

**РЕЗЮМЕТА НА РЕЦЕНЗИРАНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА АНГЛИЙСКИ И БЪЛГАРСКИ
ЕЗИК
НА ГЛ. АС. Д-Р НИКОЛАЙ СТОЯНОВ КРЪСТЕВ**

във връзка с участието в конкурса за АД „Доцент“ в направление Област 7.
Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.1. Медицина, обявен в
държавен вестник, бр. 56 от 02.07.24 г. (за нуждите на ФНОЙ)
(съгласно изискванията от ЗРАСРБ в Област 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.1.
Медицина и Правилника за неговото прилагане в СУ "Св. Климент Охридски")

1. Krastev D, Paloff A, **Krastev N**, Apostolov A, Ovtsharoff W. Ultra-structure of trigeminal ganglion in human. *Journal of IMAB—Annual Proceeding (Scientific Papers)* Book. 2008: 1.

ABSTRACT

The trigeminal ganglion (TrG) is built of pseudounipolar neurons, their fibers and satellite cells. Neurons that are different in size have been visualized using electronmicroscopic method. It is particularly interesting that stored pigments are a result of age alterations. Pseudounipolar neurons in (TrG) are sensory cells and they receive nerve impulses from sensory nerve terminals. In conclusion, (TrG) is a related station that receives information, arranges it and transmits the signal to the central nervous system (CNS).

Key words: trigeminal ganglion, pseudounipolar neurons, sensory cells

1. Кръстев Д, Палов А, **Кръстев Н**, Апостолов А, Овчаров В. Ултраструктура на тригеминалния ганглион в човека. *Journal of IMAB—Annual Proceeding (Scientific Papers)* Book. 2008:1.

РЕЗЮМЕ

Тригеминалният ганглий (TrG) е изграден от псевдоуниполярни неврони, техните влакна и сателитни клетки. Различните по размер неврони са визуализирани с помощта на електронномикроскопски метод. Особено интересно е, че съхраняваните пигменти са резултат от възрастови промени. Псевдоуниполярните неврони в (TrG) са сетивни клетки и те получават нервни импулси от сетивните нервни окончания. В заключение, (TrG) е релейна станция, която приема информация, подрежда я и предава сигнала на централна нервна система (ЦНС).

2. Krastev D, Dimitrov A, **Krastev N.** Histochemical observation of nitric oxide synthase in trigeminal ganglion using NADPN-diaphorase techniques. Cyto- and myeloarchitectonic of trigeminal ganglion in humans. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* 2010, 63, (6) 925-932.

ABSTRACT

Despite the considerable amount of experimental data on the normal cytoarchitectonics, ultrastructure and cytochemistry of the trigeminal ganglion (TrG), some aspects in the scientific literature are not sufficiently elucidated. Studies using atypical neurotransmitters such as nitric oxide (NO) shed new light on the explanation of transmission mechanisms according to standards and disease changes in several brain structures. At the same time, scientific publications revealing their presence in TrG are extremely insufficient and their effect is still controversial.

In the last decade, it was discovered that one of the main transmitters in primary sensory neurons is NO. It performs most of the physiological role in the TrG system. As a specific histochemical marker of neurons in the TrG, an enzyme called nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase (NADPH-d) is widely used.

2. Кръстев Д, Димитров А, **Кръстев Н.** Хистохимично наблюдение на азотен оксид синтаза в тригеминален ганглий с помощта на NADPN-диафоразни техники. Цито- и миелоархитектоника на тригеминалния ганглий при хора. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 2010, 63, (6) 925-932.

РЕЗЮМЕ

Въпреки значителното количество експериментални данни за нормалната цитоархитектоника, ултраструктура и цитохимия на тригеминалния ганглий (TrG), някои аспекти в научната литература не са достатъчно изяснени. Изследванията с помощта на нетипични невротрансмитери като азотен оксид (NO) хвърлят нова светлина върху обяснението на механизмите на предаване според стандартите и болестните промени в няколко мозъчни структури. В същото време научните публикации, разкриващи присъствието им в TrG, са крайно недостатъчни и ефектът им все още е спорен.

