



THE TWELFTH WORKSHOP WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF METALS, SYNTHETIC COMPOUNDS AND NATURAL PRODUCTS



**NOVEMBER 27-29, 2017
SOFIA, BULGARIA
ISSN: 2367-5683**

PROCEEDINGS

OF THE XIIth WORKSHOP ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF METALS, SYNTHETIC COMPOUNDS AND NATURAL PRODUCTS

with electronic international participation

17-19 November 2017

**Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with
Museum**

at the Bulgarian Academy of Sciences

Edited by: Dimitar Kadiysky and Radostina Alexandrova

Supported by:

- **Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences**
- **Fund “Scientific Research”, Bulgaria, Grant № DFNI Б 02/30 from 12.12.2014 and Grant № ДКОСТ 01 16 from 17.08.2017**
- **Society of Immunology, Bulgarian Union of Scientists**
- **BIOTECHNIK Ltd.**

THE TWELFTH WORKSHOP
“BIOLOGICAL ACTIVITY OF METALS, SYNTHETIC COMPOUNDS
AND NATURAL PRODUCTS”

with electronic international participation

IS ORGANIZED BY THE INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MORPHOLOGY,
PATHOLOGY AND ANTHROPOLOGY WITH MUSEUM (IEMPAM)

UNDER THE AUSPICES OF

THE BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES

ORGANIZING COMMITTEE

CHAIRPERSONS:

DIMITAR KADIYSKY (IEMPAM – BAS)
(IEMPAM – BAS)

RADOSTINA ALEXandrova
(IEMPAM – BAS)

MEMBERS:

MARGARITA GABRASHANSKA (IEMPAM – BAS)

MARIN ALEXANDROV (IEMPAM – BAS)

RENETA TOSHKOVA (IEMPAM – BAS)

CO-ORGANIZERS

RENI KALFIN (INSTITUTE OF NEUROBIOLOGY, BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES)

GEORGE MILOSHEV (INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY, BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES)

ANDREY TCHORBANOV (THE STEPHAN ANGELOFF INSTITUTE OF MICROBIOLOGY, BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES)

STEFKA TEPAVITCHAROVA (INSTITUTE OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY,

NELI KOSEVA (INSTITUTE OF POLYMERS, BULGARIAN ACADEMY OF SCIENCES)

GALINA KURTEVA (NATIONAL SPECIALIZED HOSPITAL FOR ARCIVE TREATMENT IN ONCOLOGY, SOFIA)

KONSTANTA TIMCHEVA (MULTI-PROFILE HOSPITAL FOR ACTIVE TREATMENT “NADEZHDA”)

JULIA RADENKOVA – SAEVA (TOXICOLOGY CLINIC, UMHATEM “PIROGOV”)

STOYAN SHISHKOV (FACULTY OF BIOLOGY, SOFIA UNIVERSITY “KLIMENT OHRIDSKI”)

IVO GRABCHEV (FACULTY OF MEDICINE, SOFIA UNIVERSITY “KLIMENT OHRIDSKI”)

ANNA TOLEKOVA (MEDICAL FACULTY, TRAKIA UNIVERSITY, STARA ZAGORA)

BORYANA RUSEVA (MEDICAL UNIVERSITY, PLEVEN)

STEFKA VALCHEVA-KUZMANOVA (FACULTY OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY - VARNA)

YOUNG SCIENTISTS COMMITTEE

ABEDULKADIR ABUDALLEH (IEMPAM – BAS)
TANYA ZHIVKOVA (IEMPAM – BAS)
BOYKA ANDONOVA-LILOVA (IEMPAM – BAS)
IVELIN VLADOV (IEMPAM – BAS)
DEISLAV DINEV (IEMPAM – BAS)
LORA DYAKOVA (INSTITUTE OF NEUROBIOLOGY – BAS)
IVA GAVRILOVA-VALCHEVA (NATIONAL SPECIALIZED HOSPITAL FOR ACTIVE TREATMENT IN ONCOLOGY, SOFIA)
GEORGI TOSHEV (FACULTY OF MEDICINE, SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”)
PENCHO BEYKOV (FACULTY OF CHEMISTRY AND PHARMACY, SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”)
DANIELA-CRISTINA CULITA (INSTITUTE OF PHYSICAL CHEMISTRY “ILIE MURGULESCU”, BUCHAREST, ROMANIA)
MARGARITA DOSINA (*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES – BELARUS*)

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD

VLADIMIR KULCHITSKY (*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES – BELARUS*)
OTILIA COSTISOR (*INSTITUTE OF CHEMISTRY, ROMANIAN ACADEMY, TIMISOARA, ROMANIA*)
GEORGETA MARIA SIMU (FACULTY OF PHARMACY, VICTOR BABES UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY, TIMISOARA, ROMANIA)
LUMINITA PATRON (INSTITUTE OF PHYSICAL CHEMISTRY “ILIE MURGULESCU”, BUCHAREST, ROMANIA)
NABANITA SAHA (TOMAS BATA UNIVERSITY, ZLIN, CZECH REPUBLIC)
MILENA FINI (ISTITUTO ORTOPEDICO RIZZOLI, BOLOGNA, ITALY)
CLARA VINAS (INSTITUT DE SIENCIA DE MATERIALS DE BARCELONA, BARCELONA, SPAIN)
JAN STENVANG (FACULTY OF HEALTH AND MEDICAL SCIENCES, UNIVERSITY OF COPENHAGEN, DENMARK)
CRTOMIR PODLIPNIK (FACULTY OF CHEMISTRY AND CHEMICAL TECHNOLOGY, UNIVERSITY OF LJUBLJANA, SLOVENIA)
VIRGINIJA JANKAUSKAITE (KAUNAS UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, KAUNAS, LITHUANIA)
OLAFUR SIRURJONSSON (DEPARTMENT OF SCIENCE AND ENGINEERING. REYKJAVIK UNIVERSITY, ICELAND)
DARINA LAZAROVA (THE COMMONWEALTH MEDICAL COLLEGE, SCRANTON, PA, USA)
OSAMA AZMY (MEDICAL RESEARCH DIVISION, INSTITUTE OF NATIONAL RESEARCH CENTRES, GYZA, EGYPT)

