

**Резюмета на рецензираните публикации на гл. ас. Георги Николаев Георгиев,  
представени за участие в конкурса**

- B4.1 **G Georgiev**, R Dimitrov, P Todorov, Y Dimitrov, R Konakchieva. Melatonin receptors in human spermatozoa-new findings and relevance to assisted reproduction. (2012) *Journal of Reproductive Immunology* 1 (94), 105, <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.03.439>; IF 4.054, Q1;

Повишената активност на цитохром P450 ароматаза, повишеният 17-бета естрадиол (E2) и нисък индекс на тестостерон (T)/E2 са свързани с увреждане на компетентността на мъжките гамети. Въпреки че ароматазно-инхибиторната активност на мелатонина (MEL) при пациенти с рак на гърдата е предложена в много проучвания, механизмът на това взаимодействие далеч не е разбран. Въпреки интензивните изследвания на неговите антиоксидантни свойства, основната роля и клетъчните таргети на еволюционно запазения мелатонин остава неуловим по отношение на човешката репродукция. За да изясним значението на мелатониновия сигнал, присъстващ в човешкия репродуктивен тракт в настоящото изследване, ние имахме за цел да демонстрираме експресия и локализация на специфичен мембранен мелатонинов рецептор тип 1 (MT1) в човешки компетентни сперматозоиди. Също така изследвахме транскрипцията на гена MTNR1A в проби от сперма, обработени за елиминиране на влиянието на семенната плазма. Нашите резултати демонстрират *in situ* наличието на мембранен мелатонинов рецептор в компетентните мъжки гамети. Наблюдаваната локализация на рецепторния протеин предполага ролята на мелатонина в събития на капацитиране, което може да има няколко важни последици за техниките за асистирана репродукция. Отрицателната връзка между експресията на цитохром P450 ароматаза и MT1 рецептора в проби от сперма на здрави донори и безплодни пациенти сочи значението на стероидното инхибиращо действие на мелатонина в мъжкия репродуктивен тракт. Разнообразните функционални отговори и трансдукционните пътища, свързани със специфично рецепторно активиране от мелатонин в човешки репродуктивни клетки, трябва допълнително да бъдат изяснени.

- B4.2 **Georgiev, G.N.**, Marinova, E., Konakchieva, R., Todorov, P. Melatonin selectively influences the transcription of pluripotency and differentiation markers in human non-cancer cells (2019) *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 33 (1), pp. 286-293. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1571440> - IF 1.632, Q3;

Мелатонинът (MEL) може да повлияе на ефективността на препрограмирането както при ядрен трансфер на соматични клетки, така и чрез директна индукция на плурипотентни стволови клетки (iPSC) чрез все още неидентифициран механизъм. Транскрипционните фактори, свързани с клетъчното препрограмиране и клетъчното сигнализиране, могат да бъдат различно експресирани в зависимост от състоянието на клетъчната диференциация. За да се проучим ефекта на MEL върху експресията на транскрипционни фактори, свързани с препрограмирането, ние използвахме два различни *in vitro* модела на клетъчна пластичност: човешки фибробласти на препуциума (HFF) и първични човешки гранулозно-лутеинови клетки (GLC). Анализът с количествена полимеразна верижна реакция (qRT-PCR) в реално време разкрива амплификация на транскриптите за KLF4, MYC и NANOG и в двата типа клетки. При GLC третирането с 10 pmol/L MEL провокира значително повишаване на експресията на MYC и NANOG в сравнение с контролите. Експресията на KLF4 не се

променя в GLC, но е значително понижена в HFF клетки, третирани с MEL. Промени в експресията на ERK1/2 и pERK1/2 в GLC, анализирани чрез Western blot, не се наблюдават независимо от инкубацията с MEL. Напротив, HFF клетките отговарят на третирането с MEL с 1,6 пъти по-високи нива на pERK1/2 в сравнение с нетретираните контроли. Нашите данни предполагат, че активирането на MT1 мелатонинов рецептор вероятно е свързано с фосфорилиране на ERK1/2 поне при HFF, което впоследствие може да действа за промяна на генната експресия и регулиране на клетъчната съдба. В заключение, ние демонстрирахме за първи път селективния ефект на MEL in vitro при физиологична концентрация върху транскрипционните фактори, регулиращи плурипотентността и диференциацията в човешки неракови клетки според статуса им на клетъчна диференциация.