През последното десетилетие беше открито, че един от основните предаватели в първичните сензорни неврони е NO. Той изпълнява по-голяма част от физиологичната

роля в системата на TrG. Като специфичен хистохимичен маркер на неврони в TrG, ензимът, наречен никотинамид аденин динуклеотид фосфат диафоридаза (NADPH-d), е широко използваем.

3. Jeleв L, **Krasteв N.** and Malinova L. An aberrant deep muscle crossing popliteal fossa and concomitant popliteal vein variation. A review of the related muscle and venous variations. *Translational Research in Anatomy*, 2021, 25, p.100146.

ABSTRACT

Knowledge of the normal anatomy as well as the possible variations of the popliteal fossa and its neurovascular structures are important for safe surgical dissection and accurate imaging. The muscular and vascular variations described here were observed during routine anatomical dissection of the left lower extremity of a 62-year-old male cadaver. An abnormal muscle was identified on dissection of the deep structures in the inferior compartment of the left posterior thigh and popliteal fossa. It originates proximally from the lateral intermuscular septum and the tendon of the short head of the biceps femoris. Moving downward and medially, this unusual muscle crosses the adductor hiatus, passing between the popliteal artery and popliteal vein to finally insert into the adductor tubercle of the femur. A variation of the deep venous system of the same lower extremity was also observed. In this case, the popliteal vein does not enter the adductor canal but continues above the posterior surface of the large adductor and in the upper third of the thigh pierces the muscle fibers to join the deep femoral vein. Only small collateral veins accompany the femoral artery along the adductor canal. Although rare, some hamstring variants may alter the anatomy of the popliteal fossa and be associated with abnormal vascular anatomy.

3. Желев Л, **Кръстев Н.** Малинова Л. Аберрантен дълбок мускул, пресичащ подколennата ямка и съпътстваща вариация на подколennата вена. Преглед на свързаните мускулни и венозни вариации. *Translational Research in Anatomy*, 2021, 25, p.100146.

РЕЗЮМЕ

Знанията за нормалната анатомия, както и възможните вариации на подколennата ямка и нейните невро-съдови структури са важни за безопасна хирургична дисекция и прецизна образна диагностика. Описаните тук мускулни и съдови вариации са наблюдавани по време на рутинна анатомична дисекция на левия долен крайник на 62-годишен мъжки труп. При дисекция на дълбоките структури в долната част на отделението на лявото задно бедро и подколennата ямка беше идентифициран анормален мускул. Започва проксимално от страничната междумускулна преграда и сухожилието на късата глава на

бицепса на бедрената кост. Движейки се надолу и медиално, този необичаен мускул пресича адукторния хиатус, преминавайки между подколенната артерия и подколенната вена, за да се вмъкне накрая в адукторния туберкул на бедрената кост. Наблюдавана е също вариация на дълбоката венозна система на същия долен крайник. В този случай подколенната вена не навлиза в канала на адуктора, а продължава отгоре по задната повърхност на големия адуктор и в горната трета на бедрото пробива мускулните влакна, за да се съедини с дълбоката феморална вена. Само малки съпътстващи вени придружават феморалната артерия по адукторния канал. Въпреки че рядко се срещат, някои варианти на мускулите на задната част на бедрото може да променят анатомията на подколенната ямка и да бъдат свързани с необичайна съдова анатомия.

4. Kalniev M, Krastev D, **Krastev N.** Investigation about the Distribution of Fibronectin in the Central Zone of the Knee Joint Menisci. *Comptes Rendus De L Academie Bulgare des Sciences.* 2013, 66(11):1653-6.