The responsibility for the content of published papers/abstracts belongs entirely to their authors

The Program of the Workshop

Monday, 27 November 2017

9.50 – 10.00 OPENING CEREMONY

Session A.

Chairpersons:

Prof. Stefka Valcheva-Kuzmanova, MD, PhD, DSc

Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Tanya Zhivkova, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

10.00 – 10.15

AO1. PERIODONTITIS AND ESTROGEN DEFICIENCY IN MENOPAUSE

A. Kuzmanov, V. Kuzmanova, S. Valcheva-Kuzmanova

Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria

10.15 – 10.30

AO2. THE ROLE OF POLYPHENOLS IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

V. Kuzmanova, A. Kuzmanov, S. Valcheva-Kuzmanova

Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria

10.30 – 10.45

AO3. DOWN-REGULATION OF AUTOREACTIVE T AND B CELLS BY ANTIBODY THERAPY IN MURINE MODELS OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Silviya Bradyanova¹, Nikolina Mihaylova¹, Petroslav Chipinski¹, Stela Chausheva¹,
Ekaterina Todorova², Melinda Herbáth³, Dobroslav Kyurkchiev², József Prechl³,
Andrey Tchorbanov¹

¹Department of Immunology, Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia, Bulgaria

²Laboratory of Clinical Immunology, University Hospital "St. Ivan Rilski",
Sofia, Bulgaria

³MTA-ELTE Immunology Research Group, Hungarian Academy of Sciences,
Budapest, Hungary

10.45 – 11.00

AO4. DOWN-MODULATION OF AUTOREACTIVE B-CELLS BY PROTEIN-ENGINEERED CHIMERIC MOLECULES IN MOUSE MODEL OF TYPE 1 DIABETES

Iliyan Manoylov¹, Gabriela Boneva¹, Nikolina Mihaylova¹, Irini Doytchinova²,
Andrey Tchorbanov¹

¹*Laboratory of Experimental Immunology, The Stephan Angeloff Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia, Bulgaria*

11.00 – 11.30 Coffee Break

11.30 – 11.45

AO5. CHIMERIC PROTEIN-ENGINEERED MOLECULES - NEW APPROACH FOR SELECTIVE ELIMINATION OF ALLERGEN-SPECIFIC B LYMPHOCYTES IN REACTIONS OF HYPERSENSITIVITY

Nikola Ralchev, Nikolina Mihaylova, Nikola Kerekov, Andrey Tchorbanov
*Laboratory of Experimental Immunology, Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

11.45 – 12.00

AO6. ENGINEERED MOLECULES FOR TARGETING OF INFLUENZA A EPITOPES

Iva Ivanova¹, Nikolina Mihaylova¹, Iliyan Manoylov¹, Dimitra Makatsori², Stefan Lolov³,
Maria Nikolova⁴, Avgi Mamalaki², Jozsef Prechl⁵ and Andrey Tchorbanov¹

¹*Laboratory of Experimental Immunology, Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Hellenic Pasteur Institute, Ampelokipi, Athens, Greece*

³*Institute of Biology and Immunology of Reproduction, Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia, Bulgaria*

⁴*National Reference Laboratory of Immunology,
National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria*

⁵*Immunology Research Group, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary*

12.00-12.15

AO7. DEVELOPMENT OF A NOVEL SPECIFIC INHIBITOR OF AMINOPEPTIDASE A

V. Petrova¹, D. Tasheva², I. Iliev¹, M. Dimitrova¹, I. Ivanov³

¹*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian
Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University "St. Kl. Ohridsky", Sofia, Bulgaria*

³*Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Medical University of Sofia, Bulgaria*

12.15 – 12.45

Discussion

12.45-14.00 Lunch time

Session B.