**B4.3 Georgiev, G.N., Mourdjeva, M., Oreshkova, T., Pankov, R., Konakchieva, R. MT1 and MT2 melatonin receptor expression and in vitro melatonin effect on the pha-dependent activation of human PBMC (2019) Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 72 (11), pp. 1500-1506. DOI:10.7546/CRABS.2019.11.07 - IF 0.378, Q2;**

Комбинацията от усъвършенствани флуоресцентни технологии с клетъчно-базирани анализи се оказва незаменим инструмент за изучаване на задълбочени механизми в биологичен контекст и отговаря на предизвикателствата за извършване на високопроизводителен клетъчен скрининг за биомедицински приложения. За да изследваме имуномодулиращата активност на епифизния хормон мелатонин върху активирането на човешки PBMC и прогресията на клетъчния цикъл, ние използвахме автоматизираната система за изображения на клетки CytelITM (GE Healthcare), която комбинира функциите на цифров микроскоп, цитометър за изображения и клетъчен брояч в един инструмент. Открихме количествени промени при навлизането и прогресията на клетъчния цикъл, причинени от мелатонин. Имунофлуоресценцията показва характерен модел на двата типа мелатонинови рецептори MT1 и MT2, както и модификация на пренареждането на актина и експресията на CD25+ по време на активиране на PBMC.

**B4.4 Nikolov, G., Georgiev, G.N., Marinova, E., Mourdjeva, M., Konakchieva, R. UP-Regulation of MT1 and MT2 receptors by in vitro melatonin and modulation of alpha-tubulin and aromatase P450 expression in human granulosa-lutein cells (2020) Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 73 (3), pp. 348-354. DOI: 10.7546/CRABS.2020.03.07 – IF 0.378, Q2;**

Овариалните гранулозо-лутеинови клетки (GLC) се оказват полезен модел за изследване на рецепторите и сигналния механизъм, участващи в стероидогенезата и пластичността на диференциацията, свързана с растежа на фоликула и качеството на ооцитите. Данните за високи нива на мелатонин в преовулаторни фоликулни течности заедно с демонстрация на специфични мелатонинови рецептори във фоликулните клетки ни позволяват да изследваме възможните цели на хормона в GLC, аспириран от фоликулна течност. Ние демонстрирахме чрез конфокална имунофлуоресценция, специфична експресия на MT1 и MT2 рецептори (MR), която беше повишена след третиране с мелатонин и потвърдена също чрез Western blotting. Чрез двойно имунофлуоресцентно маркиране успяхме да покажем колокализация на сигнала за алфа-тубулин и MT1 в перинуклеарната цитоплазмена област на GLC, докато MT2 сигналът изглеждаше по-слаб около ядрата и се превърна в дифузна цитоплазма след 48 часа инкубация с мелатонин. Наблюдава

се повишена регулация на MR заедно със стимулиране на експресията на протеин P450 ароматаза, което показва значението на мелатонина в процесите, регулиращи развитието на фоликула.

B4.5 **Nikolaev, G.**; Robeva, R.; Konakchieva, R. Membrane Melatonin Receptors Activated Cell Signaling in Physiology and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 471. <https://doi.org/10.3390/ijms23010471> – IF 5.924, Q1;

Хормонът на епифизата мелатонин привлича голям научен интерес от откриването му през 1958 г. Въпреки огромния брой фундаментални и клинични изследвания, точната роля на мелатонина по отношение на човешката физиология остава неясна. При хора са клонирани и идентифицирани два рецептора с висок афинитет за мелатонин, MT1 и MT2, принадлежащи към семейството на G протеин-свързани рецептори (GPCRs). Двата типа рецептори активират Gi протеини, а MT2 се свързва допълнително с Gq протеини, за да модулират вътреклетъчните събития. Индивидуалните ефекти от активиране на MT1 и MT2 рецепторите в различни клетки се допълват от способността им да образуват хомо- и хетеродимери, чиято функционална значимост все още не е потвърдена. Наскоро бяха открити и замесени в патологията няколко генетични полиморфизма на рецептора на мелатонин - например при диабет тип 2, аутоимунно заболяване и рак. Циркадните модели на секреция на мелатонин, неговите плейотропни ефекти в зависимост от типа и състоянието на клетките и вече демонстрираните кръстосани връзки на мелатониновите рецептори с други пътища на сигнална трансдукция допълнително допринасят за затрудненията пред изследване ролята на епифизния хормон при хората. В този обзор се опитваме да обобщим настоящите познания за активираната от мембранния мелатонин рецептор клетъчна сигнализация във физиологията и патологията и тяхното значение за определени болестни състояния, включително рак.

