanova, PhD
- Veronika Petkova - PhD student
- Assoc. prof. Marincho Georgiev, MD, PhD
- Assoc. prof. Krasimir Yanev, MD, PhD
- Vasil Vasilev, MD
- Assist. prof. Valentin Yotovski, MD, PhD
- Assist. prof. Georgy Margaritov Ivanov, MD
- Assist. prof. Alexandrina Vlahova
- Assist. prof. Marusya Genadieva-Yordanova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical chemistry and biochemistry

**RESULTS:** The most common solid tumor among men is prostate cancer (PC). There is a great need new non-invasive biomarkers to be imported into clinical practice to support personalized medicine. Such non-invasive biomarkers are miRNAs. The current study aims to validate let-7c and miR-375 as non-invasive diagnostic and/or prognostic biomarkers in plasma in PC. These microRNAs showed a correlation with PC in our previous research project. In the current study, plasma levels of selected miRNAs were investigated in 51 PC patients and 48

controls with benign prostatic hyperplasia (BPH). Expression analysis was performed using the SybrGreen LNA technology. ROC curve analysis revealed that individually tested miRNAs could not reliably distinguish patients from controls. Plasma levels of miR-375 showed a correlation with the Gleason score. Combining miRNAs with PSA differentiates patients from controls with the best specificity compared to using them alone, and also has the potential to differentiate patients with a high Gleason score. The best combination of two biomarkers for distinguishing patients from controls was between let-7c and PSA, achieving 76.5% sensitivity and 62.5% specificity as the area under the curve (AUC) was 0.689,  $p=0.0012$ . The combination of let-7c, miR-375 and PSA achieved an AUC of 0.709,  $p=0.00036$ , with a sensitivity of 70% and a specificity of 60.4%. These results indicate that the combination of biomarkers has the potential to be used in clinical practice in the diagnosis of PC. In addition, we found that miR-375 plasma levels statistically significantly correlated with the presence of diabetes and distinguished the analyzed individuals with diabetes from those without diabetes regardless of the presence of PC with high sensitivity and specificity. A larger study including a larger cohort of PC patients with complete clinicopathological data and well-clinically characterized controls is needed to take into account all factors affecting miRNAs levels and to validate the results.

**Contract D-79/04.06.2021 STRUCTURAL AND NEUROCHEMICAL FEATURES OF THE NEUROEPITHELIAL BODIES IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS**

**Leading scientist:** Prof. Nikolai Elenkov Lazarov, MD, PhD, DSc

- Prof. Lazar Slavov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Dimitrinka Atanasova-Dimitrova, PhD
- Assoc. Prof. Angel Dandov, MD, PhD
- Assist. Prof. Aleksandar Iliev, MD
- Assist. Prof. Nikola Stamenov, MD
- Galina Marinova

**Organization unit:** Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Medical University of Sofia, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The purpose of the project is to study the structural and neurochemical features of the neuroepithelial bodies (NEBs) in spontaneously hypertensive rats (SHRs). NEBs are clusters of neuroendocrine cells scattered throughout the epithelium of the intrapulmonary airways. They express a variety of bioactive neuropeptides, which makes them an interesting subject for studies concerning pathological conditions in the lungs, and their regenerative capacities. For the aims of the project, two age groups of SHRs were used, respectively one- and three-month-old. The controls were age-matched normotensive Wistar rats. The methods included deep anesthesia, followed by transcatheter perfusion, dissection of the lungs and deaeration with vacuum. Afterward, paraffin blocks from the lungs were prepared and cut into tissue sections. Thereafter, these were stained with routine histological techniques (H&E and neutral red), and with immunohistochemistry using primary antibodies against calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P (SP), neuropeptide Y (NPY) and gamma-aminobutyric acid (GABA). Using the routine staining methods, NEBs were visualized and localized in the terminal and respiratory bronchioles, and in the alveoli. NEBs were described as clusters of cells protruding into the lumen of the airways. However, the use of these methods is limited due to the lack of specific morphological patterns for structure identification. With the immunohistochemical methods, the expression of several neuropeptides was determined in the NEBs. Applying a primary antibody against CGRP we visualized the NEB-microenvironment which involves Clara-like cells situated around the neuroendocrine cells. We also demonstrated



the expression of SP and GABA in the neuroendocrine cells of NEBs and the reaction was more intense in the 3-month-old SHR. In conclusion, NEBs express a wide variety of neuropeptides, which makes them an important part of the lung parenchyma, integrating chemical stimuli in the lungs and the CNS. Further experiments are required to fully comprehend the involvement of these neuroactive substances in pathological changes and the regenerative capacity of the lungs.

**Scientific publications and presentations:**

- Stamenov, N., L. Jelev, D. Atanasova, A. Dandov, N. Lazarov. Microscopic Anatomy of the Pulmonary Neuroepithelial Bodies in Spontaneously Hypertensive Rats. *Acta Morphol. Anthropol.*, 29, 2022, 18-21.
- Stamenov N, Atanasova D, Jelev L, Dandov A, Lazarov N. Localization of CGRP-immunoreactive structures in the pulmonary neuroepithelial bodies of spontaneously hypertensive rats. VIII National Conference with international participation “Morphological Days”, Sofia, Bulgaria, June 10 – 12, 2022.

**Contract D-80/04.06.2021 SEROLOGICAL STUDY TO ESTABLISH THE ASYMPTOMATIC SPREAD OF SARS-COV-2 IN A GEOGRAPHICALLY AND CLIMATICALLY DISTINCT REGION IN BULGARIA**

**Research team** Prof. Dr. Raina Tzvetanova Gergova, DM

- Corr. Member, Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, DSci
- Assit. Prof. Ivo Sirakov, VMD, PhD
- Assit. Prof. Nikolay Kalvatchev, MD, PhD
- Prof. Tanja Strateva, MD, PhD
- Assit. Prof. Petja Stankova, PhD
- Gergana Paraskova
- Lyudmila Bardarska, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. “Medical Microbiology”, 2 Zdrave str.,

Sofia 1431

**RESULTS:** The data on asymptomatic infections caused by SARS-CoV-2 in humans are divergent and do not provide clear information and can range from 0.3 to 78.6%. The rapid spread of the virus is due to asymptomatic infections, which are a great threat as they undermine control measures. The geographical and climatic features are also important for the spread of respiratory viruses. In this regard, we set ourselves the goal, through a retrospective research, to study the latent prevalence of SARS-CoV-2 in humans in three periods - during the Lockdown 13.03.-13.04, followed by post Lockdown 14.04-07.08 and autumn 26.10-08.12.2020, as well as to determine the importance of some climatic and geographical factors. For this purpose, we examined 418 serum samples from southwestern Bulgaria, Sandanski municipality, using double recombinant IgM, IgA and IgG ELISA. We tested 369 of the samples with a rapid antibody test and compared the results with the ELISA method. The asymptomatic cases for the three stages in the study were 3.84%, 9.18% and 51.31%, or a total of 16.51% for the whole period, with no statistically significant difference in the status of antibodies to SARS-CoV-2 between men and women. Comparing the obtained results, climatic factors and the characteristics of the virus, we analyzed the possible way of importing the virus in the city. We found that the virus was circulating in the municipality before the first registered case – it was imported from the UK. The virus probably entered the city by mass harvesting before isolation through an asymptomatic carrier, but not through air currents. In a comparison between a rapid antibody test and an ELISA method, the rapid test showed 100%

specificity and 74% sensitivity to the double-recombinant ELISA technique. These and other results, worldwide, raise the question of the extent to which rapid tests are used in official controls. Due to the fact that there are no official data for the country before 06.06.20, these results supplement the information on the spread of SARS-CoV-2 in the country before this period.

**Scientific publications and presentations:**

- Sirakov I, Stankova P, Bakalov D, Bardarska L, Paraskova G, Mitov I, Gergova R. Asymptomatic spread of SARS-CoV-2 during the first wave in Bulgaria: A retrospective study in a region with distinct geography and climate. Was the virus source from the UK? *Acta Microb. Bulg.* 2022; 38(4): 358-360.
- Sirakov I, Rusenova N, Rusenov A, Gergova R, Strateva T. Human ELISA Detects anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Cats: Seroprevalence and Risk Factors for Virus Spread in Domestic and Stray Cats in Bulgaria. *Veterinary Sciences.* 2023; 10(1):42.

**Contract D-81/04.06.2021 STUDY OF THE POTENTIAL OF CATS AS A RESERVOIR AND SOURCE OF SARS-COV-2 INFECTIONS IN HUMANS IN BULGARIA**

**Research team:** Assist. Prof. Ivo Nikolaev Sirakov, VMD, PhD

- Assit. Prof. Nikolay Kalvatchev, MD, PhD
- Prof. Tanja Strateva, MD, PhD
- Prof. Dr. Raina Gergova, MD, PhD
- Corr. Member, Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, DSci
- Dobrinka Ivanova, MD, PhD
- Assit. Prof. Ralitsa Popova-Ilinkina

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. "Medical Microbiology", 2 Zdrave str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Coronavirus infections are zoonoses and understanding their zoonotic origins is a key factor in combating them. Coronaviruses use different strategies to adapt and bind to the host cell, so it is possible that SARS-CoV-2 will leave behind natural reservoirs. High sensitivity of monkeys, ferrets and cats to SARS-CoV-2 has been found, and lower in dogs. Cats in Bulgaria are widespread as pets and homeless, and in connection with this, we set out to study clinical and serological samples from them, to prove the spread of SARS-CoV-2 and the possibility of forming a reservoir of the virus. We used human-specific double recombinant ELISA, RT-Real Time PCR, LAMP, sequencing, and developed nested (n) PCR. We performed a differential diagnosis with *FHV*, *FCV*, *Mycoplasma* and *Chlamydia felis*. Of the clinical trials, 30.31% were positive for SARS-CoV-2, 17.17% for *FHV*, 6.06% for *FCV*, 45.45% for *Mycoplasma* and 16.16% for *Chlamydia felis*. Analysis of the results showed a possible relationship between SARS-CoV-2 and *FHV*. The presence of antibodies against SARS-CoV-2 showed in 11.11% of the samples, and 2.8% were borderline. The developed nPCR showed 100% specificity and sensitivity up to 0.015 ng/μL viral RNA. The percentage of positive clinical samples for SARS-COV-2 showed active circulation and transmission of the virus in cats. In this regard, it can be speculated that mutations in the virus in cats and other hosts may lead to the formation of variants specific and circulating only among them or become a constant source of the virus for humans. The presence of antibodies in 11.11% of the cats tested showed the formation of an immune response. Serological data compared with positive clinical samples probably show a 'wave' of the spread of the virus in cats and the beginning of the formation of population immunity. Cats have the potential to become a reservoir of the virus, but this also depends on the ability to form a population immune system.

**Scientific publications and presentations:**

- Sirakov I, Popova R, Ivanova D, Rusenova N, Mladenov H, Mihova K, Mitov I. Development of nested PCR for SARS-CoV-2 detection and its application for diagnosis of active infection in cats. *Vet. Sci.* 2022, 9, 272. <https://doi.org/10.3390/vetsci9060272>

**Contract D-82/04.06.2021 INVESTIGATION OF A FUSION GENE PANEL IN PEDIATRIC SOLID TUMORS BY NEXT-GENERATION SEQUENCING**

**Research team** Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

- Prof. Hristo Shivachev, MD
- Assist.prof. Nadejda Tolekova, MD
- Dr. Niya Sarbyanova, MD
- Prof. Dobrin Konstantinov, MD
- Dr. Ivan Boronsuzov, MD
- Gergana Stancheva, PhD
- Kalina Mihova, MSc
- Verinoka Petkova

**Organization unit:** MU - Sofia, MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The topicality of the problem is determined by the high frequency of pediatric solid tumors (PST), their high malignant potential with high mortality and the possibility of being affected by modern treatment in case of timely and accurate diagnosis. In the current study, rare childhood tumors were screened for the presence of fusion proteins using the FusionPlex® Sarcoma kit and next-generation sequencing. In 6 of 8 patients (75%), a fusion protein was detected, helping to refine the histopathological diagnosis. One of these 6 patients had a case of Ewing sarcoma proven by another method and used as a positive control. Thanks to this investigation, a fusion variant typical of synovial sarcoma was discovered in one of the patients who was diagnosed with another type of tumor. In only one of the patients, no variant was detected, and in one patient it was not possible to perform the analysis due to the low quality of the FFPE material.

**Contract D-83/04.06.2021 WHOLE EXOME SEQUENCING IN PATIENTS WITH COMPLEX FORMS OF EPILEPSY RELATED TO OTHER NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS AND MALFORMATIONS**

**Research team** Prof. Albena Kirilova Jordanova, PhD

- Assist. Prof. Nevyana Ivanova, PhD
- Valentina Peycheva, доктор, PhD
- Radosveta Bozhilova, PhD
- Assoc. Prof. Daniela Avdjieva-Tzavella, MD, PhD
- Prof Ivan Litvinenko, MD, PhD
- Assist. Prof. Ivanova Tacheva, MD, PhD
- Assist. Prof. Maria Petrova, MD
- Assist. Prof. Dimitar Stamatov, MD
- Prof. Veneta Bojinova-Chamova, MD, PhD
- Assist prof. Iliana Alexandrova-Lazarova, MD, PhD
- Daniela Deneva-Todorova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine

**RESULTS:** Complex forms of epilepsy associated with other neurological disorders are a clinically heterogeneous group of diseases with overlapping phenotypes, including autism, motor and neuropsychiatric development, mental retardation and congenital malformations. They are most often due to chromosomal aberrations or copy number variations. In other cases, point mutations are detected, which are successfully detected by the whole exome sequencing (WES) method we use. The study included 10 patients with complex forms of epilepsy who were negative for the most common genetic defects. Pathogenic/likely pathogenic variants were found in 50% of cases (5 out of 10 patients). This diagnostic yield is comparable to the data cited and proves once again the effectiveness of WES in the molecular diagnosis of complex forms of epilepsy. The first case in Bulgaria of the recently described rare genetic syndrome of O'Donnell-Luria-Rodan was identified, which contributes to a more reliable interpretation of the genotype-phenotype correlations. Pathogenic variant identified in the *KCNC3* gene in a patient with epilepsy and mild developmental delay extended the clinical phenotype associated with this gene and showed, that it must be included in the epilepsy diagnostic gene panels. In general, the detection of the genetic cause of the disease not only led to a certain genetic diagnosis but was of great importance for genetic counseling, especially in cases of poorly defined and incompletely developed clinical phenotype communicating with the disease prognosis, therapeutic approach, the risk of childbirth in a sick child in the next pregnancy and the possibility of offering a prenatal diagnosis. Clarification of the molecular characteristics showed that despite the complex clinical picture, in most patients it is due to single *de novo* mutations in genes, related to the development of the nervous system, early embryonic development or specifically expressed in nerve tissue, whose function is critical for the nerve cells.

**Scientific publications and presentations:**

- N. Ivanova, K.Mihova, D.Avdjieva-Tzavella, V.Peycheva, I.Litvinenko, G.Tacheva, I.Aleksandrova, V.Guergelcheva, V.Bojinova-Tchamova, V.Mitev, I.Dimova, A.Jordanova, R.Kaneva. P10.045.D “Whole exome sequencing followed by reverse phenotyping in patients with neurodevelopmental disorders identifies rare genetic syndromes and reveals novel clinical and genetic variants”. European Human Genetics Conference, Vienna, Austria, June 11–14, 2022. Hybrid Poster.

### **Contract D-84/04.06.21 PRESENCE AND ROLE OF VIRUSES OF HERPESVIRIDAE FAMILY IN THE PATHOLOGY PROSTATE CANCER**

**Research team:** Assist. Prof. Dr. Bilyana Georgieva Georgieva, PhD

- Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD, DSc
- Yanka Dangulova
- Anita Kavrakova, PhD
- Kremena Mesechkova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia.

**RESULTS:** Aim of the study was to investigate a potential association of viruses from the Herpesviridae family (HHVs) with the onset and progression of prostate cancer (PCa) due to persistent active infection and tumorigenic biological activity in Bulgarian patients with PCa, benign prostatic hyperplasia (BPH) and PCa/BPH. We analyzed per one needle of “tru-cut” biopsies from 78 patients- 58 with PCa and 20 with BPH. DNA extraction, PCR, and Real-Time PCR were applied. In 11,5% of the patients (9 out of 78) we detected active viral infection with the following four members of the family Herpesviridae- *CMV*, *EBV*, *HHV-6*

and *HHV-7*. Most of the cases with active viral infection fall in the clinical group of patients with BPH (25%) and only 6,9% of the patients with PCa. We discovered a mass morpho-histological findings for an inflammatory process: atypical, atrophic and precancerous changes, chronic inflammatory infiltration, amyloid bodies and cytopathic effect, typical for most of the detected viruses, mainly *EBV*, *CMV*, *HHV-6*, concentrated in the BPH patients group. Obtaining of such results with a similar morpho-histological picture and positive for HHVs in over 25% of the BPH and BPH/PCa patients, with PSA values in the gray area, characterizes a critical phase of PCa development and is of a high risk of causing malignancy by virus-associated tumorigenic process. Our observations support the theory of "hit and run" model of PCa- HHVs are much more active in the initial and critical stages, by triggering the disease and are less commonly detected in the advanced phase of the disease. Our results support the hypothesis that long-term active HHVs infection contributes to intraprostatic inflammation, precancerous lesions and BPH, and later to malignancy of the prostatic epithelium. The prevention and treatment of prostate viral infections could have a positive effect on the control and prevention of PCa.

**Contract D-85/04.06.2021 INTERACTION BETWEEN ENDOGENOUS CANNABINOID AND SEROTONERGIC SYSTEMS IN COLD STRESS PATHOGENESIS**

**Research team:** Assoc. Prof. Dr. Hristina Hristova Nocheva-Dimitrova, PhD

- Prof. Alexander Stoynev, MD, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Roman Tashev, MD, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Radka Tafrazhyska, MD, PhD
- Assoc. Prof. Rumen Nikolov, MD, PhD
- Assistant Prof. Georgi Bogdanov, MD, PhD
- Assistant Prof. Nikolay Stoynev, MD, PhD
- Assistant Prof. Vlayko Vodenicharov, MD, PhD
- Nikhil Basil Oliveira, student
- Nisarg Shah, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Physiology and Pathophysiology

**RESULTS:** Functional and structural changes in the body caused by stress due to complex interactions between the endocrine, the immune, and the central nervous systems can trigger pathological conditions known as stress-induced disorders. The discovery of stress development mechanisms could give practical clues for decreasing the negative impact on the organism. The aim of the project was to study the cannabinoid and serotonergic neurotransmitter systems interaction in the pathogenesis of cold stress (CS) in rats. Experiments included CB1 and 5HT1A receptors agonists/antagonists administration in various combinations before exposing the animals to 1 hour of cold stress. Pain perception was estimated by mechanical and thermal nociceptive methods. The reported effect on stress-induced analgesia (SIA) is considered an indirect indicator of the stress response of the body as a whole. The results obtained showed that:

- the two systems interact in the pathogenesis of CS;
- the cannabinoid system has a modulating effect in the pathogenesis of CS, initially maintaining SIA in certain values, and later suppressing it; antagonism of CB1 terminates the modulating effect and higher SIA values are reported;
- the serotonergic system has a weaker effect on SIA, increasing its values mainly at the 30th min of the experiment;
- pre-treatment with both agonists reduced SIA from the 20th min;

- CB1-antagonist with simultaneous 5HT1A agonist treatment established SIA from the 20th min, its values remaining constant until the end of the reporting period;
- 5HT1A -antagonist with simultaneous CB1 agonist treatment shows PPT values comparable to those of controls;
- opioid receptors are involved in the described effects;
- other mediator systems (e.g. GABA or glutamatergic) are also likely to be involved in these effects.

The results confirmed the hypothesis of the research team: endogenous cannabinoid and serotonergic systems interact in the pathogenesis of cold stress.

**Contract D-86/04.06.2021 CROSS-CORRELATIVE ANALYSIS OF DYNAMICS IN NEUROLOGICAL BEHAVIOR AND BRAIN PROTEOME PARAMETERS IN RATS WITH STZ-ICV INDUCED EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE**

**Research team:** Assoc. prof. dr. Radka Krilova Tafradjiyska-Hadjiolova

- Assoc. prof. Dr. Daniela Pehlivanova, PhD
- Assoc. prof. Dr. Lubomir Traikov, PhD
- Assist. prof. Dr. Todor Bogdanov, PhD
- Assist. prof. Dr. Dimitar Bakalov, MD, PhD
- Assist. prof. Dr. Zafer Sabit, MD, PhD
- Anastasios Papageorgiou
- Frankiski-Ioanna Theodoros

**Basic organization:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Physiology and Pathophysiology, 2 Zdrave Street, Sofia-1431

**RESULTS:** Hypoglycemia and hypometabolic disorders in the brain caused by reduced glucose uptake are observed in specific brain regions affected by Alzheimer's disease (AD). Therefore, glucose hypometabolism and energy deficit are hallmarks of AD. There are several hypotheses that explain the role of glucose in the hypometabolic changes in AD, but the available data on this issue are weak. Reduced glucose transport in glial cells may be associated with reduced expression of glucose transporters GLUT-1 and GLUT-2 in neuronal and glial tissues. On the other hand, glucose transporters (GLUT-1 and GLUT-2) may play a role as potential targets for Alzheimer's disease therapy. Compounds such as antidiabetic drugs, SGLT1 agonists, and insulin, are proposed as therapeutic agents. Nevertheless, the proposed targets of therapy need further research. In the present project, a systematic approach to analyzing an animal model system of Alzheimer's disease with the intracerebroventricular infusion of Streptozotocin (or Streptozotocin model) leads to selective inhibition of GLUT-1 and GLUT-2 transporters in the area of the 3rd ventricle ( location was determined using a stereotaxic technique), with behavioral and memory tests conducted in parallel. After cross-correlation analysis of data sets related to proteomic studies of brain homogenates, cerebrospinal fluid (CSF), and blood plasma (BP), by means of SDS-PAGE and histological changes in the structure of the hippocampal region, in relation to changes in behavioral and memory abilities in the experimental animals, the cross-correlative changes related to the behavior of the experimental animals and, in particular, the observation of memory disorders, show a 0.85-0.93 Pearson correlation coefficient, which means that the methodology combining two apparently different systematic approaches leads to more complete characterization. Proteomic analysis, in parallel with the degeneration of the hippocampal region, also proves degenerative changes in the behavior of the experimental animals. A particularly strong cross-correlation was observed between the novel object recognition results

of the experimental animals and the degenerative changes in the proteome of cerebrospinal fluid and brain homogenate supernatant isolated from the hippocampal region.

**Scientific publications and presentations:**

- Paraskevas Pakataridis, Daniela Peclivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiska. Long-term impairment of cognitive behavior and memory after intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. Scientific conference “Kliment’s days”, 5th November 2021 Sofia, Faculty of Biology
- Filippou-Savvas Chelmiss, Daniela Pechlivanova, Zafer Sabit, Radka Tafradjiska. Impaired anxiety-like behavior in an experimental model of Alzheimer's disease. Scientific Conference “Kliment’s days”, 5th November 2021 Sofia, Faculty of Biology
- Dimitrova M., Traikov L., Gateva P., Sabit Z., Bakalov D., Tafradjiska-Hadjiolova R. - Protective Effect of Alpha-Lipoic Acid in 6-Hydroxydopamine Unilateral Intrastratial Induced lesions in Rats-10-11 May 2022- ICMS-2022, Sofia, Bulgaria.

**Contract D-87/04.06.2021 COGNITIVE AND BEHAVIOUR CHANGES IN HYPOTHYROIDISM – A POSSIBLE RELATIONSHIP TO REDUCED CENTRAL SEROTONERGIC MEDIATION**

**Research team** Assoc. Prof. Georgeta Stoyanova Bocheva, PhD

- Assoc. Prof. Radka Tafradjiska-Hadjiolova, MD, PhD
- Dimitar Bakalov, MD, PhD
- Zafer Sabit, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pharmacology and Toxicology, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the present study was to investigate the behavior, cognitive and memory changes in overt hypothyroid rats compared to euthyroid ones, and to evaluate the effects of tryptophan administration in the state of hypothyroidism. Literature-proven *in vivo* tests, such as spontaneous alteration test in T-maze, novel object recognition test, and open-field test (OFT) were used to achieve our goal. The model of drug-induced hypothyroidism was performed by administration of 0.01% 6-*n*-propyl-2-thiouracil (PTU) in the drinking water of Wistar-albino rats for 5 weeks. Hypothyroid status was confirmed by the serum level of fT4. The serotonergic mediation in the brain was modulated by administration of the precursor of serotonin, 5-hydroxy-L-tryptophan (5-OH-TRP), either intraperitoneally at 50 mg/kg in 1% PBS for 10 days, or stereotaxic directly into the hippocampus with 3  $\mu$ L injection (17 mg/mL). All data from behavioral experiments were statistically analyzed. Behavior tests showed that PTU-induced hypothyroidism significantly reduced overall horizontal locomotor activity and risk-taking behavior, as demonstrated by a reduction in the number of re-entries into the central aversive zone of OFT apparatus. We also observed a significantly reduced spontaneous rearing behavior in the group of hypothyroid rats, which reflects their low exploratory motivation of the environment. Their exploratory behavior was also significantly suppressed. The treatment with 5-OH-TRP almost completely abolished the hypoactivity and reduced risk-taking behavior induced by hypothyroidism, with a slight non-significant difference, compared to euthyroid animals, demonstrating a marked anxiolytic effect of 5-OH-TRP application. The present results may serve as a basis for further investigations of functional and structural changes in the hippocampus in a hypothyroid state. The obtained data have not only theoretical but also practical significance for the administration of essential aminoacids, in particular tryptophan, in hypothyroid patients with depressive-like behavior and cognition dysfunction.

**Scientific publications and presentations:**

- Ivanov S, Bakalov D, Bocheva G. Pathophysiology and management possibilities of thyroid-associated depression. *Acta Med Bul.* 2022;49(3): 68-72.
- Bakalov D, Iliev P, Sabit Z, Tafradjiiska-Hadjiolova R, Bocheva G. Attenuation of Hypothyroidism-Induced Cognitive Impairment by Modulating Serotonin Mediation. *Veterinary Sciences* 2023; 10(2):122 (IF: 2,518).
- Iliev P, Bakalov D, Sabit Z, Tafradjiiska-Hadjiolova R, Bocheva G. Effects of serotonin mediation on the cognitive function in an animal model of hypothyroidism. 8<sup>th</sup> CONGRESS of PHARMACY with International Participation, April 27-30, 2023, Borovets, Bulgaria

**Contract D-88/04.06.2021 EFFECTS OF NITRIC OXIDE SYNTHASE AND CYSTATHIONINE GAMMA-LYASE INHIBITORS ON THE LEPTIN-INDUCED HYPERTHERMIC RESPONSE IN RATS**

**Research team:** Assist.Prof. Milen Hristov Hristov, MD, PhD

- Assist. Prof. Lyudmil Lazarov, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pharmacology and Toxicology, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia.

**RESULTS:** Leptin is an adipokine, involved in the regulation of energy balance and immune function. Peripheral administration of leptin has been demonstrated to elicit a prostaglandin E<sub>2</sub>-dependent fever in rats. Previous studies have reported that neuronal nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthase and cystathionine gamma-lyase play an important role in the induction of fever to lipopolysaccharide. To investigate the role of these enzymes in the effect of leptin on body temperature, we used the non-selective inhibitor of nitric oxide synthase N $\omega$ -Nitro-L-arginine methyl ester (l-NAME), the selective inhibitor of neuronal nitric oxide synthase 7-nitroindazole, the selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase aminoguanidine and the inhibitor of cystathionine gamma-lyase dl-propargylglycine. The results of the first series of experiments demonstrated that intraperitoneal administration of leptin (0.5 mg/kg) induced a significant increase in body temperature, whereas intraperitoneal administration of l-NAME (50 mg/kg), aminoguanidine (50 mg/kg), 7-nitroindazole (10 mg/kg) or dl-propargylglycine (50 mg/kg) did not induce any changes in body temperature of rats. In the second series of experiments, we found that intraperitoneal administration of l-NAME, aminoguanidine, 7-nitroindazole or dl-propargylglycine ten min before leptin abolished the febrile response, elicited by leptin. These results suggest the involvement of cystathionine gamma-lyase, neuronal and inducible nitric oxide synthase in leptin-induced fever in rats. We also investigated the interaction between leptin and each of the inhibitors through an examination of their effect on food consumption and body weight gain following their coadministration. We showed that leptin, l-NAME, aminoguanidine, 7-nitroindazole and dl-propargylglycine, administered alone, suppressed food intake and body weight gain at 24 h after the injection. Coadministration of leptin with aminoguanidine, 7-nitroindazole or dl-propargylglycine did not produce any synergistic effects on food intake and body weight. The effect of the combined administration of leptin and l-NAME was greater than the effects of the drugs, administered alone.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristov M, Lazarov L. Inhibition of nitric oxide synthase or cystathionine gamma-lyase abolishes leptin-induced fever in male rats. *J Therm Biol.* 2023;112:103443. IF: 3.189
- Petrov K, Georgieva M, Lazarov L, et al. Effect of dl-propargylglycine on leptin-induced changes in body temperature, food intake and body weight in rats. XX International Congress of Medical Sciences, Sofia, 12-15 May, 2022. 26



**Contract D-89/04.06.2021 CLEANING EFFICACY OF OVAL-SHAPED ROOT CANALS AFTER DIFFERENT ENDODONTIC RETREATMENT TECHNIQUES**

**Research team:** Asoc. Prof. Emilia Goshova Karova, DMD, PhD

- Assist. Prof. Violeta Dogandzhiyska, PhD
- Assist. Prof. Irina Tsenova-Ilieva, PhD
- Dr. Mirqna Raikovska

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Conservative Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Endodontic retreatment aims to detect, treat, and disinfect the root canals, completely remove the remnants of the previous root canal filling, and create conditions for hermetic sealing of the complex endodontic space and the tooth. Oval-shaped root canals require special attention in the course of the retreatment, as rotary files cannot evenly shape the walls of the canal along its entire length. Some areas filled with sealer, debris, and microorganisms often remain untreated. The aim of the present study was to determine the effectiveness of root canal filling removal from the walls of oval-shaped root canals after endodontic retreatment with different techniques. Our objectives were to:

1. Investigate the degree of cleaning of oval-shaped root canals by root canal sealer after treatment with Mtwo-R, D-Race, and high energy Er: YAG laser. 2. Assess the effectiveness of XP-Endo Finisher-R as a supplementary approach to the previously used retreatment methods (p.1.). The effectiveness of the root canal filling removal from the root canal walls was estimated by means of micro-CT examination of the samples from the three groups. The data obtained from the images at 5 and 10 mm levels from the root apex, as well as at full length, were analyzed. The results of our study showed that none of the treatment systems used was able to achieve complete removal of the root canal filling. The high-energy Er: YAG laser irradiation was the least effective in all three sections examined. The additional application of XP-Endo Finisher R removed a significant amount of root canal filling, though the differences between the three study groups remained statistically insignificant. The most effective root canal cleaning technique in full volume was D Race combined with XP-Endo Finisher-R. The application of M Two and XP-Endo Finisher-R removed root canal filling remnants to the greatest extent in the apical and middle third of the root canal (section 5 and 10 mm).

**Scientific publications and presentations:**

- Karova E , Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M, Zongova-Adem S. Nickel- Titanium rotary instruments in retreatment cases. MedInform. 2021; 1: 1306-1307.
- Karova E , Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M, Zongova-Adem S. Supplementary approaches in endodontic retreatment. MedInform. 2021; 1: 1312- 1313.
- Karova E, Dogandzhiyska V, Tsenova-Ilieva I, Raykovska M. Endodontic Retreatment with D-Race NiTi Instruments Supplemented with XP-Endo Finisher R. EAS Journal of Dentistry and Oral Medicine. 2022; 4(3): 80-85.
- Tsenova-Ilieva I, Dogandzhiyska V, Karova E. Analysis of the effectiveness of XP-Endo Fin- isher R in orthograde endodontic retreatment. J of IMAB. 2022; 28(2):4371-4375.

**Contract D-90/04.06.2021 ANGIO- AND OSTEOGENIC POTENTIAL OF CITRIC ACID ON STEM CELLS FROM APICAL PAPILLA**

**Research team:** Prof. Nataliya Hristova Grancharova, PhD

- Assist. Prof. Nikolay Ishkitiev
- Assoc. Prof. Krasimir, PhD
- Student Milko Penev

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

**RESULTS:** The first single cells adhered to the bottom of the plastic petri dishes appeared after one to three days from the start of the experiment. They are small spindle- and star-shaped cells. The first colonies are formed within six to eight days and are the result of the intense division of the cells adhered to the bottom of the culture vessel. The immunofluorescence images confirmed the presence of stem cells in the apical papilla with expression of cell markers typical of undifferentiated cells. SCAP possess the potential for osteogenic/odontogenic differentiation. This was demonstrated by visualizing mineral deposits after alizarin red staining. Different patterns of mineralization were observed - the cultures with standard osteogenic medium were characterized by denser and localized mineral deposits, and those with different concentrations of citric acid being more diffuse and less dense. The deposits were inhomogeneous, and their size and density were decreasing with increasing citric acid concentration. The addition of citric acid to the culture medium significantly increased the concentration of VEGF after the 28th day of culture.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristov K, Ishkitiev N, Miteva M, Grancharova G. Stem cells from apical papilla – morphological features and characterization., online journal of BDA.

### **Contract D-95/04.06.2021 SHEAR BOND STRENGTH BETWEEN PULP-CAPPING MATERIALS AND NANOCOMPOSITE RESIN IN DIFFERENT TIME PERIODS**

**Research team:** Assoc.Prof. Ivanka Veselinova Dimitrova, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Desislava Tsanova-Tosheva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Aentistry, Dept. of Conservative dentistry, 1 George Sofiiski str. 1431, Sofia

**RESULTS:** The aim of this study is to compare and analyze the shear bond strength between composite restorative material (Filtek Ultimate, 3M, USA) and two types of calcium-silicate cements at the same conditions. The pulp-capping materials that were used were the conventional material Biodentine (Septodont, France) and the new BioCal-Cap (Harvard, Germany). In this study only one type of adhesive system and resin-based composite have been used- Scotchbond (3M ESPE, St. Paul, MN,US) and Filtek Ultimate (3M, USA) respectively. For this purpose, 60 molds with a diameter of 5 mm and a height of 2 mm were prepared and divided into 4 groups of 15 samples in each. Half of them were filled with Biodentine and the other 30 with BioCal-Cap. The shear bond strength between calcium-silicate cements and the composite was investigated and compared after immediate placement of the composite resin and after 14 days. Mann-Whitney test and Wilcoxon Signed Ranks Test were used for statistical analysis of the results. The analyzes show a statistically significant difference in shear bond strength between the two groups with different calcium-silicate cements with immediate placement of composite resin ( $p < 0.05$ ). The comparison of the results of the strength between the two materials with delayed placement of composite material shows that there was also a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). However, no statistically significant difference was found ( $p > 0.05$ ) of the strength values in case of immediate and delayed placement on the same pulp-capping agent of composite resin. The data clearly show

that the time of the composite material placement does not affect the shear bond strength in each of the observed groups.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimitrova I, tsanova-Tosheva D. Investigation of shear bond strength between two different pulp-capping materials and methacrylate composite material– under publication in Journal Dental Medicine 2022;104(2):85.

**Contract D-96/04.06.2021 ANALYSIS OF PREVENTIVE ACTIVITY IN WORKING WITH RISK BIOLOGICAL AND CHEMICAL FACTORS IN DENTAL MEDICINE**

**Research team:** Assoc. Prof. Boyko Kostov Bonev, PhD

- Assoc. Prof. Todor Uzunov, DMD, PhD
- Assist Prof Ralica Vaskova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine; department of Prosthetic Dental Medicine

**RESULTS:** In the implementation of prosthetic dental treatment, the transfer of the oral cavity information from the patient's oral cavity through members of the dental team to the dental laboratory in the form of an analog impression is a ~~major~~ route for cross-infection. It is essential for the health of the dental team to determine the importance of this path and develop effective methods of control and prevention. The aim of the research is to determine through microbiological analysis the effectiveness of methods for disinfection of various types of impressions required in the course of prosthetic treatment. A total of 63 impressions were studied, for which three types of materials were used: polycondensation silicone (Si-C); addition silicone (Si-A) and irreversible hydrocolloid (A). A microbiological method with inoculation on nutrient media was applied. Microbial growth was recorded at 24 hours with a MALDI-TOF. The examination of the impressions was carried out after disinfection by:

- Spray
- Soaking in solution,
- Immersion in an ultrasonic device with distilled water.

Irrespective of the type of material, microorganisms with moderate to abundant growth were isolated from the studied impressions. The most common are: Streptococcus sanguinis, Candida albicans, Streptococcus mitis, Escherichia coli, Streptococcus epidermidis. Microbial growth was not detected after disinfection of the test impressions, regardless of the type of the used disinfection method. Microbiological studies have shown that the most commonly used disinfection methods in daily dental practice are effective and can be used to control cross-infection in prosthetic treatment. The same impression materials (IM) and the same disinfection methods were tested with a 3-D printer to see if the sharpness of the materials changed. - The linear stability of all IM after the first treatment with one of the selected methods of disinfection does not affect the reliability of the transmitted information.

- The linear resistance of A changes significantly above the permissible norms after the second disinfection treatment, while for Si-A and Si-C a slight deterioration is observed in similar actions.

- In terms of relief stability, Si-A and Si-C behave similarly to their linear stability. For the whole range of methods and treatments, Si-A shows the least tendency to change. Si-C is 7 to 12% worse than Si-A, in contrast to A, which in the same comparisons has a deterioration in this quality in the range of 32 to 50%.