Chairpersons:

Prof. Mashenka Dimitrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Lora Dyakova, MSc

Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

13.45 – 14.00

BO1. BIOMEDICAL IMPLEMENTATION ON DNA METHYLATION IN DURATION THE DEVELOPMENT OF TUMOR CELLS

Victoriya Tsvetkova ¹, Desislava Abadjieva ²,

¹Student of 9th French Language School, Sofia, Bulgaria

² Institute of Biology and Immunology of Reproduction, Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia, Bulgaria

14.00 – 14.30

BO2. ДИЕТИЧНИ ЛИОФИЛИЗИРАНИ ХРАНИ НА ОСНОВАТА НА БИВОЛСКО МЕСО

И. Начева, Д. Митева, Кр. Димов, В. Цветкова, Ал. Вълчков

Институт по криобиология и хранителни технологии, София, България

14.30-15.00

BO3. ЖИЗНЕСПОСОБНОСТ И ПРЕЖИВЯЕМОСТ НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА В НОВИ СИНБИОТИЧНИ ХРАНИ ОТ ОВЧЕ И КРАВЕ МЛЯКО

Илиана Начева, Александър Вълчков, Камелия Логиновска

Институт по криобиология и хранителни технологии, София, България

15.00 – 15.30 Coffee Break

15.30 – 15.45

BO4. ГЛАУКОМА

Надежда Стоянова, Стефани Димитрова

Медицински Университет София, Медицински факултет

15.45 – 16.00

BO5. ЖИВОТ С ДЕТСКА ЦЕРЕБРАЛНА ПАРАЛИЗА

Стефани Димитрова, Надежда Стоянова

Медицински Университет София, Медицински факултет

16.00 – 16.15

BO6. ХРАНИТЕЛНА АЛЕРГИЯ ИЛИ КАК ЖИВОТЪТ СТАВА ПО-ТРУДЕН

Стефани Димитрова, Надежда Стоянова

Медицински Университет София, Медицински факултет

16.15 -16.30

**BO7. DRIED BLOOD SPOTS AS AN ALTERNATIVE MATERIAL WITH
BIOMEDICAL APPLICATION FOR DIAGNOSIS OF VIRAL INFECTIONS**

Adelina Pavlova, Stefka Krumova, Petya Genova-Kalu, Svetla Angelova, Irina Georgieva,
Elitsa Golkocheva-Markova

*National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Virology,
Sofia, Bulgaria*

16.30 – 17.00 Discussion

Tuesday, 28 November 2017

Session C.

Chairpersons:

Assoc. Prof. Julia Radenkova-Saeva, MD, PhD

*Clinic of Toxicology, Department for Adult, Emergency University Hospital
“N.I.Pirogov”, Sofia, Bulgaria*

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Boyka Andonova-Lilova, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

12.30 – 14.30

**Презентации на студентите от Тракийския университет в Стара Загора,
България**

Presentations of students from Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

**CO1. BIOLOGICAL ACTIVITY OF COPPER AND ITS EFFECTS ON
ALZHEIMER'S DISEASE**

Yuksel Mekov, Ivan Kostov, Georgi Zahariev, Neri Hadzhieva
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria
Plovdiv University “ Paisii Hilendarski ”, Plovdiv, Bulgaria

**CO2. БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ЖЕЛЯЗОТО. ЖЕЛЯЗОДЕФИЦИТНА
АНЕМИЯ**

Доника Йорданова, Мая Недялкова, Нурхан Юсеин
Тракийски университет, Стара Загора, България

CO3. БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ВИТАМИН Б12

Мая Недялкова, Доника Йорданова, Нурхан Юсеин
Тракийски университет, Стара Загора, България

**CO4. VITAMIN B12: STRUCTURE, BIOLOGICAL ACTIVITY, SOURCES AND
MEDICAL USE**

Stefan Stanev, Selen Hamdi, Pamela Boikova, Sevgin Efeliov
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

**CO5. ENVIRONMENTAL IMPACT OF HEAVY METALS AND WAYS TO
MINIMISE THE ADVERSE EFFECTS OF THESE POLLUTANTS**

Selen Hamdi, Pamela Boikova, Stefan Stanev, Sevgin Efeliov
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

CO6. CHLORELLA

Rejep Birkov, Victoria Kaludova, Natali Kasheva
Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

CO7. GINGKO BILOBA

Natali Kasheva, Victoria Kaludova, Rejep Birkov
Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

**CO8. BENEFITS OF GREEN COFFEE BEANS EXTRACT IN HEALTH AND
OBESITY**

Pamela Boikova, Selen Hamdi, Stefan Stanev, Sevgin Efeliov
Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

CO9. HEALTH EFFECTS OF LYCOPENE

Nefize Ilyaz¹, Ralitsa Rumenova², Georgi Madzharov²
¹*Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", Varna, Bulgaria*
²*Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria*

CO10. ASPARTAME`S INFLUENCE IN THE HUMAN BODY

Ralitsa Rumenova, Georgi Madzharov, Nefize Ilyaz
Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", Varna, Bulgaria
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

**CO11. N-ACETYL TRYPTOPHAN GLUCOPYRANOSIDE (NATG) PROVIDES
REDOX MODULATORY EFFECTS OF NO LEVELS AT ANTIBIOTIC-INDUCED
PULMONARY FIBROSIS**

Yanka Karamalakova¹, Galina Nikolova¹, Ana Piperova^{1*}, Poonam Malhotra², Raj Kumar²,
Veselina Gadjeva¹, Ana Tolekova³

¹*Department of Chemistry and Biochemistry Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria;*

²*Radiation Biotechnology Group, Division of Radioprotective Drug Development &
Research, Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences, Delhi, India*

³*Department Physiology, Pathophysiology and Pharmacology, Medical Faculty,
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria*

**CO12. PULSE WAVE VELOCITY: CAROTID-FEMORAL WAVE
VELOCITY. THE GOLD STANDART.**

Елена Йофче, Елена Илиевска.
Медицински Факултет. Тракийски Университет, Стара Загора, България