G7.1. Pastuschek, J., Bus, T., Poetzsch, J., Raabe, M., Winkler, S., Fritzsche, A., Schleussner, E., Markert, U., **Georgiev, G.**, COV434 granulosa cell line: take it or leave it? (2014) *Journal of Reproductive Immunology*, 101–102, <https://doi.org/10.1016/j.jri.2013.12.102>; IF 4.054, Q1;

Гранулозната клетъчна линия COV434 се използва широко в изследванията на яйчниците и човешки гранулозни клетки. Като се има предвид удобството, предоставено от клетъчните линии като цяло, и липсата на ефективен метод за изолиране с оглед избягване на замърсявания с други типове клетки, нашата цел беше да идентифицираме нови характеристики на COV434 и да я използваме като нов и достъпен модел за по-широки приложения. Използвайки различни условия на култивиране, ние изследвахме синтеза на 17 $\beta$ -естрадиол и експресията на четири стволново-клетъчни маркера. Освен това, се фокусирахме върху ролята на IL6-тип цитокини LIF и OSM в JAK/STAT пътя. За да използваме COV434 като алтернатива на първичните човешки гранулозни клетки, имахме за цел да проучим по-подробно нейните характеристики и да я сравним с първичните клетки. Обобщавайки всички анализирани характеристики, успяхме да демонстрираме прилики, но и някои разлики между двата типа клетки. Освен това, нашите резултати показват нови открития и отварят нови теми за изследване във връзка с човешките гранулозни клетки.

- Г7.2. Pastuschek, J., Poetzsch, J., Morales-Prieto, D.M., Schleußner, E., Markert, U.R., **Georgiev, G.** Stimulation of the JAK/STAT pathway by LIF and OSM in the human granulosa cell line COV434 (2015) Journal of Reproductive Immunology, 108, pp. 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.03.002> - IF 4.054, Q1;

Развитието на фоликула и компетентния ооцит е силно координирано събитие, което изисква взаимодействие между няколко системи. Те включват ендокринни, имунни и метаболитни сигнали, интрафоликуларни паракринни фактори от тека, мурални и кумулусни гранулозни клетки, както и самия ооцит. Гранулозните клетки играят ключова роля в тяхното взаимодействие. COV434 е една от малкото човешки гранулозни клетъчни линии, които могат да се използват като *in vitro* модел за изследване на яйчниците. Имаме за цел да оценим възможното активиране на сигналния път на Janus киназа/сигнал и активаторите на транскрипционния (JAK/STAT) сигнал от IL-6-тип цитокини инхибиторен фактор на левкемия (LIF) и онкостатин М (OSM) в клетки COV434. Експресията на гени GP130, STAT3, PIAS3 и SOCS3 след стимулация с LIF или OSM беше оценена с помощта на qPCR (PCR в реално време). GP130 транскриптите бяха значително повишени след инкубиране с LIF или OSM за 24 часа. Експресията на STAT3 гена се стимулира само след инкубиране с LIF, но не и OSM. SOCS3 показва значително повишаване на регулацията за всички периоди от време и нивата на PIAS3 първоначално бяха понижени, а след 24 часа - повишени. Освен това, основните сигнални компоненти на JAK/STAT пътя, GP130 и STAT3, и моделите на активиране на киназата на STAT3, бяха изследвани на ниво протеин. Открихме конститутивна протеинова експресия за GP130, STAT3, pSTAT3 (ser727) и регулиране на pSTAT3 (tyr705) от LIF и OSM. Нашите резултати демонстрират активирането на JAK/STAT пътя от LIF и OSM в човешки гранулозни клетки.