**Scientific publications and presentations:**

- Vaskova.R., T. Uzunov, N. Apostolov, P. Bojinov, B. Bonev. Analyses of disinfection methods of impression materials used in prosthetic dental medicine for reduction of

cross- infection transmission. Helt and science magazine, issue 1-2/ 2022. ISSN 1314-3360

**Contract D-97/04.06.2021 INFLUENCE OF TEMPERATURE CHANGES DURING SINTERING OF CERAMICS ON THE MECHANICAL PROPERTIES OF METAL SUBSTRUCTURES PRODUCED BY CAD/CAM TECHNOLOGIES**

**Research team:** Assoc. Prof. Todor Tconkov Uzunov, PhD

- Hristina Galeva, PhD student
- Yoan Stoev, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Prosthetic Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of this study is to evaluate and compare the influence of multiple temperature changes on the mechanical properties of base Co – Cr metal alloy, used for metal ceramic constructions production. The same influence is evaluated for metal construction made by different CAD/CAM technologies. 54 metal specimens are produced by 3 different methods. According to it they are divided in 3 groups – M(Milling), LP (Laser Printing) and LW (Lost Wax). Every group contains 18 specimens. They are also divided in 3 smaller groups according to the number of temperature changes made – metal specimens, metal specimens with 3 layers ceramic, metal specimens with 4 layers ceramic. All the samples are tested for microhardness according to Vickers. A weight of 1kg is applied for 20 sec. Samples strength is tested with MultiTest 2.5-I with 1N. The zero hypothesis has been partially confirmed. For the production method it is confirmed. The best mechanical properties are shown by group LP (average microhardness – 509, average compressive strength – 646, average tensile strength – 690), followed by group M (average microhardness – 440, average compressive strength – 630, average tensile strength – 667), and at the end it is group LW(average microhardness – 401, average compressive strength – 625, average tensile strength – 645),. The zero hypothesis is not confirmed for the influence of the temperature changes. The highest mechanical properties are shown by the second group with 3 ceramic layers (average microhardness – 462, average compressive strength – 687, average tensile strength – 717). The difference between metal samples and metal samples with 4 layers ceramic almost doesn't exist.

**Scientific publications and presentations:**

- Galeva H, Uzunov T, Sofronov Y, Todorov G, Accuracy comparison of intraoral versus laboratory scanners used in the contemporary dental practice, VEIT 2021, Sozopol, 20 – 24 September 2021

**Contract D-98/04.06.2021 FLAVONOIDS IN *IN VITRO* CULTURES OF *ASTRAGALUS HAMOSUS***

**Research team:** Prof. Iliana Nikolaeva Manova, DSc

- Prof. Iliana Ionkova, DSc
- Assist. Prof. Aleksandar Shkondrov, PhD
- Boil. Pavlinka Popova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** *Astragalus hamosus* contains valuable biologically active compounds, incl. flavonoids. The possibility for *in vitro* cultivation of the species as a source of important flavonoids was studied. Shoot and callus cultures were established and successfully cultivated on different nutrition media, complemented or not with growth regulators. An ultra-high performance liquid chromatography – high-resolution electrospray ionisation mass

spectrometry (UHPLC-HRESIMS) qualitative and quantitative analysis of non-purified methanol extracts of these cultures was performed. It was found that the cultures produced rutin in comparable quantity. Interestingly, both shoots and callus cultures accumulated the rare triglycosides alcesefoliside and mauritianin. The quantity of mauritianin, biosynthesized in shoots, was significantly higher to that in callus cultures. Alcesefoliside, was in lower quantity, compared to mauritianin. In addition, callus cultures produced alcesefoliside trice as the shoots, besides their lower level of differentiation. These findings could serve as initial research to establish the value of *in vitro* cultures from *A. hamosus* as an alternative mean of production of pharmaceutically important flavonol glycosides.

**Scientific publications and presentations:**

- Shkondrov A, Popova P, Ionkova I, Krasteva I Flavonoids in *in vitro* cultures of *Astragalus hamosus*. Pharmacia. 2021;68(4): 927–31. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e76460>

**Contract 99/04.06.2021 LC-MS AND GC-MS ANALYZES OF PYRROLIZIDINE ALKALOIDS IN COMPLEX MATRICES**

**Research team:** Assoc. prof. Yulian Voynikov, PhD

- Assoc. prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Assoc. prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assist. prof. Vessela Balabanova-Buzhushka, PhD
- Assoc. prof. Paraskev Nedialkov, PhD
- Assoc. prof. Niko Benbassat, PhD
- Boris Stoyanov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy

**RESULTS:** In this study, methods for automated chromatographic and mass spectral characterization of pyrrolizidine alkaloids (PAs) and their *N*-oxides (PANOs) in complex matrices have been developed. After a thorough exploration of the chromatographic and mass spectral behaviour of commercial standards and a review of the scientific literature, specific mass spectral features have been selected to filter potential PAs/PANOs mass spectra. These filters were implemented by a developed R programming script. By mathematical optimization, concrete elemental compositions have been determined, by narrowing the plausible options to one, or at most two. This was achieved by setting possible elemental ration of all known PAs/PANOs found in PubChem.org. By semi-quantitation, a total concentration of a particular subgroup PAs/PANOs have been determined by comparison with calibration curves of available standards. A relationship between extragents and purification methods on one hand, and on the other hand with qualitative and quantitative result, has been established.

**Contract D-100/04.06.2021 MOLECULAR DESIGN, SYNTHESIS AND EVALUATION OF MAO INHIBITORY CAPACITIES OF NOVEL N-PYRROLYL CARBOXAMIDES**

**Research team:** Prof. Alexander Borisov Zlatkov, Dsci

- Assist. Prof. Iva Valkova, PhD
- Assist. Prof. Emilio Mateev
- Borislav Angelov – PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy

**RESULTS:** The main goal of the current study is *in silico* and *in vitro* assessment of possible MAO B inhibitory activity , along with synthesis of series N-pyrrolyl carboxamides. In

addition evaluation of the corresponding ABTS and DPPH radical scavenging properties of the new molecules was also achieved. Self- and cross-docking simulations of 21 MAO-B receptors utilizing the docking software GOLD 5.3 were conducted. The crystallographic structures with codes 1S3B, 3PO7, and 6FVZ demonstrated the most prominent ability to accommodate a chemically diverse set of ligands with good RMSD values. In some cases, higher enrichments were observed when rigid docking was carried out. The PDB code 1S3B demonstrated the highest modified enrichment value of 8.33. After 200 000+ docking simulations it was found that the ensembled simulations demonstrated low ability of the docking software to correctly score the actives seeded in the dataset. However, the superimposed complex-1S3B-1OJA-1OJC, achieved a moderate enrichment value equaled to 9. No significant improvements were noted when five complexed receptors were employed. Two novel N-pyrrolyl carboxylic acids and eight corresponding amide derivatives were synthesized and fully elucidated by NMR, FT-IR and HRMS (high resolution mass spectrometry). All reported compounds were assessed for their radical (DPPH and ABTS+) scavenging properties and MAO-B blocking potential. The results indicated that compound 4A5 could serve as a prominent lead compound for a future optimization as a MAO-B inhibitor. In addition, the DPPH and ABTS+ assays demonstrated significant antioxidant capacity. A possible binding conformation of 4A5 in the active site of MAO-B was also identified through molecular docking simulations using the previously obtained validated docking protocol. The analysis of the major interactions indicated the establishment of several unfavorable steric clashes. Thus, reducing the size of the core structure could drastically increase the MAO-B antagonizing potency of the pyrrole-based compounds.

**Scientific publications and presentations:**

- Mateev E, Angelov B, Kondeva-Burdina M, et al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of pyrrole-based compounds as antioxidant and MAO-B inhibitory agents, FARMACIA (ISSN: 0014-8237; eISSN: 2065-0019), 2022;70(2):344-54. (IF = 1.433)
- Mateev E, Valkova I, Angelov B et al. Validation through re-docking, cross-docking and ligand enrichment in various well-resoluted MAO-b receptors, Int. J. Pharm. Sci., 2022;13(3):1099-1107.

**Contract D-101/04.06.2021 DEVELOPMENT OF RP-HPLC METHOD FOR PHARMACO-ANALYTICAL CHARACTERIZATION OF THE ANABOLIC STEROID METHENOLONE ACETATE IN FOOD SUPPLEMENTS**

**Research team:** Assoc. Prof. Lily Plamenova Peikova, PhD

- Prof. Virginia Tzankova, PhD
- Assoc. Prof. Maya Georgieva, PhD
- Assist. Prof. Javor Mitkov, PhD
- Assist. Prof. Denitsa Aluani, PhD
- Assist. Prof. Diana Tzankova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical chemistry, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** The need to find an appropriate method for the analysis of anabolic steroids in food supplements is based on the reduced control in the field of food supplements and the possibility of affecting the health of patients who do not suspect the use of this type of substance. This necessitated the development of a new RP-HPLC method for the analytical characterization of the anabolic steroid Methenolone acetate in a dietary supplement. The choice of the analyzed product is based on the harmful and often toxic effects of unregulated use of both Methenolone and products from the group of anabolic steroids. An essential

element of the analysis is finding a method that allows for the simultaneous identification and quantification of both Methenolone itself and its most commonly used ester - Methenolone acetate. Optimal chromatographic conditions for the analysis of the products thus selected were achieved using a Kintex 5 $\mu$ m EVO C18 analytical column (100  $\times$  4.6 mm); mobile phase acetonitrile: water in a ratio of 60:40, v / v; flow rate, 1.0 mL / min; UV detection at 240 nm and column temperature 25  $^{\circ}$  C. The developed RP-HPLC method is validated with respect to the parameters set in the ICH protocol: specificity, linearity, accuracy, and precision. The defined validation characteristics certify the validity of the proposed method. The results lead to the conclusion that the methenolone acetate mentioned in the label of the test sample is found as an impurity rather than as a main ingredient, which is misleading information to the patient, threatening the proper use of the commercial product.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Tzankova D, Mateeva A, Mitkov J, et.al. Development and validation of RP-HPLC method for analytical characterization of the anabolic steroid Methenolone acetate in food supplements. *Pharmacia*. 2022;69(1): 151-155.

#### **Contract D-102/04.06.2021 CHEMOPHENETIC ASPECTS IN TRIBE SENECEONEAE (FAM. ASTERACEAE): COMBINATION OF MORPHOMETRIC AND PHYTOCHEMICAL ANALYZES IN SEARCHING OF SPECIALIZED NATURAL PRODUCTS**

**Research team:** Assoc. Prof. Dimitrina Zhivkova Zheleva-Dimitrova, PhD

- Assist. Prof. Vessela Balabanova-Bozushka, PhD
- Assoc. Prof. Yulian Voynikov, PhD
- Assoc. Prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Dessislava Stanimirova - student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** The genus *Senecio*, tribe Senecioneae, is the largest and most complex genus in Asteraceae and includes more than 1 500 species. The chemophenetic aspects in several *Senecio* species (*S. hercynicus*, *S. ovatus* and *S. rupestris*) and *Jacobaea* (*J. pancicii* and *J. maritima*) from the Senecioneae tribe (family Asteraceae) were studied by combining morphometric and phytochemical methods. Morphometric data from 12 observed parameters were processed by Linear discriminant analysis (LDA) and Principal component analysis (PCA). Data analysis was performed in R programming language (R version 4.0.2 (2020-06-22)). Metabolite profiling of plant extracts was performed by ultra-high performance liquid chromatography combined with Orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS). Dereplication was performed in negative and positive ion mode. The identification or preliminary structure of the secondary metabolites was based on the exact masses, MS/MS spectra, the relative intensity of fragment ions, elemental composition, and comparison with reference standards and literature data. LDA and PCA of the morphological traits of the studied taxa managed to correctly predict the species affiliation of all 12 observed parameters, detecting overlap between *S. hercynicus* and *S. ovatus* on the studied traits/parameters. The metabolite UHPLC-HRMS profiles of the studied extracts are characterized by the following groups of compounds: 34 hydroxybenzoic and hydroxycanelic acids and their derivatives, 5 monoacylquinic, 8 di- and 2 triacylquinic acids, 7 flavonoid aglycones and 14 glycosides, and 6 sesquiterpenes. PCA of the composition of specialized metabolites showed significant differences between both studied genera (*Jacobaea* and *Senecio*). In addition, *J. pancicii* and *J. maritima* demonstrated similarity in the phytochemical composition. *S. hercynicus* and *S.*

*ovatus*, which belong to the group of *S. nemorensis*, have similar metabolite profiles, differing significantly from *S. rupestris*. The proposed chemophenetic approach is an effective tool in the chemotaxonomic categorization of plant species and in the rational search for specialized natural products.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Balabanova V, Gevrenova R, Voynikov Y, Zengin G, Zheleva-Dimitrova D. Another view on *Senecio hercynicus* Herborg. (Asteraceae). International Conference on plant systems biology and biotechnology. Golden sands resort, Bulgaria. 14-17 June 2021. Book of abstracts, p. 37 - oral presentation.
- Voynikov Y, Balabanova V, Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D. Chemophenetic approach to selected Senecioneae species, combining morphometric and UHPLC-HRMS analyses. *Plants* 2023; 12(2): 390; <https://doi.org/10.3390/plants12020390>. IF(2021) 4.658
- Zheleva-Dimitrova D, Voynikov Y, Balabanova V, Gevrenova R. The reliability and limitation of UHPLC-HRMS in the sesquiterpene lactones dereplication: a case study of two Asteraceae species. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 2022; 68(2) 29-30), Online ISSN 1857 – 8969. DOI: 10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.04.009. Short communication

#### **Contract D-103/04.06.2021 IN VITRO EFFECTS OF DOUBLE LOADED DOXORUBICIN AND ANTIOXIDANTS DRUG DELIVERY SYSTEMS**

**Research team:** Prof. Virginia Jordanva Tzankova, PhD

- Prof. Krassimira Yoncheva, DSci
- Assoc. prof. Borislav Tzankov, PhD
- Assist. Prof. Denitza Stefanova, PhD
- Assist. Prof. Yordan Yordanov, PhD
- Assoc. prof. Chistina Voicheva, PhD
- Assist. Prof. Tzvetomir Marinov, DM
- Assist. Prof. Marta Slavkova-Vassileva, PhD
- SAssist. Prof. Diana Tzankova, PhD
- Alexandra Tosheva, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** The aim of the study was to develop nanosized drug delivery systems double loaded with doxorubicin (Dox) and antioxidants (quercetin (QR) and CAPE), and to establish their *in vitro* cytotoxicity in lymphoma cell lines, and their safety profile in cardiomyocytes cells (H9C2). Mesoporous silica nanoparticles MCM-41 (for DOX / QR, alone and in combination) and copolymer micelles composed of three block copolymers of polyethylene oxide with poly (ε-caprolactone and poly (acrylic acid)) (for DOX / CAPE, alone and in combination) were chosen as a drug-delivery systems for double drug loading. The cytotoxic potential of double-loaded nanoparticles, free drugs and a combined solution of the two active compounds on L5178Y and multidrug-resistant L5178 MDR1 lymphoma cells was assessed, using a battery of tests (Alamar blue, MTT test, GSSH / GS ratio) at 24, 48 and 72 h. Nanoparticles from different origin, such as polymer micelles or inorganic silicate nanomaterials MCM-41 are a promising approach to improve cytotoxicity effects of doxorubicin in resistant lymphoma L5178 MDR1 cells. The improved antiproliferative effects of double-loaded systems (DOX and the antioxidants quercetin / CAPE) achieved at lower



concentrations of the active substance (compared to the free drug), is a promising approach for improvement of doxorubicin cardio safety. *In vitro* tests in H9C2 cells showed lower cardiotoxic effects of double loaded DOX/QR vs free DOX. The newly developed doubled loaded-nanosized drug delivery systems, based on MCM-41 show a good potential for improvement of oxidative lesions in cardiomyocytes, caused by Dox (alone). They represent a promising approach for improvement of the antiproliferative effects of doxorubicin and for increasing its efficacy in multidrug resistant tumors.

**Scientific publications and presentations:**

- Stefanova, D., Tzankov B., Voycheva C., Slavkova M., Popova T., Yordanov Y, Yoncheva K, Tzankova V, Doxorubicin and quercetin double loading in mesoporous silica nanoparticles (MCM-41) enhances antiproliferative effects *in vitro*, 5-th Annual Conference „New Diagnostic and Therapeutic Tools Against Mulidrug Resistant Tumours”, Coimbra, Portugal, 29 June- 1 July 2022.

**Contract D-104/04.06.2021 DEVELOPMENT OF HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF PYRROL- CONTAINING HYDRAZONES WITH MAO-B ACTIVITY IN CELLULAR CULTURES**

**Research team:** Assoc.Prof. Maya Boyanova Georgieva, PhD

- Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Assoc. Prof. Lily Peykova, PhD
- Assist. Alexandrina Mateeva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical chemistry, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** In this research, a new rapid PR- HPLC method was developed for the determination of metabolites in isolated rat hepatocytes. The chromatographic parameters were optimized and as most suitable parameters for achieving good separation and suitable peak forms were determined to be: mobile phase - CH<sub>3</sub>CN/ phosphate buffer pH 3.5/ CH<sub>3</sub>OH: 57/38/5 (v/v/v). The flow rate, the temperature and the wavelength were also altered. The flow rate of 1.0 ml/min was found to be most appropriate. A temperature of 25 °C was found to be suitable for the good separation. The preliminary UV/VIS method developed by us identified 272 nm as most adequate wavelength. The method was validated and was applied for tracking the metabolic changes of the evaluated pyrrole derivative. The method identified two initial from the synthesis molecules in higher concentration and one new unidentified structure as products of the hepatocytic processing of the evaluated analyte. The results identified as first step of metabolism the hydrolysis of the hydrazone group.

**Scientific publications and presentations:**

- Mateeva A, Peikova L, Kondeva-Burdina M, et.al. Development of new HPLC method for identification of metabolic degradation of N-pyrrolylhydrazide hydrazones with determined MAO- B activity in cellular cultures. *Pharmacia*. 2022; 69(1): 15-20.

**Contract D-105/04.06.2021 STIMULATION OF FLAVONOID PRODUCTION IN VITRO CULTURES OF GYPSOPHILA GLOMERATA, (CARYOPHYLLACEAE)**

**Research team:** Prof Iliana Ilieva Ionkova, DSci

- Jancho Zarev PhD
- Pavlinka Popova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** The aim of the present study was to create in vitro cultures of *Gypsophila glomerata* by applying biotechnological approaches and stimulating the production of flavonoids (saponarin) in cultured plant cells by optimizing the composition of the nutrient medium. Effects of increased concentration of calcium chloride on growth and production of flavonoids in newly established shoot and callus *Gypsophila glomerata* cultures were studied. The highest impact of CaCl<sub>2</sub> on growth index was determined in callus cultures (GI=0.92), while in shoot cultures calcium treatment reduced the amount of biomass (GI=0.38). Total flavonoids in shoot cultures grown on MS medium and MS medium supplemented with double amount of CaCl<sub>2</sub> were 0.36 mg/g d.w. In both callus cultures, 2 mg/ g d. w. total flavonoids were quantified. Shoots and callus grown on non-modified media, accumulated 0.02 mg/g d.w. quercetin derivatives. Unlike these, both shoots and callus grown on calcium enriched media, accumulated 0.03 and 0.05 mg/g d.w. of isorhamnetin derivatives. In vitro shoot cultures grown on MS medium enriched in twice amount of CaCl<sub>2</sub> accumulated the highest amount of saponarin (0.138 mg/mg d.w.). Callus cultures produce total flavonoids, expressed as rutin, in amounts three times greater than aboveground crops. Our results show that *G. glomerata* can serve as an alternative way to produce flavonoids, especially C-glycosyl flavones, which are quite rare in nature. In addition, differences in flavonoid content in established cultures will serve not only as a basis for optimizing culture media, but also as a leading point for in vitro cultivation of rare calciphilous taxa.

**Scientific publications and presentations:**

- Pavlinka Popova, Yancho Zarev, Aleksandar Shkondrov, Iliana Krasteva, Iliana Ionkova, In vitro production of flavonoids in cultures of *Gypsophila glomerata*, Pharmacia 2022, 69(1) 107-111|

**Contract D-106/04.06.2021 PHARMACOLOGICAL STUDIES OF ORIGINAL NEWLY SYNTHESIZED CREATINE DERIVATIVES**

**Research team:** Assist. Prof. Ivanka Ivanova Kostadinova, Ph.D

- Prof. Nikolai Danchev, MD
- Prof. Boycho Landzhov, MD
- Assist. Prof. Lyubomir Marinov, PhD
- Assist. Prof. Dobrina Tsvetkova, PhD
- Ivalina Ivanova, student
- Prof. Lyubomir Vezekov, DSciChem.

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology, 2 Dunav Str., 1000, Sofia

**RESULTS:** Originally synthesized creatine lysinate was practically non-toxic in an acute toxicity study (LD<sub>50</sub> above 4000 mg / kg body weight) after oral and intraperitoneal administration. Creatine lysinate (at a dose of 3.0 g and 6.0 g) and the reference substance creatine monohydrate (at a dose of 1.5 g and 3.0 g) lower blood glucose levels after 3 weeks of use, which indicates a hypoglycaemic effect. Creatine lysinate (at a dose of 3.0 g and 6.0 g) and the reference substance creatine monohydrate (at a dose of 1.5 g and 3.0 g) lower the levels of the enzyme creatine kinase, which indicates a reduction in muscle cell damage during the exercise swimming test. The two compounds, creatine monohydrate at a dose of 3 g and creatine lysinate at a dose of 3 g, increase physical endurance in mice (exercise swimming test), especially creatine lysinate at weeks 1, 2 and 3. Antidepressant activity was found in the Porsolt test in creatine lysinate at a dose of 6 mg / kg bw. Creatine lysinate (IC<sub>50</sub> = 73.75 mM) is more active against DPPH than Creatine monohydrate (IC<sub>50</sub> = 102.48 mM), but less active than the Trolox standard. Creatine lysinate (IC<sub>50</sub> = 64.63 and 14.71) is more active against

ABTS than Creatine monohydrate ( $IC_{50} = 100 \text{ mM}$  and 26.64) for methanolic and ethanolic solutions, but less active than the Trolox standard. In conclusion, it can be noted that the newly synthesized creatine lysinate by a patented method is superior to creatine monohydrate in a number of physicochemical and pharmacological parameters. Creatine lysinate reduces blood glucose and oxidative stress, as well as creatine kinase levels. This, together with the fact that it is practically non-toxic in the assessment of acute and chronic toxicity, makes it particularly suitable for further pharmacological and toxicological studies with a view to create an effective and safe food supplement.

### **Contract D-108/04.06.2021 ANTIBIOTIC RESISTANCE AND ANTIBIOTIC STEWARDSHIP – THEMATIC TRAINING FOR STUDENTS IN MEDICAL SPECIALTIES**

**Research team:** Darina Blagovest Dimitrova-Stefanova, PhD

- Prof. Raina Gergova, MD, PhD
- Prof. Rumen Nikolov
- Prof. Emma Keuleyan–Hristova
- Ekaterina Ivanova
- Kamelia Donkova

**Organization unit:** MU - Sofia, Medical College “J. Filaretova”, 3 J. Filaretova Str., 1606 Sofia

**RESULTS:** According to modern requirements of Antimicrobial stewardship, based in the WHO program "One Health" and the National Action Plan of the Republic of Bulgaria for antibiotic resistance limitation and antibiotic stewardship, one of the 5 main activities is training of medical specialists and society. We organized a survey to assess the knowledge and perception regarding Antibiotic Resistance and Antibiotic Stewardship among students from different units of MU-Sofia, among medical and healthcare graduates through a voluntary anonymous questionnaire. We reported the results at national and international scientific sessions. We published comparative reviews of the awareness of students from different specialties in national scientific journals. We conducted online information seminar with a discussion, with students from various specialties of MC "J. Filaretova". We introduced a freely selectable discipline: "Problematic Mechanisms of Antibiotic Resistance" for students of the specialty "Medical Laboratory Technician", 2nd course, preferred in the academic years 2021-2022 and 2022-2023. We also held a SDO course on the topic: "Role of health care specialists in the rational treatment with antibiotics and limitation of antibiotic resistance" during the periods: 01-05.02.2021 and 31.01-04.02.2022. On the European Antibiotic Awareness Day - November 18, 2021 and 2022, on the websites of the "J. Filaretova" and Hospital "Lozenets" we prepared and published current information about the antibiotic resistance growth as a global threat and limitation strategies. We prepared and placed in the corridors of The College, Medical University and Hospital "Lozenets" thematic posters; also flyers for public education. Through the "Erasmus +" Mobility program, we presented lectures on topics related to antimicrobial resistance and reasonable antibiotics usage to "Healthcare" students at the Faculty of Medicine, Gotse Delchev University in the Republic of North Macedonia and students from Topkapi University, Istanbul, Republic of Turkey. Conclusion. A multifaceted educational program was carried out, which can be considered as a model for the implementation of the Action Plan of the Republic of Bulgaria, which is to be introduced by the Ministry of Health.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimitrova-Stefanova D., Albert M., Ivanova E. et al. Study of the awareness about the rules for the rational use of antibiotics among students of "Rehabilitator" and "Medical

laboratory technician" specialties. „Zdrave I nauka”, XII, Vol. 1-2 (045-046), 2022, ISSN 1314-3360; p. 27-31.

- Dimitrova-Stefanova D., Gagova P., Ivanova E. et al. Awareness of students from the specialties "X-ray laboratory technician" and "Medical laboratory technician" regarding the rules for the rational use of antibiotics. XLVII SCIENTIFIC TECHNOLOGY SESSION "CONTACT 2021", TEMTO, Sofia, 2021, p. 57-65, ISSN 2738-8174
- Dimitrova-Stefanova D., Keuleyan E., Ivanova E., et al. Antibiotic stewardship – basic knowledge assessment among various groups in society during COVID-19. „11<sup>th</sup> South-East European Conference и 31<sup>th</sup> Annual Assembly of IMAB“, MU-Plovdiv, 28 - 31 Oktober 2021.
- Dimitrova-Stefanova D., Ivanova E., Keuleyan E. Доклад на тема: „Problematic antibiotic resistance in active treatment hospitals during the COVID-19 pandemic.“ X Scientific session for teachers and students with international participation „80<sup>th</sup> anniversary of Medical College – Varna“. Medical College – Varna, 20 - 21.10.2022
- Dimitrova-Stefanova D., Mladenova R., Marinova E., Ivanova E., Keuleyan E. Доклад на тема: „Mycoses among intensive care unit patients with COVID-19 and analysis of antifungal resistance.“ X Scientific session for teachers and students with international participation „80<sup>th</sup> anniversary of Medical College – Varna“. Medical College – Varna, 20 - 21.10.2022
- Keuleyan E., Dimitrova-Stefanova D., Educational needs for medical specialists in the prevention and therapy of infections. First National Conference on Vaccine Preventable Diseases, Sofia, Grand Hotel Astoria 11-13.11.2022

### **Contract D-118/04.06.2021 INVESTIGATION OF MULTIDRUG-RESISTANT HELICOBACTER PYLORI IN BULGARIAN PEDIATRIC PATIENTS**

**Research team:** Assist Prof Dr. Petyo Georgiev Hadjiiski, PhD

- Assist Prof Petyo Hadjiiski, PhD
- Prof. Lyudmila Boyanova, DMSc
- Prof. Romyana Markovska-Davidkova, PhD
- Assist Prof Dr. Daniel Yordanov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics Prof. Ivan Mitev” Hospital, 11 Acad. Ivan Geshov Blvd., 1606 Sofia,

**RESULTS:** Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains from 106 symptomatic children was evaluated according to EUCAST breakpoints and rate of multidrug resistance (MDR) was analyzed. Overall resistance rates were amoxicillin 7.5%, metronidazole 25.5%, clarithromycin 34.0% and ciprofloxacin 14.1%. There were no significant differences in resistance rates according to patients' age (2-6 and 7-18 years) and sex. Combined resistance rate was 19.8%, including double, triple, and quadruple resistance in 13.2% (14 strains), 5.7% (6) and 0.9% (1) of the strains, respectively. MDR was found in 5.9% (5/84) of the children with gastritis and in two of the four children with celiac disease. The MDR was present in three children aged 4-6 years and in four children aged 10-17 years. The total MDR rate (6.6%) in Bulgarian children in 2012-2021 was higher than those in other studies based on EUCAST breakpoints such as those in pediatric patients in Slovenia in 2011-2014 (3.8%), Lithuania in 2013-2015 (0%) and Spain in 2014-2019 (0%), although being lower than those (20.7% in the untreated and 47.0% in the treated children) in China in 2019. In brief, it is of concern that MDR can strongly limit the choice of *H. pylori* therapy of one out of fifteen Bulgarian children and that overall resistance to both metronidazole and clarithromycin can hinder the treatment of 15.1% of the

pediatric patients. Susceptibility-guided tailored eradication therapy of *H. pylori* infection should be more frequently implemented in the symptomatic children to avoid risks of both the infection itself and multiple antibiotic treatments.

**Scientific publications and presentations:**

- Boyanova L, Hadzhiyski P, Markovska R, Gergova R. Investigation of multidrug-resistant *Helicobacter pylori* in pediatric patients: A Bulgarian study and literature data. Acta Microbiol Immunol Hung. 2022 Feb 2. doi: 10.1556/030.2022.01682.

## MEDICO-CLINICAL AREA 2020

### **Contract D-94/24.06.2020 STUDIES ON ULTRASOUND EXTRAHEPATIC CHANGES AND LABORATORY DIAGNOSIS IN THE COURSE OF VIRAL HEPATITIS A IN CHILDREN**

**Research team:** Assist. Prof. Valeri Rangelov Velev, MD, PhD

- Assist. Prof. Metodi Popov, MD
- Assist. Prof. Ralica Jordanova, MD
- Assist. Prof. Maria Pavlova, PhD
- Maria Dinkova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dep. of Infectious Diseases, Parasitology and Tropical Medicine, blvd. "Acad. Iv. Ev. Geshov" 17, 1431 Sofia

**RESULTS:** The hepatitis A virus (HAV) is one of the most common causes of acute viral hepatitis in the world. Bulgaria, unlike other countries in the European Union (EU), has a relatively high incidence. Materials and methods. 91 children under 14 years of age were studied in connection with the project, of which 75 with proven viral hepatitis A (HA). 22 children were also considered as control groups. Applied laboratory tests: complete blood count, AST, ALT, GGT, total and direct bilirubin, albumin, total protein, fibrinogen, hemostasis factors, anti-HAV-IgM by CLIA or ELISA methods and abdominal ultrasound (US); fecal HAV antigen assay by rapid test. Serum was taken from anti-HAV-IgM positive children, and 15 samples were subjected to pilot isolation of HAV-RNA by RT-PCR. Results. The rapid test was positive in 76.5% of patients with HA and therefore we assume that it can be used as an alternative diagnostic method in certain cases. We found viremia (HAV-RNA) in the serum of patients with HA for a relatively long period from the onset of symptoms, incl. in patients with late seroconversion. This indicates that the method can be used as a reliable diagnostic test. A study of children with serologically proven HA with US at the beginning of the disease and their comparison with children from the control group found the most common thickened bile wall. There was often stratification or pericholecystic edema. Contracted gallbladder was a very common finding in our patients. Hepatomegaly was also severely present in the group of children with HA; the frequency with which we located enlarged lymph nodes around the porta hepatis was also statistically significant. The combination of two or more of these signs, especially with clinical or biochemical manifestations of an acute liver process, can most likely lead us to the diagnosis even before its serological confirmation.

**Scientific publications and presentations:**

- Velev V, Popov M, Velcheva D, et al. Viremia in children with viral hepatitis A. Medical Review, 2021, 57 (3), 42-45.
- Golkocheva E, Popov M, Yordanova R, et al. Viremia in children with viral hepatitis A. XI National Virtual Congress on Infectious Diseases, 08-10.10.2020, Sofia.
- Velev V, Popov M, Tomov L, et al. Involvement of the gallbladder in the course of viral hepatitis A in childhood. XVIII National Congress of Clinical Microbiology and Infections of BAM, 30.09-02.10.2020, Sofia.

**Contract D-95/24.06.2020 STUDY OF THE BACTERIAL BIOFILM IN DIFFERENT TEMPORARY IMPLANT PROSTHETIC STRUCTURES BY MOLECULAR-GENETIC METHOD**

**Research team:** Professor Dr. Raina Tzvetanova Gergova, PhD

- Professor Dr. Raina Gergova, PhD
- Assist. Prof Dr. Virna-Maria Tsitou, PhD
- Assist. Prof Dr. Dimitrios Rallis
- Assist. Prof Dr. Mariana Yankova
- Associate Professor Dr. Todor Uzunov, PhD
- Professor Dr. Bozhidar Yordanov, PhD
- Assoc. Prof. Dr. Kamen Kotsilkov PhD,

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine

**RESULTS:** The aim of the present survey is to investigate the microbial biofilm after temporary prosthetic structures by molecular-genetic methods. The samples were divided into two groups A. taken from the mucosa around the structures B. taken from each structure. They are further subdivided into a.) At the time of prosthesis b.) Two months after prosthesis. Temporary over-implant prosthetic structures are of two types, according to the type of plastic and its treatment. Periodontopathogenic bacteria in the biofilm were determined by real-time PCR with a commercial kit to detect *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis* and *Prevotella intermedia*. *A. actinomycetemcomitans* and *T. denticola* were not detected in the tested samples. Half of the samples at the time of prosthesis and follow-up did not show the presence of pathogenic bacteria. 10% of the first biofilms contained *F. nucleatum*. Two months after prosthesis, fusobacteria were most common, but especially in association with other anaerobes in 10% with *P. endodontalis*, 6.67% with *T. forsythia*, *P. intermedia* or *P. gingivalis*, 3.33% with *T. forsythia*. The same species were demonstrated in the biofilm of the prostheses, without statistical difference ( $P = 1.0000$ ). *Porphyromonas* and / or *Prevotallas* were present in 10.00% of the repeated samples. 16.67% of the samples without identified pathogens at the time of the intervention, two months after prosthesis showed statistically more frequent ( $P = 0.0237$ ) anaerobes, mainly from the orange complex (*P. intermedia*, *P. endodontalis*, *F. nucleatum*), both in the gingiva and on the prostheses. In conclusion, 16.67% of patients colonized with risk pathogens after prosthetics. The first type of construction colonized more strongly than the second ( $P = 0.0237$ ). The absence of high- or medium-risk agents in half of the duplicate samples indicates that this group of clinically healthy patients does not change its local status after placement of the structures and maintains excellent oral hygiene, which is a prerequisite for successful results.

**Scientific publications and presentations:**

- Gergova RT, Rallis DP, Uzunov TT, et al. Study of the bacterial biofilm in different temporary implant prosthetic structures by molecular-genetic method. Med. Review. 2022; 2:28-34.

**Contract D-106/24.06.2020 SECRETARY IMMUNOGLOBULIN A AND LACTOFERRIN LEVELS IN SALIVA IN PATIENTS WITH PROSTHETIC STOMATITIS**

**Research team:** Prof. Dr. Bozhidar Ivanov Yordanov, PhD

- Dr. Mariana Yankova, PhD
- Prof. Dr. Mariana Dimova-Gabrovska, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Dr. Valentin Lozanov, PhD
- As. Vesela Lozanova
- As. Anelia Vasileva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Prosthetic Dental Medicine, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The saliva of 36 totally edentulous patients at the age 48 to 90 ( $68.06 \pm 9.39$  years in the average) was examined. The purpose of this study was to determine the role of the saliva defense mechanisms for the development of denture stomatitis in patients, treated with conventional complete dentures and complete dentures, lined with silicone-based elastic material. To determine the type and quantity of *Candida* spp. in a whole unstimulated saliva, the following methods were used: cultivation of clinical material of solid and liquid culture media to prove a fungal agent; fermentation and assimilation tests for the identification of various *Candida* species and spectrophotometric analysis for the expression of *Candida* spp.. To determine the levels of LF and sIgA a ELISA kits were used. After denture delivery, on the sixth month we found increased quantity of *C. tropicalis* in the patients of groups B-1 and B-2. In the saliva of the patients with denture stomatitis, the predominantly present species was *C. tropicalis* isolated in quantities over  $10^8$  CFU/ml. There was a statistically significant increase in lactoferrin (LF) values after prosthetic treatment in all three experimental groups and a sharp decrease in secretory immunoglobulin A (sIgA) values. The dependency of LF to the quantity of *Candida* spp. Saliva was confirmed. Its immunomodulatory activity, fungicidal and anti-inflammatory function were also confirmed. The hypothesis that prosthetic stomatitis depends on LF and sIgA levels is flatly rejected.