14.30 – 15.00 Coffee Break

15.00 – 15.30

**CO13. ACUTE POISONING WITH CALCIUM ANTAGONIST VERAPAMIL –
A CASE REPORT**

Stoyanova R., J. Radenkova - Saeva
Clinic of Toxicology, University Hospital for Emergency Medicine „N.I.Pirogov”,
Sofia, Bulgaria,

15.00 – 17.00

**Презентации на студентите от Тракийския университет в Стара Загора,
България**
Presentations of students from Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

**CO14. FRUCTOSE AND POTENCIAL MECHANISMS FOR INSULIN
RESISTANCE**

Елена Йофче и Елена Илиевска
Тракийски Университет, Стара Загора

**CO15. INOSITOL AND ITS EFFECTS ON INSULIN RESISTANCE AND
POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

Viktoriya Trendafilova, Angel Todev, Aleksander Petrov
Trakia University, Medical Faculty, Stara Zagora, Bulgaria

CO16. THE APPLICATION OF NANOTECHNOLOGY IN MEDICINE

Sevgin Efeliov, Pamela Boikova, Selen Hamdi, Stefan Stanev
Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

CO17. NANOTECHNOLOGY IN THE FIELD OF ONCOLOGY

Victoria Kaludova, Natali Kasheva, Rejep Birkov
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

**CO18. NANOTECHNOLOGY AND ITS APPLICATION IN MEDICINE AND
OPHTHALMOLOGY**

Deyan Marinov, Angel Todev, Aleksander Petrov, Victoria Trendafilova
Trakia University, Faculty of Medicine, Stara Zagora, Bulgaria

**CO19. NANOTECHNOLOGIES AND NEW MATERIALS WITH BIOMEDICAL USE
- A BIORESORBABLE EVEROLIMUS-ELUTING SCAFFOLD**

Ivan Kostov, Uksel Mekov, Georgi Zahariev, Neri Hadzieva
Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

CO20. ACCELERATED WOUND HEALING USING NANOPARTICLES

Aleksander Petrov, Angel Todev, Viktoriya Trendafilova, Deyan Marinov
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

CO21. PROCESSING OF VISUAL INFORMATION

Arsalan Ahmar Bangash, Shivam Bhathela, Abdurahman Moalin
Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

CO22. L-CARNITINE - OR HOW TO USE THE POWER IN OURSELFS

Georgi Madzharov, Nefize Ilyaz, Ralitsa Rumenova

¹Medical University "Prof. Dr. ParaskevStoyanov", Varna, Bulgaria

²Trakia University, Stara Zagora,

CO23. THE ROLE OF LEPTIN AND GHRELIN IN THE REGULATION OF FOOD INTAKE

Leptin resistance.

Айлин Сали

Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора, България

CO24. КОСТТА КАТО ЕНДОКРИНЕН ОРГАН. БИОЛОГИЧНА РОЛЯ НА ОСТЕОКАЛЦИНА

N. Hristov¹, D. Marinova², M. Ivanova¹

¹Faculty of Medicine, Trakia University, 18 Armeyska str., 6003 Stara Zagora, Bulgaria

²Medical University Prof. Dr. ParaskevStoyanov – Varna, 55 Marin Drinov str., 55, 9002 Varna, Bulgaria

CP1. NEMATODE INFECTIONS AND TUMORS IN HUMANS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

CP2. CESTODE INFECTIONS AND TUMORS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Antropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

CP3. PATHOGENESIS OF INTERACTION BETWEEN CHRONIC FASCIOSIS AND EXPERIMENTAL DIETHYLNITROSAMINE CARCINOGENESIS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, M. P. Gabrashanska

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

CP4. ZINC-COPPER HYDROXOCHLORIDE MIXED CRYSTALS APPLICATION ON FASCIOLA HEPATICA EXPERIMENTALLY INFECTED RABBITS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, M. P. Gabrashanska, V. N. Naney

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

CP5. THERMOLABLE BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH CELL PROLIFERATION INHIBITOR ACTIVITIES FROM PARASITE AND HOST ORIGIN UNDER EXPERIMENTAL FASCIOSIS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, R. Toshkova, E. Nikolova, D. Wesselinova, A. Filchev, L.

Rupova-Popjordanova, V. Naney, M. Gabrashanska

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Session D.

Chairpersons:

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Abdulkadir Abudalleh, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Desislav Dinev, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

10.00 – 10.30

DO1. BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Lactobacillus* STRAINS

Ivo Ganchev

*Department of General Microbiology, The Stephan Angeloff Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

10.30 – 11.00

DO2. BIOCHEMICAL STUDIES IN RATS WITH POLYMERIC HYDROGEL IMPLANTS

Nanev V.¹, I. Vladov¹, P. Dimitrov¹, K. Todorova¹, N. Tsocheva-Gaytandzhieva¹, K. Ruseva,
D. Nikolova, M. Simeonov, E. Vassileva², M. Gabrashanska¹

¹*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Sofia University "St. K. Ohridski", Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia, Bulgaria*

11.00 – 11.20 Coffee Break

11.20 – 11.35

DO3. COMPARISON OF THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF MEDICINAL PLANTS FROM THE RHODOPE MOUNTAINS WITH COMMERCIALY PURCHASED PLANTS

Nelly Georgieva, Zhenya Yordanova, Ganka Chaneva, Miroslava Zhiponova

*Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Sofia University "St. Kliment Ohridski",
Sofia, Bulgaria*

11.35 – 11.50

DO4. CHEMICAL COMPOSITION AND INHIBITORY EFFECTS OF TANACETUM VULGARE L. ON PROLINE-SPECIFIC ENZYME ACTIVITY IN BREAST CANCER CELLS

A.Vasileva¹, M. Dimitrova², V. Lozanov¹, V. Mitev¹, I. Ivanov¹

¹*Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria*

²*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

11.50 – 12.05

DO5. ВЛИЯНИЕ НА МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ С ШИФОВИ БАЗИ ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА И ПРОЛИФЕРАТИВНАТА АКТИВНОСТ НА КУЛТИВИРАНИ В ЛАБОРАТОРНИ УСЛОВИЯ ТУМОРНИ КЛЕТКИ.