ABSTRACT

The aim of our study was to trace the distribution of fibronectin in some different areas of the meniscus. The study was conducted on the menisci of the knee joints of Wistar rats. Light microscopy, transmission electron microscopy and immunohistochemistry to demonstrate fibronectin have been used. We observed that fibronectin consists of medium-sized granules that are densely packed with each other mainly in a single row on the plasmalemma of cells in the SSZ. The TSZ contains fibronectin of fine and medium-sized granules located not only on the cell membrane but also close to the cells in the territorial matrix. Our observation revealed that in the deeper TPZ fibronectin consists of small granules located in the territorial matrix of the cells.

4. Калниев М, Кръстев Д., **Кръстев Н.** Видинов К. Имунохистохимично изследване на разпределението на фибронектин в някои зони на менискуса. *Comptes Rendus De L Academie Bulgare des Sciences.* 2013, 66(11):1653-6.

РЕЗЮМЕ

Целта на нашето изследване беше да се проследи разпределението на фибронектин в някои различни зони на менискус. Изследването е проведено върху менискуси на коленните стави на плъхове Wistar. Светлина микроскопия, трансмисионна електронна микроскопия и имунохистохимия за демонстриране на фибронектин са използвани. Ние наблюдавахме, че фибронектинът се състои от гранули със среден размер, разположени

плътно сред тях себе си главно в един ред върху плазмалемата на клетките в SSZ. В TSZ се съдържа фибронектин от фини и средно големи гранули, разположени не само върху клетъчната мембрана, но и близо до клетките в териториалната матрица. Нашето наблюдение разкри, че в по-дълбокия TPZ фибронектинът се състои от малки гранули, разположени в териториалната матрица на клетките.

5. Momchilova A, Pankov R, Alexandrov A, Markovska T, Pankov S, Krastev P, Staneva G, Vassileva E, **Krastev N**, Pinkas A. Sphingolipid catabolism and glycerophospholipid levels are altered in erythrocytes and plasma from multiple sclerosis patients. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Jul 8;23(14):7592

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune, inflammatory, degenerative disease of the central nervous system. Changes in lipid metabolism have been suggested to play important roles in MS pathophysiology and progression. In this work we analyzed the lipid composition and sphingolipid-catabolizing enzymes in erythrocytes and plasma from MS patients and healthy controls. We observed reduction of sphingomyelin (SM) and elevation of its products—ceramide (CER) and shingosine (SPH). These changes were supported by the detected up-regulation of the activity of acid sphingomyelinase (ASM) in MS plasma and alkaline ceramidase (ALCER) in erythrocytes from MS patients. In addition, Western blot analysis showed elevated expression of ASM, but not of ALCER. We also compared the ratios between saturated (SAT), unsaturated (UNSAT) and polyunsaturated fatty acids and suggest, based on the significant differences observed for this ratio, that the UNSAT/SAT values could serve as a marker distinguishing erythrocytes and plasma of MS from controls. In conclusion, the application of lipid analysis in the medical practice would contribute to definition of more precise diagnosis, analysis of disease progression, and evaluation of therapeutic strategies. Based on the molecular changes of blood lipids in neurodegenerative pathologies, including MS, clinical lipidomic analytical approaches could become a promising contemporary tool for personalized medicine.

5. Момчилова А, Панков Р, Александров А, Марковска Т, Панков С, Кръстев П, Станева Г, Василева Е, **Кръстев Н**, Пинкас А. Катаболизъмът на сфинголипидите и нивата на глицерофосфолипидите се променят в еритроцитите и плазмата от пациенти с множествена склероза. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Jul 8;23(14):7592