- Г7.3. Petrova, V.Y., Kujumdzieva, A.V., Tomova, A.A., **Georgiev, G.**, Stefanova, N., Pankov, R.G. Superoxide dismutase and catalase participate in the regulation of quiescent state of human fibroblasts: In silico and biochemical analysis (2016) Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 69 (4), pp. 467-474. IF 0.378, Q2;

Състоянието на покой е типично за клетките в многоклетъчния организъм, но макар и широко разпространено, все пак малко се знае за механизмите, които водят до неговото установяване и поддържане. В тази статия изследваме връзката между покой и окислителния статус на клетките, като изследваме поведението на антиоксидантните ензими супероксид дисмутаза и каталаза в две различни клетъчни линии – миши и човешки фибробласти, доведени до покой чрез два различни подхода – контактно инхибиране и растеж в триизмерна среда. Чрез използване на биоинформационен анализ и биохимични изследвания, ние демонстрирахме сходство в типовете SODs и каталази, експресирани в двете клетъчни линии и общото поведение, което води до десетократно активиране на двата типа ензими в състояние на покой. Резултатите подкрепят идеята за съществуване на обща програма, активирана при клетъчен покой, която е свързана с намаляване на реактивните кислородни радикали.

- Г7.4. Uzunova, V., Tzoneva, R., Stoyanova, T., Pankov, R., Skrobanska, R., **Georgiev, G.**, Maslenkova, L., Tsonchev, Z., Momchilova, A. Dimethylsphingosine and miltefosine induce apoptosis in lung adenocarcinoma A549 cells in a synergistic manner (2019) *Chemico-Biological Interactions*, 310. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108731> – IF 5.192, Q2;

Ракът на белия дроб е един от най-честите и смъртоносни видове онкологични заболявания. Въпреки напредналите терапевтични подходи, прогнозата за рак на белия дроб все още остава лоша. Очевидно има наложителна нужда от по-ефективни терапевтични стратегии. В тази работа съобщаваме, че едновременното лечение на човешки аденокарциномни A549 клетки със специфични концентрации на два противотуморни агента, инхибитора на сфингозин киназа 1 N, N диметилсфингозин (DMS) и алкилфосфохолин милтефозин, индуцира синергичен цитотоксичен ефект, който беше потвърден от изчислението на комбиниран индекс. Едновременното действие на тези средства предизвиква значително намаляване на броя на клетките A549, както и изразени морфологични промени. Комбинираните лекарства причиняват значителни апоптотични събития и значително намаляване на маркера за оцеляване сфингозин-1-фосфат (S1P), в сравнение с индивидуалното лечение с всяко от противораковите лекарства самостоятелно.

Известно е, че милтефозинът влияе върху синтеза на холин-съдържащи фосфолипиди, включително сфингомиелин, но ние съобщаваме за първи път, че също така намалява S1P. Тук предлагаме предполагаем механизъм, лежащ в основата на ефекта на милтефозин върху сфингозин киназа 1, включващ индуцирано от милтефозин инхибиране на протеин киназа C.

В заключение, нашите открития предоставят възможност за лечение на ракови клетки на белия дроб с по-ниски концентрации на двете противотуморни лекарства, DMS и милтефозин, което е благоприятно по отношение на тяхната потенциална цитотоксичност за нормалните клетки.

- Г7.5. Momchilova, A., Staneva, G., Tzoneva, R., Scrobanska, R., **Georgiev, G.**, Hadzhilazova, M., Maslenkova, L., Pankov, R. Resveratrol affects sphingomyelin and cholesterol in three-dimensional fibroblast cultures (2019) *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 72 (4), pp. 479-484. DOI: 10.7546/CRABS.2019.04.07; IF 0.378, Q2;