Dinev D., Alexandrova R.

Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

12.05 – 12.35

DO6. ВЛИЯНИЕ НА МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ С ШИФОВИ БАЗИ ИЛИ КОДЖИКОВА КИСЕЛИНА ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА И ПРОЛИФЕРАТИВНАТА АКТИВНОСТ НА ТУМОРНИ КЛЕТКИ.

Glavcheva M¹., Zhivkova T.¹, Dyakova L²., Dinev D¹., Abudalleh A¹., Petrova Z.¹, Marinescu G³., Culita D³., Patron L³., Andonova-Lilova B¹., Alexandrova R¹.

¹*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

³*Institute of Physical Chemistry "Ilie Murgulescu", Bucharest, Romania*

12.35 – 12.50

DO7. ENVIRONMENTAL POLLUTION WITH SOME HEAVY METALS AND INNOVATIVE METHODS TO TEST THEIR PRESENCE IN THE HUMEN BODY

Julia Karaivanova

Institute of Biology and Immunology of Reproduction "Acad. K. Bratanov", Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

12.50 – 13.05 Discussion

13.05-13.20 Closing Remarks

Session A.

Chairpersons:

Prof. Stefka Valcheva-Kuzmanova, MD, PhD, DSc

Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", Varna, Bulgaria

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Tanya Zhivkova, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

AO1. PERIODONTITIS AND ESTROGEN DEFICIENCY IN MENOPAUSE

A. Kuzmanov¹, V. Kuzmanova¹, S. Valcheva-Kuzmanova²

¹*Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", 55 M. Drinov Str.,
9002 Varna, Bulgaria*

²*Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, 55 M. Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria*

E-mail: stefkavk@yahoo.com

Periodontitis is a very common inflammatory condition characterized by progressive loss of the gingival tissue, periodontal ligament, and alveolar bone. It is the leading cause of tooth loss. After menopause, women become more susceptible to periodontitis.

The aim of this review was summarize the literature data on to the consequences of estrogen deficiency in menopause on periodontal tissue.

Literature was accessed through PubMed and Scopus.

The periodontium is composed of the supporting structures of the teeth which are the gingiva, periodontal ligament, and alveolar bone. Estrogenic effects in periodontal ligament cells are mediated via beta estrogenic receptors but the mechanism behind these effects is poorly understood. In menopause, estrogen deficiency results in bone loss. There is some correlation between systemic osteoporosis and alveolar bone loss. Decreased mineral density of alveolar bone can lead to attachment loss and tooth loss. Women with advanced osteoporosis are three times more susceptible to teeth loss than healthy women [2]. Estrogen deficiency serves as a challenge for immune cells (monocytes and macrophages) and osteoblasts to produce bone-resorbing and inflammatory cytokines. Studies suggest that low estrogen level in menopause is related to increased production of interleukin 1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor alpha, granulocyte colony-stimulating factor, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, which stimulate mature osteoclasts and induce resorption of both skeletal and alveolar bone [3]. The other factor of very high significance is the bacterial plaque biofilm. It is the other challenge for immune cells. The host's inflammatory response to this biofilm starts the inflammation cascade and may lead to constant activation of proteolytic and degradative enzymes, leading to connective tissue destruction, alveolar bone resorption, and ultimately tooth loss [1]. Thus, estrogen deficiency together with other factors such as the bacterial plaque biofilm can explain the increased risk of periodontal disease in postmenopausal women.

Prevention of menopausal periodontitis needs prevention of osteoporosis, as well as daily oral hygiene practices, regular dental examinations and removal of bacterial plaque biofilm, cleaning between teeth with floss or interdental cleaner, maintaining a balanced diet and no smoking.

In conclusion, postmenopausal women present with periodontal disease more frequently. Measures should be taken to prevent and treat the disease.

Key words: periodontitis, menopause, estrogen deficiency

References:

1. Genco, R.J., S.G. Grossi. Is estrogen deficiency a risk factor for periodontal disease? *Compend. Contin. Educ. Dent., Suppl.*, 1998, 22, S23-S29.
2. Kribbs, P.J. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J. Prosthet. Dent.*, 63, 1990, 218-222.
3. Pacifici, R. Estrogen, cytokines and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1996, 1043-1051.

AO2. THE ROLE OF POLYPHENOLS IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

V. Kuzmanova¹, A. Kuzmanov¹, S. Valcheva-Kuzmanova²

Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria

¹*Student, Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", 55 M. Drinov Str.,
9002 Varna, Bulgaria*

²*Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov", 55 M. Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria*

E-mail: stefkavk@yahoo.com

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic inflammation of the bowel which is caused by dysregulation of the mucosal immune system. Polyphenols are a huge class of secondary plant metabolites occurring in fruits and vegetables, presented mainly by flavonoids, phenolic acids, stilbenes and lignans. Polyphenolic substances possess potent anti-inflammatory and antioxidant activities.