**Contract D-107/24.06.2020 COMPARATIVE STUDY OF THE ADHESIVE BOND STRENGTH OF TWO TYPES OF ZIRCONIUM CERAMICS DEPENDING ON THE TYPE OF LUTING CEMENT (IN VITRO STUDY)**

**Research team:** Assoc. Prof. Elka Nikolaeva Radeva, DMD, PhD

- Assoc. Prof. Todor Uzunov, DMD, PhD
- Assist. Prof. Ivan Gerdjikov, DMD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim is to study the adhesion of different types of luting cements to two types of zirconium ceramics. Materials and methods: 70 extracted teeth were used, from which dentin blocks with a thickness of  $2.2 \pm 0.4$  mm were made. With the help of CAD software ExoCad, a digital design of an experimental body made of zirconium ceramics was created - a cylinder with dimensions of: diameter - 9 mm, height - 8 mm. A digital model of a cylinder was made, which was printed from liquid photopolymer by stereolithographic 3D printing. In this model the luting (zirconium ceramics-luting cement-dentin block) is carried out under a pressure of standard weight 500 g. Depending on the type of ceramics, the prototypes are divided into two groups: 1 g. - IPS e.max ZirCAD Multi (n = 48). 2 g - IPS e.max ZirCAD Prime. There are 6

subgroups in each group depending on the cement used (Fuji Plus, RelyX Luting Plus, Variolink Esthetic, TheraCem, Panavia V5, Speed Cem Plus). For each subgroup eight samples (n = 8) with zirconium surface treatment via sandblasting with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 50 µm were prepared and a control group for each cement (n = 4) - without zirconium surface treatment. The adhesion of the different types of cements was studied by the micro tensile bond strength method (mTBS). The data was entered and processed with the statistical package IBM SPSS Statistics 25.0, significance level p <0.05. Results: For the sandblasted zirconium surfaces a statistically significant difference was found in 4 of the studied types of cement - Fuji Plus (1.05 MPa for Multi 1.60 MPa for Prime), RelyX Luting Plus (2.35 MPa for Multi and 1.86 MPa for Prime), Panavia V5 (1.72 MPa for Multi and 2.80 MPa for Prime) and Speed Cem Plus (2.25 MPa for Multi and 3.25 MPa for Prime). Significantly higher average values of the processed ceramics IPS e.max ZirCAD Multi are in RelyX Luting Plus, while in the other three types - in IPS e.max ZirCAD Prime. Non-sandblasted zirconium surfaces achieve lower adhesion strength, which is in the range of 0.2 - 0.7 MPa for Multi and 0.5 - 1.2 MPa for Prime. It was found that the adhesion strength under tensile load, regardless of the type of cement applied, is in the range of 1.1 - 2.4 MPa for IPS e.max ZirCAD Multi and 1.6 - 3.3 MPa for IPS e. max ZirCAD Prime. Conclusion: Preliminary sandblasting of the zirconium surface with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> provides higher tensile strength, which depending on the type of ceramic is in the range of 1.7 to 4.5 times. The bond strength is increased when using composite cements with primers, and optimal results are obtained with those containing MDP (Panavia V5). IPS e.max ZirCAD Prime with few exceptions (Rely X Luting Plus) showed better adhesion to the cements used.

**Scientific publications and presentations:**

- Gerdzhikov I., E. Radeva, T. Uzunov. Possibilities of Improving the Shear Strength between Different Type of Cements and Zirconia Ceramics: Literature Review. J of IMAB, 2021; 27(1):3557-3563
- Gerdzhikov I., T. Uzunov, E. Radeva.: Evaluation of Microtensile Bond Strength of Luting Cements to Zirconia Ceramics. Wulfenia Journal, 2021;28(12):2-11
- Uzunov T. Metal-free restorations - the new prosthetic standard. IX National Forum of Dental Medicine, 01-03. 10. 2021, Bansko, Bulgaria

**Contract D-109/24.06.2020 BRUXISM AND TOOTH WEAR IN CHILDHOOD - EPIDEMIOLOGY, RISK FACTORS, CLINICAL FEATURES, PREVENTION AND TREATMENT**

**Research team:** Prof. Maya Rasheva Rashkova, MD, PhD

- Assoc. Prof. Nadezhda Mitova, MD, PhD
- Assist. Prof. Marianna Dimitrova, MD
- Assist. Prof. Dimitar Kosturkov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the present study is to investigate the prevalence, risk factors, clinical features, prevention and treatment of bruxism and tooth wear in childhood. The subject of the epidemiological study were 222 children aged 3 - 7 years, who were examined through a survey and clinical method. In order to study the characteristics of nocturnal bruxism, 27 children with bruxism, aged 4-10 years, were examined using a sleep assessment methodology developed by the team. The clinical characteristics of tooth wear were examined on 10 children with bruxism by photographic and photometric methods in order to establish the prevalence and differentiation of pathological wear from physiological. We applied myofunctional devices to 10 children with bruxism, which affect the orofacial structures, as well as prevent subsequent



tooth wear. The results showed that nocturnal bruxism occurs in 29% of children aged 3 - 7 years, more often in boys. Children with bruxism are more likely to have sleep interruptions and morning discomfort after waking up. Hypertrophy of the masseter muscles is more common in children with bruxism than in those without. Bruxism has been shown to be a risk factor for tooth wear. Tooth wear is found in 2/3 of the examined children, and the most commonly affected are the canines, followed by the incisors and the least affected - the molars. Through photometric analysis of the teeth with abrasion we can determine whether the tooth wear is physiological or pathological, as well as to track its progression. The results of the evaluation of the sleep of children with bruxism showed that most often they sleep in their parents' room and they have a moderate degree of muscular activity of the masseter muscles. The myofunctional devices are suitable for the treatment of nocturnal bruxism and limitation of tooth wear in childhood.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Dimitrova M, Georgieva M, Sleep bruxism in children - symptoms, sleep features, risk factors and treatment, Problems of dental medicine, 2020, 46(1), p.13-18.
- Dimitrova M, Contemporary diagnosis of bruxism and tooth wear in children, Dental medicine, 2020, 1(1), p.51-56.
- Dimitrova M, Rashkova M, Mitova N. Tooth wear in children - prevalence, clinical features and risk factors. J of IMAB. 2021 Oct- Dec;27(4):4020-4024.
- Dimitrova M, Rashkova M, Mitova N, Tooth wear in children - prevalence, clinical characteristics and risk factors. 30th Jubilee Assembly of IMAB. Online forum.18-21 October 2020.p.44.

#### **Contract D-110/24.06.2020 COMPARATIVE STUDY OF IMPLANT SUPERSTRUCTURES DEPENDING ON THE BIOMECHANICAL CHARACTERISTICS OF THE USED DENTAL MATERIALS**

**Research team:** Assoc.prof. Dimitar Andonov Filtchev, DMD, PhD

- Assist. Prof. Georgi Iliev, DMD, PhD
- Assist. Prof. Anton Tumbalov, DMD, PhD student
- Assist. Prof. Daniela Stoeva, DMD
- Assist. Prof. Neli Nikolova Tsvetanska, DMD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry

#### **RESULTS:**

1st study:

**Aim:** The aim of this laboratory research is to investigate fatigue loading and fracture resistance of implant suprastructures made of standard and custom abutments and monolithic crowns from different materials. **Materials and methods:** The study includes 30 samples made by digital protocol of fabrication. They were divided into three groups, due to used materials – Group A – Lithium disilicate monolithic implant crowns over standard titanium base; Group B – Lithium disilicate monolithic implant crowns over custom titanium abutments; Group C – Zirconia implant crowns over custom titanium abutments. Each group was divided of two subgroups – frontal (maxillary central incisors) and distal (maxillary first molar). The suprastructures were subjected to dynamic loading in chewing simulator CS-4 (SD-Mechatronik, Westerham, Germany). The frontal teeth were subjected of 50N and the molars – 150 N force with frequency of 2 Hz. All samples underwent 250 000 cycles, representing 1 clinical year of survey. After the test all samples were examined by one experienced person under magnification. The following criteria were evaluated- deformation of the screw or the abutment, fracture line or a crack on the monolithic restoration, debonding between the abutment

and the crown, destruction of the crown of the abutment. After that the specimens were subjected to fracture resistance in universal test machine (Instron ElectroPuls; Instron Corp., Norwood, MA). Results: All samples has survived 100% after the dynamic loading test. The examination under microscope showed luck of any fracture or deviations in all groups. The fracture resistance test in groups A1/φ, B1/φ and C1/φ showed similar results, but the lowest values were in group B1/φ – 1000,3 N, followed by A1/φ- 1095,3 and group C1/φ- 1225,5. In the groups of molars A2/д, B2/д, C2/д the higher fracture resistance were in the zirconia monolithic crowns that the lithium desilicated crowns. The mean values in groups A2/д and C2/д were very similar : 3130,2 for A2/д and 3819,5 for C2/д. The lowest values were recorded in group B2/д- 1225,5N. Conclusion: Monolithic implant suprastructures of zirconia dioxide and custom abutments have highest fracture resistance and lithium desilicate crowns over custom abutment- the lowest. Zirconia crowns over custom abutments could be used as a optimum suprastructure when highest mechanical characteristics are required. Due to the limitations of this study another experiments, representing more chewing cycles should be conducted.

2<sup>nd</sup> study:

Aim: Fabrication of 27 screw retained definitive crown abutments, made by digital protocol and following up of their biomechanical characteristics for a period of 6 months. Materials and Methods: 27 patients were devided in three groups, according to applied materials. Each group was separated on two subgroups – frontal and distal. Group A- zirconia monolithic implant crowns over standard abutments; Group Б – lithium desilictae monolithic crowns over custom abutments; Group B- zirconia monolotic implant crowns over custom abutments. The patients were recalled in 2 weeks and 6 months after the final crown placement. Suprastructures were examined by functional, biological and esthetic criteria. Results: All test groups have similar mechanical behavior and no bone loss for a period of 6 months. Group Б has the highest biological indexes, but lowest esthetic outcome. The examined suprastructures in group A have lowest plac index compared to Group B, but higher bleeding on probing index that Group B. Group A has worse Jempt index than Group B, which defined its better easthetic characteristics. Conclusion: Optimal choice of implant restoration in frontal zone might be considered as zirconia crowns over standard titanium base or custom abutment. Lithium desilicate implant crowns with custom abutments shoul beconsidered for optimal option in the distal area, when the esthetic is not so important.

### **Contract D-111/24.06.2020 IMPROVEMENT OF CHILDREN’S ORAL HEALTH WITH A MOBILE GAME**

**Research team:** Prof. Natalia Hristova Grancharova, MD, PhD

- Assist. Prof. Zdravka Yaneva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia, Bulgaria

**RESULTS:** The aim of the present study is to develop and implement a mobile game for children of preschool and early school age to improve oral health. The subject of the epidemiological study were 152 children aged 6-8 years, whom were applied a survey and clinical method. 100 of the children were included in an experimental group. They received the mobile game Tooth Stars for improvment of oral hygiene and nutritional habits for a period of 1 month. The control group consisted of 52 children who received only the classic instructions for maintaining their oral health. The results of the initial questionnaires and clinical assessment showed that in both groups there were mistakes in oral hygiene and nutritional habits. After the end of the experiment, an improvement in the oral status of the children from both groups was demonstrated in terms of DMF (T+t), OHI, reversible (active) carious lesions. The

improvement in the children from the experimental group was serious and the statistical comparison of the data showed a significant difference between the two groups. Significantly more parents and children in the experimental group found the Tooth Stars game useful, said they had gained new knowledge from it and would use it for a longer period of time. According to the opinions of children and parents, collected through final questionnaires, Tooth Stars is easy to perceive, pleasant, interesting and has led to a positive change in the children's attitude to their oral health. Over 90% of children have begun to remind by themselves they need to brush their teeth. This part of the children is significantly higher than other children. All parents of children in the experimental group reported that brushing movements improved after the experiment. At the end of the study, the initiative of the children from the experimental group to perform oral hygiene increased and the duration of the procedure increased.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Yaneva Z. Improving children's oral health through computer games. Dental Medicine 2022;2(2):114-122
- Yaneva Z. Improving children's oral health through the mobile game Tooth Stars. Dental Medicine 2022;2(2):79-84
- Yaneva Z. Making a Mobile Game for Children's Oral Health Improvement 31<sup>st</sup> Annual Assembly of IMAB. Online forum; 28-31 October 2021

### **Contract D-112/24.06.2020 GEOMETRIC ACCURACY OF PROSTHETIC CONSTRUCTIONS MADE BY CONVENTIONAL AND DIGITAL METHODS FOR IMPRESSION AND PRODUCTION**

**Research team:** Assoc. Prof. Todor Tconkov Uzunov, MD, PhD

- Assist. Prof. Hristina Galeva
- Assist. Prof. Ivan Gerdjikov, MD, PhD
- Yoan Stoev

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Prosthetic Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of this study is to determine and compare the accuracy of prosthetic constructions made by conventional and digital technologies. Plastic model was used to prepare tooth 36 for full metal ceramic crown and conventional impressions were taken. The first impression was used to make a standard plaster model with removable dies. This model was scanned with three different laboratory scanners. The second impression was scanned with the same scanners. The plastic model (prosthetic field) was scanned with 2 different intraoral scanners as well as a contact scanner. The digital image obtained by the contact scanner was used as a digital standard, with which all other (8 pcs) digital copies of the prosthetic field were compared. Using a computer program, a digital design of the future metal substructure was created for each of the eight digital images of the prosthetic field. A total of 50 substructures were produced by 4 different production methods: lost wax technology, hybrid technology, milling and laser printing. Co-Cr metal alloy was used. The internal surface of each substructure was examined with a contact scanner and a digital image was obtained. It was compared to the digital standard of the prosthetic field. The results are presented by color map which show deviations from the reference model. For optimal results, deviations from the reference model in the range of +0.02 to -0.02mm are determined when comparing the impression methods and 0.05 mm comparing the production methods. Comparing the type of scanning, the best results were obtained for the intraoral scanners (38.6% for Ios and 50.9% Zhf), followed by the scanning of the impression with a laboratory scanner (18.6% for Ceramill map 400, 16% for Ceramill map 600 and 15.9% for Zhf). The lowest results were shown by the scanning of a plaster model, where the difference between the types of scanning is small

(Ceramill map 400 – 14.5%, Ceramill map 600 – 14.2%, Zhf – 12.6%). In term of production methods the best results are achieved by the constructions made by milling, followed by the 3D printing technology. The lowest results are showed by the hybrid technology.

**Scientific publications and presentations:**

- Galeva H, Uzunov T, Sofronov Y, et al. Investigation of the deviation during the information transfer from the prosthetic field to the laboratory scanners January 2021 IOP Conference Series Materials Science and Engineering 1056 (1):012010
- Galeva H, Uzunov T, Sofronov Y, et al. “Accuracy evaluation of fixed prosthetic constructions made by milling and printing technologies and the influence of temperature changes March 2021 Journal of Physics Conference Series 2021; 1859(1):012064

**Contract D-113/24.06.2020 EPIDEMIOLOGY, DIAGNOSIS, TREATMENT AND PREVENTION OF PLAQUE-INDUCED GINGIVITIS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS**

**Research team:** Assos. Prof. Nadezhda Georgieva Mitova, PhD

- Prof. Maya Rashkova, PhD
- Assist. Prof. Hristina Tankova-Zlateva
- Assist. Prof. Dimitar Kosturkov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the study was investigation of the prevalence of plaque-induced gingivitis in children aged 10-14 years, control of subgingival microflora during treatment with additional photodynamic therapy in children with plaque-induced gingivitis, as well as creation and testing of prophylactic program for periodontal health. The study included 457 children for an epidemiological study, 34 children for follow-up of subgingival periodontal pathogens during treatment (16 children with additional photodynamic therapy and 18 children in the control group) and 21 children for group prophylactic program. An epidemiological method was used for determination of the prevalence and risk factors for plaque-induced gingivitis in children aged 10-14 years. A prospective clinical study of children with plaque-induced gingivitis was performed during treatment (registration of the following gingival indices: SBI, GI, BOP). 9 control strains from a collective sample for control of the subgingival microflora of the same children were examined by PCR Real time. The results showed prevalence of gingival inflammation affecting 65% of children aged 10-14 years. Children have relatively low plaque accumulation concentrated in the frontal areas of both jaws and good oral hygiene habits. The used electronic periodontal probe with appropriate software is a prerequisite for more accurate and precise gingival diagnostics. The cumulative effect of the influence of the conducted photodynamic therapy leads to more pronounced therapeutic effect on the gingival tissues of the studied children. In children with moderate plaque-induced gingivitis, the leading subgingival microflora is a combination of representatives of the orange and red Sokranski complex, with *P. gingivalis* being isolated relatively less frequently, but in the highest amounts. In the course of treatment against the background of a relatively constant microbial load, periodontal pathogens decrease in type and quantity as early as the second week, which is also valid for the number of microorganisms in microbial associations, which decreases significantly. The proposed group program for prevention of periodontal diseases demonstrates effectiveness in creating and promoting proper behavior to maintain periodontal health in children.

**Scientific publications and presentations:**

- Tankova H, Mitova N., Rashkova M., Popova H.- Risk factors and gingival inflammation in children aged 10 to 14 years - an epidemiological study. Journal of IMAB 2021;27:4092-7.
- Tankova H., Lazarova Z., Rashkova M. Evaluation of an electronic periodontal probe versus a manual probe in periodontal diagnosis of children aged 12-14 years. Journal of IMAB2021;27:4087-91.
- Tankova H, Mitova N., Rashkova M., Popova H.- Risk factors and gingival inflammation in children aged 10 to 14 years - an epidemiological study – 30th Jubilee Assembly of IMAB. Online forum.18-21 October 2020.p.38.
- Tankova H., Lazarova Z., Rashkova M. Evaluation of an electronic periodontal probe versus a manual probe in periodontal diagnosis of children aged 12-14 years – 30th Jubilee Assembly of IMAB. Online forum.18-21 October 2020.p.39.

**Contract Nr. D-115/24.06.2020 MODERN ASPECTS IN THE PREVENTION AND EARLY TREATMENT OF OCCLUSAL CARIOUS LESIONS OF PERMANENT MOLARS**

**Research team:** Assist. Prof. Krasimir Mitkov Hristov, MD, PhD

- Prof. Rositza Kabakchieva, MD, PhD
- Prof. Nataliya Grancharova, MD, PhD
- Assist. Prof. Nedana Georgieva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the present study is to evaluate and compare the effectiveness of modern diagnostic methods – direct visual observation, dental operative microscope (DOM) and intraoral camera SoproLife ("day light" and "blue light" mode) of initial occlusal caries lesions and their follow-up after non-invasive treatment with three different agents - conventional sealant, GIC and Icon for a period of 12 months in the first permanent molars.

The subject of the epidemiological study were 250 children aged 6-9 years and 1000 first permanent molars. The study included 150 teeth in 50 children aged 6-9 years. The teeth were divided into two groups: 60 – healthy and 90 – with initial occlusal caries lesion. The compliance between the criteria for initial occlusal caries lesion was found. There was a high degree of correlation between direct visual assessment and the use of light fluorescence. By comparison, it was shown that the established criteria of the international system ICDAS II are defined as the "gold standard" in the diagnosis of caries lesions. The advantages of additional diagnostics with modern means to capture even the earliest changes in the occlusal surface have also been established. In the present study, the importance of the prevention of healthy occlusal surfaces, which is carried out through their preventive sealing, was demonstrated. The means used - conventional sealant and GIC, showed excellent mechanical properties - high wear resistance and preservation of its marginal integrity, which will ensure optimal sealing of the surface and prevent the appearance of caries lesions. The therapeutic approach for the treatment of initial occlusal caries lesions is changed from operative to non-operative. With the help of early diagnosis and selection of optimal means for the studied period no progression of the established and treated caries lesions is observed. The modern infiltration technique - Icon DMG has shown excellent results used on occlusal surfaces.

**Scientific publications and presentations:**

- Nedana Georgieva, Krasimir Hristov, Nataliya Grancharova; Evaluation of the effectiveness of conventional sealant and glass-ionomer cement as a preventive sealing material for first permanent molars. *Medinform* 2021;8:1355-63.
- Nedana Georgieva, Nataliya Grancharova, Comparative assessment of the effectiveness of different methods for diagnosis of initial occlusal carious lesions of the first permanent molars – poster - Joint Forum: 11 th South-East European Conference of Chemotherapy, Infections and Cancer and 31-st Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria 28–31 October 2021, Plovdiv, Bulgaria.

**Contract D-116/24.6.2020 ENDODONTIC AND SURGICAL TREATMENT OF CHRONIC GRANULOMATOSIS PERIODONTITIS-RANDOMIZED CLINICAL STUDY**

**Research team:** Assoc. Prof. Janet Kirilova Nikolova, PhD

- Assoc. Prof. Elitza Deliverska-Aleksandrova, PhD
- Assoc. Prof. Dimitar Kirov, PhD
- Assoc. Prof. Dimitar Yovchev, PhD
- Prof. Snezhanka Topalova-Pirinska, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia, Bulgaria

**RESULTS:** The introduction of plasma and graft materials in the regenerative endodontic therapy represents a major leap in the dental medicine since the tissue engineering approach is adopted in the treatment of chronic periapical lesions. The aim of the current experiment is to compare the effect of three different surgical treatment methods for endodontic treatment of chronic periapical lesions through clinical and radiographic evaluation of the healing outcome. The postoperative pain and the volume of the regenerated bone tissue is observed for a six-month period. Materials and methods: Thirty teeth of 23 patients with chronic periapical lesions (diffuse or localized) were randomly assigned in three groups (n=10) as follows: Group 1: Traditional apical surgery, Group 2: Traditional apical osteotomy followed by filling of the bony defect and the wound with particles of A-PRF+ membrane that is rich in growth factors, Group 3: Traditional apical osteotomy as the bony defect is filled with “sticky bone”, allograft material and A-PRF+ membrane is placed over the wound. The treatment outcome is monitored six months after the surgery by means of CBCT. The data is statistically analyzed. Results: The traditional periapical surgery with no additional stimulation of the healing process (Group 1) results in 39.0677 level of the volume of the regenerated bone, whereas in group 2 and 3 the volume regain was 90.801 -95.23. Patients in group 2 and 3 complain of mild postoperative pain. Pain levels, assessed in group 1, were statistically higher. Conclusions: The traditional periapical surgery with the application of A-PRF+ blood concentrate, rich in growth factors, allone or in combination with alloplastic graft for treatment of chronic periapical lesions (diffuse or localized) leads to a significant increase in the volume of the regenrated bone six months after the treatment with mild pain complaints from the patients.

**Scientific publications and presentations:**

- Kirilova J, Deliverska E, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn. Regenerative endodontic therapy -plasmotherapy. Review Part I. *Medinform*.2021; 8(1):1328-1332.
- Kirilova J, Deliverska E, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn. Regenerative endodontic therapy - bone materials and techniques. Review Part II. *Medinform*.2021; 8(1):1333-1338.
- Kirilova J, Kirov D, Yovchev D, Topalova-Pirinska Sn, Deliverska E (2022) Endodontic and surgical treatment of chronic apical periodontitis: a randomized clinical study, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36:1, 737-744

**Contract D-128/24.06.2020 COPEPTIN AS A BIOMARKER FOR THE DIAGNOSIS OF ACUTE EXACERBATION OF COPD OR EXACERBATED CHF IN PATIENTS WITH DYSPNEA**

**Research team:** Assoc. Prof. Ventsislava Pencheva Pencheva-Genova, MD, PhD

- Prof. Ognian Georgiev, MD, PhD
- Assist. Prof. Victor Manolov, MD, PhD

• Assist. Prof. Diyan Genov, MD  
**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Propedeutics of Internal Diseases, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the study is to analyze the role of copeptin for differential diagnosis between acute exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (AECOPD) and heart failure (HF) in patients with acute dyspnea. 50 patients with acute dyspnea as a result of AECOPD or HF were included in this prospective study. The mean age of the participants was  $68.32 \pm 8.321$  years, with a male / female ratio of 32/18 (64% men and 36% women). Anamnesis and basic demographic data were collected. Haematological and biochemical tests were performed in all participants in the study. Copeptin, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and procalcitonin were measured using ELISA methods. Electrocardiogram, spirometry, chest X-ray and echocardiography were done in all cases. Abdominal ultrasound and blood gas analysis have been performed when necessary. Depending on the cause of dyspnea, patients were divided into two groups - those with AECOPD (27 patients) and those with HF (23 patients). The median concentration of copeptin are statistically significantly lower in AECOPD patients ( $160.574 \pm 112.768$  pg/ml) compared to the HF patients ( $402.0187 \pm 54.4$  pg/ml);  $p=0.001$ . There was a positive correlation between serum copeptin levels and procalcitonin levels ( $r = 0.231$ ;  $p = 0.025$ ) and serum copeptin levels and NT-proBNP levels ( $r = 0.396$ ;  $p = 0.004$ ). Copeptin levels correlated well with C-reactive protein (CRP) ( $r=0.258$ ,  $p = 0.022$ ). A copeptin levels  $>317.875$  pg/ml on admission had a sensitivity of 71.3% and specificity of 82.4% in predicting HF (AUC: 0.884, 95% CI: 0.814-0.955,  $p<0.001$ ) as a reason for acute dyspnea. Copeptin is a new promising indicator for diagnosis of patients who have acute dyspnea. The use of this marker in the routine practice may be very useful for easy differential diagnosis between AECOPD and HF.

**Scientific publications and presentations:**

- Pencheva V., Manolov V., Manov E., Georgiev O., Genov D. Copeptin – biomarker for the differential diagnosis of acute dyspnea. Medical Review; 2021;5:36-42

**Contract D-129/24.06.2020 RESEARCH AND EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC ROLE OF ACUTE PHASES PROTEINS IL-6, TNF-A, MMP-9 AND PROCALCITONE AS PRIORITIES FOR EARLY INSUFFICIENCY OF ANASTASMOSIS AFTER ANTERIOR RESECTION OF THE RECTUM - CONTINUED**

**Research team:** Assoc. Prof. Dr. Dimitar Ivanov Bulanov, PhD

- Prof. Dr. Atanas Yonkov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Dr. Sasho Bonev, MD, PhD
- Assist. Prof. Dr. Dragomir Dardanov, PhD
- Assist. Prof. Dr. Evgeni Zhivkov, MD, PhD
- Assist. Prof. Dr. Ivanka Stancheva, MD, PhD
- Assist. Prof. Dr. Elena Arabadjieva, MD, PhD

- Assist. Prof. Emilia Tosheva, MD, PhD
- Liliya Simonova, MD, PhD
- Assist. Prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD, PhD
- Assist. Prof. Plamen Petkov, MD
- Assist. Prof. Vasil Solunkin, MD
- Assist. Prof. Zhivko Shavalov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Medical University - Sofia, Department of General and Operative Surgery, University Hospital "Aleksandrovska" Clinic of General Surgery (I Surgery)

**RESULTS:** Insufficiency of the anastomosis, in anterior resection of the rectum, is a current problem in abdominal surgery. Objective: To investigate the predictive role of IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 and Procalcitonin in anastomotic insufficiency after rectal resection. Methods used: Clinical and laboratory study of IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 and Procalcitonin, in 20 patients at 2 and 5 POD, from venous blood and drainage secretion, as well as their combination with the results of a previous grant (2017) and statistical processing. Results and conclusions: From the studied proteins IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9 and Procalcitonin, in a total of 40 patients, we found that statistically significant results for a potential predictive role for anastomotic insufficiency have Procalcitonin, TNF- $\alpha$ , IL-6.

### **Contract D-130/24.06.2020 MARKERS FOR OVARIAN DYSFUNCTION IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

**Research team:** Antoaneta Trifonova Gateva, MD, PhD

- Prof. Zdravko Kamenov, MD, PhD, DSci
- Adelina Tsakova, MD, PhD
- Plamena Kabakchieva-Georgieva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Department of Internal Medicine, University Hospital "Alexandrovska", Clinic of Endocrinology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Ovarian folliculogenesis required a fine balance between extra- and intra-ovarian factors. Endocannabinoids are essential for a normal follicular growing process and ovulation. Its altered expression has been already associated with impaired folliculogenesis, oocyte maturation, and respectively reduced fertility. The study aims to analyze levels of 2-arachidonoylglycerol (2-AG) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) concerning hormonal and metabolic alterations, and the most common features associated with the syndrome like ovulatory dysfunction and polycystic ovarian morphology (PCOM). The study consists of a total of eighty participants – 54 patients with PCOS and 26 healthy controls. The inclusion criteria for all participants were age (18-38 years); post menarche (> 3 years) and BMI (18-40 kg/m<sup>2</sup>). PCOS patients were diagnosed according to Rotterdam criteria and further categorized into phenotype groups. Full medical history, clinical investigations, anthropometric measurements laboratory tests and ultrasound investigation were done in the follicular phase. Serum levels of 2-AG were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). PCOS patients and healthy controls showed similar metabolic parameters and anthropometric characteristics. PCOS patients were more hirsute than healthy women (p = 0.001). LH/FSH ratio and all androgens were significantly higher in the patient than in the control group. Serum levels of 2-AG were significantly higher in the phenotype B PCOS patients and healthy controls compared to the phenotype A group, while between phenotype B and controls they were similar. PCOS patients with PCOM have significantly lower levels of the endocannabinoid compare to patients without polycystic ovaries and controls. Overall serum



levels of 2-AG could not be a diagnostic marker for PCOS, but most probably its altered secretion influenced the normal follicular processes.

**Scientific publications and presentations:**

- Kabakchieva P, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Kamenov Z. 19-th International Congress of Endocrinology, Virtual, 24-28 February, 2021. 262-263.
- Kabakchieva P, Gateva A, Hristova J, Georgiev T, Kamenov Z. Analysis of 2-Arachidonoylglycerol Levels in Polycystic Ovary Syndrome in the Context of Hormonal and Metabolic Alterations and Across the Classical Phenotypes. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2023 Aug;8(4):634-641.
- Kabakchieva P, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Yamanishi K, Okamura H, Kamenov Z. Elevated levels of interleukin-18 are associated with several indices of general and visceral adiposity and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Endocrinol Metab.* 2022 Mar 8;66(1):3-11.

**Contract D-132/24.06.2020 SCREENING FOR FIBROMUSCULAR DYSPLASIA IN BULGARIA AND GENETIC ASPECTS**

**Research team:** Assoc. Prof. Raya Stefanova Ivanova, MD, PhD

- Teodora Yaneva-Sirakova, MD, PhD
- Prof. Dobrin Vassilev, MD, PhD
- Pavel Nikolov, MD, PhD student
- Rumiana Dodova, DMB

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of internal medicine, UMHAT „Alexandrovska” EAD, Cardiology Clinic

**RESULTS:** Introduction: Fibromuscular dysplasia (FMD) is idiopathic, segmental, nonatherosclerotic and noninfectious disease of the muscle layer of the arteries. It leads to arterial stenoses in the mid-diameter arteries. The genetic aspects are under study. We lack data for Bulgaria. One of the genes to be associated in the literature with FMD is PHACTR1 (phosphatase and actin regulator). Methods: We studied 11 patients with angiographically proven FMD, 108 patients with arterial hypertension, 89 – with angiographically proven coronary artery disease, and 112 healthy population controls. The screening for the selected polymorphism in gene PHACTR1, associated with FMD in literature, was done with PCR apparatus in real time with TaqMan™ (Applied Biosystems). The statistical analysis was done with SPSS19,  $p=0.05$ , confidence interval 95%. Results: The frequency of the variants of rs9349379 in the Bulgarian population were without significant difference from those in the European. The frequency of the A allele was higher (without reaching statistical significance) in FMD, which corresponds to the scientific literature. There was a tendency (without reaching statistical significance) for association of G allele with ischemic artery disease. Conclusion: The preliminary data for association of rs9349379 in gene PHACTR 1 were negative for the Bulgarian population. However, the studied group of FMD patients was very small. The group of FMD patients was very small and thus, the result should be thus, the result should be reevaluated in a larger group. If the genetic susceptibility for FMD was known, this would help explain the pathogenesis, predisposing factors and regulators. This would advance the screening and prophylaxis.

**Contract D-133/24.06.2020 THE ROLE OF BIOCHEMICAL BIOMARKERS FOR NEURONAL ACTIVITY AND CLINICAL NEUROPSYCHOLOGICAL TESTS IN PATIENTS WITH CAROTID STENTING**

**Research team:** Assist. prof. Teodora Ivanova Yaneva-Sirakova, MD, PhD

- Prof. Dobrin Vassilev, MD, PhD
- Acad. Prof. Latchezar Traykov, MD, PhD, DSC
- Prof. Kiril Karamfiloff, MD, PhD
- Assist. prof. Adelina Tzakova, MD
- Assist. prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD, PhD
- Assist. prof. Niya Mileva-Petrova, MD
- Assist. prof. Monika Shumkova, MD, PhD
- Anastas Dimov

**Organization unit:** MU - Sofia, Department of Internal Medicine, UMHAT “Alexandrovska” EAD, Cardiology Clinic

**RESULTS:** The application of carotid stenting is rising. We need biomarkers, which would guide us and help in the assessment of its effectiveness regarding brain blood flow and cognition. Potential candidate biomarkers are the markers for neuronal activity Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Neural Growth Factor (NGF). Their serum concentration is correlated with brain hemodynamics and function. We included 78 patients: 39 with hemodynamically significant carotid stenoses and 39 controls - without. All underwent ultrasound diagnostics and ELISA test of BDNF and NGF serum concentrations. The biomarkers for neural activity in patients with significant carotid stenoses, were tested at 3 phases: before (n34), 24 h. post (n22) and at least 1 month after stenting (n18). Cognitive functions were assessed with MMSE and MoCA. On their basis the patients were classified as having or not potential mild cognitive impairment (MCI) Statistical analysis was done with SPSS 19(IBM),  $p < 0.05$ , CI 95%. There was a significant difference in the BDNF concentration before and after carotid stenting ( $p < 0.0001$ ); in BDNF [ $p = 0.001$ , CI (-5.11- -1.44)] and NGF [ $p = 0.049$ , CI (0.64-347.75)] between patients with significant stenoses/stenting and controls. Periprocedural hypotension, stroke history and MCI did not influence biomarkers concentrations. Correlation analysis showed intermediate positive correlation between systolic, diastolic, pulse pressure and biomarkers at a certain time of sampling. This association was proven for the systolic blood pressure by the regression analysis too. The mean values of BDNF after stenting raised and for NGF lowered after carotid stenting. A larger sample is needed to prove further our results, namely: 1. Arterial blood pressure is an important factor for BDNF and NGF concentrations; 2. The correlation between these markers and interventional treatment may be not linear; 3. There are significant differences in the serum concentrations of biomarkers for neural activity between patients with and without significant carotid stenoses.

**Contract D-135/24.06.2020 MINIMALLY INVASIVE GLAUCOMA SURGERY-GONIOTOMY WITH KAHOOK DUAL BLADE IN OPEN-ANGLE GLAUCOMA**

**Research team:** Assoc. Prof. Borislav Mihailov Kuchoukov, MD, PhD, FEBO

- Assist. Prof. Nora Velikova-Pavlova, MD
- Assist. Prof. Nataliya Bocevska, MD
- Assist. Prof. Mirela Petrova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, 8 ByaloMore Str., 1527 Sofia, Bulgaria

**RESULTS:** Purpose: Prospective study to evaluate the efficacy and safety profile of excisional goniotomy performed with Kahook Dual Blade in patients with open-angle glaucoma as a stand-alone procedure as well as in combination with phacoemulsification over 12-month period. Method and materials: Participants: Eligible patients were adults with open-angle glaucoma with insufficient intraocular pressure control and / or progression of the glaucoma

process and / or the need of reduction of topical therapy. Primary goals: Evaluation of intraocular pressure and medication -lowering effect of the procedure in the 2 groups and the total patient population. Secondary goals: To analyze the safety profile - the complications rate, the need of additional antiglaucoma procedures; the stability of the therapeutic effect (variations of IOP at each visit); the success rate and differences between the two groups. Results: 15 participants (16 eyes) were enrolled, 8 eyes in each group. An average reduction of IOP with 12.81 mmHg(44,59%) was observed in the total population of patients ( preoperative IOP of  $27.5 \pm 6.26$  mmHg to  $14.62 \pm 1.99$  mmHg postoperative at month 12).The medication number reduction was 1.75 (-39.68%) compared with the preoperative (from  $3.93 \pm 0.92$  to  $2.25 \pm 0.93$ ). The most common intraoperative complication was blood reflux from Schlem's canal (100% of patients); the most common early postoperative complication - transient hyphema (resolved within 7 days) - in 43.75%, and late postoperative complication - posterior vitreous detachment( 6.25%). Conclusion:The IOP- lowering effect found in this study meet the European Glaucoma Society and the American Academy of Ophthalmology's (PPP) Preferred Practice Pattern effectiveness criteria for mild to moderate glaucoma.No vision threatening complications were observed and no additional antiglaucoma procedure were required during the 12-month of follow-up.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Velikova N, Analysis of the results of goniotomy with Kahook Dual Blade in adult patients with open-angle glaucoma over 12-months period, XIVth National Congress of Bulgarian Society of Ophthalmology in association with Conference “ Innovations in Ophthalmology” and XVth Vitreoretinal Symposium, Borovets, Bulgaria, 14 - 17.10.2021

#### **Contract D-136/24.06.2020 ROLE OF H. PYLORI INFECTION AND GASTRIC ATROPHY IN THE DEVELOPMENT OF METABOLIC SYNDROME AND DYSREGULATION OF APPETITE-RELATED HORMONES**

**Research team:** Prof. Borislav Georgiev Vladimirov, MD, PhD

- Prof. Yordan Genov, MD, PhD
- Assist. Prof. Mila Kovacheva-Slavova, MD, PhD
- Assist. Prof. Klimentina Gerdjikova, MD, PhD
- Teodora Komitova, MD, PhD
- Assist. Prof. Hristo Valkov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Gastroenterology, 8 Byalo more Str., 1527 Sofia

**RESULTS:** The role of H. pylori (HP) infection and atrophic gastritis in the development and progression of metabolic syndrome, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), and dysregulation of appetite-related hormones is still being studied. The aim of the present study was to screen for HP infection and to examine appetite-related hormones in patients with NAFLD to assess gastric structure and function and their relationship. HP infection screening and assessment of gastric atrophy were performed by GastroPanel, including pepsinogen-I (PGI), pepsinogen-II (PGII), gastrin-17 (G-17), H.pylori IgG; as well as the hormones leptin and adiponectin using an ELISA method. The study included 72 subjects (33 men, mean age  $48.51 \pm 17.46$  years): 50 with NAFLD and 22 healthy controls. 32% of patients have HP infection, which is significantly more than the controls. The gastric mucosa is significantly more damaged in patients. In men, more frequent H. pylori infection was observed ( $p = 0.035$ ) as well as a tendency towards higher-grade structural changes in the gastric mucosa ( $p = 0.063$ ). Patients with NAFLD are exposed to a higher rate of developing atrophic gastritis and

metabolic syndrome at a younger age. We found statistically significantly higher levels of leptin and lower levels of adiponectin in patients compared to healthy controls ( $p = 0.015$ ). Levels of PGI, PGI / PGII, HP and adiponectin are significantly affected by inflammatory and atrophic changes in the gastric mucosa. As PG-I and PG-II levels decrease, leptin levels increase and adiponectin levels decrease. We observe a higher BMI and a tendency for elevated liver enzyme levels in patients with *H. pylori* infection. Significantly lower adiponectin levels were observed in patients with insulin resistance ( $p = 0.04$ ). Proper diagnostic algorithm for *H.pylori* and atrophic gastritis allows their early diagnosis and treatment with subsequent prevention of associated malignancies and malabsorption complications.