РЕЗЮМЕ

Множествената склероза (МС) е автоимунно, възпалително, дегенеративно заболяване на централната нервна система. Предполага се, че промените в липидния метаболизъм играят важна роля в патофизиологията и прогресията на МС. В тази работа ние анализирахме липидния състав и сфинголипид-катаболизиращите ензими в еритроцитите и плазмата от пациенти с МС и здрави контроли. Наблюдавахме намаляване на сфингомиелина (SM) и повишаване на неговите продукти - керамид (CER) и шингозин (SPH). Тези промени бяха подкрепени от установената повишена регулация на активността на киселинната сфингомиелиназа (ASM) в MS плазмата и алкалната керамидаза (ALCER) в еритроцитите от пациенти с MS. В допълнение, Western blot анализът показва повишена експресия на ASM, но не и на ALCER. Ние също така сравнихме съотношенията между наситени (SAT), ненаситени (UNSAT) и полиненаситени мастни киселини и предполагахме, въз основа на значителните разлики, наблюдавани за това съотношение, че UNSAT/SAT стойностите могат да служат като маркер, разграничаващ еритроцитите и плазмата на MS от контроли. В заключение, приложението на липидния анализ в медицинската практика би допринесло за поставяне на по-точна диагноза, анализ на прогресията на заболяването и оценка на терапевтичните стратегии. Въз основа на молекулярните промени на кръвните липиди при невродегенеративни патологии, включително МС, клиничните липидомични аналитични подходи могат да се превърнат в обещаващ съвременен инструмент за персонализирана медицина.

6. Momchilova A, Nikolaev G, Pankov S, Vassileva E, **Krastev N**, Robev B, Krastev D, Pinkas A, Pankov R. Effect of Quercetin and Fingolimod, Alone or in Combination, on the Sphingolipid Metabolism in HepG2 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Nov 15;23(22).

ABSTRACT

Combinations of anti-cancer drugs can overcome resistance to therapy and provide new more effective treatments. In this work we have analyzed the effect of the polyphenol quercetin and the anti-cancer sphingosine analog fingolimod on the sphingolipid metabolism in HepG2 cells, since sphingolipids are recognized as mediators of cell proliferation and apoptosis in cancer cells. Treatment of hepatocellular carcinoma HepG2 cells with quercetin and fingolimod, alone or in combination, induced different degrees of sphingomyelin (SM) reduction and a corresponding activation of neutral sphingomyelinase (nSMase). Western blot analysis showed that only treatments containing quercetin induced up-regulation of nSMase expression. The same treatment caused elevation of ceramide (CER) levels, whereas the observed alterations in sphingosine (SPH) content were not statistically significant. The two tested drugs induced a reduction of the pro-proliferative sphingolipid, sphingosine 1 phosphate (S1P), in the following order: quercetin, fingolimod, quercetin + fingolimod. The activity of the enzyme responsible for CER hydrolysis, alkaline ceramidase (ALCER) was down-regulated only in the incubations involving quercetin and fingolimod did not affect this activity. The enzyme, maintaining the balance between apoptosis and proliferation, sphingosine kinase 1 (SK1), was down-regulated by incubations in the following order: quercetin, fingolimod, quercetin + fingolimod. Western blot analysis showed down-regulation in SK1 expression upon quercetin but not upon fingolimod treatment. Studies on the effect of quercetin and fingolimod on the two proteins associated with apoptotic events, AKT and Bcl-2, showed that only quercetin, alone or in combination, down-regulated the activity of the two proteins. The reported observations provide information which can be useful in the search of novel anti-tumor approaches, aiming at optimization of the therapeutic effect and maximal preservation of healthy tissues.

6. Момчилова А, Николаев Г, Панков С, Василева Е, **Кръстев Н**, Робев Б, Кръстев Д, Пинкас А, Панков Р. Ефект на кверцетин и финголимод, самостоятелно или в комбинация, върху сфинголипидния метаболизъм в HepG2 клетки. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Nov 15;23(22).