The aim of the present review was to search the current literature describing the effects of polyphenols on intestinal inflammation in IBD.

Electronic databases including PubMed and Scopus were browsed.

Data for the effects of polyphenolic substances in IBD have been derived from in vitro studies as well as in vivo studies in animal models and in humans. Investigations in vitro have demonstrated that polyphenols reduce the markers of inflammation. Most abundant are the data obtained from animal studies. Chemical models of IBD are induced in rodents by 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, by dextran sulfate sodium or by acetic acid. Animal studies have shown that administration of polyphenols before, during or after colitis induction results in a decrease of colitis severity. Resveratrol, quercetin, curcumin and anthocyanins have shown the highest efficacy. A very limited number of human trials have investigated the effect of polyphenol intervention on IBD patients. Polyphenols may have a role either prior to absorption, directly in the gut lumen, where their concentration is comparatively high, or following absorption, via their influence on nuclear receptors and gene expression [1]. The benefits from polyphenols in IBD are the result of their antioxidant activity, anti-inflammatory effects, improvement of gut microbiota and impact on epithelial barrier due to

effect on the tight junctions [2]. The mechanisms mentioned have been demonstrated for different dietary polyphenols, and not all of these mechanisms imply to each polyphenol.

In conclusion, many studies have shown positive effects of polyphenol-rich plant extracts and also individual compounds on the severity and progression of IBD. Further human trials are needed to confirm that polyphenols could be used either for prevention or treatment of IBD.

Key words: inflammatory bowel disease (IBD), polyphenols, antioxidant, anti-inflammatory, gut microbiota

References:

1. Kaulmann, A., B. Torsten. Bioactivity of polyphenols: preventive and adjuvant strategies toward reducing inflammatory bowel diseases – promises, perspectives, and pitfalls. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016, 29 pages.
2. Santino, A., A. Scarano, S. De Santis, M. De Benedictis, G. Giovino, M. Chieppa. Gut microbiota modulation and anti-inflammatory properties of dietary polyphenols in IBD: new and consolidated perspectives. *Curr. Pharm. Des.*, 23 (16), 2017, 2344-2351.

AO3. DOWN-REGULATION OF AUTOREACTIVE T AND B CELLS BY ANTIBODY THERAPY IN MURINE MODELS OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Silviya Bradyanova¹, Nikolina Mihaylova¹, Petroslav Chipinski¹, Stela Chausheva¹, Ekaterina Todorova², Melinda Herbáth³, Dobroslav Kyurkchiev², József Prechl³, Andrey Tchorbanov¹

¹*Department of Immunology, Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Laboratory of Clinical Immunology, University Hospital "St. Ivan Rilski", Sofia, Bulgaria*

³*MTA-ELTE Immunology Research Group, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary*

E-mail: silvy.bradyanova@gmail.com

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a heterogeneous autoimmune syndrome. It is characterized by chronic inflammation, B and T-cell hyperactivity, production of autoantibodies against self-nucleat antigens and generation of immune complexes. Annexin A1 (Anx-A1) is Ca-dependent glucocorticoid-induced protein involved in FPR2 pathway, resolution of inflammation and inhibition of phospholipase A2 (PLA2) activity. Our hypothesis is that it is possible to suppress SLE symptoms by therapy with monoclonal antibody against Anx-A1.

The immunomodulatory activity of the therapeutic antibodies was tested *in vivo* and *in vitro* at Pristane-induced Balb/C, MRL/lpr and humanized SCID murine models of lupus. Splenocytes were incubated with plate-bounded anti-CD3 and anti-CD28 antibodies and then incubated in ranging concentrations of anti-Anx-A1 antibody solution. We tested the effect of the antibody on expression of Annexin A1 and on CD25 and CD69 T cell activation markers. Proteinuria levels, survival and skin lesion formation were examine *in vivo*.

We have found that the AnxA1 is expressed by both the B and T cells of Balb/C mice with pristane-induced SLE and a dose-dependent decrease in the expression of the activation markers CD25 and CD69. Anti-AnxA1 antibody retains the levels of anti-dsDNA antibodies,

prevents the appearance of skin lesions and decreases the levels of IgG and IgM against C1q in antibody treated animals compared to the PBS control group.

The ANX A1 antibody described here obviously targets over-activated autoreactive cells and has a beneficial effect on lupus development. We have observed improvement in the survival between the ANX A1 antibody-injected and control group of animals. The administration of ANX A1 antibody suppresses the ongoing autoimmune disease in pristine-induced lupus mice and, using such a therapy, it is possible to down-regulate the activity of lupus-associated lymphocytes.

References:

1. D'Acquisto, F. et al. Annexin-1 modulates T-cell activation and differentiation. *Blood*, 2007.
2. Perretti M., D'Acquisto F. Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. *Nature*, 2009.