Ефектът на ресвератрол върху липидните състави и сфинголипидния метаболизъм е изследван във фибробластни триизмерни култури. Получените резултати показват, че почти всички тествани мембранни липиди остават непроменени с изключение на увеличаване на сфингомиелин и фосфатидилхолин, който е намален в резултат на лечението с ресвератрол. В допълнение, нивото на холестерола в мембраната е значително намалено. Тъй като окисляването на холестерола е патогенен фактор в различни физиологични процеси, бяха проведени изследвания за определяне на чувствителността на холестерола на плазмената мембрана към окислителна атака. Данните показват, че лечението с ресвератрол предизвиква намаляване на процента на окисления холестерол в сравнение с контролите. Това е важно от биологична гледна точка, тъй като холестеролът, заедно със сфингомиелина, образуват функционално активни рафт домени, които участват в различни клетъчни процеси, включително клетъчна сигнализация. По този начин промените в относителните пропорции на липидните компоненти на рафта биха променили сигналните трансдукции и биха могли да предизвикат странична реорганизация на мембранната структура. В заключение, настоящите резултати ясно показват, че третирането на фибробласти с ресвератрол предизвиква промени в основните липидни компоненти на рафта и в чувствителността на холестерола към окислителния стрес.

- Г7.6. Peruhova, M., Peshevska-Sekulovska, M., Krastev, B., Panayotova, G., Georgieva, V., Konakchieva, R., **Nikolaev, G.**, Velikova, T.V. What could microRNA expression tell us more about colorectal serrated pathway carcinogenesis? (2020) *World Journal of Gastroenterology*, 26 (42), pp. 6556-6571. doi:10.3748/wjg.v26.i42.6556 – IF 5.742, Q1;

През последните две десетилетия визията за уникален модел на канцерогенеза за колоректален карцином (CRC) се промени напълно. В допълнение към прехода от аденом към карцином, колоректалната карциногенеза може да се случи и по серозния път. Доказано е също, че малки некодиращи РНК, известни като микроРНК (miRNAs), участват в прогресията към злокачествено заболяване. Освен това е установена повишена експресия на определени miRNAs в пре-малигнени сесилни серозни лезии (SSL), подчертавайки тяхната роля в прогресията на серозния път към рак на дебелото черво. Тъй като miRNAs функционират като пост-транскрипционни генни регулатори, те имат огромен потенциал да бъдат използвани като полезни биомаркери за CRC и скрининг при пациенти със SSL, особено. В този обзор ние обобщихме най-подходящата информация за специфичната роля на miRNAs и техните релевантни сигнални пътища сред различни серозни лезии и полипи, както и при серозен аденокарцином. Допълнителен акцент е поставен върху корелацията между чревния имунитет и експресията на miRNA в серозния път, която остава непроучена.

- Г7.7. **Georgiev, G.**, Konakchieva, R., Momchilova, A., Pankov, R. Quiescent primary fibroblasts sequester activated ERK1/2 into the lipid rafts (2020) *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 73 (3), pp. 363-370. DOI: 10.7546/CRABS.2020.03.09; IF 0.378, Q2;

Клетъчният покой е широко разпространено състояние, характерно за повечето соматични и възрастни стволови клетки в многоклетъчните организми. Определянето му като отделен период (G0), различен от фазите на клетъчния цикъл, повдигна фундаменталния въпрос за изясняване на механизмите, които предизвикват неговото установяване и поддържане. С настоящата работа тествахме хипотезата, че влизането в G0 е свързано с ограничаването на активирана извънклетъчно-сигнално регулирана киназа (ERK1/2) в мембранните рафт домени, като по този начин предотвратява нейната ядрена локализация и последващо активиране на програмата за пролиферация. Използвайки първични човешки фибробласти и тяхната способност да се инхибират в контакт, ние разработихме протокол за обогатяване на клетъчни популации с неподвижни фибробласти. Сравнявайки пролифериращи и неподвижни популации, ние показахме, че липидните салове, изолирани от G0 популациите, са обогатени с общ ERK1/2 и за разлика от рафтовете от пролифериращи клетки, съдържат активиран ERK1/2. Тези резултати предполагат, че клетките могат да използват секвестрация на активиран ERK1/2 в липидните рафт домени като общ механизъм за потискане на пролиферацията.