РЕЗЮМЕ

Комбинациите от противоракови лекарства могат да преодолеят резистентността към терапията и да осигурят нови по-ефективни лечения. В тази работа ние анализирахме ефекта на полифенола кверцетин и противораковия аналог на сфингозина финголимод върху сфинголипидния метаболизъм в HepG2 клетки, тъй като сфинголипидите са разпознати като медиатори на клетъчната пролиферация и апоптозата в раковите клетки. Лечението на хепатоцелуларен карцином HepG2 клетки с кверцетин и финголимод, самостоятелно или в комбинация, индуцира различни степени на редукция на сфингомиелин (SM) и съответно активиране на неутрална сфингомиелиназа (nSMase). Western blot анализът показва, че само лечения, съдържащи кверцетин, предизвикват повишена регулация на експресията на nSMase. Същото лечение причинява повишаване на нивата на керамид (CER), докато наблюдаваните промени в съдържанието на сфингозин (SPH) не са статистически значими. Двете тествани лекарства предизвикват редукция на про-пролиферативния сфинголипид, сфингозин 1 фосфат (S1P), в следния ред: кверцетин, финголимод, кверцетин + финголимод. Активността на ензима, отговорен за хидролизата на CER, алкалната керамидаза (ALCER) се регулира надолу само в инкубациите, включващи кверцетин и финголимод не повлиява тази активност. Ензимът, поддържащ баланса между апоптоза и пролиферация, сфингозин киназа 1 (SK1), беше регулиран надолу чрез инкубации в следния ред: кверцетин, финголимод, кверцетин + финголимод. Western blot анализът показва понижена регулация в експресията на SK1 при кверцетин, но не и при лечение с финголимод. Проучвания върху ефекта на кверцетин и финголимод върху двата протеина, свързани с апоптотични събития, АКТ и Bcl-2, показват, че само кверцетинът, самостоятелно или в комбинация, регулира надолу активността на двата протеина. Докладваните наблюдения предоставят информация, която може да бъде полезна при търсенето на нови противотуморни подходи, насочени към оптимизиране на терапевтичния ефект и максимално запазване на здрави тъкани.

7. Momchilova A, Pankov R, Staneva G, Pankov S, Krastev P, Vassileva E, Hazarosova R, **Krastev N**, Robev B, Nikolova B, Pinkas A. Resveratrol Affects Sphingolipid Metabolism in A549 Lung Adenocarcinoma Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(18):10870.

ABSTRACT

Resveratrol is a naturally occurring polyphenol which has various beneficial effects, such as anti-inflammatory, anti-tumor, anti-aging, antioxidant, and neuroprotective effects, among others. The anti-cancer activity of resveratrol has been related to alterations in sphingolipid metabolism. We analyzed the effect of resveratrol on the enzymes responsible for accumulation of the two sphingolipids with highest functional activity—apoptosis promoting ceramide (CER) and proliferation-stimulating sphingosine-1-phosphate (S1P)—in human lung adenocarcinoma A549 cells. Resveratrol treatment induced an increase in CER and sphingosine (SPH) and a decrease in sphingomyelin (SM) and S1P. Our results showed that the most common mode of CER accumulation, through sphingomyelinase-induced hydrolysis of SM, was not responsible for a CER increase despite the reduction in SM in A549 plasma membranes. However, both the activity and the expression of CER synthase 6 were upregulated in resveratrol-treated cells, implying that CER was accumulated as a result of stimulated de novo synthesis. Furthermore, the enzyme responsible for CER hydrolysis, alkaline ceramidase, was not altered, suggesting that it was not related to changes in the CER level. The enzyme maintaining the balance between apoptosis and proliferation, sphingosine kinase 1 (SK1), was downregulated, and its expression was reduced, resulting in a decrease in S1P levels in resveratrol-treated lung adenocarcinoma cells. In addition, incubation of resveratrol-treated A549 cells with the SK1 inhibitors DMS and fingolimod additionally downregulated SK1 without affecting its expression. The present studies provide information concerning the biochemical processes underlying the influence of resveratrol on sphingolipid metabolism in A549 lung cancer cells and reveal possibilities for combined use of polyphenols with specific anti-proliferative agents that could serve as the basis for the development of complex therapeutic strategies.

7. Момчилова А, Панков Р, Станева Г, Панков С, Кръстев П, Василева Е, Хазаросова Р, **Кръстев Н**, Робев Б, Николова Б, Пинкас А. Ресвератролът влияе върху метаболизма на сфинголипидите в A549 белодробни аденокарциномни клетки. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(18):10870.