**Scientific publications and presentations:**

- G. Yankov, E. Mekov, B. Vladimirov, M. Kovacheva-Slavova. Management of series of complications after a laparoscopic Nissen fundoplication. *Chirurgia* 2023;36:52-5.
- National Conference on Gastroenterology, 15 - 16 October 2021, Sofia - Helicobacter pylori infection and extragastric diseases, Dr. Mila Kovacheva
- National Conference on Gastroenterology, October 15 - 16, 2021, Sofia - Autoimmune gastritis, Prof. Dr. B. Vladimirov

**Contract D-137/24.06.2020 THE ROLE OF SERUM MARKERS FOR FIBROSIS - ALPHA 2-MACROGLOBULIN (ALPHA 2-MACROGLOBULIN - A2M) AND HYALURONIC ACID (HYALURONIC ACID - HA) AS PREDICTORS OF THE PRESENCE AND DETERMINATION OF ESOPHAGEAL VARICES IN PATIENTS WITH CHRONIC LIVER DISEASE**

**Research team:** Assoc. prof Branimir Stefanov Golemanov, MD, PhD

- Prof. Borislav Vladimirov
- Todor Angelov, MD
- Stanislav Churchev, MD
- Assoc. prof. Georgi Yankov, MD, PhD

**Organisation unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Gastroenterology, 8 Byalo more Str., 1527 Sofia

**RESULTS:** Objective: Evaluation of the serum levels of non-invasive markers of fibrosis - Alpha 2-Macroglobulin (A2M) and Hyaluronic acid (HA) in patients with chronic liver disease for prediction of the presence and grade of esophageal varices. Material and methods: Eighty patients with liver cirrhosis and various etiology (predominantly alcoholic and viral) divided into three groups according to the presence and grade of esophageal varices from performed upper endoscopy (severe, mild and without esophageal varices). Alpha 2-Macroglobulin (A2M) and Hyaluronic acid (HA) levels were tested in all patients by ELISA. The results were processed on IBM SPSS 19. Results: The study did not show a statistically significant difference between the groups in terms of A2M, HA levels, as well as albumin, platelet and presence of ascites in patients. Probable explanation is the complex pathogenesis of portal hypertension and the possibility of various porto-systemic collaterals in patients with liver cirrhosis. At this stage, measurement of serum levels of A2M and HA in order to predict the presence and grade of esophageal varices cannot be recommended.

**Scientific publications and presentations:**

- T. Angelov, S. Churchev, H. Valkov, B. Asenova, M. Chetirska, R. Vatcheva-Dobrevska, B. Vladimirov, B. Golemanov. Role of serum markers for fibrosis alpha-2-macroglobulin and hyaluronic acid as predictors of gastroesophageal varices. *GENERAL MEDICINE* 2021 23 (5): 54-56.

- T. Angelov, S. Churchev, H. Valkov, B. Asenova, M. Chetirska, R. Vatcheva-Dobrevska, B. Vladimirov, B. Golemanov. Alpha 2-macroglobulin and hyaluronic acid as predictors of the presence and grade of esophageal varices - preliminary results. VII National Meeting of Hepatology. National Palace of Culture 26-27 November 2021

**Contract D-138/24.06.2020 THE ROLE OF MICRORNA-21 AND MICRORNA-31 AS MARKERS FOR THE DIAGNOSIS OF SPORADIC AND COLITIS-ASSOCIATED COLORECTAL CANCER**

**Research team:** Prof. Plamen Ivanov Penchev, MD, PhD

- Prof. Plamen Penchev, MD, PhD
- Assist. Prof. Hristo Valkov, MD
- Assist. Prof. Mila Kovacheva-Slavova, MD, PhD
- Assist. Prof. Ivan Lyutakov, MD, PhD
- Assist. Prof. Slavyana Usheva, MD, PhD
- Prof. Radka Kaneva, MD, PhD
- Veronika Petkova
- Gergana Stancheva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of gastroenterology, 8 Byalomore Str., 1527 Sofia

**RESULTS:** MicroRNAs (miRNAs) are small, non-coding RNAs with incredible stability, making them promising potential biomarkers. By studying the plasma expression of miRNA-21-5p and miRNA-31-5p to investigate their diagnostic and etiopathogenetic role in patients with inflammatory bowel diseases (IBD), in progression to colitis-associated colorectal cancer (CRC) and in patients with sporadic CRC. We included 100 adult patients (60 with IBD, 30 with CRC, and 10 healthy controls [HC]). Total RNA was isolated, and the expression of both miRNAs was demonstrated by RT-qPCR. The normalized  $2^{-\Delta Ct}$  values of both miRNAs were used to achieve the project objectives. Plasma expression of miRNA-31 can differentiate separately patients with IBD and CRC from HC. This is not demonstrated for miRNA-21. A cut-off value of 0.160 of miRNA-31 revealed 100.0% sensitivity and 80.0% specificity to distinguish CRC from HC. A cut-off value of 0.251 of miRNA-31 demonstrates the same sensitivity and specificity for distinguishing IBD from HC. Values of miRNA-31 also allow the differentiation of IBD from CRC. MiRNA-21 can distinguish patients with IBD in activity from those in remission. The values of the two miRNAs cannot distinguish the types of IBD, and these two miRNAs do not correlate with either activity scales or paraclinical markers of inflammation in IBD. The two miRNAs cannot distinguish patients with IBD and dysplasia or CRC from patients with IBD without such concomitant pathology. The values of both miRNAs do not correlate with the TNM stage of sporadic CRC and tumor markers in patients with this neoplasia. MiRNA-31 seems to be a more promising marker than miRNA-21. More data on the topic are needed.

**Scientific publications and presentations:**

- Valkov H. MicroRNA-21 and MicroRNA-31 as biomarkers for inflammatory bowel diseases with colonic localization and sporadic colorectal carcinoma. National Congress of Gastroenterology, Grand Hotel Millennium Sofia. October 13-15, 2022. p.4

### **Contract D-139/24.06.2020 ASSESSMENT OF METHYLMALONIC ACID IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

**Research team:** Assist. Prof. Nevena Yankova Chakarova, MD, PhD

- Prof. Tsvetalina Tankova, MD, DMSci
- Prof. Georgi Georgiev, MD, PhD
- Assist. Prof. Romyana Dimova-Draganova MD, PhD
- Assist. Prof. Vesela Lozanova, PhD
- Paulina Sugareva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Endocrinology, University Hospital of Endocrinology “Acad. Ivan Penchev” EAD

**RESULTS:** The aim of the present study was to assess the diagnostic value of methylmalonic acid (MMA) for the evaluation of B12 status of patients with type 2 diabetes. Material and methods: 303 type 2 diabetes patients of mean age  $60.32 \pm 10.46$ , mean BMI  $32.04 \pm 5.99$  kg/m<sup>2</sup> и and mean duration of diabetes  $2.87 \pm 8.34$  years were enrolled. Serum MMA concentrations were assessed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS-MS). B12 deficiency was defined if MMA > 260 nmol/l. Results: Mean MMA concentrations in the groups with B12 deficiency, low-normal and normal levels were 109.1 nmol/l, 65.3 nmol/l и 64.6 nmol/l respectively. MMA was significantly higher in B12 deficiency group as compared to the groups with low-normal and normal B12 levels ( $p = 0.016$ ,  $p = 0.034$ ). MMA levels > 260 nmol/l were found in 1.6% of the study population, in 4.8% of the patients with B12 deficiency and in 0% of those with low-normal and normal B12 levels. A significant negative correlation between MMA and B12 was established ( $r = -0.220$ ,  $p < 0.0001$ ). Conclusions: The assessment of MMA in the study population does not have an additional diagnostic value and does not add to the evaluation of B12 status compared to the assessment of serum B12 alone.

### **Contract D-140/24.06.2020 COMPLEX EVALUATION OF THE LIPID PROFILE IN THE EARLY STAGES OF GLUCOSE INTOLERANCE**

**Research team:** Assist. Prof. Romyana Boykova Dimova-Draganova, MD, PhD

- Prof. Tsvetalina Tankova, MD, DMSci
- Prof. Georgi Georgiev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Valentin Lozanov, PhD
- Assist. Prof. Greta Grozeva-Damyanova, MD, PhD
- Assist. Prof. Nevena Chakarova, MD, PhD
- Ani Todorova, MD
- Mina Serdarova, MD
- Polina Tsarkova, MD
- Paulina Sugareva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Endocrinology, University Hospital of Endocrinology “Acad. Ivan Penchev” EAD

**RESULTS:** Aim: The aim of the study is to perform a comprehensive evaluation of the lipid profile in individuals in the early stages of impaired glucose tolerance and to assess the relationship of these parameters with cardio-metabolic risk. Material and methods: A total of 90 participants (21males/69females) of mean age  $46.7 \pm 10.5$  years, mean BMI  $32.0 \pm 6.3$  kg/m<sup>2</sup> are involved in the current study. They are divided into three groups according to glucose tolerance - 19 with normal glucose tolerance (NGT), 22 with NGT and 60 minutes glucose > 8.6mmol/l,

and 49 with impaired glucose tolerance (IGT). Anthropometric parameters are measured in all participants. Glucose tolerance is assessed by a standard OGTT according to WHO 2006 criteria. Изследвани са: Immunoreactive insulin and C-peptide are measured during the OGTT. Indices of insulin sensitivity and b-cell function are calculated. HbA1c, hsCRP, creatinine (GFR-EPI is calculated), transaminases, ACR, lipids and lipoproteins: total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, Lp(a), ApoA1, ApoB are assessed at fasting. Lipidomic analysis is performed applying Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS-MS) for the measurement of ceramides and fatty acids. Body fat accumulation is assessed by bioimpedance analyser (Inbody720, Biospace). Tissue advanced end-products (AGEs) accumulation is estimated by AGE-Reader (DiagnOptics TM, NL). Results: Ceramide C24:1 levels show a trend towards increase in the group with IGT in comparison to NGT with borderline significance ( $p=0.053$ ). The classic lipid profile correlates with age, parameters for body fat accumulation and glycemia, kidney function, hsCRP, transaminases, parameters for insulin sensitivity and b-cell function. The ApoB100/ApoA1, LDL/ApoB100 and triglycerides/HDL ratio are associated with visceral fat tissue, glycemia, insulinemia and hsCRP. Capric acid (C10:0), arachidonic acid (C20:4), arachidic acid (C20:0) and docosanoic acid (C22:0) are related to ACR, while docosanoic acid (C22:0) correlates with hsCRP, insulinemia. Conclusion: The complex lipid profile study provides additional information on cardio-metabolic risk in individuals in the early stages of impaired glucose tolerance.

**Contract D-141/24.06.2020 ANTINUCLEAR ANTIBODIES - PREVALENCE, IMMUNOFLUORESCENT PATTERNS AND SPECIFIC SUBTYPES IN FIRST-DEGREE RELATIVES OF PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS - CLINICAL, LABORATORY, SEROLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CORRELATIONS**

**Research team:** Prof. Dobroslav Stanimirov Kyurkchiev, MD, DSc

- Assoc. Prof. Dr. Simeon Monov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Dr. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Assist. Kalina Tumangelova-Yuzeir, MD, PhD
- Georgi Vassilev, MD, PhD
- Bogdan Penev
- Dr. Rositsa Dacheva

**Organization unit:** Medical University of Sofia, Faculty of Medicine, Department of Clinical Immunology, University Hospital "St. Ivan Rilski", bul "Ak. Ivan Geshov" 15, 1431 Sofia

**RESULTS:** Objectives: The study aimed to determine the relative prevalence of clinical signs of connective tissue disease (CTD), smoking, use of estrogen therapy, and levels of circulating ANA, BLyS, IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , anti-EBV viral capsid antigen (VCA) antibodies among sera of first degree relatives (FDRs) of SLE patients, non-FDR healthy individuals and SLE patients. Methods: Forty-three FDRs of SLE patients were studied along with 15 SLE patients and 15 clinically healthy subjects as control groups. The FDRs and the healthy answered a questionnaire about early signs of CTD, smoking, and estrogen use history. Blood samples were obtained and tested for ANA, both by indirect immunofluorescence and immunoblot, anti-dsDNA by ELISA. ELISA was also performed to measure levels of BLyS, IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , anti-EBV IgM, and IgG. Results: More than half of the FDRs displayed ANA in titer 1:160 or more, with predominately AC-4 type of fluorescence according to International Classification on ANA Patterns (ICAP) compared to only AC-1 and AC-0 among patients and controls respectively. We found a correlation between the ANA titer and the number of complaints.

That was particularly valid in the case of skin and oral ulcer-like complaints, which appeared more frequently when the ANA titer was 1:320 or above. Levels of TGF- $\beta$  of FDRs differed significantly between those of both patients and controls. Smoking and estrogen use did not differ across the three groups. Surprisingly, we found a correlation between ANA titers and levels of anti-EBV antibodies in both FDRs and healthy. Conclusions: Our results place FDRs as an intermediate group to healthy and SLE patients from an immunological perspective. The data also suggest that ANA positivity correlates with reported complaints, some of which we could interpret as very early clinical signs of SLE.

**Scientific publications and presentations:**

- Bogdan Penev, Georgi Vasilev, Dobroslav Kyurkchiev, Simeon Monov. First degree relatives of patients with systemic lupus erythematosus - clinical, serological and immunological correlations. EULAR Congress. Paris. 2-5 June 2021. 1432.

**Contract D-142/24.06.2020 ADMA - A BIOMARKER FOR RENAL DYSFUNCTION IN COMPENSATED AND DECOMPENSATED CIRRHOSIS**

**Research team:** Assoc. Prof. Atanas Ivanov Kundurdzhiev, MD, PhD

- Prof. Krasimir Antonov, PhD, DSci
- Assist. prof. Maria Hristova, MD, PhD
- Irena Ivanova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, University Hospital "St Ivan Rilski", bul "Ak. Ivan Geshov" 15, 1431 Sofia

**RESULTS:** Forty (40) patients with liver disease were included in the study - 20 patients with impaired renal function (creatinine clearance <90ml/min/1,73m<sup>2</sup>) without structural changes on ultrasound check and 20 patients with normal renal function who served as a control group. The patients with liver disease were further divided into three subgroups - with liver fibrosis, with compensated cirrhosis and decompensated cirrhosis. The results showed a tendency towards increased asymmetric dimethylarginine (ADMA) serum levels with liver disease progression which did not reach statistical significance most probably due to the small number of patients. The correlation between ADMA and ALAT found in our research directly supports the relationship between liver dysfunction and ADMA, which was previously only demonstrated in animal models. ADMA levels exhibited similar variability between the cirrhotic patients with normal and impaired renal function with means of 0,89  $\mu$ mol/l and 0,95  $\mu$ mol/l, respectively. These results favour the main role of the liver in ADMA metabolism and they show that ADMA is not a relevant predictor of renal injury in the context of liver disease. No correlation was found between ADMA and serum creatinine levels. The theoretical conclusions which could be drawn from the lack of correlation between ADMA and renal artery resistive index are that there are more factors contributing to the endothelial dysfunction and vascular rigidity. Among the mediators NO, ednothelin-1, SDMA, vasopressin are of higher importance and they should be investigated simultaneously as a panel. The lack of such an opportunity and the small number of patients were the major limitations of the study. The negative correlation between ADMA and ejection fraction confirms the role of ADMA as a cardiovascular risk factor. Conclusions: The results showed a tendency towards increased asymmetric dimethylarginine (ADMA) serum levels with liver disease progression. The liver plays a main role in ADMA metabolism and its role as a predictor of renal injury in cirrhotic patients is limited.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristova M, Penchev H, Vasilev G et al. Asymmetric Dimethylarginine - a biomarker for renal dysfunction in compensated and decompensated cirrhosis. Bulgarian Hepatogastroenterology 1, 2023



**Contract D-143/24.06.2020 FUNCTIONAL AUTOANTIBODIES, B CELL APOPTOSIS AND SURVIVAL FACTORS IN PATIENTS WITH EARLY SYSTEMIC SCLEROSIS**

**Research team:** Prof. Rasho Kolev Rashkov MD, DSci

- Prof. Dobroslav Kyurkchiev, MD, DSci
- Assoc. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Ekaterina Kurteva, MD, PhD
- Assist. Prof. Kalina Tumangelova-Uzeir, PhD
- Assoc. Prof. Dr. Lyubomir Marinchev, MD
- Assist. Prof. Valentina Reshkova, MD, Dsci
- Assist. Prof. Desislava Kalinova, MD, PhD
- Tsvetelina Yoneva, MD
- Rada Gancheva, MD, PhD
- Yana Zdravkova, MD
- Parvoleta Metodieva, MD
- Milena Ivanova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Rheumatology, bul "Ak. Ivan Geshov" 15, 1431 Sofia

**RESULTS:** Aim: To test in the serum of patients with early forms of SSc, compared with patients with advanced disease and healthy individuals, some functional autoantibodies: anti-endothelial cell antibodies (anti-endothelial cell antibodies, AESA) and anti-endothelin -1 type A receptor (anti-ETAR antibodies), as well as involved in B cell development and activation ligand BAFF (B cell-activating factor, BLys), in the serum of patients with early SSc. To perform fluocytometric determination of the percentage of B cells and measurement of B cell apoptosis in the peripheral blood of the studied groups of patients and healthy individuals. To look for associations between the studied indicators with the type of skin and organ involvement and the stage and activity of SSc. Materials and methods: A prospective selection was made of 40 patients with SSc, mean age  $51 \pm 13$  years, with Med [Min; Max] 53 [21; 75] years, of whom 33 were women, and 7 were men. Among the 40 patients with SSc studied, 25 were de novo diagnosed with early progressive systemic sclerosis (SSc) according to the VEODSS EUSTAR Criteria, 2011 and according to the ACR / EULAR Classification Criteria for SSc, 2013. Fifteen patients with SSc were studied with an expanded form of SSc. A control group of 10 healthy individuals (five males and five females), mean  $36 \pm 12$  years, Med [Min; Max] 40 [21; 53] years, was also recruited. Flow cytometric determination of the percentage of B lymphocytes labeled with monoclonal murine anti-human CD19 antibody in full peripheral venous blood of patients with SSc and healthy subjects was performed. Flow cytometrically, we also determined the percentage of B cell apoptosis in complete peripheral venous blood of the studied patients and healthy individuals. We used the ELISA method to detect anti-endothelial cell antibodies (AECA) and anti-endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR antibodies), as well as BAFF (B cell) ligand involved in B cell development and activation (activating factor, BLys) in the sera of the patients and healthy subjects. Results: We did not find a statistically significant difference between the total percentage of B lymphocytes in the peripheral blood of healthy individuals and patients with SSc. In contrast, we found a significantly lower CD19 expression (MFI) in patients with SSc than the healthy control group,  $p < 0.001$ . Regarding B-cell apoptosis, there was a significant increase in the percentage of B-cell apoptosis in the peripheral blood of patients with SSc compared to healthy subjects. In patients with SSc, we found a significantly higher percentage of B lymphocytes in early apoptosis than healthy subjects  $p = 0.006$ , with no significant difference in MFI. We found a

significantly higher MFI of B-cell apoptosis in patients with dcSS than patients with lcSSc,  $p = 0.036$ . We did not find a significant difference in BAFF levels in patients with SSc compared to the healthy control group, nor intragroup between patients with lcSSc and dcSSc. In contrast, in patients with early SSc, the level of BAFF in peripheral blood was higher than in patients with clinically advanced SSc, with borderline significance,  $p = 0.05$ . Regarding the functional autoantibodies AESA, which ELISA qualitatively determined, all healthy controls showed a negative result for the presence of AECA in peripheral venous blood, and of the patients with SSc, only four patients gave a positive result. Regarding anti-endothelin-1 type A receptor autoantibodies (anti-ETAR antibodies), all 40 patients with SSc tested positive ( $> 17$  U / ml), while all healthy subjects tested negative in peripheral blood ( $< 10$  U / ml). No correlations were found between levels of anti-ETAR autoantibodies, pulmonary involvement, proteinuria, or the degree of skin involvement in patients with SSc. Conclusions: Further study of cohort expansion by patients with SSc is needed to confirm the increased rate of peripheral B-cell early apoptosis and specify, if possible, at the expense of which subpopulations B cells are found. The AECA study in patients at increased risk of developing severe vasculitis in the context of SSc could serve as a prognostic marker if the results are confirmed in a larger cohort study.

**Contract D-145/24.06.2020 IL-6 – A PROGNOSTIC FACTOR FOR LATE NEUROLOGICAL INJURIES IN PREMATURE INFANTS /26-32 WEEKS GESTATION/**

**Research team:** Prof. Boriana Petrova Slancheva, MD, PhD

- Assoc. Prof. Violeta Dimitrova, MD
- Assoc. Prof. Liliya Vakrilova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Tanya Pramatarova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Petya Radulova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Stanislava Hitrova-Nikolova, MD, PhD

**Organization unit:** Medical University – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetrics and gynecology, University Hospital “Maichin dom”, Clinic of Neonatology, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Premature infants born before 32 weeks gestation are a risk group for the development of severe neurological injury due to intraventricular hemorrhage (IVH) and periventricular leukomalacia (PVL). There is a growing interest in the use of biomarkers to target IVH and PVL before their clinical manifestation. Numerous studies have investigated the role of proinflammatory cytokines, in particular interleukin-6 (IL-6), as markers of neuronal damage in preterm infants. Elevated plasma IL-6 levels above 11 pg/ml are a major independent risk factor for the subsequent development of neonatal morbidity following gestational age adjustments and other factors. The present study included 47 premature infants with gestational age between 26 weeks and 32 weeks gestation. Upon admission to the NICU, blood was drawn for IL-6 testing, but no later than six hours after birth. An ultrasound assessment was performed for the presence or absence of brain changes according to a protocol. The newborns were divided into two groups:

1. with elevated IL-6 levels ( $> 11.0$  pg/ml) after birth (11 newborns)
2. with normal levels of IL-6 (36 newborns)

64 indicators were analyzed. In the group with elevated IL-6, significantly higher CRP values, positive blood cultures, and peripheral cultures at birth, a higher incidence of early neonatal sepsis was reported. In the same group, severe cerebral hemorrhages were observed twice as often - IVH III and IV grade against the background of a generally lower frequency of

ultrasound deviations compared to the group with normal values of IL-6. No such dependence was found for PVL in the present study. The incidence of retinopathy of prematurity and auditory screening abnormalities was higher in the group with elevated IL-6. The current study confirms the high diagnostic potential of IL-6 for early determination of the target group of premature infants (26 weeks - 32 weeks gestation), risk of developing early neonatal sepsis, severe neurological complications (in this study IVH III-IV grade), retinopathy of prematurity, hearing impairment.

## Medico-clinical area 2021

### **Contract D-91/04.06.2021 SIGNIFICANCE OF GENE POLYMORPHISM OF INTERLEUKIN-13 IN POSITION (-1112) IN PERIODONTITIS**

**Research team:** Assist prof Velitchka Teodosieva Dosseva-Panova, PhD

- Assist prof Zdravka Pashova-Tasseva, PhD student
- Assoc prof Antoaneta Mlachkova, PhD
- Prof Alexey Savov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine

**RESULTS:** In the recent science project 100 subject were recruited 70 of them with diagnosis periodontitis and 30 control individuals diagnosed with periodontal health. To all of the participants a detailed periodontal diagnostics is made – clinical measurements and radiographic analysis. From all of the tested individuals genomic DNA is isolated in order to explore single nucleotide polymorphism of Interleukin – 13 -1112. Nucleo Spin MACHEREY-NAGEL kit is used and the genotyping is made by utilization of RFLP-PCR method. The received data is implemented by the statistical product PCA – IBM SPSS Statistics Version 22. The results show prevalence of CC-genotype, followed by CT-genotype and only one TT-genotype sample, isolated in one patient with periodontitis. We have confirmed the suggested hypothesis for susceptibility to severe periodontitis in relation to one of the genotypes – the dominant CC-genotype. The host response of the patients with this genotype to the dental plaque is related to severe clinical attachment loss  $\geq 5$  mm, with level of significance  $p < 0.05$ . In the same patients a correlation between the percentage of sites involved with dental plaque and the bleeding upon probing to the bottom of the periodontal pocket with level of significance  $p < 0.1$  is found. These data gives the suggestion that in the homozygotes in C-allele individuals the clinical course of the periodontal disease is severe, based on the parameter clinical attachment loss and the marker for the activity of the disease bleeding on probing (BoP).

**Scientific publications and presentations:**

- Zdravka Pashova-Tasseva, Velitchka Dosseva-Panova, Ekaterina Tosheva, Alexey Savov, Antoaneta Mlachkova. Influence of gene polymorphism of IL-13 and smoking on periodontitis. Medinform.2022; 2: 1473-1483.

### **Contract D-92/04.06.2021 DIAGNOSIS OF ORAL CARCINOMA AND ORAL PRECANCEROUS LESIONS VIA QUANTITATIVE ANALYSIS OF CYTOKINES AND IMMUNO-REGULATORY MOLECULES IN SALIVA**

**Research team:** prof Pavel Kirilov Stanimirov

- Assoc prof Teodora Bolyarova-Konova, DDS, PhD
- Assoc prof Zornitsa Mihaylova, DDS, PhD
- Assoc prof Snezhana Kandilarova, MD, PhD
- Dr Angel Adamov, DDS
- Dr Petya Yankova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental medicina, dept. of Dental, oral and maxillofacial surgery

**RESULTS:** The present study is investigating the changes in BDNF, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, IL-1RA, LIF and TNF- $\alpha$  saliva concentrations of patients with oral carcinoma, oral preneoplastic lesions (OPL), periodontitis compared to healthy controls. The aim is to reveal

the significance of these cytokines as biomarkers through the changes in the salivary cytokine levels. This would help diagnosis of oral diseases and elucidate the importance of cytokine levels in periodontitis compared to oral carcinoma and OPL. The listed cytokines were examined in whole unstimulated saliva collected from 107 patients, divided into four groups - oral carcinoma (43 patients), OPL (21 patients), periodontitis (21 patients) and healthy controls (22 patients). Salivary samples were stabilized with SigmaFast Protease inhibitor, Sigma-Aldrich Co, and assayed with a fluorometric multiplex method using the ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay. Statistics included descriptive, correlation and variance analyses /ANOVA-test/. For four of the cytokines - IL6, IL8, IL1RA and LIF, expression with very high statistical significance was found (the corresponding p-value is:  $p = 0.000105$ ;  $p = 0.006215$ ;  $p = 0,00212$ ;  $p = 0,033518$ ) in the salivary concentration in patients with oral carcinoma compared to patients with preneoplastic lesions, periodontitis and healthy controls. The group of preneoplastic lesions showed significantly increased levels of IL6, IL8, IL10 and TNF $\alpha$  compared to the healthy controls. Only IL8 showed a significant difference between groups of preneoplastic lesions and periodontitis. IL6 and TNF $\alpha$  show a significant increase in periodontitis and preneoplasia compared to healthy controls. The highly elevated levels of IL6, IL8, IL1RA and LIF in the saliva of patients with oral carcinoma allow us to assume that these cytokines may have significance as biomarkers for oral carcinoma. Correlation analysis of the influence of smoking and alcohol consumption on cytokine levels showed moderate dependence for LIF and IL6.

**Contract D-93/04. 06.2021 COMPARATIVE EVALUATION OF THE REGENERATIVE POTENTIAL OF PLATELET- RICH FIBRIN (PRF) AND EMDOGAIN® IN THE SURGICAL TREATMENT OF CLASS II FURCATION DEFECTS OF MANDIBULAR MOLARS**

**Research team:** Prof. Antoaneta Miteva Mlachkova, MD, PhD

- Assoc. Prof. Kamen Kotsilkov, MD, PhD
- Assist. Prof. Hristina Maynalovska, MD
- Assist. Prof. Denislav Emilov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Periodontology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** 21 patients diagnosed with second class vestibular furcation defect of a mandibular molar took part in the study. The identified 30 lesions were divided into two groups of 15. The first group underwent surgical treatment with the application of platelet-rich fibrin (PRF), and the second - with enamel matrix derivatives (Emdogain®). The aim of the study was to evaluate the regenerative potential of platelet-rich fibrin by comparing it with a proven bioactive agent such as enamel matrix derivatives.

In the comparative analysis of the two approaches it was shown that with enamel matrix derivatives was achieved a statistically significant greater reduction in probing depth compared to platelet-rich fibrin. The change in radiographically analyzed horizontal bone loss was also in favor of Emdogain. In terms of clinical attachment loss, horizontal probing depth, vertical bone loss, gingival margin position, and in the early healing process, no statistically significant differences were demonstrated between PRF and Emdogain. Clinically, in the Emdogain-treated group, three of the defects were completely closed—six months postoperatively no horizontal probing depth was detected at the furcation site. The rest of the defects were converted from second to first class. In the PRF-treated group, only 30% of the lesions achieved conversion to first class, and the rest, regardless of the reduction in horizontal probing depth, remained second class. To date, the treatment of furcation defects is still unpredictable

and the identification of clinical approaches with an impact on its outcomes are critical to optimize the effect of surgical periodontal therapy. Platelet-rich fibrin is an easy-to-manipulate, autologous, and low-cost bioactive agent. Our study showed that its effects in the regenerative therapy of furcation defects are similar to those of enamel matrix derivatives, but nevertheless failed to achieve identical clinical results in terms of elimination of the furcation defect.

**Scientific publications and presentations:**

- Maynalovska H, Mlachkova A, Kotsilkov K. Bioactive molecules in the treatment of furcation defects – online journal of BZS, 1/2022

**Contract D-94/04.06.2021 COMPARISON OF THE MECHANICAL PROPERTIES OF DIFFERENT MATERIALS FOR INLAYS, ONLAYS AND OVERLAYS - A LABORATORY STUDY**

**Research team:** Prof. Radosveta Ivanova Vasileva PhD

- Assoc. Prof. Dr. Janet Kirilova, PhD
- Assoc. Prof. Dimitar Kirov, PhD
- Dr. Kristian Bojkovski
- Assist. Prof. Dr. Georgi Iliev, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine

**RESULTS:** In the last two decades, computer-aided technologies (Computer Aided Design - CAD) have been established in dental practice. A digital model and design of the future structure are made through them. The boundaries of the prosthetic field are outlined on the digital model, and the prosthetic restoration is modeled. The study of mechanical parameters such as fatigue and impact strength of indirect dental restorations of different materials in the distal parts of the dentition will lead to the creation of recommendations for their optimal application according to the degree of loading in the restoration area and the desired function and aesthetics. The present study aims to determine the fatigue and impact strength of onlay models made of different materials (composite blocks with ceramic particles, lithium disilicate blocks, photo composite for printing, and zirconium ceramics) in a masticatory simulator. **Material and methods.** In this study, dental onlays of different types of materials were prepared (lithium disilicate-gr. A, composite blocks with ceramic particles-gr. B, printed from photo composite-gr. C, zirconium ceramics-gr. D) and subjected to dynamic loading in a chewing simulator (CS-4, SD Mechatronik, Westerham, Germany) for fatigue strength testing. **Results.** A Tukey HSD (Tukey) post hoc test was used, which showed that the means for group A were significantly different from the mean for groups C and D. Group A was not statistically different from group B. **Conclusion.** In the framework of this laboratory study, it was found that the onlays made of zirconium dioxide performed well, followed by the lithium-disilicate ones and those made of a composite material with ceramic particles (Cerasmart). And the printed photopolymer composite material is the most resistant to fracture resistance. Further studies on the mechanical properties of photopolymer composites for printing indirect restorations are needed to complement the results obtained.

**Scientific publications and presentations:**

- Iliev G, Vasileva R, Petrova V, Bozhkovski C, Kirov D, Kirilova J. 3D printed, and CAD/CAM milled indirect restorations from hybrid polymers. Mechanical properties. A Literature Review. *Medinform* 2022;9(3);1535-1543.

**Contract D-110/04.06.2021 A STUDY ON THE APPLICATION OF INDOCYANINE GREEN FOR LIVER FUNCTION ASSESSMENT TO PREDICT THE RISK OF POSTOPERATIVE LIVER FAILURE**

**Research team:** Professor Atanas Stefanov Yonkov, MD, PhD

- Prof. Dimitar Bulanov, MD, PhD
- Assoc Prof. Sasho Bonev, MD, PhD
- Assist. Prof. Elena Arabadzhieva, MD, PhD
- Assist. Prof. Evgeni Zhivkov, MD, PhD
- Assist. Prof. Liliya Simonova, MD, PhD
- Georgi Korukov, MD, PhD student
- Assist. Prof. Zhivko Shavalov, MD
- Prof Dobrin Svinarov, MD, PhD, DMSc
- Assoc Prof Milena Velizarova, MD, PhD
- Assist. Prof. Ivanka Stancheva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of General and Operative Surgery, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia, Department of General and Hepato-pancreatic Surgery, 1 St. Georgi Sofiyski Bul., Sofia 1431, phone: +359 2 9230 650, mobile: +359 888308703

**RESULTS:** Postoperative liver failure (POLF) is one of the most serious complications in abdominal surgery, as its appearance is often associated with an unfavorable outcome. Objective: To investigate the role of Indocyanine Green (ICG) and Indocyanine Green Retention rate (ICG-R15) for assessment of liver function in order to predict the risk of POLF. *Material and Methods:* In 06.2021 – 11.2022, a prospective study was conducted, including 20 patients admitted in University Hospital "Alexandrovska" for malignant liver neoplasms. Liver function was assessed by static biochemical parameters and intravenous ICG administration (0.5 mg/kg), aiming to measure the residual blood concentration at the 15th minute (ICG-R15). The results and the probable correlation with clinico-morphological features were processed statistically. *Results and Discussion:* The study included 13 men (65%) and 7 women (35%) with primary (5) and metastatic (15) liver tumors. 13 minor (<3 segments) and 7 major liver resections were performed. ICG-R15 ranged in 2-40%. Mean T-Bil in patients with abnormal ICG-R15 were higher than those with normal. There is no significant relationship between the other static parameters and ICG-R15. Early postoperative mortality was 0%. Transient POLF (15%) was observed only in patients with elevated ICG-R15 (p=0.001). There is a significant relationship between elevated ICG-R15 and complications. For ICG-R15 >15%, major liver interventions were not undertaken (p=0.001). In the ICG-R15 <15% group, regardless of major resection performed, POLF was not observed. The lack of significant deviations in static liver indicators with marked differences in ICG-R15 clearly shows the need to combine methods for a precise liver function assessment. POLF was rapidly controlled due to consideration of the resection volume in context of ICG-R15. Conclusion: The ICG-R15 is an easy, safe, and valuable tool for assessing liver function and identifying patients at risk of POLF. Additional studies are needed, as the present study is initial for Bulgaria.

**Scientific publications and presentations:**

- Korukov G., Arabadzhieva E., Bonev S., Contemporary for Assessment of Liver Function for Prevention of Postoperative Liver Failure, *Khirurgiia*, 2022, vol. 86, 1: 5-12.
- Elena Arabadzhieva, Sasho Bonev, Dimitar Bulanov, Liliya Simonova, Evgeni Zhivkov, Georgi Korukov, Zhivko Shavalov, Milena Velizarova, Dobrin Svinarov, Atanas Yonkov, Indocyanine green fluorescence liver assessment and imaging-guided resection for colorectal liver metastases, *Acta Medica Bulgarica* 2023;30(1):54-58.

- E. Arabadzhieva, S. Bonev, D. Bulanov, D.Dardanov, G. Korukov, Zh. Shavalov, L. Simonova, E. Zhivkov, D. Svinarov, M. Velizarova, A. Yonkov, Use of Indocyanine Green for liver function assessment and its role in predicting the risk of postoperative liver failure, *Khirurgiia* (accepted for publication)

**Contract D-111/04.06.2021 IDENTIFICATION OF GENE MUTATIONS LEADING TO HEREDITARY CHILDHOOD CATARACT IN BULGARIAN PATIENTS BY NEXT-GENERATION SEQUENCING**

**Research team:** Assoc. Prof. Nevyana Valentinova Veleva–Krasteva, MD, PhD

- Prof. Alexander Oscar, MD, PhD
- Assoc. Prof. Galina Dimitrova, MD, PhD
- Senior Assist Prof. Ognyan Mladenov, MD, PhD
- Assist Prof. Pavlin Kemilev, MD
- Senior Assist. Prof. Vasil Haykin, MD, PhD
- Gabriel Dimitrov, MD – PhD student
- Neda Sergeeva, MD - PhD student
- Kunka Kamenarova, PhD
- Kalina Yonkova Mihova
- Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

**Organization unit:** Medical University - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology; University “Alexandrovska” Hospital, Eye Clinic, 1 “St. George Sofiyski” Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** A retrospective analysis of the medical documentation of all children with cataracts who were treated at the Eye Clinic, University “Alexandrovska” Hospital in the period January 2013 - May 2021 was carried out, as well as prospectively of all cases of childhood cataracts in the period June 2021 - July 2022. A clinico-epidemiological analysis of childhood cataract cases in Bulgaria was carried out. In six patients with hereditary cataracts (syndromic and non-syndromic) a complete ophthalmological examination and genetic examination was performed by next-generation sequencing - with a Trusight One clinical exome targeted sequencing panel for simultaneous analysis of 4,813 genes on the territory of the Genomics Department at the Center for Molecular Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry. There were 5 cases of syndromic cataract and 1 case of non-syndromic, isolated cataract. In cases when variants of unknown significance was identified, a future segregation study will be performed. The results will probably allow us to change classification of these variants to "likely pathogenic, or “pathogenic” and finally to accurate genetic diagnosis and risk assessment in the family. In five patients, the genetic result was the reason for referring them for additional consultations with other medical specialists for diagnosis of undetected pathology, which will improve the treatment process and prevent future complications - hematological, renal pathology, early arthropathies and skeletal deformities, loss of hearing, retinal detachment. The obtained results confirm the need for a multidisciplinary approach in all patients with hereditary cataract and especially in cases where the cataract is manifested in the age before 10 years of age. Any pediatric binocular cataract should be considered "syndromic" until proven otherwise. A thorough and long-term examination of these children is key in view of the fact that cataract is often the first manifestation of syndromic diseases, some of which are life-threatening diseases.