- Г7.8. Velikova, T., Krastev, B., Lozenov, S., Gencheva, R., Peshevska-Sekulovska, M., **Nikolaev, G.**, Peruhova, M. Antibiotic-related changes in microbiome: The hidden villain behind colorectal carcinoma immunotherapy failure (2021) International Journal of Molecular Sciences, 22 (4), art. no. 1754, pp. 1-11. <https://doi.org/10.3390/ijms22041754> – IF 5.924, Q1;

Взаимодействието между лекарствата и микробимът е от решаващо значение за успешното лечение. Натрупаното количество доказателства идентифицира значителното въздействие на състава на чревната микробиота върху отговора на лечението на рак, особено имунотерапията. Възможните молекулярни пътища на взаимодействие между инхибиторите на имунната контролна точка (ICI) и микробиома могат да бъдат използвани за обръщане на имунотерапевтичния толеранс при рак чрез използване на различни видове интервенции върху чревните бактерии. Тази статия има за цел да прегледа наличните данни за това как свързаните с антибиотици промени в човешкия микробиом по време на лечението на колоректален рак (CRC) могат да повлияят и да определят резултатите от лечението с ICI. Ние също така обхванахме данните, които подкрепят потенциалните интимни механизми както на локални, така и на системни имунни отговори, предизвикани от промени в чревната микробиота. Необходими са обаче допълнителни по-мощни проучвания, за да се оцени задълбочено клиничното значение на индуцираната от антибиотици промяна на чревния микробиом и нейното въздействие върху лечението на CRC чрез директни наблюдения на пациенти, получаващи антибиотично лечение.

- Г7.9. Videv, P., Mladenov, N., Andreeva, T., Mladenova, K., Moskova-Doumanova, V., **Nikolaev, G.**, Petrova, S.D., Doumanov, J.A. Condensing effect of cholesterol on hBest1/POPC and hBest1/SM langmuir monolayers (2021) Membranes, 11 (1), art. no. 52, pp. 1-8. <https://doi.org/10.3390/membranes11010052>; IF 4.106, Q2;

Човешкият бестрофин-1 протеин (hBest1) е трансмембранен канал, свързан с калциево-зависимия транспорт на хлоридни йони в пигментния епител на ретината, както и с транспорта на глутамат и ГАВА в нервните клетки. Взаимодействията между hBest1, сфингомиелини, фосфатидилхолини и холестерол са от решаващо значение за свързването на hBest1 с домени на клетъчната мембрана и неговите биологични функции. Тъй като холестеролът играе ключова роля в образуването на липидни салове, подвижното подреждане на липидите и моделирането/ремоделирането на структурата на страничната мембрана, ние изследвахме ефекта на различните концентрации на холестерол върху повърхностното напрежение на hBest1/POPC (1-палмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и монослоевете hBest1/SM Langmuir в присъствието/отсъствието на Ca<sup>2+</sup> йони, като се използват измервания на повърхностното налягане и изследвания с микроскопия на ъгъл на Брюстър. Тук ние съобщаваме, че холестеролът: (1) има незначителен кондензиращ ефект върху чистите монослоевете hBest1, открити главно в присъствието на Ca<sup>2+</sup> йони, и; (2) предизвиква кондензиращ ефект върху композитни монослоевете hBest1/POPC и hBest1/SM. Тези резултати предлагат доказателство за значението на междумолекулните протеин-липидни взаимодействия за конформационната динамика на hBest1 и неговите биологични функции като мултимерен йонен канал.

- G7.10. Evangelatov, A., Naidenova, D., **Georgiev, G.**, Momchilova, A., Pankov, R. Effects of hyperglycemia on wound healing in three-dimensional cell culture (2021) *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 74 (6), pp. 861-867. IF 0.378, Q2;

Хипергликемията е най-влошаващият фактор, причиняващ патологични и функционални промени при пациенти със захарен диабет, включително незарастващи рани, диабетно стъпало и крака. Въпреки интензивните изследвания, молекулярните механизми на действие на високите концентрации на глюкоза върху клетките са слабо дефинирани. Тук използвахме *in vitro* моделна система, базирана на експериментално наранена триизмерна фибробластна клетъчна култура, за да изследваме заздравяването на рани при нормогликемични и хипергликемични условия. След затваряне на раната за тринадесет дни фазово-контрастна микроскопия показва, че високата глюкоза забавя процеса на заздравяване. Това се дължи на намалена фибробластна трансдиференциация в миофибробласти, както се съди по намалена експресия на миофибробластния маркер  $\alpha$ -smooth мускулен актин. Проучването на активността на TGF- $\beta$  сигналния път, който е отговорен за активирането на фибробластите, показва дефицит на Smad2/3 фосфорилиране дори след добавяне на екзогенен TGF- $\beta$ 1. Тези резултати показват, че високите концентрации на глюкоза са в състояние да отслабят пътя на трансдукция на сигнала на TGF- $\beta$  и този ефект трябва да се счита за важен допринасящ фактор, когато се разработват терапии за заздравяване на рани при диабет.