AO4. DOWN-MODULATION OF AUTOREACTIVE B-CELLS BY PROTEIN-ENGINEERED CHIMERIC MOLECULES IN MOUSE MODEL OF TYPE 1 DIABETES

Iliyan Manoylov¹, Gabriela Boneva¹, Nikolina Mihaylova¹, Irini Doytchinova²,
Andrey Tchorbanov¹

¹*Laboratory of Experimental Immunology, The Stephan Angeloff Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia, Bulgaria*

E-mail: iliymanoylov@microbio.bas.bg

Type 1 diabetes (T1D) is characterized by autoimmune attack against the insulin-producing beta-cells of the pancreas. Autoreactive B lymphocytes play major role in the pathogenesis of the disease. They produce autoantibodies against several autoantigens. B cells can activate T cells and can modulate the immune response via cytokine production. Thus, targeting autoreactive B lymphocytes may serve as a potential treatment against T1D. Downregulation of murine B cells is accomplished via the activation of the negative receptor Fc-gammaRIIB. Logically, this receptor can serve as a potential target for the suppression of B lymphocytes.

One of the main beta-cells' autoantigens in T1D is glutamic acid decarboxylase (GAD65)- a membrane-bound enzyme catalyzing the formation of gamma-aminobutyric acid.

The aim of our study is to construct chimeric molecules, using antibody against Fc-gammaRIIB conjugated to epitopes of GAD65. The chimeric molecules are expected to suppress specifically autoreactive B cells in a mouse model of T1D.

We constructed chimeric protein molecules, containing a monoclonal antibody specific for the mouse inhibitory receptor Fc-gammaRIIB, coupled to peptides derived from GAD65 protein. The ability of these molecules to modulate the immune response was tested in an induced murine model of Type 1 Diabetes. The parameters of this interaction were characterized by FACS analysis, ELISPOT and proliferation techniques.

The chimeric molecules, presented in this study, bind GAD65 – specific B-lymphocytes and suppress selectively their proliferation by co-crosslinking of the inhibitory Fc-

gammaRIIB and the BCR. This treatment presents a possible way to alter the autoimmune nature of these cells.

Reference:

1. Wong, S.F., Wen, Li, Tang, M., Rmanathan, M., Visintin I., Daugherty, J., Hannum, L., Janeway, C. A., Shlomchik, M.J. Investigation of the Role of B-Cells in Type 1 Diabetes in the NOD Mouse. *Diabetes*, 53(10), 2004, 2581-2587.
2. Smith, K.G., Clatworthy, M.R. FcgammaRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nat Rev Immunol.*, 10(5), 2010, 328-43.
3. Ludvigsson, J., Krisky, D., Casas, R., Battelino, T., Castaño, L., Greening, J., Kordonouri, O., Otonkoski, T., Pozzilli, P., Robert, J.J., Veeze, H.J., Palmer, J., Samuelsson, U., Elding, L. H., Åman, J., Kärde, G., Neiderud, H. J., Lundström, G., Albinsson, E., Carel, J.C., Reynaud, R., Coutant, R., Baron S. GAD65 antigen therapy in recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.*, 366(5), 2012, 433-42.

AO5. CHIMERIC PROTEIN-ENGINEERED MOLECULES - NEW APPROACH FOR SELECTIVE ELIMINATION OF ALLERGEN-SPECIFIC B LYMPHOCYTES IN REACTIONS OF HYPERSENSITIVITY

Nikola Ralchev, Nikolina Mihaylova, Nikola Kerekov, Andrey Tchorbanov

*Laboratory of Experimental Immunology, Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

E-mail: niki_951101@abv.bg

Der p1 is allergenic molecule of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt) which causes house dust allergy. The pathological Der p1-specific B cells produce allergen-specific IgE antibodies that mediate most of the hypersensitivity allergic reactions (1-4).

It may be possible to influence Der p1- specific murine B cells in mouse model of allergy by administration of chimeric molecule, containing a monoclonal antibody against the inhibitory B-cell receptor FcγRIIb coupled to a B and a T cell epitopes from the Der p1 allergen. Co-crosslinking of the immunoglobulin receptors and FcγRIIb by this molecule is expected to deliver higher affinity and suppressive signal selectively silencing these B cells and the subsequent allergic response.

Methods: Protein engineering, , FACS, immunohistochemistry, histology.

Results: A synthetic peptide, Der p1 p52-71 and anti-mouse FcγRIIb monoclonal antibody were used for the construction of Der p1 chimera. We also made an irrelevant chimera which consists of a peptide with the same aminoacids like Der p1 p52-71, but with different sequence coupled anti-mouse FcγRIIb antibody.

Conclusion: In *in vitro* tests we will observe the effect of generated chimeric molecules on spontaneous proliferation of cells obtained from mice with developed allergy as well as the number of D. pt.- specific IgG and IgE antibody-producing plasmocytes. We will develop a murine model of allergy by i.p. Dpt extract sensitization followed by aerosolic challenge. An advantage of the murine model is the possibility of whole set of lymphocytes isolation and precise monitoring of the allergic response. The constructed chimeric molecule could bind Der p1-specific B-lymphocytes and could suppress their proliferation and production of pathogenic anti-Der p1 IgE antibodies as well.

References:

1. Maunsell K, Wraith DG, Cunningham AM. Mites and house-dust allergy in bronchial asthma. *Lancet.* , 1, 1968, 1267–70.
2. Platts-Mills TA, Wheatley LM. The role of allergy and atopy in asthma. *Curr Opin Pulm Med.*, 2,1996, 29–34.
3. Roche N, Chinnet TC, Huchon GJ. Allergic and nonallergic interactions between house dust mite allergens and airway mucosa. *Eur Respir J.*, 10, 1997, 719–26.
4. Hatzivlassiou M, Grainge C, Kehagia V, Lau L, Howarth PH. The allergen specificity of the late asthmatic reaction. *Allergy*, 65, 2010, 355–8.