**Scientific publications and presentations:**



- Y. Kaneva, N. Veleva, A. Oscar et al. Pediatric cataract – epidemiological and clinical characteristics. XIV Congress of Bulgarian Ophthalmology Society. Hotel Rila Borovetz.14 – 17.10.2021. Electronic poster

**Contract D-112/04.06.2021 INTRODUCTION OF NEW RADIOPHARMACEUTICAL (68 GA PSMA) TO POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY/COMPUTER TOMOGRAPHY IN PATIENTS WITH BIOCHEMICAL RECURRENCE AFTER RADICAL PROSTATECTOMY**

**Research team:** Assoc. Prof. Valeria Hristova Hadzhiyska MD, PhD

- Assoc. Prof. Krasimir Yanev, MD, PhD
- Asisst. Prof. Alexander Timev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Svetla Georgieva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Nuclear medicine, Radiotherapy and Medical oncology.

**RESULTS:** Purpose: The aim of this study was to prospectively investigate the detection rate of 68 Ga-PSMA PET/CT in biochemical recurrence (BCR) of prostate cancer and its impact on patient management in Bulgaria. Materials and Methods: Two hundred patients with biochemical relapse, defined as PSA level of 0.2 ng/mL or higher after radical prostatectomy were required with 68 Ga PSMA PET/CT. Detection rate, predicting factors for positive scan and subsequent changes in the intended patient management based on the results of 68 Ga-PSMA PET/CT were assessed. Results: One hundred fifty four patients (77%) had radical prostatectomy of whom 40 patients (25%) received salvage radiation therapy due to first biochemical relapse. Forty six out of 200 patients (33%) underwent HDR or EBRT as a primary treatment. One hundred and eleven patients (55%) had previous or concomitant ADT. 68 Ga-PSMA PET/CT was positive in 141/200 patients (70%). The detection rate was 39% for prostate specific antigen (PSA) levels up to 0.5 ng/mL compared with 74 % for PSA levels greater than 0.5 ng/ml (CI 95%). Pathological uptake of 68 Ga-PSMA was observed in 7 (39%) of 18, 17 (45%) of 38, 15 (54%) of 28, 21 (75%) of 28 and in 81(92%) of 88 patients with PSA levels from 0.2 to 0.5 ng/mL, 0.5 to 1.0 ng/mL, 1.0 to 2.0 ng/mL, 2.0 to 5.0 ng/mL, and greater than 5.0 ng/mL, respectively. Significant differences were evident in the PSA value (P<0.001), ADT (P<0.001), ISUP (P<0.03), TNM (P<0.001) and GS (P<0.02), Chi-Square Tests of patients showing uptake versus no uptake on the 68Ga-PSMA PET/CT. In 81 (41%) out of 200 patients, the results caused a definite change in the intended patient management, which have to be switched on to targeted/localized in 54 (27%) and to systematic treatment in 27 (14%) of the patients. Conclusions: The performance of PSMA PET/CT led to a change in therapeutic approach from the initial therapeutic plan in nearly 40% of patients. As a result of the application of the complex hybrid imaging method, the time to detect and prove the cause of the rise in the tumor marker (PSA) after radical prostatectomy (biochemical recurrence) and to make the most correct decision about the therapeutic approach in each individual patient by conducting of a one-time complex study.

**Contract D-113/04.06.2021 ROLE OF VISCERAL ADIPOSE TISSUE AND SKELETAL MUSCLE IN THE PATHOGENESIS OF POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

**Research team:** Antoaneta Gateva, MD, PhD

- Prof. Zdravko Kamenov, MD, PhD, DSci
- Yavor Assyov, MD, PhD

- Plamena Kabakchieva-Georgieva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Insulin resistance (IR) is one of the most confirmed pathogenetic mechanisms in polycystic ovary syndrome (PCOS), where visceral adipose tissue and skeletal muscle play an important role. The aim of the study was to analyze adipokines - zonulin and meteorin-like (Metrl) and myokines - IL-15, myonectin, and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the context of hormonal and metabolic disorders in PCOS. Eighty-eight women were included - 58 women with PCOS and 30 healthy controls. The diagnosis of PCOS was based on the Rotterdam of ESHRE/ASRM criteria. Complete medical history and clinical, anthropometric, biochemical, and hormonal measurements were performed in the follicular phase. Serum levels of adipo- and myokines were measured by ELISA. Patients and controls differed significantly in LH/FSH ratio, all androgens, and hirsutism. Serum levels of zonulin, Metrl, myonectin, and BDNF were similar between them. Women with PCOS had significantly lower IL-15 levels than healthy controls ( $p=0.027$ ). Metrl levels were significantly higher in overweight/obese women than in normal-weight women ( $p<0.001$ ). Multiple linear regression analysis showed that age, BMI, and HOMA-IR predicted Metrl levels among PCOS,  $F(3; 54) = 8.75$ ,  $p<0.001$ ,  $R^2 = 0.327$ , where only HOMA-IR added statistical significance to the model,  $p = 0.001$ . IL-15 negatively correlated with WHR, glycemic, and insulin levels. ROC analysis showed that the AUC for IL-15 was 0.644 and determined 23.5 pg/mL as cut-off levels for differentiation PCOS from healthy women with a sensitivity of 63.3% and specificity of 62.1%. Elevated serum levels of Metrl are associated with several indices for general and visceral obesity, IR, and the proinflammatory marker IL-18 in PCOS. In contrast, IL-15 negatively correlated with hyperglycemia, hyperinsulinemia, IR, and visceral obesity. Its levels were significantly lower in patients than in healthy people and could be a diagnostic marker for PCOS.

**Contract D-114/04.06.2021 THE COVID-19 PANDEMIC AND ITS PSYCHOSOCIAL CONSEQUENCES AS RISK FACTORS FOR EXACERBATION IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE AND ANXIETY DISORDERS IN COMPARISON TO HEALTHY CONTROLS**

**Research team:** Assoc. Prof. Vessela Stoyanova Stoyanova, MD, PhD

- Assist. Prof Rositza Vladimirova, MD, PhD
- Ivayla Ilieva, MD, PhD student,

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Psychiatry and Medical Psychology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Aim: To analyze the effect of COVID-19 on patients with depression and anxiety compared to healthy controls with/without a family history of affective disorder. To identify risk factors for high levels of pandemic stress and determine the extent to which mental illness is a risk factor. Method: The study is cross-sectional, non-interventional, and includes patients with exacerbation and remission of depressive and anxiety disorder in outpatient setting for the period July-October 2020. Socio-demographic and clinical-psychological factors and self-assessment tools for depression and anxiety (HADS-D/A), loneliness (UCLA-LS3), perceived stress (PSS-10), and state and trait anxiety (STAI-S/T) were analyzed. Results: 185 people are divided into 6 groups: major depressive disorder (MDD); major depressive disorder/remission (MDD-R); anxiety disorder (AD); anxiety disorder/remission (ADR); healthy controls (HC); controls/relatives (HC-R). Every second patient with depression has a significant professional dysfunction during the pandemic ( $p=0.036$ ). Patients with MDD and HC-R had significantly more somatic comorbidity ( $p=0.046$ ) and medical concerns ( $p=0.002$ ) associated with COVID-

19. HC-R are the most vulnerable to the increase in situational anxiety associated with COVID-19 compared to trait-anxiety ( $p=0.011$ ). Persons in remission did not differ from controls in PSS-10 levels. ROC curve analysis identified cut-off scores for HADS-D ( $\geq 2.50$ ), STAI-T ( $\geq 38.5$ ), STAI-S ( $\geq 39.5$ ) ( $p < 0.001$ ), and UCLA-LS3 ( $\geq 3, 50$ ) ( $p=0.007$ ), which determine an increase in the risk of moderate/high stress, respectively 2.5; 3.4; 6.5 and 2.4 times. Females and working from home increase the risk by 2.6 and 4 times, respectively. Conclusions: Patients in remission are comparable to healthy controls in the level of perceived stress in COVID-19, which emphasizes the importance of stable clinical remission. The HC-R are the most vulnerable to the growing situational anxiety associated with COVID-19. The levels of depression, anxiety, and loneliness, which have a predictive value for moderate/high stress, decrease significantly compared to those found in the population in non-pandemic conditions and are significant risk factors. The same goes for females and those working from home.

### **Contract D-115/04.06.2021 PANCREATIC EXOCRINE FUNCTION EXAMINATION IN PATIENTS WITH PANCREATIC DISEASES**

**Research team:** Prof. Borislav Georgiev Vladimirov, MD, PhD

- Assist. Prof. Mila Kovacheva-Slavova, MD, PhD
- Assist. Prof. Hristo Valkov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Gastroenterology, University hospital "Tsaritsa Ioanna-ISUL", 8 Byalo more Str., 1527 Sofia

**RESULTS:** Chronic pancreatitis (CP) progression leads to development of pancreatic endocrine (DM) and exocrine insufficiency (PEI) and related complications. Pancreatic exocrine function was assessed by indirect methods in order to diagnose PEI and monitor the effect of pancreatic enzyme replacement therapy (PERT). Pancreatic morphological changes were staged by Cambridge classification. Cardiovascular risk (CVR) was assessed using SCORE and FRS scoring systems, lipid profile and apolipoproteins (apo). 20 patients with CP were included - 14 men, mean age  $65 \pm 14.32$  years. 7 of the patients were taking PERT. 53.85% of the screened patients had PEI, of which 71.43% had grade 4 structural changes. The degree of structural changes correlated with PEI. 42.86% received suboptimal PERT. Type 3 DM was found in 13.33%. There were statistically significant correlations between SCORE and sex, age, diabetes, non-HDL, VLDL, triglycerides, TC/HDL; severity of CP. In contrast to SCORE, in patients with high CVR (FRS), we observed significantly higher apoB levels, lower apoA levels and an increased risk of MI according to ApoB/ApoA ratio. There was no correlation with DM, PEI and morphological changes in CP. Statistically significant higher BMI was observed in patients with high CVR. Dyslipidemia with borderline high and high levels of atherogenic TC/triglycerides/LDL was found in 45%. There was no correlation between lipid levels and PEI, DM and alcohol/smoking. High levels of TC/HDL ratio were observed in 40%. There was no significant difference in the incidence of dyslipidemia and the severity of CP and structural changes. We observed low levels of apoA in 30%. High levels of ApoB had 40%. The risk of MI is high in 50% of men and 40% of women. No correlation between DM and apolipoproteins and lipids was found. Timely verification of PEI in CP in order to address substitution therapy might reduce complications related to the underlying disease.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Yankov, G.S., Keltchev, A.S., Neutov, A.S., Kovacheva-Slavova M.D. Radical Open Resection of Incidentally Discovered Stage IB Synovial Sarcoma of the Diaphragm in a 64-Year-Old Man. *Indian J Surg* (2023). <https://doi.org/10.1007/s12262-023-03794-0>

публикацията е в Impact factor, прилага се удостоверяващ документ от централната медицинска библиотека

- М. Kovacheva-Slavova. Nutritional deficiencies in patients after gastrointestinal resections. Third scientific conference Chronic diseases - pathogenesis, diagnosis, clinic and prevention. May 11-14, 2023, Nessebar

**Contract D-116/04.06.2021 DETERMINATION OF THE DIAGNOSTIC ACCURACY OF CONTRAST-ENHANCED ENDOSCOPIC ULTRASOUND IN COMPARISON WITH STANDARD IMAGING METHODS IN PATIENTS WITH CYSTIC AND SOLID NEOPLASTIC LESIONS OF THE PANCREAS**

**Research team:** Assoc. prof. Branimir Stefanov Golemanov

- Prof. Borislav Vladimirov, MD, PhD
- Stanislav Churchev, MD
- Todor Angelov, MD

**RESULTS:** Objective: To determine the diagnostic accuracy of contrast-enhanced endoscopic ultrasound compared with standard imaging methods in patients with cystic and solid neoplastic lesions of the pancreas. Material and methods: A prospective study included 33 patients with focal pancreatic lesions. All patients underwent EUS and CE-EUS, 20/33 CE-CT and 22/33 MR/MRCP. All patients were hospitalized in Clinic of gastroenterology, Department of gastroenterology, UMHAT "Tsaritsa Yoanna - ISUL", Sofia. The patients were divided in different groups according to the diagnosis from the various imaging studies, comparing the diagnostic accuracy of the different methods to the final diagnosis accepted from the histological results or clinical follow-up. The results were processed on IBM SPSS 20. Results: Our study found a 70% concordance with the final diagnosis when performing CE-CT, 77.3% for MR/MRCP, 79% for conventional EUS and 87.9% for CE-EUS. Therefore, MR/MRCP and conventional EUS have comparable diagnostic accuracy higher than CE-CT, and performing CE-EUS improves the diagnostic accuracy of the method by about 8%. These preliminary results confirm that EUS is the method with the highest sensitivity for detecting pancreatic focal lesions, and performing CE-EUS potentially further improves the diagnostic accuracy.

**Scientific publications and presentations:**

- S. Churchev, T. Angelov, Y. Valerieva, N. Kolev, D. Pejchinov, G. Jeleв, P. Gecov, N. Penkov, B. Korukov, B. Vladimirov. B. Golemanov. Application of endoscopic ultrasound for preoperative diagnosis of subepithelial gastric tumors. XVII national congress of Surgery. Paradise Blue Hotel, Albena, 30 September – 02 October 2021:119-120(9.3)
- S. Churchev, T. Angelov, Y. Valerieva, N. Kolev, D. Pejchinov, G. Jeleв, P. Gecov, N. Penkov, B. Korukov, B. Vladimirov. B. Golemanov. Application of endoscopic ultrasound for preoperative diagnosis of subepithelial gastric tumors. Collection of reports from XVII national congress of Surgery 2021;2:167-172
- Churchev S, Angelov T Vladimirov B, Golemanov. B. Duodenal metastatic malignant melanoma: case report. Br J Hosp Med – ahead of print

**Contract D-117/04.06.2021 RENAL MARKERS DISTINGUISHING INITIAL DIABETIC NEPHROPATHY FROM TRANSITORY MICROALBUMINURIA IN CHILDREN WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS**

**Research team:** Assoc. Prof. Maria Simeonova Gaydarova, MD, PhD

- Assoc.Prof. Radka Hristova, MD, PhD
- D-r Iskra Modeva
- D-r Adelina Tsakova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, SBALDB “Prof. Ivan Mitev”, Endocrinology, diabetes and genetic diseases clinic, Diabetes department

**RESULTS:** Microalbuminuria is the gold standard test used for diagnostic of diabetic nephropathy (DN). However, clinical practice shows that there are some imperfections in the specificity and predictive value of this diagnostic test. New earlier and more specific markers need to be explored. The main purpose of this study is to evaluate the relevance and applicability of urinary nephrine, transferrin, TNF-alpha and collagen type IV as early markers for DN in adolescents with type 1 diabetes. 85 adolescents took part in the study. The urinary markers nephrine, transferrin, TNF-alpha and collagen type IV were evaluated in a spot sample of morning urine. The ratios between these markers and creatinine were calculated. Microalbuminuria (MAU) was assessed in 24-hour urine collection and MAU/creatinine ratio. The level of metabolic control was assessed by measuring glycated hemoglobin (HbA1c) and lipid profile. Patients were divided into 3 groups according to glycemic control: HbA1c <7%; HbA1c 7-9%, HbA1c > 9%. Depending on the presence of microalbuminuria, patients are divided into 2 groups: group with MAU and group without MAU. Non-parametric analysis Kruskal-Wallis test and Wilcoxon signed-rank test were used for statistics. The comparison of the mean values between the groups with different glycemic control revealed a statistically significant difference in the ratios nephrine/creatinine ( $p = 0.013$ ), TNF-alpha/creatinine ( $p = 0.006$ ), collagen type IV/creatinine ( $p = 0.024$ ). The ratios are positively dependent on HbA1c. Comparison of the mean values between the groups - with or without MAU found a statistically significant difference between the groups in the ratios transferrin/creatinine ( $p = 0.002$ ), collagen type IV/creatinine ( $p = 0.002$ ), TNF-alpha/creatinine ( $p = 0.019$ ). The ratios were higher in the patients with microalbuminuria. Evaluated urinary markers showed significant potential to be used as early and specific markers for diagnostic of nephropathy in children with type 1 diabetes.

**Scientific publications and presentations:**

- Modeva, R. Savora, M. Gaygarova Diabetic nephropathy, diagnostic markers, new perspectives. GP news 11/2022

### **Contract D-119/04.06.2021 APPLICABILITY OF A SIMULATOR FOR MINIMALLY INVASIVE RING-ANULOPLASTY OF THE MITRAL VALVE**

**Research team:** Dimitar Ivanov Kyuchukov MD, PhD

- Svetoslav Grigorov Dimitrov MD, PhD
- Stanislava Vasileva Stoycheva MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Cardio-Vascular Surgery and Invasive Cardiology, University Hospital “St.Ekaterina”, 52A P. Slaveykov Blvd., 1431 Sofia

**RESULTS:** Introduction: Postoperative results of mitral valve repair are directly related to quality of the surgical technique and training curve. Based on these, the Department of Cardiovascular Surgery and Invasive Cardiology chose and, thanks to the Medical University of Sofia, acquired a simulator for minimally invasive mitral valve surgery, developed at the University of Maastricht, Netherlands. Aim: The aim of this project is to determine the relevance of the Simulator for the acquisition of reproducible skills to perform mini-invasive ring-annuloplasty of mitral valve. Materials and Methods: The subjects of the study are 20 surgeons. According to their qualifications the participants were divided into two groups.

Group 1 – 10 surgeons, who are experienced specialists. Group 2 – fellows in surgery. The Man-Whitney U test was used for statistical comparisons of the results between the two groups. In order to assess the progress in each of the groups, an additional comparison was made, using analysis of variance (ANOVA). The statistical calculations were performed using the software of the SPSS Statistics program 28.0.1. The value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant. Results: Initial results showed a significant difference between baseline levels of the groups (Mean score  $\pm$  SD;  $3.2 \pm 0.91$  in the group 1 vs.  $2.0 \pm 0.81$  in group 2;  $p = 0.015$ ). After the acquaintance session and two hours training with the simulator, statistical analysis presented no significant difference between two groups at second and third time points: ( $4.3 \pm 0.82$  vs.  $4.0 \pm 0.66$ ;  $p = 0.624$  and  $4.1 \pm 0.56$  vs.  $4.0 \pm 0.47$ ;  $p = 0.764$ ). Conclusion: The use of a simulator to acquire skills in the introduction of new methodologies and techniques is justified. The project documents the proposed training methodology as having the required qualities for introduction into the system of specialization.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Kyuchukov D, Dimitrov Sv, Stoycheva St, et al. Commissioning of simulation learning for minimally invasive ring-annuloplasty of the mitral valve. *Bulgarian Thoracic, Cardiac and Vascular Surgery*. 2022;1(5):64-5.
- Кючуков Д, Димитров Св, Стойчева Ст, Въвеждане на Симулационо обучение за минимално инвазивна ринг-анулопластика на митралната клапа. Девети конгрес на Българската асоциация по Гръдна, Сърдечна и Съдова Хирургия. Варна, България. 13-15.05.2022.

#### **Contract D-120/04.06.2021 INFLUENCE OF THE SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM, CATECHOLAMINES AND THEIR REGULATOR RENALASE ON THE DEVELOPMENT OF POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND ITS CLINICAL MANIFESTATIONS**

**Research team:** Assoc. Prof. Ralitsa Nikolaeva Robeva, MD, PhD

- Assoc. Prof. Atanaska Elenkova, MD, PhD
- Ivayla Uzunova
- Nikolina Arnaudova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Endocrinology, USHATE “Acad. Iv. Penchev”, First Clinic, 2, Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The effects of the sympathetic nervous system and catecholamines in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) have not been studied. Therefore, the present project aims to investigate the role of catecholamine metabolites - metanephrine (MN) and normetanephrine (NMN), their regulating enzyme called renalase, as well as neural growth factor 1 (NGF1) for the development and clinical manifestation of PCOS. A total of 51 patients with PCOS and 30 healthy volunteers were included in the study. Anthropometric, biochemical, and hormonal data were collected from all participants. Plasma and urinary MN and NMN levels, serum renalase, and NGF1 levels were compared between the two groups of women. The results showed significantly higher plasma NMN levels in patients with PCOS compared with healthy controls, but no differences in urinary metabolites. NGF1 levels were also significantly increased in patients with PCOS compared to healthy volunteers. Elevated plasma NMN levels have been found to be a significant risk factor for the development of PCOS, menstrual disorders, and hirsutism. Lower levels of urinary MN were a significant risk factor for chronic anovulation in young women. Plasma NMN levels correlated with NGF1, anti-Mueller hormone, luteinizing hormone, prolactin, and 17-hydroxyprogesterone levels. In the group of women with PCOS,

those with higher blood pressure showed significantly lower reninase levels compared to women with lower blood pressure. In conclusion:

- PCOS is a syndrome associated with severe sympathicotonia and elevated plasma NMN and NGF1 levels regardless of the specific phenotype;
- increased plasma NMN and NGF1 levels are associated with increased secretion of LH and prolactin, which may modulate steroidogenesis;
- reninase levels modulate blood pressure in patients with PCOS;
- these results may affect therapeutic approaches in women with PCOS and hypertension.

**Scientific publications and presentations:**

- Robeva R, Arnaudova N, Kirilov G, Elenkova A, Zacharieva S. Metanephrine and Normetanephrine Urine Excretion in Patients with PCOS. *Acta Medica Bulgarica* 2022; 49(2):5-10.
- Robeva R, Elenkova A, Kirilov G, Zacharieva S. Plasma-free metanephrines, nerve growth factor, and reninase significance in patients with PCOS. *Endocrine*, 2023, <https://doi.org/10.1007/s12020-023-03404-9>

**Contract D-121/04.06.2021 CHANGES OF BONE MINERAL DENSITY IN PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS**

**Research team:** Prof. Roussanka Dimitrova Kovatcheva, MD, PhD

- Assoc.Prof. Alexander Shinkov, MD, PhD
- Inna Yankova, MD, PhD Student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Endocrinology, USHATE “Acad. Ivan Penchev”, Third Clinic of endocrinology, Zdrave 2 Str., Sofia, 1431, phone number: +359 2 895 6222

**RESULTS:** Aim: To compare the bone mineral density (BMD) in primary hyperparathyroidism (PHPT) with and without autoimmune thyroiditis (AT) as well as those with AT only; to determine the impact of the two diseases, together and separately, on bone metabolism. Material and methods: Two hundred fifty-one patients with confirmed PHPT were admitted at USHATE for the project period. Seventy of them were included in the project - 35 with PHPT only and 35 with PHPT and AT. Two control groups were defined: 20 with AT and 21 subjects without PHPT and AT. Serum markers of calcium-phosphate metabolism, BMD of lumbar spine (BMD L1-L4) and BMD of distal third of radius (BMD DR) were measured. Results: The prevalence of AT among the subjects with PHPT was 38.2% (95% CI 33-43%) and did not differ significantly from that in the general population, 32.5% (95% CI 30-35%),  $p = NS$ . Age, BMI, markers of calcium-phosphate metabolism and BMD were not significantly different in PHPT with and without AT or between the two control groups ( $p > 0.05$ ). The BMD L1-L4 and BMD DR were significantly lower in patients with PHPT compared to controls ( $0.97 \pm 0.14$  vs  $1.06 \pm 0.16$ ,  $p = 0.002$  for BMD L1-L4 and  $0.55, 0.44 - 0.61$ , vs  $0.59 \pm 0.07$ ,  $p = 0.003$  for BMD DR). The BMD L1-L4 and BMD DR correlated negatively with serum calcium and PTH ( $p < 0.001$ ). No relationship was found between BMD and the concomitant AT. Conclusion: All patients with PHPT had a lower BMD. Concomitant AT has no effect on BMD in patients with PHPT. There was no evidence of an association between PHPT and AT. Further research is necessary to further clarify the problem.

## Medico-social area 2020

### **Contract D-108/24.06.2020 BARRIERS FOR ACCESS TO DENTAL HEALTH RELATED TO PATIENT AND THEIR IMPACT ON DENTAL HEALTH**

**Research team:** Assoc. Prof. Boyko Kostov Bonev, DMD, PhD

- Assist. Prof. Stanislav Nenov, DMD, MPH
- Assist. Prof. Petar Bozhinov, DMD, PhD
- Assoc. Prof. Nikolai Hristov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental medicine, Dept. of Dental Public Health, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** National epidemiological study of people aged 18-65 years is conducted and 416 people from six district cities are examined. The aim of the research is to study the main barriers for access to dental care, dental and periodontal status of patients, and relations between them. The prevalence of dental caries ( $E_T$ ) is 52.7% and the intensity (DMF) is 16. Affected by caries (D) are 11.13% of the examined teeth, with an average of 3.4 carious teeth per patient. The percentage of extracted teeth (M) is 9.24%, with an average of 2.4 extracted teeth. A total of 9.95 teeth per patient were treated (F), and 32.3% of teeth underwent dental treatment. Less carious and extracted teeth are observed in people who visit dental office regularly. Periodontal pathology is found in 83.65% of the patients. It is more severe in the lower frontal area, while healthy periodontium is registered mainly in the upper jaw with a predominance in the frontal area. The main barriers for access to dental health are related to patients (67.09%). The main of them is lack of subjective complaints (31.21%), followed by psychosocial factors as lack of time (17.8%) and fear of dental manipulations (16.67%), and the cost of treatment (15.54%). More than one barrier is reported by 46.15% of patients. Patients who indicate the cost and previous bad experience as barriers have more carious teeth. The results of the study show that: the unsatisfactory state of the dental health of the Bulgarians indicates the need of development of national health strategy for its improvement with focus on the prevention of dental and periodontal diseases. It is necessary to increase the health culture of the population and actively use the principles of health promotion in order to reduce the impact of barriers to access to dental care.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Nenov St, Bonev B, Bozhinov P, et al. Barriers for access to dental services related to patients and their impact on dental health (pilot study). Problems of dental medicine. 2020; 46(2):52-9
- Nenov St, Bonev B, Bozhinov P, et al. Dental Status of Active Age Population in the Republic of Bulgaria. C. R. Acad. Bulg. Sci. 2022;75:612-9.

### **Contract D-125/24.06.2020 MEASURING THE HEALTH LITERACY OF THE POPULATION AND ORGANIZATIONS IN THE REPUBLIC OF BULGARIA**

**Research team:** Prof. Antoniya Yordanova Yanakieva, PhD

- Prof. Karolina Lyubomirova, MD, PhD
- Prof. Tzvetomir Dimitrov, MD, PhD
- Assoc. prof. Alexandrina Vodenicharova, PhD
- Assist. prof. Elisaveta Petrova – Geretto, PhD
- Assist. Prof. Kremena Ivanova
- Assoc. prof. Todor Kundurdjiev, PhD



**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Public health, “Prof. Tzecomir Vodenicharov, MD, DSc”

**RESULTS:** Many Europeans find it difficult to judge different treatment options, to use media information to prevent illness and to find information on how to handle mental problems, as was shown by the results of the second European Health Literacy Study in 17 European countries. Ten years after the first European Health Literacy study (HLS-EU) in eight EU countries, the results of the second European Health Literacy Study (HLS19) are now available, based on experiences from 42,445 respondents in 17 countries in the WHO European region. The included countries are Austria, Belgium, Bulgaria, Czech Republic, Denmark, France, Germany, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Norway, Portugal, Russian Federation, Slovakia, Slovenia, and Switzerland. Using newly developed and validated measurement tools, the study focused on General health literacy as well as specific types of health literacy such as Navigational health literacy, Communicative health literacy with physicians, Digital health literacy, and Vaccination health literacy. Moreover, health literacy and health-related quality of life was analyzed in relation to health costs. Main results of the study are:

- Between 25%-72% of respondents were identified as having health literacy challenges, thus, depending on country, between one in four to three in four residents have limited health literacy.
- Concerning Navigational health literacy, participants found it most difficult understanding information on health care reforms, judging the suitability of health services, finding out about patients’ rights, and judging the extent of health insurance coverage.
- With regards to Communicative health literacy, getting enough time from physicians and expressing personal views and preferences were pursued most difficult. Moreover, participants with lower health literacy were found to have more contacts with GPs/family doctors and emergency services.

**Scientific publications and presentations:**

- Jürgen M. Pelikan (International PI), Christa Straßmayr (Coordination), Thomas Link, Dominika Mikšová, Peter Nowak; Austria: Robert Griebler, Christina Dietscher; Belgium: Stephan Van den Broucke, Rana Cheruffedine; Bulgaria: Antoniya Yanakieva, et al: International Report on the Methodology, Results, and Recommendations of the European Health Literacy Population Survey 2019-2021 (HLS19) of M-POHL, Dec 2021

**Contract D-126/24.06.2020 STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF AN INNOVATIVE MODULE FOR INCREASING THE COMPETENCE FOR ASSISTANCE IN EMERGENCIES AMONG STUDENTS OF THE MEDICAL COLLEGE "J. FILARETOVA**

**Research team:** Prof. Maya Lyubomirova Vizeva, PhD

- Assoc. Prof. Maya Lyapina, MD, PhD
- Nikolai Hubanov, MD, PhD
- Elena Georgieva, PhD
- Assoc. Prof. Doncho Etugov, MD, PhD
- Assist. Prof. Kamelia Bogdanova, PhD
- Maria-Magdalena Petrova
- Petar Ivanov

**Organization unit:** MU - Sofia, Medical College “Yordanka Filaretova”

**RESULTS:** The constant updating of curricula, the development and implementation of innovative modules and training schemes in relation to the readiness of healthcare professionals to provide emergency care is currently essential, given the possible public health emergencies. The aim of the study included two main aspects: assessment of theoretical knowledge and practical skills for emergency medical care at the beginning of the study; development and application of an innovative module in training and evaluation of its effectiveness. For the initial assessment of theoretical knowledge and practical skills of the students, a survey was conducted among 84 third-year students of medical laboratory technician, X-ray laboratory technician and rehabilitator. Appropriate models and medical supplies were purchased for the development and subsequent application of the innovative method in the training for the acquisition of new practical and manipulative skills. The effectiveness of the module was evaluated by analyzing the summarized data from an anonymous survey regarding the degree of satisfaction of the participants in the training. The surveyed students unanimously stated that it was very useful, as 94.3% of them expressed their full satisfaction with it, showed great interest in the module and expressed their wish such training to be conducted more often during the course of their education in the College. The students also made some practical recommendations regarding updating and supplementing the curricula for pre-medical care and patient care, with main emphasis on the need for more practical classes, especially in relation with the mastery of injection techniques. The performed activities for the development and implementation of the innovative training module enriched the range of applied practical approaches and manipulative techniques and increased the effectiveness of the approaches for risk reduction in emergencies requiring life-saving measures.

**Scientific publications and presentations:**

- Vizeva M, Savova Z, Lyapina M, et al. Training of students from health care professional field with college education for participation in emergency care providing. Health and Science, 2020; 1-2: 9 -12.
- Lyapina M, Savova Z, Georgieva E, et al. Study of the effectiveness of the application of an innovative module for increasing the competence in assistance in emergencies among students of the Medical College "J. Filaretova". Health and Science, 2021, 1-2, p. 51-55

**Contract D-127/24.06.2020 COMPARATIVE EVALUATION OF THE CONTENT OF ANTIOXIDANT POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN MEDICINAL PLANTS, THEIR FRUITS AND FOOD SUPPLEMENTS**

**Research team:** Assoc. Prof. Silvia Parashkevova Tsanova-Savova, PhD

- Assoc. Prof. Stefan Velikov, PhD
- Pepa Nikolchova
- Slaveyka Paneva, PhD
- Petya Koleva
- Assoc. Prof. Doncho Etugov, MD, PhD

**Organization unit:** Medical University – Sofia, Medical College “Yordanka Filaretova”, 3 St. Y. Filaretov, Sofia 1606

**RESULTS:** The aim of the study is a comparative evaluation of the antioxidant polyphenolic composition in Bulgarian medicinal plants, their fruits and food supplements thereof, by determining their degree of similarity. In the present study, 18 different Bulgarian medicinal plants (stem, flower, leaf or fruit) and 5 types of food supplements were studied. Total phenols and flavonoids were determined by spectrophotometric methods with Folin-Chocalto and

aluminum trichloride reagent, respectively. To determine the flavonoids - catechin, epicatechin and rutin, a HPLC method with PDA detection was developed and validated. A comparative characterization of the selected medicinal plants, fruits and food supplements was performed by applying calculation methods and cluster analysis. The results of the aqueous extracts of fruits and drugs show highest content of total phenolic compounds in hawthorn, flower - 191.35 mg GAE/100 ml, rose hips, fruit - 166.5 GAE/100 ml and St. John's wort, stalk - 103.61 GAE/100 ml. Total flavonoids content is highest in hawthorn, flower (178.31 mg RE/100 ml), followed by rose hips, fruit (85.45 mg RE/100 ml) and oregano, stalk (78.16 mg RE/100 ml). The data show that the flowers and fruits of black elderberry are the richest source of rutin in the selected plants. Among dietary supplements, black elderberry syrup containing a standardized extract of *Sambicus nigra* is the richest source of total phenols and total flavonoids, and a food supplement containing mint, hawthorn and valerian has the highest rutin level. The results show that hawthorn flower infusions have the highest polyphenols values, forming a separate cluster in the hierarchical cluster analysis. Among fruits, there is no single leader for total phenols and total flavonoids content. The assessment of the degree of similarity of the polyphenolic content of medicinal plants and their fruits provides quantitative data that can be used to develop effective antioxidant plant combinations.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Nikolchova P, Koleva P, Tsanova-Savova S, Paneva SI, Velikov K, Etugov D. Polyphenols in Bulgarian Medicinal Plants. Informational Material, Sofia, 2021.
- Koleva P, Paneva SI, Tsanova-Savova S. Phenolic content in infusions and decocts of Bulgarian Medicinal Plants. Proceedings of 19<sup>th</sup> National Scientific Session, Medical University – Pleven, Medical College Pleven, 28-29.10.2021. ISBN 978-954-756-266-0, 123-130.
- Tsanova-Savova S, Koleva P, Paneva SI, Nikolchova P. The antioxidant Rutin in Bulgarian Medicinal Plants. Presentation Forum of Medical College Yordanka Filaretova – Sofia, International Exhibition Bulmedica, Buldental, Inter Expo Center – Sofia, 2-4.06.2021.
- Tsanova-Savova S, Nikolchova P, Paneva SI, Koleva P. Antioxidant effect of medicinal plants. Zdrave i nauka. 2020, X, 3-4 (039-040):25-31.
- Paneva S, Tsanova-Savova S, Velikov S, Total Phenolic and Total Flavonoids Content of Bulgarian Medical Plants, Abstracts Book, 4th International Conference on Innovative Studies of Contemporary Science. July 29-31, 2021. Tokyo, Japan.
- Koleva P, Tsanova-Savova S, Paneva S, Velikov S, Savova Z, Polyphenols content of selected medicinal plants and food supplements present at Bulgarian market. Pharmacia, 2021, 88(4):819-826.

#### **Medico-social area 2021**

#### **Contract D-107/04.06.2021 STUDY OF RESPIRATION IN WOMEN OF WORKING AGE (18-64 YEARS) IN THE FIELD OF HEALTH CARE**

**Research team:** Prof. Galina Stamova Tchaneva

- Assoc. Prof. Pepa Bikova-Ivanova, PhD
- Assoc. Prof. Deliana Hadjideleva, PhD
- Assoc. Prof. Daniela Gavrailova, PhD
- Assoc. Prof. Aleksandrina Vodenicharova, PhD
- Assoc. Prof. Milena Iancheva-Stoicheva, PhD

- Assist. Prof. Snejina Lazova, PhD
- Assoc. Prof. Neli Gradinarova, PhD
- Assoc. Prof. Julieta Gerenova, PhD
- Assoc. Prof. Anushka Dimitrova, PhD
- Assist. Prof. Kamelia Bogdanova, PhD
- Assist. Prof. Tania Angelova, PhD
- Assist. Prof. Borianna Simeonova, PhD
- Antoaneta Dimitrova, PhD
- Galia Zaiakova, PhD student
- Marin Marinov, PhD student
- Assistant Dimitrina Milikina PhD student
- Assistant Iliana Sokolova PhD student
- Margarita Stanoeva
- Krustina Terzieva, student
- Margarita Stoichkiva, student
- Katrin Licheva, student
- Melani Voleva, student
- Dilianna Nikova-Pejcheva, student
- Borislav Petrov, student
- Eduarda Ivanova, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Public Health "Prof. Dr. Tsekomir Vodenicharov, DSc"

**RESULTS:** The aim of the study is to conduct a study of respiration by spirometry and to analyze some factors that affect the state of the respiratory system. The study included students from the Faculty of Public Health "Prof. Dr. Ts. Vodenicharov, MD; health care professionals from the medical institutions of Sofia and from the structures of the Sofia Municipal Health Care. The methods used are spirometry, anthropometric surveys and statistical analyses. A functional study of respiration was performed - using a spirometer - Minispir, analyzing some of the indicators of respiration - forced vital capacity FVC\_Pred%, forced expiratory volume for the first second of expiration FEV1\_Pred% and coefficient of Tiffneau represented by FEV1 / FEV1 / FEV%. The somatic parameters of the subjects (weight, height, body mass index) and some of the risk factors such as smoking, Covid-19 and respiratory complications were analyzed. Analyzing the spirometry curve, it was found that 72.20% in the green zone, 26.20% in the yellow zone and 1.6% in the red zone. The society of nurses, midwives and other health care professionals are of a number of risk factors that lead to a negative impact on the state of the respiratory system, and hence on their ability to work. Overweight in health care women increases with age. Smoking is widespread among medical professionals, which requires the introduction of programs aimed at limiting this risk factor for the respiratory system. A significant proportion of healthcare professionals have suffered from COVID-19, and many have respiratory complications. In order to prevent even more serious lung damage, it is necessary to develop and quickly implement programs for preventive care and rehabilitation for all professionals who have suffered from coronavirus infection, regardless of the severity of its course.