РЕЗЮМЕ

Ресвератрол е естествено срещащ се полифенол, който има различни ползени ефекти, като противовъзпалителни, противотуморни, против стареене, антиоксидантни и невропротективни ефекти, между другото. Противораковата активност на ресвератрол е свързана с промени в метаболизма на сфинголипидите. Ние анализирахме ефекта на ресвератрол върху ензимите, отговорни за натрупването на двата сфинголипида с най-висока функционална активност - церамид, стимулиращ апоптозата (CER) и стимулиращ пролиферацията сфингозин-1-фосфат (S1P) - в човешки белодробен аденокарцином A549 клетки. Лечението с ресвератрол предизвиква повишаване на CER и сфингозин (SPH) и намаляване на сфингомиелин (SM) и S1P. Нашите резултати показват, че най-често срещаният начин на натрупване на CER, чрез индуцирана от сфингомиелиназа хидролиза на SM, не е отговорен за увеличаване на CER въпреки намаляването на SM в плазмените мембрани A549. Въпреки това, както активността, така и експресията на CER синтаза 6 са регулирани нагоре в третирани с ресвератрол клетки, което предполага, че CER е натрупан в резултат на стимулиран *de novo* синтез. Освен това, ензимът, отговорен за хидролизата на CER, алкалната керамидаза, не е променен, което предполага, че не е свързано с промени в нивото на CER. Ензимът, поддържащ баланса между апоптоза и пролиферация, сфингозин киназа 1 (SK1), беше регулиран надолу и неговата експресия беше намалена, което доведе до намаляване на нивата на S1P в третирани с ресвератрол белодробни аденокарциномни клетки. В допълнение, инкубирането на третирани с ресвератрол A549 клетки с инхибиторите на SK1 DMS и финголимод допълнително намалява SK1, без да засяга неговата експресия. Настоящите проучвания предоставят информация относно биохимичните процеси, лежащи в основата на влиянието на ресвератрола върху метаболизма на сфинголипидите в A549 белодробни ракови клетки и разкриват възможности за комбинирано използване на полифеноли със специфични антипролиферативни агенти, които биха могли да послужат като основа за разработването на комплексни терапевтични стратегии.

8. Momchilova A, Pankov R, Krastev P, Markovska T, Arabadjiev B, **Krastev N**, Vassileva E, Krastev D, Tonev D. Quercetin Affects Ceramide but not Sphingosine-1-phosphate in ras-transformed 3T3 Fibroblasts. *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences* 2023, Vol. 76, No. 4, pp. 605-611.

ABSTRACT

Investigations were carried out on the effect of quercetin on the level of the major sphingolipid metabolites in ras-transformed 3T3 fibroblasts. Quercetin is a polyphenol of a significant biomedical importance, which has been reported to show beneficial effects such as antioxidant, anti-neoplastic, anti-ageing, etc. Sphingolipids are functionally active lipid molecules, which regulate important cellular processes, like proliferation, apoptosis and transmembrane signalling, among others. Despite the numerous investigations devoted to the influence of quercetin on the lipid metabolism of various types of cancer cells, the mechanism of this influence on the major sphingolipid pathways still remains unclear. Our studies showed that sphingomyelin was decreased in ras-transformed 3T3 fibroblasts, whereas ceramide, which is a pro-apoptotic factor, was increased as a result of elevated neutral sphingomyelinase activity. However, the level of sphingosine-1-phosphate, which is related to cell proliferation, was not altered as a result of quercetin treatment, which is an unexpected finding when compared to our previous studies with cancer cells. In addition, the observed changes in the balancing enzyme in the sphingolipid pathway, sphingosine kinase 1, which produces sphingosine-1-phosphate, were not statistically significant in quercetin-treated oncogene-transformed fibroblasts. The presented data are useful for better understanding of the effect of flavonoids on the regulation of sphingolipid metabolism and could help in the development of complex antitumour therapeutic approaches, involving natural antitumour agents like polyphenols.