- G7.11. Momchilova, A., Markovska, T., **Georgiev, G.**, Pankov, S., Staneva, G., Petkova, D., Krastev, P., Pinkas, A., Pankov, R. Quercetin affects membrane lipids and apoptosis in three-dimensional fibroblast cultures (2021) *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 35 (1), pp. 943-952. <https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1939785>; IF 1.632, Q3;

Полифенолът кверцетин се свързва с множество полезни ефекти върху здравето при различни патологии като оксидативен стрес, невродегенеративни разстройства, възпаления, неопластични процеси, заболявания, свързани с възрастта и т.н. Въпреки това, молекулярните механизми, залегнали в основата на ефектите на кверцетин и неговото приложение във фармацевтичната практика, изискват допълнително изясняване. В това проучване ние анализирахме биохимичните механизми на ефекта на кверцетин върху мембранните липиди на фибробластите, култивирани като триизмерни (3D) култури, които наподобяват живи тъкани по-адекватно в сравнение с клетъчните монослоеви. Третирането с кверцетин на 3D фибробласти индуцира промени в състава на фосфолипидите и мастните киселини на плазмената мембрана, както и в метаболизиращите фосфолипиди ензими сфингомиелиназа и фосфолипаза A2. Нивото на сфингомиелин (SM), който действа като ендегенен мембранен антиоксидант, е повишено поради действието на кверцетин. Инкубирането на 3D фибробласти с кверцетин индуцира увеличаване на наситените мастни киселини и редукция на всички полиненаситени мастни киселини в мембранните фосфолипидни молекули на плазмените мембрани, което показва допълнително повишаване на устойчивостта към окислително увреждане. Третирането с кверцетин намалява чувствителността на холестерола към окисление, феномен, който вероятно е свързан с наблюдаваното повишаване на нивото на SM. В допълнение, Western blot анализът показва увеличено фосфорилиране на Akt и експресия на Bcl-2 в третирани с кверцетин клетки, което показва, че апоптозата е потисната от кверцетин. В заключение, отчетените резултати допринасят за по-доброто разбиране на благоприятните ефекти



на кверцетина върху структурата и функциите на плазмените мембрани на 3D клетъчни култури, които са по-адекватен модел на живи тъкани.

Г8.1. **Georgi Georgiev**, Jana Pastuschek, Stefan Neubeck, Udo R. Markert (2013) Part I: Substances Secreted by the Preimplantation Human Embryo. In Immunology of Pregnancy 2013, Bentham Science, doi: [10.2174/9781608057337113010020](https://doi.org/10.2174/9781608057337113010020)

<https://www.eurekaselect.com/117505/chapter/part-i%3A-substances-secreted-by-the-preimplantation-human-embryo>

Човешките преимплантационни ембриони отделят редица разтворими фактори в околната среда, било то *in vivo* или *in vitro*. *In vivo* тези сигнали са от основно значение за оцеляването и имплантирането на бластоцистите. *In vitro*, по време на лечение чрез асистирана репродукция, сигнали, получени от ембриони, могат да бъдат открити в кондиционираната културална среда и могат да послужат за оценка на качеството на ембриона и способността му за имплантиране. Освен това, същите основни разтворими фактори могат да бъдат добавени към предимплантационна културална среда на ембриони или да се вкарат в матката по време на ембриотрансфера. Няколко молекули са открити в кондиционирана ембрионална среда. Наличната литература за най-изявените фактори, HLA-G, интерлевкини, hCG, PAF, лептин, SP-1, EPF и Wnt бета катенин, е прегледана в тази статия. Няколко публикувани резултати са противоречиви или се основават на съмнителни анализи, които откриват концентрации на протеин в средата, надвишаващи теглото на целия бластоцист. Този преглед разкрива малкото настоящо познание за секретите на човешкия ембрион, трудностите при анализите и необходимостта от по-нататъшно изследване.