**Scientific publications and presentations:**

- G. Tchaneva, K. Bogdanova, D. Milikina. Influence of certain of factors on the respiratory system at the health care professionals. International Journal MEDIS, Vol1, № 2, 2022.

- Hadzhideleva D., S. Lazova, M. Yancheva-Stoycheva, D. Gavrailova, K. Bogdanova. Functional examination of respiration for health care professionals as a guarantee for maintaining their ability to work and health. Health Care, issue 2, 2022 (in print).
- Tchaneva, G., P. Bikova-Ivanova, Milena-Yancheva Stoycheva, I. Sokolova, J. Gerenova. Necessity of promotional and prevention programs for healthcare professionals to preserve and improve breathing. Health Care, issue 2, 2022 (in print).
- Bikova-Ivanova, P., D. Gavrailova, K. Bogdanova, I. Sokolova, M. Stoichkova. Competences of students in nursing specialty regarding the functional examination of respiration. Nursing journal, 3, 2022 (in print).
- Chaneva G., D. Hadzhideleva, A. Dimitrova, S. Lazova, K. Bogdanova. Effect of Covid-19 - infection on the respiratory system for women in the field of health care. Nursing journal, 3, 2022 (in print).

**Contract D-109/04.06.2021 VIDEO ALGORITHMS AS A MEANS TO IMPROVE THE QUALITY OF HEALTH CARE EDUCATION IN AN ELECTRONIC ENVIRONMENT**

**Research team:** Prof. Pavlinka Petkova Dobrilova, MD

- Assoc. Prof. Galya Yankova, MD
- Assoc. Prof. Kalina Stefanova, MD
- Ch. Assistant Professor Tsvetanka Dzhiganska, MD
- Assist. Lyubomir Marinov, MD
- Silvia Petrova, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Branch "Prof. Dr. Ivan Mitev" c. Vratsa

**RESULTS:** The research established the applicability of video algorithms in the educational process, which leads to improving the quality of healthcare education and helps to build psychomotor skills and professional competence of students trained in electronic environment. Video algorithms meet the new educational needs that arise in the conditions of hybrid learning and are of key importance for the quality of the learning process. The use of video algorithms in conducting practical exercises for dressing techniques leads to increased levels of knowledge acquisition and the formation of manipulative skills and allows students to work independently, which is especially suitable for conducting training in an electronic environment. It has been proven that the introduction of video algorithms in the educational process leads to improving students' skills and increasing their satisfaction with practical training, which is a prerequisite for better-prepared and well-trained healthcare professionals in the field of health care. The developed video algorithms for dressing techniques are implemented in the teaching of the subjects "Nursing care for patients with surgical diseases", "Special care for pregnant women and mothers with surgical diseases" and "Desmurgia" of students majoring in "nurse", "midwife" and "Medical Assistant" in the Branch "Prof. Dr. Iv. Mitev", Vratsa at the Medical University - Sofia.

**Scientific publications and presentations:**

- Pavlinka P. Dobrilova, Galya T. Yankova, Analysis of the need to introduce video didactic materials in health care education, International Scientific Publications: Education, Research and Development , 2021, Volume 19, ISSN 1314-7277, www.sciencebg.net, 108-114
- Galya T. Yankova, Pavlinka P. Dobrilova, Role and place of video algorithms in teaching bandaging techniques, International Scientific Publications: Education, Research and Development , 2021, Volume 19, ISSN 1314-7277, www.sciencebg.net, 403-410

- Dobrilova, P. Yankova, G., Video algorithms as a means to increase the practical skills of students in the professional field of "Health Care", *Nursing*, 2022, 54(2): 3-8
- Yankova, G., Dobrilova, P., Educational video algorithms - a new paradigm in the teaching of dressing techniques to health care students, *Nursing*, 2022, 54(2): 31-38
- Dzhiganska, Tsv, Stefanova, K., Studying the Attitudes of Students for Desmorgia Education through Video Films, Fifth Jubilee Scientific Conference with International Participation "Contemporary Challenges to Health Care", Proceedings, Vratsa, ISBN 978-619-7491-49- 4, CMB, MU - Sofia, 2021, 131-134
- Yankova, G., Dobrilova, P., E-learning - a challenge for health care students during a pandemic, Fifth Jubilee Scientific Conference with International Participation "Contemporary Challenges to Health Care", Proceedings, Vratsa, ISBN 978-619- 7491-49-4, CMB, MU - Sofia, 2021, 135-140

## GRANT „YOUNG SCIENTIST’ 2020,,

### Medico-biological area 2020

#### **Contract D-74//24.06.2020 GENETIC FACTORS INFLUENCING THE AGE AT ONSET OF THE DISEASE IN PATIENTS WITH TRANSTHYRETIN AMYLOIDOSIS IN THE BULGARIAN POPULATION**

**PhD student:** Zornitsa Nikolova Pavlova

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc and Prof. Albena Todorova-Georgieva, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Hereditary transthyretin amyloidosis (ATTR) is an autosomal dominant genetic disease caused by pathogenic variants in the *TTR* gene. They cause the accumulation of amyloid fibrils in various tissues, leading to multisystem disease manifestation. Neurological, cardiac, or mixed involvement are observed in patients with different pathogenic variants, but differences in the clinical manifestation are observed even within the same population of the same pathogenic variant. Within the present study, 124 DNA samples of carriers of the endemic for Bulgaria Glu89Gln *TTR* variant were analyzed. The aim was to study 8 single nucleotide polymorphisms with a proven effect on the age at onset of the disease in a European population of Val30Met ATTR patients. The selected polymorphisms were examined by direct Sanger sequencing and the results were used for statistical analysis. Genotype-phenotype correlation was studied in the context of the age at onset and the initial system involvement. The statistical significance of the hypothesis was tested by applying the Chi-square method implemented in the SPSS analysis software. At an alpha level of significance of 0.05, no correlation was found in any of the tested models: correlation at early onset under 40 years and under 50 years, as well as correlation with the initial system involvement. The theoretical haplotype was reconstructed on the basis of the studied polymorphisms using the Arlequin v.3.01 software. The results showed that 75% of the chromosomes had the same theoretical haplotype, which supported the initial data on the founder effect. The obtained results show that the heterogeneity in the clinical manifestation of ATTR patients, carriers of the most common for Bulgaria variant Glu89Gln still cannot be explained. Identifying the basis for differences in clinical manifestations remains key to the prediction and genetic counseling of families with proven ATTR pathology.

#### **Contract D-77//24.06.2020 EXPERIMENTAL NUTRITIONAL MODULATION OF THE EXPRESSION OF GENES FROM THE INSULIN SIGNAL PATHWAY**

**PhD student:** Ivelina Dimitrova Mihaleva

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Pavlina Gateva and Prof. Ivanka Dimova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pharmacology and Toxicology, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Ketogenic diet (KD) is a low-carbohydrate, high-fat diet used for different health-related effects. It has positive effects on cardiovascular parameters, affects body adiposity and improves features of metabolic syndrome in humans. Although studies evaluating the efficacy and metabolic effects of KDs have increased in recent years, the effects of macronutrient-

controlled diets remain controversial. On the other hand there are many studies that prove the effect of vitamin D on the insulin sensitivity. The objective of our study was to analyse the expression levels of genes, related to insulin secretion, in pancreas of mice. Materials and methods: The mice were divided in 4 groups (n=10) and fed with: KD, given vitamin D, supplemented with both KD and vitamin D and controls for 1 month.. After 1 month, RNA was isolated from pancreas and after reverse transcription, the following genes were analysed by real-time PCR: INS (coding insulin), GCK (coding glucokinase), ABCC8 and KCNJ11(coding the two subunits of the ATP-sensitive K-channel SUR1 and Kir6.2). Some biochemical parameters were also studied, as well as the activity of histone deacetylase in each of the groups. Results: Animals in each group statistically significantly increased their weight ( $p < 0.001$ ). Compared with the control group, all three treated experimental groups showed significantly lower weight after the first month ( $p < 0.001$ ). We established a significant decrease in the pancreatic expression levels for all genes, especially insulin gene, after KD; supplementation with both KD and vitamin D increases the transcription levels of Insulin gene in the pancreas about 3 times, not reaching the basal levels; Vitamin D supplementation significantly increases the transcription levels of Insulin gene in mouse pancreas. Histone deacetylase showed lower values in the groups treated with keto diet, with or without vitamin D supplementation ( $p < 0.01$ )

Gene	Relative pancreatic expression (RQ)
<i>Ins1</i>	0.24
<i>ABCC8</i>	0.21
<i>KCNJ11</i>	0.32
<i>Gck</i>	0.54

#### Scientific publications and presentations:

- Mihaleva I., Kyurkchian S., Strokova - Stoilova M. et al. Changes in The Expression of Insulin Gene After Ketogenic Diet and Supplementation with Vitamin D. *Endocrinologia*. 2021;2:98-104.

#### **Contract D-87/24.06.2020 SYNTHESIS OF 1,3,4-OXADIAZOLE DERIVATIVES AND IN VITRO EVALUATION OF THEIR POSSIBLE NEUROPROTECTIVE AND MAO-B INHIBITOR ACTIVITY**

**PhD student:** Valentin Rosenov Karabelyov

**PhD supervisor:** Assoc. prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD and Assoc. prof. Violina Stoyanova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of pharmacy, Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology, Dunav Str. 2, Sofia.

**RESULTS:** In this project, we were synthesized and studied the effects of 14 newly synthesized compounds (1,3,4-oxadiazole derivatives and aroylhydrazones derivatives). Their neuroprotective effect are investigated after administration alone and in combination with 6-OHDA-induced neurotoxicity on isolated rat brain synaptosomes. MAOB inhibitory potential was also studied. The compounds were synthesized by a one-step reaction between acid hydrazides and carboxylic acids, using phosphorus oxychloride ( $\text{POCl}_3$ ) as a dehydrating agent (3a-3g) and appropriate carbaldehydes and hydrazides (5a-5g). The exam parameters, which characterized functional-metabolic activity of the synaptosomes, were: synaptosomal viability and level of reduced glutathione (GSH), as well as fluorimetric measurement of MAOB activity. From the group 3a-3g, the compounds 3a and 3d did not demonstrate any neurotoxic effects. They didn't change the synaptosomal viability and GSH level. The substituents on position 2 of the 1,3,4-oxadiazole ring as 4-chlorophenyl in 3a and 3-indolyl in 3d significantly



decrease neurotoxicity and revealed good MAOB inhibitory activity. Only 3a and 3d demonstrated good neuroprotective effect in a model of 6-OHDA-induced oxidative stress. The other compounds from 5a-5g, changed the exam parameters as follows: synaptosomal viability between 15-20 % and GSH level – between 25-30 %, compared to the control (non-treated synaptosomes). They didn't show any MAOB inhibitory activity. All the compounds revealed good statistically significant neuroprotective effect in a model of 6-OHDA-induced neurotoxicity. As molecules with potential neuroprotection and MAOB inhibitory activity are emerging compounds 3a and 3d.

**Scientific publications and presentations:**

- Karabelyov V, Kondeva-Burdina M, Angelova VT, Synthetic approaches to unsymmetrical 2, 5-disubstituted 1, 3, 4-oxadiazoles and their MAO-B inhibitory activity. A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2021, 29, 115888. Impact factor 2020 – 3.073
- Karabelyov V, Stoyanova V, Kondeva-Burdina M, *In vitro* effects of newly synthesized 1,3,4-oxadiazole derivatives, administered alone, on isolated rat brain synaptosomes. Third Scientific Conference ‘Neurosciences – from the Theory to the Experiment And Practice’, Bachinovo, Bulgaria, 23-25.10.2020, (30).

## Medico-biological area 2021

### **Contract D-124/04.06.2021 ROLE OF HERPES SIMPLEX VIRUS 1/2 (HSV1/2) INFECTION, AS CO-FACTOR FOR INCREASED RISK OF AGGRESSIVE CLINICAL PROGRESSION OF PROSTATE CARCINOMA IN BULGARIAN PATIENTS AFTER RADICAL LAPAROSCOPIC PROSTATECTOMY**

**PhD student:** D-r Svetoslav Plamenov Marinov;

**PhD supervisor:** Prof. Krassimir Prodanov Yanev MD and Prof. Marincho Ivanov Georgiev MD;

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine Dept. of Urology

**RESULTS:** Prostate cancer (PCa) is the second most common cancer among men with the global trend being an increase of up to 79% in diagnosed patients by 2040. In Bulgaria, PCa ranks first among oncological diseases of the genitourinary system (incidence 259 per 100,000 people). Prostate cancer is a polyetiological disease. The role of viral prostate infection has been the subject of numerous scientific studies. The aim of the study was to investigate the role of prostate tissue infection with Herpes Simplex Virus 1 and 2 (HSV1 / 2) in combination with certain clinical and histopathological factors associated with an increased risk of aggressive clinical course of PCa. Thirty radical laparoscopic prostatectomies were performed over a period of about one year. The cohort of patients was monitored by age, PSA, Gleason score (GS), TNM stage of the disease. Tissue samples were taken from the removed prostate after radical prostatectomy by Tru-cut biopsy. DNA isolation followed and specific PCR was performed for the HSV1 / 2 viral genome in prostate tissue. As HSV1 / 2 infection in prostate tissue was not identified within the limited cohort, a comparative analysis was performed against a series of patients with proven HSV1 / 2 infection and PCa from another study. A comprehensive comparative analysis showed that the presence of HSV1 / 2 infection correlated with a higher PSA value: 37.3 ng/ml versus 18.01 ng/ml, worse distribution of GS (HSV 1/2 (-) versus HSV 1/2 (+)): GS-6 3.3% vs. 0%; GS-7 73.3% against 62.5%; GS-8 10% against 12.5%; GS-9 13.3% vs. 25%) and T-stage: stage  $\leq$  T3 100% vs. 87.5%; stage T4 0% vs. 12.5%. No statistically significant difference was found in the mean age: 66 versus 68.9 years. Viral genomes of CMV and HHV7 were isolated as an additional finding in two patients.

### **Contract D-125/04.06.2021 MOLECULAR-GENETIC BASIS OF HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY IN BULGARIA**

**PhD student:** Petya Plamenova Angelova

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc and Prof. Albena Todorova-Georgieva, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical chemistry and biochemistry, Section "Biochemistry"

**RESULTS:** Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common genetic heart disease, which represents a leading cause of sudden cardiac death. HCM is caused by mutations in at least 11 genes encoding sarcomere and sarcomere-associated proteins and is characterized by extreme heterogeneity. Current guidelines for the diagnosis and treatment of patients with

HCM include genetic testing to confirm the diagnosis in clinical uncertainty and to identify relatives at risk of developing the disease through cascade screening. In the present study, molecular-genetic tests were conducted in 20 patients with HCM in Bulgaria in order to determine the presence and incidence of mutations and variants, characteristic of the disease in the Bulgarian population. Genetic material was isolated from the venous blood of patients, diagnosed with HCM. The isolated patients' DNA was subjected to whole exome sequencing. Obtained data was analyzed with specific software. Family segregation analysis to confirm pathogenic findings was performed by direct Sanger sequencing. Obtained results were interpreted and the incidence of detected genetic findings in Bulgarian patients was established. The results were compared with those in scientific literature and were reported in world databases. The results obtained from the present study show the presence of genetic variants in 65% of the studied Bulgarian patients with HCM, as ~50% of the detected genetic findings are novel variants that have not been reported. Approximately half of the genetic findings are localized in sarcomere or sarcomere-related genes, and variants in genes, associated with mitochondrial function were identified in 15% of patients. More than one variant was found in ~1/3 of the patients. The results from the present study can serve as a basis for future studies on the elucidation of the pathogenic nature of the identified variants in the affected families, as well as for the interpretation of genotype-phenotype correlations in HCM in Bulgaria.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Angelova P, Velchev V, Stoyanov N, Ategin S, Todorov T, Tourtourikov I, Mitev V, Todorova A. Novel insights on *GTPBP3*-associated hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Med Genet A*. 2023 Apr 7. DOI: 10.1002/ajmg.a.63205
- Angelova P, Velchev V, Stoyanov N, et al. Mutations in the *GTPBP3* are associated with hypertrophic cardiomyopathy with rapid progression to burn out phase complicated by severe systolic dysfunction and ventricular tachycardia. European Society of Human Genetics conference (ESHG 2022), Vienna, Austria, June 11-14, 2022
- Todorova A, Angelova P, Ategin S, et al. WES and its application for diagnostic purposes in hypertrophic cardiomyopathy. European Society of Human Genetics conference (ESHG 2022), Vienna, Austria, June 11-14, 2022

#### **Contract D 127/04.06.2021 ANALYSIS OF GENETIC POLYMORPHISMS OF OCT 1, MATE 1, MATE 2 AND GLP1R IN EXPERIMENTALLY INDUCED OBESITY IN WISTAR RATS**

**PhD student:** Mariya Kalinova Kalinkova

**PhD supervisor:** Assoc. prof. Teodora Handjieva- Darlenska, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Dept. of pharmacology and toxicology

**RESULTS:** Introduction: Cafeteria diet is an easy model for experimentally induced obesity in rats.

The aim of our study was to develop an experimental model of obesity and to evaluate the effectiveness of the two anti-obesity drugs in rats. Materials and methods: A total of 50 male Wistar rats were randomly allocated in two groups: control group on a standard laboratory chow food (n=11) and the experimental group on a Cafeteria diet (n=28). Cafeteria diet consisted of high-caloric, palatable foods and soft drinks. The obesity model lasted for 19 weeks. All animals had access to a standard laboratory chow food and water ad libitum during the experiment. At the end of the nutritional period rats were assigned to three groups: C (control group) (n=11), M (metformin hydrochloride, 250mg/kg/day, n=17), L (Liraglutide,

75mcg/kg/day, n=11) for another 6-week period. Rats continued to receive either standard chow food or Cafeteria diet ad libitum. Body weight was measured weekly. At the end of the experiment, rats were anesthetized and decapitated. All animals were evaluated for anthropometric, and biochemical parameters. The genetic polymorphisms for the receptors of metformin (MATE1, MATE2, OCT1) and GLP-1 (GLP1RA) were tested. Results: Cafeteria-fed rats, treated with either Metformin or Liraglutide showed significantly lower plasma levels of glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol compared to the control group ( $p < 0.05$ ). However, no difference in plasma levels of VLDL, triglycerides and insulin were detected in the groups. The anthropometric parameters (body weight, Lee index) did not show significant change during the study. The genetic analyses showed that all the examined rats are “wild type”. Conclusion: The results demonstrate that the cafeteria-diet is an efficient model to develop metabolic changes in rats, and to easily evaluate the effect of anti-obesity drugs.

**Contract D-130/04.06.2021 EVALUATION OF LEVELS OF PROOXIDANT, ANTIOXIDANT AND METABOLIC PARAMETERS IN EXPERIMENTAL ANIMALS WITH DIFFERENT DIETIC REGIMENS**

**PhD student:** Margarita Vladimirova Strokova-Stoilova

**PhD supervisor:** Prof Pavlina Andreeva-Gateva, MD and Assoc Prof Daniela Popova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Pharmacology; 2, Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Oxidative stress is a key factor in the health and pathogenesis of several metabolic diseases. It occurs when the production of reactive oxygen species (ROS) exceeds endogenous antioxidant activity. A ketogenic, low-carbohydrate, high-fat diet can affect mitochondrial quantity and /or quality, thus reducing oxidative stress and possibly helping to prolong life. Vitamin D supplementation can reduce the levels of hepatic oxidative stress and improve inflammation by reducing lipid peroxidation and cytokine production. The aim of our study was to evaluate the levels of Glutathione peroxidase as an antioxidant marker and 8-OHdG as a prooxidant marker in experimental animals that are supplemented with vitamin D alone, receiving ketogenic diet alone, keto-diet + vitamin D and a standard control group. Methods: 80 experimental animals (male mice) were divided into 4 groups (n=20 in each group) and subjected to different diets and supplementation for 30 days. Results: The highest levels of the antioxidant marker Glutathione peroxidase and the lowest levels of the prooxidant marker (8-OHdG) were observed in the keto-diet +vitamin D group, showing the highest antioxidant power of this combination. The stimulation of mitochondrial activity in the keto diet, as well as the antioxidant effect of vitamin D, show a synergistic effect on oxidative stress levels. Vitamin D alone and keto-diet alone showed higher levels of glutathione peroxidase and lower levels of 8-OHdG, compared to the control group. Keto diet, as well as supplementation with vitamin D, has an antioxidant effect, but it is strongest when they are combined. Glucose levels in the keto diet group were similar to those in the control group. Supplementing with vitamin D on a standard and keto diet resulted in statistically lower blood sugar levels. Insulin levels were not statistically different between groups. No differences were reported in total cholesterol and ketone body levels. Vitamin D supplementation favorably affects carbohydrate metabolism and markers of oxidative stress on a standard diet. This effect is even more pronounced when supplementing with vitamin D is combined with a chronic keto diet. Further studies are needed to thoroughly investigate the effects of different diets and vitamin supplements to optimally influence oxidative stress and cellular aging.

**Scientific publications and presentations:**

- Strokova-Stoilova, M.; Popova, Daniela V. Et al; Assessment of the levels of pro-oxidative and anti-oxidative markers in experimental animal models with different dietic regimens; Endocrinology 2022, 2, 84-92

**Contract D-131/04.06.2021 EXPERIMENTAL MODEL OF INVESTIGATION OF THE DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY IN RATS**

**PhD student:** Vesselina Georgieva Mihaylova

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Teodora Handzhieva-Darlenska and Assoc. Prof. Razvigor Durlenski,

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pharmacology and Toxicology

**RESULTS:** The aim of the study is to create an experimental model of obesity and observe the delayed contact hypersensitivity in laboratory rats. The experiment includes 30 male rats type Wistar, at the age of two months. They were randomly divided into two groups: a control group (n=15) and experimental group (n=15). The experimental group received cafeteria type diet (three high-energy foods, two of which were sweet and one salty), standard laboratory food (pellets) and water ad libitum for 9 weeks. The control group received standard laboratory food (pellets) and water ad libitum. Animals were divided in groups of four per cage at room temperature of 20-22 degrees, on a standard 12-hour sleep/wake schedule. Body weight was measured once a week. At the end of the 9-week experimental period, rats were treated with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene by scheme in order to achieve delayed type contact hypersensitivity. At the end of this period, body mass index and Lee's index, indicators of obesity in rats, were measured. The data show that the rats fed with a cafeteria diet reached a statistically significant higher body weight at the end of the experiment, resp. 465 g and 422 g, p= 0.02. Also, BMI was statistically increased in the experimental group compared to the control group, p= 0.002. After the histological analysis, statistically significant less infiltration with mast cells was found in the auricle of the obese rats compared to the control group, p= 0.01. Regarding the accumulation of eosinophils, there was no difference between the two groups. The cafeteria diet is a simple model of human obesity that can be used to assess the proinflammatory processes characteristic of obesity and contact hypersensitivity. The accumulation of a smaller amount of mast cells in the periphery is a consequence of the accumulation of these proinflammatory cells in the visceral adipose tissue, characteristic of obesity.

**Scientific publications and presentations:**

- Darlenski R, Mihaylova V, Handjieva-Darlenska T. The Link Between Obesity and the Skin. Front Nutr. 2022 Mar 10;9

**Contract D-138/04.06.2021 IN VITRO EVALUATION THE EFFECTS OF CHOLIN ON THE ACTIVITY OF SOME ISOFORMS OF CYTOCHROME P450 (CYP3A4, CYP2D6)**

**PhD student:** MPharm Antoaneta Vencislavova Balkanska

**PhD supervisor:** Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD and Prof. Maria Dimitrova, PhD

**Address of project implementation:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of pharmacology, pharmacotherapy and toxicology

**RESULTS:** In this study were evaluated the effects of cholin (0,150 µM; 0,250 µM; 0,500 µM; 0,750 µM and 1 µM), which is a part of different food additives, used for improving liver function, on the enzyme activity of two isoforms of Cytochrome P450 – human recombinant CYP3A4 and CYP2D6. Its' effects were compared with the effects of the respective inhibitors.

The enzyme activity was measured fluorometrically with the respective kits. It was found that from the five concentrations of cholin, only 1  $\mu\text{M}$  revealed a weak statistically significant inhibitory effect on the enzyme activity of the exam isoforms of Cytochrome P450. The activity of CYP3A4 was decreased by 20 % and of CYP2D6 – with 15 %. Cholin showed better affinity to the CYP3A4, compared to the CYP2D6. The received results give us a reason to think, that there exists minimal risk for possible drug interactions between the drugs, substrates of those two isoforms and the food additives, containing cholin.

**Contract D-139/04.06.2021 IN VITRO EVALUATION THE EFFECTS OF PYRROLE DERIVATIVES ON ISOLATED RAT BRAIN SYNAPTOSOMES AND ON THE ACTIVITY OF CYP1A2 ISOFORM OF CYTOCHROME P450**

**PhD student:** Borislav Anatoliev Angelov

**PhD supervisor:** Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD and Prof. Virginia Tzankova, PhD

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of pharmacology, pharmacotherapy and toxicology

**RESULTS:** In this project, were evaluated the effects of 30 pyrrole derivatives, divided in two series – 11 and 12. On isolated rat brain synaptosomes, the neurotoxic effect of the series was examined after their administration alone, and in combination with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) was studied their possible neuroprotection. Their CYP1A2 inhibitory potential was investigated as well. The main exam parameters, which characterized the functionally-metabolic status of the synaptosomes, were: synaptosomal viability and level of reduced glutathione (GSH). Fluorometrically, their possible CYP1A2 inhibitory activity was measured. It was found that administered alone, at a concentration 100  $\mu\text{M}$ , the compounds from SERIE 12 revealed lower neurotoxicity, compared to the compounds from SERIE 11. From both series, with less neurotoxic effect on the exam parameters, were compounds **11**, **11I** and 12, 12a. They revealed also good neuroprotection in a model of 6-OHDA-induced oxidative stress. 11, 11I and 12, 12a did not influence statistically significant the activity of CYP1A2 isoform. As perspective molecules with good neuroprotection were recognized compounds 11, 11I and 12, 12a. The lack of CYP1A2 inhibitory activity for them provided low risk for possible drug interactions.

**Contract D-140/2021 DESIGN AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF NEW SQUARIC ACID DERIVATIVES**

**PhD student:** Nina Konstantinova Ruseva

**PhD supervisor:** Prof. Adriana Bakalova, PhD and Assoc. Prof. Emiliya Cherneva, PhD

**Address of project implementation:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry

**RESULTS:** New mono- and disquaramides were synthesized *via* condensation of the diethyl ester of squaric acid and corresponding aminopyridines in the presence of  $\text{Et}_3\text{N}$ , according to the method described by Titze. Monosquaramide was used as a ligand to form a new Pt complex. The structures of the newly synthesized squaramides and Pt-complex were studied by elemental analysis, IR and NMR spectral methods. The crystal and molecular structure of the monosquaramide was established by single crystal X-ray diffraction. The latter crystallizes *non*-centrosymmetric. In parallel, quantum chemical calculations using density functional theory (DFT) were performed to elucidate the structures and vibrational characteristics of newly synthesized compounds. The DFT data are in good agreement with the vibrational frequencies of the tested compounds. The newly synthesized compounds were tested for

antiproliferative activity *in vitro* on two human tumor cell lines using Mosmann MTT assay. The analysis shows a non-existence of cytotoxic activity.

**Scientific publications and presentations:**

- Ruseva N, Cherneva E, Bakalova A, A concise review on application of squaric acid derivatives and their metal complexes in medicine, *Arkivoc*, 2022, (review)
- Ruseva N, Cherneva E, Bakalova A, Experimental, computational and anticancer studies of new squaramide derivative and its platinum complexes, XVIII Scientific poster session for young scientists, PhD students and students, UCTM, Sofia, 25 July, 2021. (poster presentation)
- Ruseva N, Bakalova A, Cherneva E, Synthesis and investigation of new pyridine containing squaramides, Student's scientific session of organic chemistry, Plovdiv University "Paisii Hilendarski", Department of Organic chemistry, Plovdiv, 15-16 July, 2022 (oral presentation).

**Contract D-141/04.06.2021 A COMPARATIVE IN VITRO STUDY OF THE CAPACITY OF NEWLY-SYNTHEZED COMPLEXES WITH TRIAZOLE LIGANDS TO PARTICIPATE IN SINGLE ELECTRON TRANSFER AND HYDROGEN ATOM TRANSFER REACTIONS**

**PhD student:** Lozan Traykov Todorov

**PhD supervisor:** prof. Irena Petkova Kostova, PhD, DSc

**Address of project implementation:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry, 2 Dunav str., 1000 Sofia, Bulgaria

**RESULTS:** The subject of the current summary is determining the antioxidant properties of novel lanthanum(III) and samarium(III) complexes with the triazole-containing ligand sodium 2-(4-chlorophenyl)-5-(pyrrolidin-1-yl)-2H-1,2,3-triazole-4-carboxylate (BNP01). The mechanisms of potential antioxidant activity were also investigated. Ligand and complex composition and structure were proven by way of elemental analysis, FT-IR, and Raman spectroscopy. Solutions of the substances were tested against hydroxyl radical-generating model systems – UV-induced water radiolysis and Fenton reaction. Hydroxyl radicals are highly reactive, non-selective species, involved to a significant extent in the pathogenesis of multiple illnesses. The potential mechanisms of antioxidant action were investigated – hydrogen atom transfer (HAT) (DPPH assay) and single electron transfer (SET) (ABTS assay). The following conclusions were drawn based on experimental data:

- BNP01 and its lanthanum and samarium complexes participate marginally in HAT with the stable DPPH• radical. Their participation in SET with the stable ABTS•+ radical is manifested at a concentration of  $3 \cdot 10^{-5}$  M, the effect being stronger for the complexes compared to the ligand.

- Despite their weak interaction with DPPH•, BNP01, La BNP01 and Sm BNP01 significantly suppress 2-deoxyribose degradation in the UV-induced water radiolysis model. At equimolar concentrations above  $3 \cdot 10^{-6}$  M both complexes act as stronger antioxidants than BNP01.

- The ligand and both complexes significantly increase MTT-formazan transformation in the Fenton reaction model system – a definite symptom of prooxidant action under the utilized experimental conditions. The presence of  $3 \cdot 10^{-4}$  M BNP01 the prooxidant effect of hydrogen peroxide significantly increases. Adding ferrous chloride increases the observed effect about tenfold.

- Differences in vibrational assignments between the two complexes suggest disparate electron density distribution in the ligand molecules. That could manifest as relative differences

in the complexes' behavior toward the radical-generating models applied herein. Experimental data confirm this proposition.

**Scientific publications and presentations:**

- Venue: Student Scientific Session for Organic Chemistry – Plovdiv University „Paisii Hilendarski“, Plovdiv, April 15-16, 2022. Oral presentation. Subject: „Investigation *in vitro* the capacity of triazole ligand to participate in single electron transfer (SET) and hydrogen atom transfer (HAT) reactions“



## Medico-clinical area 2020

### **Contract D-75/24.06.2020 EVALUATION OF ALLERGIC INFLAMMATION OF THE NASAL AND BRONCHIAL MUCOSA BY EXAMINATION OF THE CYTOKINE PROFILE IN PERIPHERAL BLOOD**

**PhD student:** Dr Kremena Nikolaeva Naydenova

**PhD supervisor:** Prof. Vasil Dimitrov Dimitrov, MD, PhD and Assoc. Prof. Maria Toncheva Staevska, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Dept. of Allergology, Clinic of Allergology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** A study of inflammatory cytokines (IL5, IL13, IL17, IL33) from the upper respiratory tract in allergic inflammation in the lower respiratory tract would support the paradigm of a "single airway - one disease." Early treatment of allergic inflammation of the upper airways will improve the quality of life of patients, prevent the progression of allergic rhinitis in bronchial asthma, and improve the already presented disease. The aim of the study was to assess the cytokines involvement in allergic inflammation affecting the entire respiratory tract. We used the following research methods: clinical examination of patients, skin allergy tests, functional examination of respiration in patients with lower respiratory tract symptoms; rhinoscopy, assessing cytokines in peripheral blood - IL5, IL13, IL17, IL33 by ELISA method and statistical methods. Regarding IL-5 levels, we didn't find significant differences between serum levels in healthy individuals and patients. Regarding IL-17 values, significantly higher serum levels were found in all patients compared to healthy subjects ( $p < 0.001$ ). We found three times higher levels of IL-13 in all patients compared to healthy individuals ( $p < 0.001$ ), while IL-33 levels were significantly higher in healthy than in the two groups of patients with allergic rhinitis and those with allergic rhinitis and superimposed bronchial asthma ( $p < 0.001$ ). We found no significant difference in IL-13 and IL-33 levels in the two subgroups of patients. We found no relationship between cytokine levels and respiratory function tests or with the results of skin allergy tests. In conclusion, the lack of significant differences in the levels of IL-5, IL-13 and IL-33 in the two subgroups of patients can be explained by the mild bronchial asthma in our patients and taking blood serum out of the pollen season, a period in which minimal persistent inflammation and significantly lower levels of allergic inflammation mediators are observed.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Naydenova K, Dimitrov V, Velikova T. Study of some aspects of IL-5 role in the allergic respiratory pathology - allergic rhinitis and associated bronchial asthma. American International Journal of Biology and Life Sciences American International Journal of Biology and Life Sciences 2021;3(1):33-9.
- Naydenova K, Dimitrov V, Velikova T. Evaluation of allergic inflammation of the nasal and bronchial mucosa by examination of peripheral blood cytokines in light of bronchial asthma. Thoracic medicine 2020;12(2-3)

### **Contract D-76/24.06.2020 THE ROLE OF ONCOSTATIN M IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC INFLAMMATORY BOWEL DISEASES AND ITS USE AS A PREDICTOR OF RESPONSE TO THERAPY**

**PhD student:** Hristo Yankov Valkov, MD

**PhD supervisor:** Prof. Plamen Penchev, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Gastroenterology, Sofia, 8 “Byalo more” Str., 1527 Sofia

**RESULTS:** Oncostatin M (OSM) is part of the IL-6 cytokine family. In the past few years, this cytokine has been investigated as a new biomarker in patients with inflammatory bowel disease (IBD). The aim: To investigate the role of OSM in serum and stool as potential prognostic, diagnostic and therapeutic biomarker in IBD and to clarify its importance in the development of extraintestinal manifestations (EIM). Methods: We enrolled 120 adult patients (100 IBD patients and 20 controls). Values of OSM in stool and serum were measured by ELISA. Correlation tests between the markers of inflammation, including fecalcalprotectin (FC) and values of OSM, were done. OSM was correlated with the scores of activity such as Endoscopic mayo score (EMS) and Mayo score in ulcerative colitis (UC) and *Crohn's Disease Activity Index (CDAI)* in Crohn's disease (CD). IBD patients with EIM were determined to verify the difference between their values of OSM and these patients without EIM. To evaluate the role of OSM as a predictive marker of response to the therapy we measured OSM at baseline and week 2 on treatment with Methylprednisolone in 41 patients as well as at baseline and week 6 on therapy with anti-TNF and JAK/STAT inhibitor in 9 patients. Results: Through the value of OSM we can distinguish active IBD patients from those in remission. Although OSM in serum does not correlate with the markers of inflammation, OSM in stool correlates significantly with CRP and FC. Fecal OSM correlates significantly with CDAI. There are no significant differences between serum and stool OSM in IBD patients with EIM and those without EIM. Serum and stool OSM at baseline cannot predict the therapeutic answer. Conclusion: Fecal OSM has greater importance than serum OSM in IBD. The predictive role of OSM in the therapeutic answer and in the development of EIM is questionable. More data are needed to clarify the importance of OSM.

### **Contract D-78/24.06.2020 BIOACTIVE RESTORATIVE SYSTEMS AND SECONDARY CARIES IN PRIMARY DENTITION**

**PhD student:** Viktoriya Velizarova Gateva

**PhD supervisor:** Prof. Nataliya Gateva-Grancarova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of dental medicine, Dept. of pediatric dentistry, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the study was to evaluate the possibilities for reducing the risk of developing secondary carious lesions in the primary dentition by using bioactive fluoride containing restorative systems. The first task was assessment of the bond between dentin and adhesive system. The bond consists of adhesive layer and hybrid layer. The study included 40 extracted primary teeth, distributed into four groups and restored with each of the four restorative systems : Fuji IX GP (conventional glass-ionomer cement with fluor), Evetric (self-etch adhesive without fluor) with Dyract XP (compomer, containing fluor), Clearfil SE Protect ( self-etch, two-step adhesive system with fluor) with Beautifil II (giomer with fluor) and Bond Force II (self-etch adhesive with fluor) with Estelite Sigma Quick (composite without fluor). Using a scanning microscope, the morphology of the adhesive and the hybrid layers made on the cut surface between the adhesive used and the dental structures was examined. The analysis of the contact area between the adhesive system and the dentine surface showed that the applying of each of the adhesive systems has led to the formation of an adhesive and hybrid layer. An adhesive layer with the highest average thickness was obtained for the samples from group 3, restored with combination of adhesive system with fluor Clearfil SE protect and giomer Beautifil II with fluor. In this group, the greatest amount of adhesive tags was also obtained. The hybrid layer had statistically significant greater thickness in the samples of group 2, restored with the combination of adhesive system without fluor Evetric and a compomer

with fluor Dyract XP. The second task was evaluation of the adhesive bond strength by microtensile bond strength testing. The study included 120 extracted intact primary teeth, distributed into four groups and restored with each of the four restorative systems. Prismatic bodies were made from the prepared dental specimens in order to be able to perform the microtensile test. According to the results of the microtensile test, the strength of the adhesive bond was significantly higher in the samples of group 3, restored with combination of adhesive system with fluor Clearfil SE protect and giomer Beautifil II with fluor. The third task was evaluation of the surface roughness of the tested restorative materials. 5 cylindrical bodies were prepared of each of the tested restorative materials. The analysis of the surface roughness values shows that the glass-ionomer cement is the material showing statistically significant higher surface roughness compared to the giomer, the compomer and the nanofilled composite resin. The fourth task was assessment of antimicrobial properties of the tested restorative materials. 10 cylindrical samples were prepared of each of the fluor containing tested restorative materials. None of the samples showed antibacterial properties- there was no zone of inhibition of bacterial growth. This result can be explained by the absence of such properties in the materials or inaccuracies in the performance of the microbiological examination.