8. Момчилова А, Панков Р, Кръстев П, Марковска Т, Арабаджиев Б, **Кръстев Н**, Василева Е, Кръстев Д, Тонев Д. Кверцетин влияе на керамида, но не и на сфингозин-1-фосфата в ras-трансформирани 3Т3 фибробласти. *Известия на Българската академия на науките* 2023, кн. 76, № 4, стр. 605-611.

РЕЗЮМЕ

Проведени са изследвания върху ефекта на кверцетин върху нивото на основните сфинголипидни метаболити в ras-трансформирани 3Т3 фибробласти. Кверцетинът е

полифенол със значително биомедицинско значение, за който се съобщава, че показва полезни ефекти като антиоксидант, антинеопластичен, против стареене и др. Сфинголипидите са функционално активни липидни молекули, които регулират важни клетъчни процеси, като пролиферация, апоптоза и трансмембранно сигнализиране, между другото. Въпреки многобройните изследвания, посветени на влиянието на кверцетин върху липидния метаболизъм на различни видове ракови клетки, механизмът на това влияние върху основните сфинголипидни пътища все още остава неясен. Нашите проучвания показват, че сфингомиелинът е намален в gas-трансформираните 3T3 фибробласти, докато церамидът, който е проапоптотичен фактор, е повишен в резултат на повишена неутрална сфингомиелиназна активност. Въпреки това, нивото на сфингозин-1-фосфат, което е свързано с клетъчната пролиферация, не е променено в резултат на лечението с кверцетин, което е неочаквано откритие в сравнение с нашите предишни проучвания с ракови клетки. В допълнение, наблюдаваните промени в балансиращия ензим в сфинголипидния път, сфингозин киназа 1, който произвежда сфингозин-1-фосфат, не са статистически значими в третираните с кверцетин онкоген-трансформирани фибробласти.

Представените данни са полезни за по-добро разбиране на ефекта на флавоноидите върху регулацията на сфинголипидния метаболизъм и могат да помогнат при разработването на комплексни антитуморни терапевтични подходи, включващи естествени антитуморни агенти като полифеноли.

9. Nocheva H, **Krastev NS**, Krastev DS, Mileva M. The endogenous cannabinoid and the nitricoxidergic systems in the modulation of stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023 Feb 2;24(3):2886.

ABSTRACT

The effects on stress-induced analgesia (SIA) from endogenous cannabinoid system (ECS) and nitric oxide (NO) interaction after 1 h of restraint stress were evaluated in male Wistar rats. The animals were subjected to 1 h of restraint and then injected with different combinations of cannabinoid receptor type 1 agonist anandamide (AEA) or antagonist AM251 along with an NO donor, NO precursor, or inhibitor of NO synthase. Nociception was evaluated using paw pressure (PP) or hot plate (HP) tests. AEA was administered immediately after the end of restraint-SIA (r-SIA). Administration of NO precursor reversed the pronociceptive effect of the

CB1 agonist on r-SIA. Both the CB1 antagonist and the NOS inhibitor neutralized the pro-analgesic effect of L-arginine (L-arg). Administration of an NO donor, instead, increased r-SIA. Our experiments confirmed that the endogenous cannabinoid and the NO-ergic systems interact in the modulation of r-SIA. This interaction probably implies NO as a second messenger of the ECS.

9. Ночева Х, **Кръстев Н**, Кръстев Д, Милева М. Ендогенният канабиноид и азотоксидергичните системи в модуляцията на реакциите на стрес. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023 Feb 2;24(3):2886.

РЕЗЮМЕ

Ефектите върху индуцираната от стрес аналгезия (SIA) от ендогенна канабиноидна система (ECS) и взаимодействие с азотен оксид (NO) след 1 час стрес на задържане бяха оценени при мъжки плъхове Wistar. Животните бяха подложени на 1 час задържане и след това бяха инжектирани с различни комбинации от агонист на канабиноиден рецептор тип 1 анандамид (AEA) или антагонист AM251 заедно с NO донор, NO прекурсор или инхибитор на NO синтаза. Ноцицепцията беше оценена с помощта на тестове за натиск на лапа (PP) или гореща плоча (HP). AEA се прилага веднага след края на ограничаването-SIA (r-SIA). Прилагането на NO прекурсор обръща проноцицептивния ефект на CB1 агониста върху r-SIA. Както CB1 антагонистът, така и NOS инхибиторът неутрализират проаналгетичния ефект на L-аргинин (L-arg). Вместо това прилагането на донор на NO повишава r-SIA. Нашите експерименти потвърдиха, че ендогенният канабиноид и NO-ергичните системи взаимодействат при модулирането на r-SIA. Това взаимодействие вероятно предполага NO като втори пратеник на ECS.

10. Iliev P, Djeliova V, Angelova E, Mirchev B, Hristov A, Mileva M, Georgieva M, Peev K, **Krastev N**, Krastev D, Apostolov A. Rare Allele 29 at Locus D2S1338 Observed during Routine Casework in Bulgarian Population. *International Journal Bioautomation*. 2023;27(2):73.

ABSTRACT

In this work, we report a rare allele 29 at locus D2S1338, established during routine forensic practice in a case of first-degree kinship (parenthood). This rare allele variant 29 at locus

D2S1338, to the best of our knowledge, is reported for the first time in the Bulgarian population. So far it has not been registered in studies of allele frequencies in the same locus for 20 population groups in Europe and Asia. The presentation of similar genotyping findings relating to rare/unexpected population genetic variation is very important for the examination and documentation of such anomalies. The analysis has been performed for 16 STR loci: D2S1338, SE33, D16S539, D18S51, TH01, D12S391, D3S1358, FGA, vWA, D21S11, D1S1656, D2S441, D8S1179, D19S433, D22S1045, D10S1248 and 2 sex determination systems – Amelogenin and Y indel, set in NGM Detect™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems). The use of allelic witnesses in the diagnostic practice is mandatory in the standard fragment DNA analysis. The allelic witness contains well-known preset alleles for the examined locus. Establishing alleles that are outside the factory preset is important for broadening the scope of the witness and heightening the accuracy of the analysis. Rare allelic variants significantly increase the strength of discrimination when DNA profiles are compared. In this regard, it is important to report any new information about the emergence of rare allele variants detected in a particular population group.

10. Илиев П, Джелъова В, Ангелова Е, Мирчев Б, Христов А, Милева М, Георгиева М, Пеев К, Кръстев Н, Кръстев Д, Апостолов А. Рядък алел 29 в локус D2S1338, наблюдаван по време на рутинна работа в българска популация. International Journal Bioautomation. 2023;27(2):73.

РЕЗЮМЕ

В тази работа ние съобщаваме за рядък алел 29 в локус D2S1338, установен по време на рутинна съдебномедицинска практика в случай на родство от първа степен (родителство). Този рядък вариант на алел 29 в локус D2S1338, доколкото ни е известно, се съобщава за първи път в българската популация. Досега не е регистриран в изследвания на честотите на алелите в същия локус за 20 популационни групи в Европа и Азия. Представянето на подобни генотипни находки, свързани с редки/неочаквани популационни генетични вариации, е много важно за изследването и документирането на такива аномалии. Анализът е извършен за 16 STR локуса: D2S1338, SE33, D16S539, D18S51, TH01, D12S391, D3S1358, FGA, vWA, D21S11, D1S1656, D2S441, D8S1179, D19S433, D22S1045, D10S124 8 и 2 системи за определяне на пола – Амелогенин и Y indel, комплект в NGM Detect™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems).

Използването на алелни свидетели в диагностичната практика е задължително при стандартния фрагментен ДНК анализ. Алелният свидетел съдържа добре известни предварително зададени алели за изследвания локус. Установяването на алели, които са извън фабричните настройки, е важно за разширяване на обхвата на свидетеля и повишаване на точността на анализа. Редките алелни варианти значително увеличават силата на дискриминация, когато се сравняват ДНК профили. В тази връзка е важно да се докладва всяка нова информация за появата на редки алелни варианти, открити в определена група от населението.