**Contract D-79/24.06.2020 CONNECTION BETWEEN THE EXPRESSION OF THE MUCIN GENES AND THE CAPACITY FOR BACTERIAL BIOFILM FORMATION IN THE AREA OF THE EARS, NOSE AND THROAT**

**PhD student:** Georgi Kirilov Popov, MD

**PhD supervisor:** Prof. Diana Popova, MD, PhD, DSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Ear, Nose and Throat Diseases, 26 Gen. Danail Nikolaev Blvd., 1504 Sofia

**RESULTS:** In the course of the study we collected tissue samples from 70 patients with chronic pathology of the nasal cavity and sinuses out of which 5 patients fell out of the study due to poor sample quality. Also collected for a control group were samples from 14 patients with traumatic pathology of the nose. From the collected samples total mRNA was isolated with the RNeasy Pluc Micro Kit (Quagen), a part of each sample was homogenized and afterwards the genomic DNA was efficiently removed by the method of centrifugal columns and high quality RNA is then eluted. The concentration and quality of the isolated mRNA was measured spectrophotometrically with Nanodrop2000. Following the protocol of the manufacturer cDNA was synthesized from the isolated total RNA with the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit and the enzyme reverse transcriptase (RT). A RT-qPCR with QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen) and primers QuantiTect Primer Assay (Qiagen) was carried out. An expression analysis of the MUC genes was done with the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method and RQ values were deduced. The patients were divided into 3 groups according to the expression of the mucin genes – with an overexpression, with a normal expression and with an underexpression. The analysis was done for both the MUC5AC and the MUC5B genes. The results showed:

- overexpression of MUC5AC in 23 out of 65 patients in the main group (35.4%) and in 2 out of 14 patients in the control group (14.3%)
- overexpression of MUC5B in 35 out of 65 patients in the main group (54.8%) and in 4 out of 14 in the control group (28.6%)
- overexpression of either one or both mucin genes in 42 out of 65 patients in the main group (64.6%) and in 6 out of 14 in the control group (42.9%).

**Contract D-80/24.06.2020 sVAP-1 AND OXIDATIVE STRESS ACROSS METABOLIC HEALTH, GLUCOSE METABOLISM DISORDERS, AND PREDICTED CARDIOVASCULAR RISK IN STAGES 1 TO 4 OF CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS**

**PhD student:** Andrey Bogomilov Iliev

**PhD supervisor:** Prof. Boris Bogov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Nephrology, Transplantation, and Dialysis Treatment, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Chronic kidney disease (CKD) is accompanied by low-grade inflammation, the main mechanism of which is oxidative stress. The accumulation of adipose tissue promotes the development and enhancement of this process among non-dialysis-dependent patients with CKD. The relationship between soluble vascular adhesion protein-1 (sVAP-1) as a marker of atherosclerosis and 15(S)-8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α as a marker of oxidative stress on the one hand, and glomerular filtration rate (eGFR), urinary albumin excretion (UACR), a 10-year risk score of atherosclerotic cardiovascular disease (CVD), metabolic syndrome, disturbances of glucose homeostasis, and anthropometric measures of adiposity on the other hand are still unclear. In the present study, 80 patients with CKD were recruited. The male/female ratio was 1:1. sVAP-1 levels were negatively associated with eGFR, while there was no relationship between the levels of 15(S)-8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α and eGFR. However, levels of both markers were positively associated with urinary albumin excretion. In the present study, no relationship was found between sVAP-1 and BMI and its categories, but a positive association was found between 15(S)-8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α and BMI and its categories. The combination of abdominal obesity (WHtR >0.5) and low-grade inflammation (hsCRP > 3.0 mg/l) identified women with a higher score of 10-year risk of atherosclerotic CVD and higher serum sVAP-1 levels. The combination of central obesity (WHtR >0.5) and atherogenic dyslipidemia (TChol/HDL in men and Tg/HDL in women) identified patients with a higher score of 10-year risk of atherosclerotic CVD and higher plasma levels of 15(S)-8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α. This will help develop effective strategies to detect patients with higher cardiovascular risk based on routine laboratory tests such as total cholesterol (TChol), triglycerides (Tg) and HDL and easy to measure and calculate anthropometric measures such as waist circumference, height and their ratio.

**Contract D-81//24.06.2020 EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF ALLERGEN IMMUNOTHERAPY BY CLINICAL AND BIOLOGICAL MARKERS IN PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS**

**PhD student:** Plamena Ivanova Novakova, MD

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Maria Staevska-Kotasheva, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Allergology

**RESULTS:** Allergen immunotherapy, either subcutaneous or sublingual is a proven therapeutic approach for allergic rhinitis with/without asthma that leads to a significant reduction of symptoms, need for pharmacotherapy as well as a considerable improvement of quality of life. This is the only treatment with a long-term effect after cessation which could be explained by its' mechanism. The aim of this project is to study the long-term effect of allergen immunotherapy in allergic rhinitis patients based on clinical and immunological outcomes. 69 patients at least two years after a three-year allergen immunotherapy were included (male 43, mean age 31,7 SD 12.04, age range 18-56). 44 patients have comorbid asthma. At least two years after the immunotherapy, low symptom and medication score were established. A high

percentage of well-controlled patients with RCAT were registered. The majority of patients are with a good quality of life for each domain of RQLQ as well as for the overall quality of life. Moreover, a high level of satisfaction with immunotherapy was found. Immunological examination of specific IgG4 antibodies by Immuno CAP reveals statistically significant higher levels of blocking antibodies in controlled patients than in uncontrolled ( $p < 0.05$ ). Results confirm the key mechanism of allergen immunotherapy- formation of blocking allergen specific IgG4 antibodies with a long life and a high affinity for IgE, even after treatment cessation. This project highlights the long lasting immunological tolerance due to allergen immunotherapy and the correlation between immunological biomarkers and clinical outcomes.

**Contract D-82/24.06.2020 EFFECT OF IFN- $\Gamma$  ON THE PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS ISOLATED FROM HUMAN UMBILICAL CORD**

**PhD student:** Kalina Peteva Belemezova

**PhD supervisor:** Prof. Dobroslav Kyurkchiev, MD, PhD, DSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Immunology, Laboratory of clinical immunology, 15 bul. Ivan Evst. Geshov, 1431 Sofia

**RESULTS:** Mesenchymal stem cells (MSC) rest in almost all types of tissues. The factors of inflammation that are released during an immune response activate the immunosuppressive potential of MSC. Understanding the changes MSC undergo would be great benefit for designing better therapy protocols for treating various diseases. In the literature, the data concerning these changes is limited and answering this question was the main objective of our research project, intended to better understand and explore how umbilical cord MSC transform themselves and react to the process of inflammation, studying their basic characteristics and behavior when primed with the key pro-inflammatory cytokine, Interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Human MSC from the umbilical cord were isolated, expanded *in vitro* and treated with IFN $\gamma$ . Primed cells were analyzed to define their ability to form colonies, their morphology, proliferation, and apoptosis rate. Flow cytometry analysis was performed to analyze the expression of the typical for MSC markers, plus HLA-I and PD-1L. To determine their differentiation potential IFN $\gamma$  treated cells were cultured in conditions inducing osteogenic and adipogenic differentiation. Cytogenetic analysis was performed to determine the chromosomal stability of the treated cells. Results showed that umbilical cord MSC treated with the proinflammatory cytokine IFN $\gamma$  changed their typical fibroblast-like morphology. Cells retained the expression of typical MSC markers and stayed negative for the presence of hemopoietic markers. However, IFN $\gamma$  upregulated the surface cell density expression of HLA-I and PD-1L. Under the influence of IFN $\gamma$  cells had a lower population doubling time and higher numbers of colony-forming unit-fibroblasts. The primed MSC couldn't undergo osteogenic and adipogenic differentiation. IFN $\gamma$  increased the apoptosis rate of primed cells, leading to higher percentages of cells in early/late apoptosis and in total apoptosis, but cells were chromosomally stable. In conclusion, the properties of UCMSC can be influenced by the factors of systemic or local inflammation.

**Scientific publications and presentations:**

- Belemezova K, Bochev I, Ivanova-Todorova E, et al. A study of the transformation of umbilical cord mesenchymal stem cells by interferon-gamma. *Iran J Basic Med Sci*, 2021; 24(9):1203-10.
- Belemezova K, Dimova I, Kyurkchiev D. Effect of intereferon-gamma on chromosomal stability of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Bulgarian Journal of Clinical Immunology*. 2021;13 (2): 14-19.
- Belemezova K, Bochev I, Ivanova-Todorova E, et al. Interferon-gamma affects the properties of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Autoimmunity* 2021, Virtual congress, 28 May – 1June 2021.

**Contract D-83/24.06.2020 THE ROLE OF YKL-40, IL-17, LP-PLA2, HYALURONIDASE AND HEPARANASE AS MARKERS FOR CARDIOVASCULAR DISEASE ASSOCIATED WITH PSORIATIC ARTHRITIS**

**PhD student:** Aleksandar Krasimirov Angelov

**PhD supervisor:** Prof. Mariana Goycheva, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Diseases/Rheumatology, Clinic of Rheumatology, UMHAT "St. Ivan Rilski" EAD

**RESULTS:** The aim of this study is to analyze the role of Interleukin-17 (IL-17), Lipoprotein Phospholipase A2 (Lp-PLA2), YKL-40, Hyaluronidase (HYAL) and Heparanase (HPSE) as markers of cardiovascular disease (CVD), associated with psoriatic arthritis (PsA). A group with rheumatoid arthritis (RA) was included to investigate whether the specific nosologic entity or inflammatory burden is predictive of CVD. The study was cross-sectional and included 32 patients with PsA, 30 patients with RA and 20 healthy controls. An extensive set of demographic, clinical, imaging, and laboratory data were analyzed, including serum levels of the studied biomarkers. Various instruments were used to assess disease activity, cardiovascular risk and quality of life. Ultrasound studies were performed to assess the global longitudinal strain (GLS) and intima media thickness (IMT) of the carotid arteries. Statistical methods for correlation and ROC curve analysis were applied. Patients with PsA and RA had higher levels of IL-17 than controls. There was a positive correlation between HPSE and IMT in all participants. HPSE has excellent predictive value for distinguishing patients with PsA and RA from controls. YKL-40 had a negative correlation with HPSE and a positive correlation with IL-17 in all participants. YKL-40 has excellent predictive value for distinguishing patients with elevated HPSE levels from those with normal levels. HYAL was correlated with HPSE, RF and YKL40, but there was no statistically significant difference between different groups. The conclusions of this study are that YKL-40, IL-17, Lp-PLA2, and HPSE are associated with cardiovascular disease in patients with PsA and RA. These biomarkers may have a role in the pathogenesis of cardiovascular complications in these diseases and serve as potential targets for prevention and treatment. This study provides valuable information on the interaction between systemic inflammatory diseases and CVD and contributes to expanding our understanding of this complex process.

**Scientific publications and presentations:**

- Angelov AK, Vasilev G, Yordanova A et al. Elevated serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-17 in psoriatic and rheumatoid arthritis. *Revmatologija (Bulgaria)*. 2023; 1:23-36.
- Angelov AK, Velikov T, Kopchev A et al. Risk factors for cardiovascular involvement in inflammatory joint diseases. The role of intima-media thickness and speckle-tracking echocardiography. National Rheumatology Conference. St Vlas. 16-19.09. 2021. pp 12.
- Angelov AK, Velikov T, Vasilev G et al. Cardiovascular risk and endothelial dysfunction induced by systemic inflammation in psoriatic arthritis. National Rheumatology Conference. Pravets. 15-18.10.2020. pp 36.

**Contract D-85/24.06.2020 HYPERANDROGENISM IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND ITS RELATIONSHIP WITH PSA AND SERUM MARKERS FOR EARLY CARTILAGE BREAKDOWN**

**PhD student:** Plamena Petrova Kabakchieva-Georgieva, MD

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov, MD, PhD, DSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Endocrinology, University Hospital "Alexandrovska", 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Our aim was to analyze the link between hyperandrogenism and early clinical manifestations of osteoarthritis (OA), knee cartilage thickness, serum cartilage oligomeric matrix protein (sCOMP) and prostate-specific antigen (PSA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) and comparing them with healthy volunteers. Methods: Fifty-four PCOS patients who met the Rotterdam criteria with phenotypes A, B, and C were included. They were compared with 26 age- and body mass index (BMI)-matched controls. Detailed anthropometric measurements and clinical evaluation for hyperandrogenism were performed for all participants who also filled in the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) questionnaire. Further, laboratory tests including sCOMP, total and free PSA, and hormone quantification were performed in a fasting stage. Finally, an ultrasound assessment was carried out in randomly selected 56 study participants. Results: PCOS women reported more prominent knee-related symptoms ( $p = 0.035$ ) and more impaired activities of daily living (ADL) ( $p = 0.001$ ) than controls. Cartilage thickness of the left and right medial condyle and left lateral condyle was significantly greater in PCOS group ( $n = 41$ ) than in control group ( $n = 15$ ) ( $p = 0.05$ ,  $p = 0.006$ , and  $p = 0.036$ , respectively). COMP correlated significantly and negatively with testosterone levels ( $p = 0.029$ ,  $r = -0.297$ ) in women with PCOS and the correlation remained significant after controlling for BMI. Conclusion: Women with PCOS may experience knee-related symptoms and impaired ADL. They had greater knee femoral cartilage thickness. Although sCOMP levels did not significantly differ between the groups, lower levels of sCOMP may be inherent to PCOS patients with higher testosterone levels.

**Scientific publications and presentations:**

- Kabakchieva P, Georgiev T, Gateva A, et al. Polycystic ovary syndrome and (pre)osteoarthritis: assessing the link between hyperandrogenism in young women and cartilage oligomeric matrix protein as a marker of cartilage breakdown. Clin Rheumatol. 2021 Oct;40(10):4217-4223.
- Kabakchieva P, Georgiev T, Gateva A, et al. Assessment of knee-related symptoms, activities, and quality of life in patients with polycystic ovary syndrome. Annual European Congress of Rheumatology EULAR, 2-5 June, 2021. Ann Rheum Dis. 2021:1332-3.

**Contract D-86//24.06.2020 NEW MARKERS FOR MACROVASCULAR RISK ASSESSMENT IN PATIENTS WITH CARBOHYDRATE METABOLISM DISORDERS**

**PhD student:** Iveta Slavyanova Nedeva

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov MD, PhD, DMedSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, University Hospital "Alexandrovska", Clinic of Endocrinology and Metabolic diseases, 1 George Sofiiski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Diabetes mellitus is known to be a disease associated with increased micro- and macrovascular risk as macrovascular complications and especially cardiovascular disease are a major cause of morbidity and mortality in patients with diabetes. It is assumed that the early stages of vascular damage begin in the prediabetes phase. New biomarkers are constantly being discovered that correlate with vascular damage, and of particular interest are their association with the various stages of impaired glucose homeostasis and cardiovascular risk in obese patients. In our study, we examined 80 people with a mean age of  $55.48 \pm 9.98$  years, divided into three groups - group 1 with obesity without carbohydrate disorders ( $n = 40$ ), group 2 with prediabetes ( $n = 20$ ) and group 3  $n = 20$  with newly diagnosed diabetes mellitus. We monitored the levels of TMAO in the whole spectrum of carbohydrate disorders. We did not

find a significant difference in the levels of TMAO in obese people without carbohydrate disorders, prediabetes and newly diagnosed DM2. There was no statistical difference in serum TMAO levels in individuals with and without metabolic syndrome, with and without insulin resistance, with and without dyslipidemia. Higher levels of TMAO were reported in those with arterial hypertension. From the conducted correlation analysis we did not establish a relationship between the levels of TMAO, the studied laboratory and anthropometric indicators, as well as the conducted instrumental studies for micro and macrovascular complications. Regarding sortiline, no difference was found in its levels among the studied groups, as well as in those with and without metabolic syndrome, with and without insulin resistance. Sortiline levels were higher in people with dyslipidemia than in those without the disorder. A positive correlation was found with gamma-glutamyltransferase and HbA1c%. A moderate negative relationship was found between sortiline levels and the ankle-brachial index.

**Contract D-88/26.04.2020 CHANGES OF SOME BONE METABOLISM FACTORS IN PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS**

**PhD student:** Inna Angelova Yankova

**PhD supervisor:** Prof. Roussanka Kovatcheva, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Endocrinology, Third clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, Zdrave 2 Str, 1431 Sofia

**RESULTS:** Aim: To compare the levels of some bone remodeling factors – beta C-terminal telopeptide of type I collagen (bCTX) and osteocalcin (Ost), in primary hyperparathyroidism (PHPT) with and without autoimmune thyroiditis (AT) as well as those with AT only; to determine the impact of the two diseases, together and separately, on bone metabolism. Material and methods: Two hundred fifty-one patients with confirmed PHPT were admitted at USHATE for the project period. One hundred of them were included in the project - 50 with PHPT only and 50 with PHPT and AT. Two control groups were defined: 35 with AT and 35 subjects without PHPT and AT. Serum markers of mineral metabolism, bCTX and Ost were measured. Results: The prevalence of AT among the subjects with PHPT was 38.2% (95% CI 33-43%) and didn't differ significantly from that in the general population, 32.5% (95% CI 30-35%),  $p = NS$ . Age, BMI, markers of mineral metabolism, bCTX and Ost weren't significantly different in PHPT with and without AT or between the two control groups ( $p > 0.05$ ). Serum bCTX and Ost were significantly higher in patients with PHPT compared to controls (6.08, 2.94-13.65 pg/ml vs 4.52, 1.78-7.07 pg/ml,  $U=2514.5$ ,  $p=0.002$  for bCTX and 44.72, 16.9-108.2 ng/ml vs 21.44, 5.22-54.19 ng/ml for Ost). The two estimated bone factors correlated positively with serum calcium and PTH and negatively with serum inorganic phosphate. Conclusion: Higher levels of bCTX and Ost in patients with PHPT suggest greater bone involvement in this disease. There was no evidence of an association between PHPT and AT. Further research is necessary to further clarify the problem.

**Contract D-89/26.04.2020 METASTATIC POTENTIAL OF LARYNGEAL CARCINOMA ASSOCIATED WITH ABNORMAL EXPRESSION OF THE LAD1 GENE**

**PhD student:** Venelin Marinov Marinov, MD

**PhD supervisor:** assoc prof. Yulian Rangachev



**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine Dept. of E.N.T., Bialo More 8, 1527 Sofia; Molecular Medicine Center, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Sofia, Bulgaria, Zdrave 2, 1431 Sofia

**RESULTS:** Aim: The aim of the study is to evaluate varying levels of gene expression for LAD1 and EGFR genes in the examined patients. Materials and methods: We selected and collected tissues from 20 patients with pathologically proven laryngeal carcinoma. We performed RNA isolation, Reversed transcription and DNA synthesis, Real time PCR, Gene-expression analysis, and systematization of the data collected. Results We discovered variability in levels of gene expression for the LAD1 and EGFR genes in tissues sampled from tumor core, tumor periphery and lymph nodes suspected for metastatic. We learned that the patients who showed upregulation in the tissue samples, as well as have higher TNM stage, and higher Gleason score, have worse prognosis. Conclusion: In patients with downregulation, the patient theoretically will have good response to target therapy with EGFR inhibitors. Levels of expression of EGFR can be used for predictors of the patients response towards target therapy. Practical result- predictor for EGFR-inhibitor resistance and overall patient prognosis. There is an developed antibody against ladinin – the protein product of LAD1 gene, and expression levels can be evaluated via immunohistochemistry evaluation of a routine histological biopsy. That can lead to more accurate prognosis for the patients. In all evaluated patients differences in the levels of gene expression are diagnosed in the tumour centre, periphery and metastatic lymph nodes.

**Scientific publications and presentations:**

- V. Marinov, J. Rangachev, G. Stancheva, R. Kaneva. Participation in “X-th Annual Scientific Spring Conference of Otorhinolaryngology” 27-29<sup>th</sup> may 2022. With the ppt presentation “Role of LAD1 in patients with laryngeal carcinoma”
- V. Marinov, J. Rangachev, G. Stancheva, R. Kaneva, D. Kisova. Changes in gene expression of EGFR and LAD1 in patients with metastatic squamous cell laryngeal carcinoma. International Bulletin of Otorhinolaryngology 2022;1:7-10.

**Medico-clinical area 2021**

**Contract D-122/04.06.2021 COMPLEX ASSESSMENT OF GLYCEMIC CONTROL IN PATIENTS STARTING INSULIN PUMP THERAPY**

**PhD student:** Polina Valentinova Tsarkova

**PhD supervisor:** Prof. Tsvetalina Tankova

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Endocrinology, Zdrave 2 Str 1431 Sofia

**RESULTS:** Aim: The aim of the present study is to assess the effect of insulin pump treatment on glycemic control by measuring standard (HbA1c) and new short-term glycemic control markers (glycated albumin and 1,5-anhydroglucitol) at baseline and 6 months after the initiation of pump therapy. Material and methods: 90 adult patients with type 1 diabetes, having initiated insulin pump therapy, were enrolled. HbA1c was assessed in whole blood by immunoturbidimetric NGSP certified method, glycated albumin (GA) and 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG) in serum by ELISA. Mean BG, standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV%) were calculated from a 9-point capillary blood glucose profile in all patients at baseline

and 6 months after initiation of pump therapy. Results: At the 6<sup>th</sup> month follow-up there was a significant decrease in the HbA1c level from 8.3% (+/-1.62) to 7.2% (+/-1.19) ( $p < 0.0001$ ), a decrease in the mean BG level from 9.12 (+/-2.17) to 7.36 mmol/l (+/- 1.13) ( $p < 0.0001$ ), a decrease in SD from 3.41 (+/- 1.19) to 1.99 (+/-0.77) ( $p < 0.0001$ ), a decrease in CV% from 38.1% (+/- 11.55) to 27% (+/- 8.58) and a decrease in GA from 1136 (+/-426.6) to 1004 (+/-405) (pmol/ml) ( $p = 0.054$ ). 1,5-AG increased insignificantly from 19.8 (7.55-81.4) to 20.6 µg/ml (11.8-76.5) ( $p = 0.762$ ). A correlation was established between GA and HbA1c ( $r = 0.330$ ,  $p = 0.003$ ) at baseline and between GA and 1,5-AG ( $r = -0.503$ ,  $p < 0.001$ ) at the 6<sup>th</sup> month follow-up. 1,5-AG correlated with the mean BG ( $r = -0.311$ ,  $p < 0.037$ ) at the 6<sup>th</sup> month follow-up. Conclusion: There is significant improvement in the glycemic control of patients, who have initiated insulin pump therapy, shown by the decrease in the levels of HbA1c, mean blood glucose, coefficient of variation and glycated albumin. Glycated albumin could be considered as an additional option or as a substitute of glycated hemoglobin in specific populations.

### **Contract D-123/04.06.2021 INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF SOLUBLE FACTORS FROM MESENCHYMAL STEM CELL-CONDITIONED MEDIUM ON B-LYMPHOCYTES**

**PhD student:** Adelina Danielova Yordanova

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD

**Address of project implementation:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Immunology, 15 bul. Iv Evst. Geshov, 1431 Sofia

**RESULTS:** A growing number of autoimmune diseases, allergies, and atopic conditions in recent years are calling for the development of innovative therapies, such as those using stem cells with immunoregulatory activity. Because of the few and often conflicting results in the scientific literature, it's still uncertain whether mesenchymal stem cells (*MSC*) could be a useful therapeutic strategy for targeting B lymphocytes and be helpful in treating autoimmune and allergy patients. In connection with the above, peripheral blood mononuclear cells (*PBMC*) from healthy donors were isolated and cultured *in vitro* in control and conditioned medium from umbilical cord-*MSC* (*UC-MS*C). Using flow cytometric and immunoenzymatic techniques, the effect of *MSC* secreted factors on the expression of key membrane and soluble molecules, associated with activation, antigen-presenting function, and B-lymphocyte survival, was successfully investigated, including the determination of B-cells' percentage in early and late apoptosis. When *PBMC* from healthy donors was cultured *in vitro* with a *UC-MS*C-conditioned medium, our team found a higher degree of cell clustering and a significantly higher percentage of B-lymphocytes expressing CD80 and CD86 molecules. In contrast, the percentage of B cells expressing the BR3 receptor and the PD-1 molecule on their membranes was significantly lower. The expression of the HLA-DR molecule was also decreased, and the secretion of the BAFF ligand, associated with B-cell survival, was slightly increased again by *MSC* secretion, but without any significance between the differences found. The *MSC* has little effect on B-cell apoptosis, but still in the direction of stimulating the mechanisms of early and late programmed cell death. In conclusion, the conditioned medium of *UC-MS*C tends to affect B-lymphocyte function, survival, and overall biology.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Adelina Yordanova. Influence of factors secreted by mesenchymal stem cells on B lymphocytes molecules in patients with systemic lupus erythematosus. Second Conference of the Bulgarian Rheumatological Association; March 17 - 19, 2022.
- Adelina Yordanova, Dobroslav Kyurkchiev, Mariana Ivanova, Kalina Tumangelova, Yuzeir, Kalina Belemezova, Ekaterina Ivanova-Todorova. Secreted factors from

Umbilical Cord-Mesenchymal Stem Cells affect CD86 expression on B lymphocytes and increase CCL5 chemokine secretion by healthy donors' PBMC. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 2022; 75:11 IF: 0.329

**Contract D-126/04.06.2021 ROLE OF CLASS I AND CLASS II IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA**

**PhD student:** Anastasiya Ivanova Ormandzhieva

**PhD supervisor:** Prof. Milena Ivanova Ivanova-Shivarova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Immunology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Worldwide oral cancer is the cause of 2-4% of all cancer disease cases. Oral cancer is a group of neoplasms, which affect the oral cavity, pharyngeal areas and salivary glands. Oral squamous cell carcinoma (OSCC) originates from the epidermal keratinocytes and is characterized by impaired keratinization. The mechanisms of tumor cells avoiding immune surveillance have a key role in the development of various cancer diseases. Because of its central role in presenting tumor antigens, certain allele variants in the classical class I and class II Major histocompatibility complex in humans (the HLA system), may participate in the immune editing and therefore they may be associated with an increased or decreased risk of developing the disease. The present research aims to investigate the HLA class I and class II polymorphisms, determined at the allelic level by next-generation sequencing (NGS), in patients from the Bulgarian population, diagnosed with OSCC. For the performed study we used genetic material (DNA) isolated from a select group of 47 OSCC patients. The isolated DNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR), and the resulting amplicons were combined in a DNA library with an AlloSeq Tx17 (CareDx) kit and sequenced on an NGS platform - MiniSeq (Illumina), which allows accurate determination of HLA class I and class II allelic polymorphisms. The statistical analysis for the association of HLA alleles and haplotypes with OSCC was performed with 275 controls of healthy individuals from the Bulgarian population and statistical packages for Python (PyHLA) and R (BIGDAWG). The HLA disease association tests revealed that a statistically significant allele with increased allele frequency in the patient group is HLA-A\*26:01:01 ( $p=0.0024$ ,  $OR=3.4667$ ). After conducting more studies with a larger group of patients, the thesis that A\*26:01:01 is a predisposing allele for OSCC can be confirmed and this allele can be included as an immunogenetic marker.

**Contract D-128/04.06.2021 STUDY OF THE GENETIC SPECTRUM OF CONGENITAL MYOTONY IN BULGARIA**

**PhD student:** Stanislava Georgieva Blagoeva

**PhD supervisor:** Prof. Ivailo Tournev, MD, PhD and Assoc. Prof. Teodora Chamova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurology, Clinic of Neurology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** I represent the result of the molecular and genetic analysis conducted in a patient-established heterozygous mutation c.1333G> A (NM\_000334.4) in the *SCN4A* gene that leads to the replacement of the amino acid valine with methionine in the position 445 in the amino acid sequence encoded by the *SCN4A* gene and causing the atypical myotonia. Neurological status - percussion and myotonic phenomenon. CPK- normal level of the enzyme. Electromyography of m. biceps brachii dextra - myotonic phenomenon. The patient has a

regular cardiac function - without deviations in the results of the conducted electrocardiography and echocardiography. Functional examination of breathing - normal values of FEV1 and FVC. The clinical scales used for assessing the condition prove the existence of a mild degree of the disease, without affecting the quality of life. Congenital myotonia caused by a mutation in the *SCN4A* gene is a specific inherited disorder of muscle membrane hyperexcitability caused by gain-of-function defects in the mutant NaV1.4 subunit. This disorder is clinically presented by a myotonic phenomenon – failure of muscle relaxation after activation. Clinical myotonia manifests with painless muscle stiffness, although the same forms can be associated with pain. The typical location of stiffness varies depending on the underlying disorder but is commonly seen in the eyelids, mouth, hands, and proximal legs. The most demonstrated phenomenon called “warm up” is clinically represented by improvement of the myotonia by repeated action. The data shows that the treatment with carbamazepine had a beneficial effect.

**Scientific publications and presentations:**

- S. Blagoeva, T. Chamova, T. Todorov, A. Todorova, M. Gospodinova, I. Tournev National conference of child neurology, Sofia, „Park hotel Moskva“- 2-3 of Sep 2021.

**Contract D-129/04.06.2021 GENETIC VERIFICATION AND EVALUATION OF THE INVOLVEMENT OF SMALL FIBERS IN HEREDITARY MOTOR AND SENSORY NEUROPATHY**

**PhD student:** Ognyan Aleksiev Asenov

**PhD supervisor:** Prof. Ivaylo Tournev MD, PhD and Ass. Prof. Teodora Chamova PhD

**Address of project implementation:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. Neurology, Clinic of Neurology, University Hospital “Alexandrovska”, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of the study was genetic verification of patients with hereditary sensory and motor neuropathy and assessment of the severity of involvement of thin myelinated and unmyelinated nerve fibers by Sudoscan and sympathetic skin response. A total of 5 patients (3 women and 2 men) were studied on the basis of anamnestic data (for early onset of complaints before the first decade, familial history), neurological status (polyneuropathic sensor and motor syndrome with bilateral tibial and more pronounced peroneal paresis, muscular hypotrophy of distal parts of the lower and upper limbs, sensory disturbances of the distal hypoesthesia type for superficial sensation in the lower and upper limbs and skeletal deformities of the feet such as pes cavus, equinovarus, pes planus) and nerve conduction study (demyelinating or axonal neuropathy in upper and lower extremities). Two of those affected have a duplication of PMP22, one homozygote for the p.Arg37Pro mutation in the HINT 1 gene. In one patient with duplication of PMP 22 gene, the results of the sudotest show a moderate reduction in the electrochemical conductivity of the feet and palms, the results of sympathetic skin response, no responses from the lower extremities and reduced amplitudes in the upper extremities, in the absence of clinical manifestations of autonomic dysfunction. In the other two patients, the results of the autonomic tests performed to assess the involvement of thin nerve fibers are normal. The results of the present study are insufficient to assess the involvement of thin fibers in patients with hereditary sensory and motor neuropathy due to the small number of patients.

**Contract D-132/04.06.2021 THE ROLE OF SFRP4 BIOMARKER FOR EVALUATION OF METABOLIC CHANGES IN OBESE PATIENTS BEFORE AND AFTER BARIATRIC/METABOLIC SURGERY**

**PhD student:** Antonina Georgieva Gerganova, MD

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov MD, PhD, DSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, 1 G. Sofiiski Str, 1431 Sofia

**RESULTS:** Obesity is a chronic metabolic disease, which is a major risk factor for the development of various obesity-related complications and is associated with reduced quality of life, disability, and mortality. Bariatric surgery is the most effective, but invasive method for obesity treatment when all other modalities have failed or when complications and obesity-related comorbidities are present. Mechanisms whereby bariatric surgery not only leads to weight reduction but also to remission of obesity-associated diseases have become of great scientific interest in the last couple of years. The aim of this study is to evaluate the effect of metabolic surgery on metabolic changes in patients before and after bariatric surgery. We assessed 22 obese patients with/without carbohydrate disturbance and a follow-up was performed after bariatric surgery. Significant correlation was found between serum levels of SFRP4 and glucose after 60 min during oral glucose tolerance test ( $r = 0,402$ ,  $p = 0,034$ ), insulin after 120 min during oral glucose tolerance test ( $r = 0,503$ ,  $p = 0,006$ ), CAVIR ( $r = 0,344$ ,  $p = 0,03$ ), (CAVIL -  $r = 0,350$ ,  $p = 0,027$ ), TBImean ( $r = -0,480$ ,  $p = 0,002$ ) and BMI ( $r = -0,363$ ,  $p = 0,002$ ). We also found that the reduction of serum SFRP4 leads to an increase in the risk of obesity - OR = 0.557; CI: 0,376 – 0,876,  $p = 0,004$ . Additionally, a reduction of ABI index was observed after bariatric surgery, which suggests the positive indirect effect of bariatric surgery on cardiovascular risk. Moreover, it was found that the risk of autonomic neuropathy was reduced by around 20% assessed by Sudoscan.

### **Contract D-133/04.06.2021 THE ROLE OF NEW ADIPOKINES IN THE GLUCOSE CONTINUUM**

**PhD student:** Iveta Slavyanova Nedeva

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov MD, PhD, DMedSci

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, University Hospital "Alexandrovska", 1 George Sofiiski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Diabetes and obesity are known to be epidemic and pandemic diseases. The majority of patients with diabetes are obese, which suggests a close link between the two pathological conditions. Recently, the endocrine aspects of adipose tissue have become an active research area, with adipokines secreted from adipose tissue being of particular interest. It has become clear that the unregulated production of adipokines is involved in the development of metabolic and vascular diseases associated with obesity. Thus, circulating adipokine levels can be used as biomarkers of high predictive value for the development of obesity-related complications, including diabetes mellitus and metabolic syndrome. In our study we examined 153 people with an average age of  $52.05 \pm 11.74$  years, divided into four groups - group 1 with obesity without carbohydrate disorders ( $n = 35$ ), group 2 with prediabetes ( $n = 38$ ) and group 3 ( $n = 38$ ) with newly diagnosed diabetes mellitus and a control group of healthy individuals ( $n = 42$ ). We monitored asprosyn levels across the spectrum of carbohydrate disorders and found significantly higher levels in obese and glycemic disorders compared to controls. Higher levels were also found in persons with obesity and carbohydrate disorders compared to those without the corresponding deviations. The correlation analysis showed a positive relationship between serum asprosyn and most of the anthropometric parameters, as well as with blood sugar at 60 minutes within the OGTT. With regard to instrumental studies, a positive association between asprosyn and the peripheral neuropathy index was reported.

**Contract D-136/04.06.2021 CHARACTERISTICS OF FLUORIDE RELEASE FROM DIFFERENT BIOACTIVE RESTORATIVE MATERIALS**

**PhD student:** Victoria Velizarova Gateva

**PhD supervisor:** prof. Nataliya Gateva-Grancharova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Pediatric Dentistry

**RESULTS:** The aim of the study was to evaluate the concentration and duration of release of fluoride ions from some types of materials - glass ionomer cement - Fuji IX GP extra (GC), compomer - Dyract XP (Dentsply Sirona) and giomer - Beautifil II (Tokuyama Dental) used as restorative materials in the primary dentition. For the objective to be achieved, 2 tasks were set and completed. The first task was to measure the concentration of fluoride ions in deionized water after a 24-hour stay in it for samples of each of the studied materials. The second task was an assessment of the change in concentration over time. For the performance of the tasks, 20 cylindrical samples were made from each of the three tested restorative materials. All samples were kept in an incubator immersed in 5 ml of deionized water at 37°C for 24 hours. This was followed by measurement of the concentration of fluoride ions in the medium using an ion-selective electrode for fluorides immersed in it, connected to an ion meter. After conducting the test, the cylindrical specimens were washed with fresh deionized water, dried, and transferred to new vials with 5 ml of fresh deionized water. The procedure was repeated every day for 7 days, then on the 14th, 21st and 28th days. Analysis of the results showed that GIC outperformed compomer and giomer in terms of fluoride release for all time intervals with a statistically significant difference. The difference between compomer and giomer was not significant, but compomer demonstrated higher values for all time intervals. All three materials released the highest concentrations of fluoride on the first day, after which there was a sharp drop in fluoride release and continued emission of lower levels from GIC and giomer. With compomer, such a sharp drop is not observed.

## Medico-social area 2021

### **Contract D-137/04.06.2021 LONGITUDINAL STUDY OF QUALITY OF LIFE AND COST ANALYSIS FOR TREATMENT OF PATIENTS WITH ACROMEGALY IN BULGARIA**

**PhD student:** Yanitsa Antonova Rusneova

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Maria Kamusheva, M.Pharm, PhD and Assoc. Prof. Atanaska Elenkova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Organization and Economics of Pharmacy

**RESULTS:** The aim of the study is to assess in a long-term manner the quality of life of patients with acromegaly in Bulgaria, the cost-effectiveness of treatment and associated costs. A set of tools has been applied to achieve the goals: (1) a systematic review of the literature; (2) a survey with SF-36, EQ-5D and AcroQoL; (3) collection of demographic and clinical data retrospectively for the hospitalized patients with acromegaly at USBALE "Acad. Ivan Penchev", Sofia; (4) Micro-costing; (5) cost-effectiveness analysis; (6) statistical analysis. Most of the identified studies are based on pharmacoeconomic modeling with comparative alternatives of somatostatin analogs and pegvisomant. The literature review shows the importance of analyzing the effectiveness and cost-effectiveness of therapies for acromegaly for the purpose of making informed decisions in health care. The systematic review of quality-of-life studies in patients with acromegaly confirms the need for periodic monitoring and evaluation of quality of life. Our own quality of life study shows that women have lower levels of AcroQoL than men 50 vs. 66 ( $p < 0.05$ ). Lower quality of life values for octreotide compared to octreotide + pegvisomant were identified with all questionnaires: 57 vs. 67 AcroQoL ( $p = 0.0405$ ), 0.699 vs. 0.7586 EQ-5D ( $p = 0.0595$ ) and 57, 94 vs. 66.06 SF-36 results ( $p > 0.093$ ). AcroQoL, EQ-5D and SF-36 are reliable questionnaires applicable to the Bulgarian population with acromegaly. This pilot study confirmed that combination therapy involving biologic therapy was associated with higher AcroQoL appearance scores than monotherapy, a conclusion that needs to be further confirmed. Cost-effectiveness analysis shows that the probability of combination therapy somatostatin analogs + pegvisomant is cost-effective compared to monotherapy with somatostatin analogs in the outcome measure change in IGF-1 levels is about 70% and in the outcome measure QALY - about 23% at the corresponding profitability threshold.

#### **Scientific publications and presentations:**

- C. Nguyen, Y. Rusenova, M. Kamusheva, K. Mitov. COST-EFFECTIVENESS ANALYSIS OF ACROMEGALY TREATMENT – A LITERATURE REVIEW. Medical Journal “St. Anna”. 2021;VII (1-3): 39-44.
- Rusenova, Y., Vandeva, S., Elenkova, A., Petrova, G., Kamusheva, M. Quality of life of patients with acromegaly: comparison of different therapeutic modalities, Expert Opinion on Orphan Drugs, 2022;10:1, 48-54, DOI: 10.1080/21678707.2022.2153670
- Parvanova A, Rusenova Y, Kamusheva M et al. Assessment of quality of life in patients with acromegaly - a systematic review. XII National Conference on rare diseases and orphan drugs. 10-11 September 2021. Virtual Congress Center. 151.
- Rusenova Y, Pesheva M, Ganov N. et al. Evaluation of the value effectiveness of acromegaly therapy in Bulgaria - data from the actual therapeutic practice. Submitted for participation in the XIII National Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs. September 9-10, 2022, Plovdiv.





# COMPETITION „STIMULATION OF SCIENTIFIC RESEARCH IN AREAS OF EXCELLENT ACHIEVEMENT” 2020-2021

## Contract D-38/04.03.2021 THE ROLE OF NOVEL BIOMARKERS FOR THE CARDIOVASCULAR RISK AND THE METABOLIC CHANGES IN PATIENTS WITH OBESITY BEFORE AND AFTER BARIATRIC/METABOLIC SURGERY

**Research team:** Prof. Zdravko Asenov Kamenov, PhD, DMedSci

- Assoc. Prof. Antoaneta Gateva, MD, PhD, DMedSci
- Assoc. Prof. Vera Karamfilova, MD, PhD
- Assist. prof. Yavor Assyov, MD, PhD
- Antonina Gerganova
- Assist. prof. Tsvetan Gatev, MD - MU
- Assist. prof. Iveta Nedeva, MD, PhD
- Prof. Kostadin Angelov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Konstantin Grozdev, MD, PhD
- Assist. prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD, PhD
- Prof. Radka Kaneva, PhD
- Veronika Petkova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, 1 Georgi Sofiiski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Obesity is a long-term metabolic condition that poses a major risk for various health problems. It is linked with lower quality of life, reduced ability to work, and even death. When other methods fail, bariatric (metabolic) surgery is the most efficient option to manage severe obesity. Lately, there has been an increasing scientific curiosity in understanding how metabolic surgery not only causes weight loss but also addresses the associated complications of obesity. The aim of this study was to evaluate, in the context of a prospective investigation, the role of new biomarkers for cardiovascular risk and metabolic changes in patients with obesity before and after bariatric surgery. We enrolled 27 patients eligible for bariatric surgery (BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> or BMI  $\geq 35$  with type 2 diabetes) before and 6 months after surgery (RYGB, sleeve gastrectomy, OAGB) and healthy lean volunteers (n=27). Within the framework of the present study, a statistically significant difference was found between the levels of both Asprosin and CTRP-1 in patients with obesity before bariatric surgery and healthy volunteers. A similar difference was also found at 6 months postoperative follow-up between the patients who underwent bariatric surgery and the controls. A significant reduction in their levels after surgery was also noted, which was associated with a reduction in appetite and cardiovascular risk in patients. Significant correlations were found between serum levels of Asprosin and the waist/hip ratio (Spearman's coefficient  $\rho = 0.308$ ,  $p = 0.038$ ), Fat% (Spearman's coefficient  $\rho = -0.384$ ,  $p = 0.007$ ), metabolic age (Spearman's coefficient  $\rho = 0.536$ ,  $p = 0.000$ ), and mean value of the intima-media thickness index (Spearman's coefficient  $\rho = 0.522$ ,  $p = 0.000$ ).

### **Scientific publications and presentations:**

- “Serum CTRP-1 levels in patients with obesity before and after bariatric/metabolic surgery” – submitted abstract, ID: 163, IFSO World congress of Bariatric and metabolic surgery, 30.08-01.09.2023, Naples, Italy

**Contract D-39/04.03.2021 ASSESMENT OF PROGRESSIVE VASCULAR REMODELING OF CEREBRAL ARTERIO-VEINUS MALFORMATIONS**

**Research team:** Prof. Stanimir Stefanov Sirakov, MD, PhD

- Assist. Prof. Aleksandar Sirakov, MD, PhD
- Irena Ivanova, MD, PhD
- Assist. Prof. Dimitar Monov, MD
- Assist. Prof. Nikolay Lilyanov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department of Radiology

**RESULTS:** Arterio-venous malformations (AVMs) are associated with high rupture risk and following fatal intracranial hemorrhage due to impaired shunting of arterial blood through venous component and lack of capillary bed. The pathological mechanisms that take part in growth, progression and development of AVMs are not fully understood. The aim of this study was to assess the progressive vascular remodeling of cerebral AVMs via clinical-laboratory methods. We found an association between age and serum levels of MMP-9. With each advancing year the levels of MMP-9 significantly lower by 0,644%. We did not find any threshold levels for both MMP-9 and ICAM-1 in venous and arterial blood which could differ patients with ruptured from those with unruptured AVMs. We did not find threshold levels for both MMP-9 and ICAM-1 in peripheral venous blood that could discriminate patients with AVMs from the healthy controls. We did establish statistically significant difference between the levels of MMP-9 in arterial blood withdrawn from parent artery proximal to the AVM and peripheral venous samples withdrawn during procedure, 24 hours after it and on the 7<sup>th</sup> postprocedure day. No statistically significant difference was proven between the levels of ICAM-1 in arterial blood withdrawn from parent artery proximal to the AVM and peripheral venous samples withdrawn during procedure, 24 hours after it and on the 7<sup>th</sup> postprocedure day  $\pi$  ( $p=0,595$ ). No association was found between sex and rupture as a first clinical manifestation of AVMs ( $p=1,000$ ). Further investigation in bigger study samples with patients with ruptured and unruptured AVMs are needed to determine in detail vascular remodeling.

**Contract D-42/08.03.2021 ESTABLISHMENT AND OPTIMIZATION OF A METHOD FOR ANALYSIS OF A DYNAMIC EXPANSION IN THE ATXN2 GENE IN PATIENTS WITH AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS**

**Research team:** Prof. Albena Parvanova Todorova-Georgieva, DSc

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, DSc
- Assist. Prof. Bilyana Georgieva, PhD
- Prof. Ivaylo Tournev, MD, DSc
- Yanka Dangulova, PhD
- Tihomir Todorov, PhD
- Slavko Ormandzhiev, MSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia

**RESULTS:** Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a rare and incurable neurodegenerative disease. The goal of this scientific research was to implement and optimize a method for analysis of dynamic (CAG)<sub>n</sub> expansions in the ATXN2 gene in patients with presumable clinical diagnosis ALS among the Bulgarian population. We have developed and optimized a method for analysis of expansions in the ATXN2 gene. The PCR based method of detection with

fragment analysis was successfully implemented. We have genetically verified 9 patients with presumable clinical diagnosis ALS. We have identified 7 expansions in the range of 27-30 CAG repeats and 2 borderline 26 CAG repeats. We have also verified two asymptomatic family members for two of the patients. One carried 28 repeats and the other had borderline 26 repeats, which were the same for the index patients. In the following study of the *ATXN2* gene we have determined an expansion frequency of 4,5% in Bulgarian patients, which is close to our literature findings (~4,7%) for all ALS cases [Elden et al., 2010]. Our patients' group is small, but we can identify correlation between the genotype and phenotype trait "beginning of the disease": earlier development for bigger expansions. While analysing the vertical inheritance of the 28 CAG expansion in the index patient's family member, we have identified a stable transition (28CAG>28CAG). Borderline values must be interpreted in the context of the clinical manifestation. These could develop into big expansions in the next generation, which at first glance doesn't affect the patient, but has impact, due to anticipation. Amyotrophic lateral sclerosis is a rare neurodegenerative disease for which there is a lack of genetic data for Bulgarian patients. The following research has contributed to the genetic characterization of 4,5% of 200 patients, and the obtained results enrich the worldwide database with data for Bulgarian population.

### **Contract D-43/08.03.2021 MOLECULAR-GENETIC VARIANTS IN *BTD* GENE, ENCODING THE ENZYME BIOTINIDASE IN BULGARIA**

**Research team:** Assist. Prof. Bilyana Georgieva Georgieva, PhD

- Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD, Dsc
- Assist. Prof. Silviya Kalenderova-Valkova, PhD
- Maria Dulgerova
- Yanka Dangulova
- Assist. Prof. Ani Miteva, PhD
- Slavena Ategin, PhD student
- Iglia Yordanova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Srt., 1431 Sofia.

**RESULTS:** Aim of the study was to determine the spectrum of molecular-genetic variants in the *BTD* gene and their effect on the activity of the enzyme biotinidase. We reanalyzed with GenSearchNGS (1.7.03) software the available NGS data from 135 patients with different clinical diagnoses for searching different molecular-genetic variants in the *BTD* gene, which we further confirmed with Sanger sequencing. Direct sequencing was used to check the presence of the mutation p.Asp444His in 100 normal unrelated control samples, used for defining the control ranges for normal biotinidase activity. We found that the carrier frequency of p.Asp444His in Bulgaria is higher (11,53%) than the published in the literature. We determined the control ranges for normal biotinidase activity in non-carriers of p.Asp444His - mean 5,34 pmol/min/disk (range 3,70 - 6,96 pmol/min/disk). Carriers of p.Asp444His have mean biotinidase activity 3,69 pmol/min/disk (69% of the mean normal biotinidase activity). Our experience shows that only on the basis of biotinidase activity the genetic status regarding the p.Asp444His mutation can't be determined. Reanalyzing the NGS results we found 7 known molecular-genetic variants in the *BTD* gene – 2 pathogenic variants: c.1330G>C (p.Asp444His) and c.625C>T (p.Arg209Cys), 4 non-pathogenic variants: c.1413T>C (p.Cys471Cys), c.1171C>T (p.Pro391Ser), c.261C>T (p.Asn87Asn) and c.645C>T (p.Leu215Leu), and 1 variant with uncertain significance: c.133G>A (p.Gly45Arg), with which we expand

knowledge of the already known molecular variants in the gene. We found two patients who are very likely to have partial biotinidase deficiency - the first is homozygous for p.Asp444His mutation, the other is compound heterozygous for p.Asp444His and p.Arg209Cys. In both patients it has never been supposed as a probable clinical diagnosis biotinidase deficiency, indicating that our specialist doctors should be more acquired and learn in more details the characteristics of this disease in order to be able to offer families proper diagnosis and therapy, and adequate genetic counseling.

**Contract D-44/08.03.2021 PRESENCE OF LOW, INTERMEDIATE AND HIGH-RISK HUMAN PAPILOMA VIRUSES IN TISSUE MATERIALS OF PATIENTS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA, PRECANCEROUS CONDITIONS AND/OR PROSTATE CANCER**

**Research team:** Assist. Prof. Silvia Georgieva Kalenderova-Valkova, PhD

- Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD, DSc
- Assist. Prof. Bilyana Georgieva, PhD
- Assist. Prof. Anita Kavrakova, PhD
- Kremena Mesechkova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave str, Sofia 1431

**RESULTS:** There are data showing positive association of high-risk Human Papilloma Viruses (HPV) with the onset and progression of prostate cancer (PCa), based on their oncogenic biological activity. We tested Bulgarian probands for a presence and role of low, intermediate and high risk HPVs in PCa. A total of 55 “tru-cut” biopsies from Bulgarian patients with proven PCa and 17 with benign prostatic hyperplasia (BPH) were analyzed. DNA/RNA isolation and PCR-based hybridization method were applied. A RNA/DNA bank from PCa and BPH biological samples with well described preclinical and clinical characteristics was created. HPVs were detected in 9,09% of our “tru-cut” biopsies with PCa and 5,88% with BPH. Detected low-risk HPVs are 42 and 54/55, while high-risk HPVs are 18 and 51. Histological examination showed a presence of high and moderate differentiated acinar adenocarcinoma in combination with BPH, PIN and inflammation. Our results support the hypothesis that long-term active infection predominantly with high-risk HPV in prostate contributes to intraprostatic inflammation, precancerous lesions and BPH, and later to malignancy. We plan to expand the research on solid prostatic tumors.

**Scientific publications and presentations:**

- “Molecular and infectious profiling of prostate cancer” E. Todorova, A. Kavrakova, B. Georgieva, K. Mesechkova, K. Anachkov, K. Yanev, G. Ivanov, G. Derimachkovski, V. Mitev and A. Todorova. ESHG 2022, 11-14.06.2022, Vienna, Austria.

**Contract D-45/08.03.2021 EPIDEMIOLOGICAL TYPING WITH MOLECULAR GENETIC METHODS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATES FROM VARIOUS INFECTIONS**

**Research team:** Prof. Raina Tsvetanova Gergova, MD, PhD

- Assist. Prof. Dr. Virna-Maria Tsitou, PhD
- Assist. Prof. Adile Mukhtarova, PhD
- Prof. Radka Kaneva, PhD

- Kalina Mihova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, MU, MF, 2 Zdrave Str., Sofia, 1431

**RESULTS:** The aim of this study is to investigate molecular epidemiology of clinically relevant *S. aureus* isolates and to evaluate the relationship with their virulence and antibiotic resistance.

Results: A total of 558 invasive and non-invasive clinical strains *S. aureus* isolated during 2016-2020 from hospitals in Sofia, were identified by phenotypical methods including their resistance to antimicrobial drugs and stored at -70°C with their DNA extracts for next molecular-genetic investigations. All MRSA and representative number of MSSA were studied and evaluated for the staphylococcal RAPD type and MLST - sequence type (ST) distribution. Epidemiological typing by RAPD method demonstrates widespread nosocomial distribution of 24 clones and divergence of MSSA in the period 2016-2020. The dominant type A, which circulated more intensively in 2016 and 2017, showed high epidemic and invasive potential. The isolates from the newer clone I, from 2018, showed significantly higher virulence and macrolide resistance in 42.9%, encoded by *ermB* and *ermC*. 15 MRSA clones were identified by RAPD, and five clonal complexes and 11 ST types by MLST methods respectively. Among them, the dominant sequence type is ST5CC5 - a known international epidemic clone (EMRSA), corresponding to the RAPD clone a and persisting throughout the study period with high epidemic and invasive potential. Sequence type ST582CC15, corresponding to clone b, again contained strains with high virulence and epidemicity from the three hospitals. Clone c that corresponded to ST217CC22, showing significant heterogeneity, was found in only 1 hospital and in outpatients. Clone d, resp. ST8-CC8 containing only invasive HA-MRSA is also known as international EMRSA. Conclusion: This research of virulence, mechanisms of antimicrobial resistance, serotypes distribution and molecular epidemiology of clinically relevant staphylococcal isolates creates the basis for future monitoring of evolution and genetic relation of Bulgarian *S. aureus* strains in comparison with the globally spread of resistant clones.

**Scientific publications and presentations:**

- Virna-Maria Stavros Tsitou, Microbiological and genetic studies on virulence, resistance and molecular epidemiology of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, PhD, Sofia, 2021
- Raina Gergova, Virna-Maria Tsitou, Svetoslav G. Dimov, Lyudmila Boyanova, Kalina Mihova, Tanya Strateva, Ivanka Gergova and Romyana Markovska. Molecular epidemiology, virulence and antimicrobial resistance of Bulgarian methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2022; 2022;69(3):193-200.

**Contract D-46/08.03.2021 ASSESSMENT OF INCRETIN RESPONSE AT DIFFERENT STAGES OF IMPAIRED GLUCOSE TOLERANCE**

**Research team:** Prof. Tsvetalina Ivanova Tankova, MD, DMSci

- Assist. Prof. Greta Grozeva-Damyanova, MD, PhD
- Assist. Prof. Nevena Chakarova, MD, PhD
- Assist. Prof. Roumyana Dimova-Draganova, MD, PhD
- Assist. Prof. Maria Boyadjieva-Vladimirova, MD, PhD
- Mina Serdarova, MD – PhD student
- Ani Tododrova, MD, PhD
- Polina Tsarkova, MD

- Martina Salkova, MD
- Teodora Yanakieva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, USHATE “Acad. Ivan Penchev”, Department of Diabetology, 2 Zdrave Str., Sofia 1431

**RESULTS:** The aim of the present study is to assess insulin and GLP-1 response and their relationship during OGTT at different stages of impaired glucose tolerance. 90 subjects – 28 males and 62 females, of mean age  $47.1 \pm 10.6$  years, mean BMI  $31.7 \pm 6.1$  kg/m<sup>2</sup>, were enrolled in the study. Glucose tolerance was studied during OGTT with additional sampling at 60 minute. Subjects were divided into three groups - 29 with normal glucose tolerance (NGT), 30 with normal glucose tolerance+high glucose at 60 min (NGT+high 60 min) and 31 with impaired glucose tolerance (IGT). Insulin, C-peptide, GLP 1 total and GLP 1 active during OGTT were assessed by ELISA. Statistical analysis of data was performed with SPSS v.21.0. There was no statistically significant difference in the hormonal response - both insulin and incretin, during OGTT, between the study groups. No significant correlation between insulin and GLP 1 response was found. A qualitative tendency for increment in the insulin response and decrement in the incretin one was observed with the transition from NGT to NGT+high 60min and IGT. Regardless of the lack of statistical significance based on the study results it could be speculated that incretin response in prediabetes as assessed by the main incretin hormone GLP 1 is qualitatively changed and diminished. The population with NGT+high 60min probably represents a separate stage in the early glucose intolerance and probably should be differentiated from NGT and seen as separate entity of increased risk.

**Contract D-47/08.03.2021 RELATION BETWEEN PRESENCE OF GENETIC POLYMORPHISM OF IL-23 AND SEVERITY OF PERIODONTITIS**

**Research team:** Assoc. prof. Antoaneta Mlachkova, PhD

- Assist. Prof. Zdravka Pashova-Tasseva
- Prof. Christina Popova, PhD
- Maya Kicheva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Periodontology department, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** In the recent science project 83 individuals took part-62 patients with moderate and severe periodontitis and 21 healthy controls. In all of the tested participants detailed periodontal diagnostics was conducted and a ‘buccal mucosa’ sample was taken which a RFLP-PCR about SNPs of IL-23. The data processing was implemented by statistical analysis via PCA – IBM SPSS Statistics Version 22 and shows presence of two genotypes for SNP of IL-23 – GG and GA. The most frequently encountered genotype for SNP of IL\_23 – GG, doesn’t show any significant relation with the severity of periodontitis. Despite that higher values of CAL and BI/Age in male patients that are smokers were established. In the two patients with GA genotype higher values of BI/Age were registered. No relation between the tested genetic polymorphism and the severity of the periodontitis was established, but there is a marked tendency about the severity of the periodontal disease in certain genotypes. Because of the small representative sample, the results are not absolute. Further investigations are among larger population are needed.

**Scientific publications and presentations:**

- Pashova-Tasseva Z, Popova Ch, Tosheva E, et al. Proinflammatory cytokine polymorphisms and severity of periodontitis in a cohort of Bulgarian patients. Acta Medica Bulgarica. 2022;49(4):31-37

- Pashova-Tasseva Z, Mlachkova A. Interrelationship between proinflammatory cytokines and periodontitis. 20th Congress of BZS on June. Burgas. 16-18. 06. 2022

**Contract D-213/15.12.2021 Prevalence of a SARS-CoV-2 mutant variant (deletion in *ORF8* of 382 n.d.) in a Bulgarian sample collection of positive patients and its linkage with a characteristic clinic**

**Research team:** Assist. Prof. Bilyana Georgieva Georgieva, PhD

- Prof. Albena Todorova-Georgieva, DSci
- Anita Kavrakova, PhD
- Maria Dulgerova, chemist
- Yanka Dangulova, biologist
- Kremena Mesechkova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2 Zdrave Str, Sofia 1431

**RESULTS:** Objective: To investigate the prevalence or absence of a SARS-CoV-2 mutant variant (deletion in *ORF8* of 382 bp.) in a Bulgarian sample collection of positive patients and its linkage with characteristic clinical findings. Materials and methods: Concentration and stabilization of the RNA molecules for RT-PCR, qualitative and quantitative Real-Time PCR were applied. Results: The target SARS-CoV-2 mutant variant (deletion in *ORF8* of 382 bp) was detected in 10,11% of the Bulgarian SARS-CoV-2 positive patients. All carriers of SARS-CoV-2 mutant variant (deletion in *ORF8* of 382 bp) reported prolonged active infection and continued quarantine period. Most of those patients fell into the mild-to-moderate clinical group, as did the rest of the patients in the sample. There are only a few severe clinical cases that resulted in hospitalization and death. Diverse and long-lasting post-covid complications were reported in positive patients for the SARS-CoV-2 mutant variant (deletion in *ORF8* of 382 bp), such as mild shortness of breath months after infection, permanent fatigue, migraine headache, back pain, insomnia, hair loss, arrhythmia, etc. In one of the patients, post-covid heart damage and respectively aortic valve replacement was done. Conclusions: Effective migration of the target mutant from its primary location to Europe through mass globalization and travel was demonstrated. The SARS-CoV-2 (deletion in *ORF8* of 382 bp) mutant causes a prolonged active phase of viral infection. Despite milder clinical presentation and consequences among patients carrying the target mutant, we show that it is capable of causing hyposaturation pneumonia and diverse and long-term post-covid complications. An interesting fact is that data for the most severe clinical symptoms are concentrated in immunocompromised patients with diagnoses, such as Hashimoto's, Bekhterov's disease. We believe that the differential diagnosis and characterization of SARS-CoV-2 genomic variants has direct therapeutic significance.

**Contract D-214/15.12.2021 Assessment of glucose-dependent insulinotropic peptide GIP in prediabetes**

**Research team:** Prof. Tsvetalina Ivanova Tankova, DSci

- Assoc. Prof. Greta Grozeva-Damyanova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Nevena Chakarova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Roumyana Dimova-Draganova, MD, PhD
- Mina Serdarova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, USHATE "Acad. Ivan Penchev", Department of Diabetology, 2 Zdrave Str., Sofia 1431

**RESULTS:** The aim of the present study is to assess glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and its relationship to the parameters of glucose homeostasis in prediabetic states – impaired fasting glucose (IFG) and impaired glucose tolerance (IGT). 90 subjects – 28 males and 62 females, mean age  $47.7 \pm 10.9$  years, mean BMI  $31.5 \pm 5.8$  kg/m<sup>2</sup> were enrolled in the study. Glucose tolerance was studied during OGTT with an additional assessment of HbA1c. Subjects were divided into three groups - 29 with normal glucose tolerance (NGT), 30 with impaired fasting glucose (IFG) and 31 with impaired glucose tolerance (IGT). Insulin, C-peptide and GIP total during OGTT were assessed by ELISA. Glucose variability was presented as a percentage of the coefficient of variation calculated from the raw data from the continuous glucose monitoring (Libre Pro). Statistical analysis of data was performed with SPSS v.21.0. There was no statistically significant difference in the GIP-incretin hormonal response between the study groups. No significant correlation between GIP and the parameters of glucose homeostasis was found. A qualitative tendency for increment in incretin response, decrement in insulin sensitivity and beta-cell function and increase in glucose variability with the transition from NGT to prediabetes was observed with glucose variability being significantly elevated in IGT compared to NGT ( $p <$ ). The results are in favour of the hypothesis for predominantly qualitative defect rather than quantitative one at the stages of prediabetes.

**Contract D-216/15.12.2021 Broadening the molecular pathology in patients with late-onset hereditary ataxia, negative for expansions of dynamic repeats, using NGS**

**Research team:** Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

- Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Albena Jordanova, PhD
- Prof. Ivaylo Turnev, MD, DSc
- Assoc.Prof. Teodora Chamova, DSc
- Assistant Prof. Nevyana Ivanova, PhD
- Kalina Mihova
- Stoyan Bichev
- Stilyana Panova
- Martin Georgiev

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Centre, 2 Zdrave str, 1431 Sofia

**RESULTS:** The aim of this was to reveal the genetic causes for the development of the late-onset hereditary ataxias (LOHA) in patients in whom the most common genetic defects – expansions of dynamic repeats – have been rejected. The idea was to look for another type of variants using whole exome sequencing (WES). We analyzed 50 unrelated patients. Pathogenic/potentially pathogenic variants were detected in 37 patients. Mutation spectrum includes 29 genes, of which 19 are known genes for LOHA. Most frequently they were found in the PNPLA6, FAT2, PRKCG, PRNP, POLG and SPTBN2 genes. Making a genetic diagnosis proved to be key in defining complex phenotypes such as Boucher-Neuhauser syndrome, ARSACS and prion disease, for which there was no data among Bulgarian patients until now. We also identified variants in 3 novel candidate genes for LOHA which there were only single reports until now (FAT1, MTLCL1, SPTAN1). In seven patients, were found variants in genes associated with other neurodegenerative/neuromuscular diseases (amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease, spastic paraplegia and myopathy), and in one patient, a homozygous variant in the ADA2-gene associated with cerebrovascular disease was detected. This confirms the previously reported data on the clinical and genetic overlap of these diseases. In two patients, additionally to variants in genes for LOHA, a second genetic



variant associated with another neurological disease (TGM6 and ADA2; DNMT and CPT1C) was found. In both cases, clinical re-evaluation confirmed the presence of additional symptoms that could be attributed to the variant in the second gene. These findings indicate that different symptoms of the clinical picture in one patient may be due to molecular defects in more than one gene, each of which leads to the development of particular clinical symptoms and is inherited independently. It is possible that defects in these genes follow a different inheritance pattern, which would explain the clinical heterogeneity among patients within the same family.

**Scientific publications and presentations:**

- Ivanova N, Mihova K, Chamova T, Bichev S, Kamenarova K, Kachakova D, Georgiev M, Bozhilova R, Dimitrova I, Savov A, Turnev T, Jordanova A, Kaneva R. P11.011.C. Whole exome sequencing in Bulgarian patients with late-onset hereditary ataxia expands the genetic diversity of the disease. European Society of Human Genetics Conference. Glasgow, United Kingdom. 10-13 June 2023.

# GRANTS FOR BUILDING RESEARCH INFRASTRUCTURE

**2020-2021**

## **Contract D-40/04.03.2021 BUILDING OF A LABORATORY FOR THE POSTURE AND LOCOMOTION STUDY AT THE PHYSIOTHERAPY DEPARTMENT IN FPH IN MU-SOFIA (STAGE II)**

**Research team:** Assoc. Prof. Stefan Nedkov Yanev, PhD

- Assoc. Prof. Vanina Mihailova-Alakidi, PhD
- Assoc. Prof. David Kanchev, PhD
- Assoc. Prof. Dr. Yoannis Papantasiou, MD, PhD
- Prof. Ivet Koleva-Yosinova, MD, PhD, DSci
- Assist. Prof. Todor Dimitrov, PhD
- Assist. Prof. Julieta Gerenova, PhD
- Assist. Prof. Inna Ivanova, PhD
- Assist. Prof. Nadya Manova
- Assist. Prof. Elena Zheleva
- Assist. Prof. Elvira Nikovska
- Prof. Antonia Yanakieva, PhD
- Prof. Mariela Yaneva-Delivska, PhD, DSci
- Assoc. Prof. Todor Kundurgiev, PhD
- Assist. Prof. Svetlin Georgiev

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Public Health, Department of Physiotherapy, 15 Bull. Acad. Ivan Evstratiev Geshov, 1431 Sofia

**RESULTS:** SEMG equipment has been installed in the second-stage Posture and Locomotion Research Laboratory at the Department of Physiotherapy at the Medical University - Sofia, providing the opportunity to conduct basic biomechanical, kinesiology examinations of healthy individuals and pathokinesiology studies of patients. The spectrum of the laboratory contains various conditions after injuries of the lower limbs, pelvis and spine; diseases of the musculoskeletal system and connective tissue; diseases of the nervous system (central and peripheral); diseases of the inner ear; cerebrovascular diseases; congenital anomalies, deformities and chromosomal aberrations, etc. The hardware used for SEMG (surface electromyography) that we acquired is the FREEEMG 1000 of the Italian company BTS Bioengineering and it has the following characteristics: waterproof, wireless connection with 20 m free distance between the receiver and the transmitters, resolution: 16 bit, signal acquisition frequency: 1 kHz, lithium-ion batteries with charger, holster: up to 5 hours for each sensor, built-in memory in each electrode, weight about 10 grams with battery included. The precise digital measurements and analysis provide the opportunity to accurately register the symptoms, their reproducibility and comparability over time, which supports the scientific work in the clinics of orthopedics and traumatology, neurology, pediatrics, physical and rehabilitation medicine at the University multidisciplinary hospitals of MU-Sofia. Scientific forums have been organized and informational meetings have been held to popularize the capabilities of the laboratory not only in medical circles, but also with partners from other higher education institutions in Bulgaria. Improving the quality of training in the specialty "Kinesitherapy" and "Rehabilitator" at MU-Sofia, by conducting practical exercises in the laboratory of students from the specialty, as well as by updating the curricula. A doctoral

student from the team obtained the Educational and Scientific Degree "Doctor" (PhD) and one of the habilitated teachers obtained the Scientific Degree "Doctor of Sciences" on topics related to the project.

**Scientific publications and presentations:**

- "The postural function - a basic and integral part of the human motor function in a state of health and disease" for the acquisition of a scientific degree "Doctor of Sciences" – Assoc. Prof. David Rumenov Kanchev, PhD
- "Role of rehabilitation in improving the quality of life after arthroscopic interventions of the knee joint" for awarding the educational and scientific degree "Doctor" - Antoaneta Petkova Bayraktarova

**Contract D-41/08.03.2021 CONSTRUCTION OF INTERNAL NETWORK INFRASTRUCTURE TO ENSURE STORAGE, TRANSFER AND PROCESSING OF BIOLOGICAL SIGNALS AND RECEIVED EXPERIMENTAL RESULTS OF COMPLEX STUDIES OF ANIMAL MODELS OF SOCIALLY SIGNIFICANT DISEASES**

**Research team:** Assoc. Prof. Yury Penkov Nyagolov, MD, PhD

- Prof. Lazar Slavov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Miroslava Varadinova, MD, PhD
- Assist. Prof. Nadya Hristova-Avakumova, PhD
- Assist. Prof. Petar Somlev, MD, PhD
- Assist. Prof. Evgeny Gabev, PhD
- Andrey Popov
- Petya Markova, PhD
- Nikoleta Vulova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Physiology and Pathophysiology

**RESULTS:** The implementation of this project ensured the storage, transfer and access for specific processing of the data sets of registered biological signals generated in the laboratory of hemodynamics and renal function and of experimental results obtained from complex interdisciplinary studies of animal models of socially significant diseases. The established network and server infrastructure provides network integration of the available in the Laboratory of Hemodynamics and Renal Functions, Department of Physiology and Pathophysiology, polyphysiographic and analytical equipment and the necessary space for storage of data. The laboratory conducts comprehensive research on various animal models of diseases, which is realized in collaboration with specialists from the departments of pharmacology and toxicology, chemistry and biochemistry, physics and biophysics, anatomy, histology and embryology at the Medical Faculty, MU-Sofia, and with research teams from other universities. The construction of the infrastructure also provided an opportunity for the most efficient use of available software products in real time, both for registration and for processing the information received from various posts both locally and remotely. The ability for constant access to experimental data and for communication between individual researchers provides a flexible and efficient mode of operation. The purchased up-to-date, licensed statistical software package with graphic module is the basis for building unified algorithms for applying statistical methods for experimental data processing, as well as for training young researchers from different fields with different statistical methods for processing and visualization of data stored in the database. experimental results. The construction of a modern infrastructure with opportunities for access to the results of multidisciplinary research will

allow for the expansion of the applied methodological approaches for processing and wide-ranging and detailed discussion of the obtained experimental data.

**Contract D-212/13.12.2021 INTEGRATION OF A DIGITAL INFORMATION MODULE BASED ON CAD/CAM TECHNOLOGIES IN THE TRAINING OF STUDENTS OF THE SPECIALTY "DENTAL TECHNICIAN" OF THE MEDICAL COLLEGE "YORDANKA FILARETOVA"**

**Research team:** Assoc. Prof. Eng. Stefan Kolev Velikov, PhD

- Prof. Ralitsa Zlatanova-Velikova
- Prof. Nokolay Popov, PhD
- Assoc Prof. Radka Goranova-Spasova, PhD
- Assist. Prof. Spartak Yanakiev
- Nadegda Kostova-Kamburova
- Mila Moskova, PhD Student
- Assist. Prof. Darina Dimitrova-Stefanova
- Ailin Ahmed, student
- Elina Mitcheva, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Medical College "Jordanka Filaretova"- Sofia

**RESULTS:** CAD/CAM (computer-aided design/computer-aided manufacturing) is a technological method that uses specialized software and equipment to design and manufacture various types of prosthetic structures. It has been introduced into medicine in general and dentistry and dental technology in particular. The aim of the project is to increase the competence, quality of training and competitiveness of the students of the specialty "Dental Technician", to evaluate the accuracy of new dental materials and devices and to create opportunities for professional collaboration by building and renovating the infrastructure of J. Filaretova with modern CAD/CAM technologies. The results of the project are: Upgrading of the infrastructure of Medical College "J. Filareta" with modern technologies and modern technologies; Update of the curricula of the profile disciplines in accordance with the modern trends worldwide through the integration of CAD/CAM theoretical and practical classes; Expansion of pedagogical opportunities and improvement of the quality of illustration of the teaching material; Implementation of laboratory studies on the accuracy of working models of different materials and the possibility of comparative analysis and evaluation of the adaptation of prosthetic structures to them; Developing the skills of trainers and trainees to use modern CAD/CAM technologies and dental software; Opening up opportunities to carry out postgraduate courses on campus and at the University. The upgrading of the infrastructure will open up new opportunities for research and scholarly activities within the project and in the years to come. The availability of CAD/CAM technologies enables successful collaborations with other universities and colleges abroad where these methods are a strong focus of training. Promotion of the results of the project increases the attractiveness of the specialty "Dental Technician" at Medical College "Yordanka Filaretova" and Medical University - Sofia.

**Scientific publications and presentations:**

- Yanakiev, S., S. Velikov, N. Kostova-Kamburova, M. Moskova, E. Micheva, Attitudes and Attitudes of Students of the Dental Technician Specialty of MK "Y. Health and Science, 3-4. 48-54, 2022
- Yanakiev S., S. Velikov, N. Kostova-Kamburova, M. Moskova, E. Micheva Role of CAD/CAM training in the practical and theoretical training in the technology of dental prostheses of the first-year students of the specialty "Dental technician" of MK "J. Filaretova", Health and Science, 2023, in press

- Yanakiev S., N. Kostova-Kamburova, M. Moskova, S. Simeonov, E. Micheva, Three-dimensional printing in dentistry and dental technology, Health and Science, 2023, in press /in Bulgarian/
- Spartak Yanakiev, Stefan Velikov, Nadezhda Kostova-Kamburova, Mila Moskova, Elina Micheva. Effect of the cad/cam education on the practical and theoretical training of dental technician students at Medical college " Y. Filaretova", SOFIA, 7th Asia pacific International Modern Sciences Congress, November 4-5, 2022, Jakarta, Indonesia
- Spartak Yanakiev, Stefan Velikov, Nadejda Kostova-Kamburova, Mila Moskova, Elina Micheva. Attitudes of the students of the "Dental technician" specialty at Medical college "Y. Filaretova" on the use of CAD/CAM technologies, 8th International black sea coastline countries scientific research conference, , August 29-30, 2022 / Sofia, Bulgaria
- Yanakiev S., N. Kostova-Kamburova, M. Moskova, E. Miceva, Three-dimensional printing in dentistry and dental technology, JUBILEE SCIENTIFIC CONFERENCE "Traditions and Future in Medical Education" on the occasion of 180 years since the birth of Yordanka Filaretova, 21 March 2023, Sofia, Bulgaria