AO6. ENGINEERED MOLECULES FOR TARGETING OF INFLUENZA A EPITOPES

Iva Ivanova¹, Nikolina Mihaylova¹, Iliyan Manoylov¹, Dimitra Makatsori², Stefan Lolov³, Maria Nikolova⁴, Avgi Mamalaki², Jozsef Prechl⁵ and Andrey Tchorbanov¹

¹ *Laboratory of Experimental Immunology, Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

² *Hellenic Pasteur Institute, Ampelokipi, Athens, Greece*

³ *Institute of Biology and Immunology of Reproduction,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

⁴ *National Reference Laboratory of Immunology, National Center of Infectious and Parasitic
Diseases, Sofia, Bulgaria*

⁵ *Immunology Research Group, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary*

Anti-viral DNA vaccines are a novel strategy in the vaccine-development field, which basically consists in the administration of expression vectors coding viral antigen sequences into the host's cells (1-5). Many conserved influenza virus epitopes have been identified as potential vaccine candidates, but the small peptides are weakly immunogenic and cause mainly the humoral immune response. Targeting of viral epitopes by antibody fragments specific to activating cell surface co-receptor molecules on antigen-presenting cells could be an alternative approach for inducing protective immunity.

It has been shown that the FcγRI on human monocytes is responsible for mediating an enhanced antigen presentation *in vivo* (6, 7). A DNA construct, encoding a scFv fragment from mouse anti-human FcγRI monoclonal antibody, coupled to a sequence, encoding a T- and B-cell epitope-containing influenza A virus hemagglutinin intersubunit peptide and inserted into the eukaryotic expression vector system pTriEx-3 Neo has been used as naked DNA vaccine and introduced directly to experimental humanized NOD/SCID mice. After expression *in vivo* the gene-engineered chimeric molecules bound selectively FcγRI expressing APCs and delivered to them a strong activating signal via their surface FcγI receptors.

References:

1. Operschall, E., Pavlovic, J., Nawrath, M., Molling, K. Mechanism of protection against influenza A virus by DNA vaccine encoding the hemagglutinin gene. *Intervirology.*, 43, 2000, 322-30.
2. Donnelly, J.J., Wahren, B. and Liu, M. A. DNA vaccines: progress and challenges. *J Immunol.*, 175, 2005, 633-9.

3. Griffin, B., Muthumani, K. et al. DNA vaccination protects mice against Zika virus-induced damage to the testes. *Nature Communications* 8, Article number: 15743 (2017), DOI:10.1038/ncomms15743.
4. Liu, M.A. DNA vaccines: a review. *J. Intern. Med.*, 253, 2003, 402-10.
5. Schalk JA, Mooi FR, Berbers GA, van Aerts LA, Ovelgonne H, Kimman TG. Preclinical and clinical safety studies on DNA vaccines. *Hum Vaccine.*, 2, 2006, 45-53.
6. Grødeland, G., Fossum, E., & Bogen, B. Polarizing T and B Cell Responses by APC-Targeted Subunit Vaccines. *Frontiers in Immunology*, 6, 2015, 367. doi.org/10.3389/fimmu.2015.00367.
7. Keler, T., Guyre, P., Vitale, L., Sundarapandiyam, K., van de Winkel, J., Deo, Y., Graziano, R. Targeting Weak Antigens to CD64 Elicits Potent Humoral Responses in Human CD64 Transgenic Mice. *The Journal of Immunology*, 165 (12), 2000, 6738-6742;

AO7. DEVELOPMENT OF A NOVEL SPECIFIC INHIBITOR OF AMINOPEPTIDASE A

V. Petrova¹, D. Tasheva², I. Iliev¹, M. Dimitrova¹, I. Ivanov³

¹*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

²*Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University "St. Kl. Ohridsky", Sofia, Bulgaria*

³*Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Medical University of Sofia, Bulgaria*

E-mail: vesi87@abv.bg

Aminopeptidase A (Glutamyl aminopeptidase, APA; EC 3.4.11.7) is a membrane-associated Zn-dependent peptidase of M1 family, cleaving off glutamic or aspartic acid residues from the N-terminus of polypeptides. The enzyme is activated by Ca²⁺. It is a part of renin angiotensin system (RAS) and hydrolyzes N-terminal Glu of angiotensin II (AngII) to obtain angiotensin III (AngIII). The last substance has been identified as the main effector molecule of the brain RAS and the principle regulator of vasopressin release. Thus, APA participates in the control of blood pressure. Based on the studies with animal models of high blood pressure, specific APA inhibitors are regarded as potent antihypertensive agents.

On the other hand, it has been found that knock out APA^{-/-} mice have a suppressed tumor angiogenesis. Thus, the enzyme is involved in the angiogenesis in solid tumors and is accepted as a target molecule for angiogenesis in cancer. The enzyme inhibitors have been recognized also as possible antitumor agents.

Recently, a novel class of APA inhibitors - β -amino thiols, has been described, e.g. (S)-4-amino-5-mercaptopentanoic acid (1) and (S)-3-amino-4-mercaptobutane-1-sulfonic acid (2). We performed an extensive study to evaluate the importance of amino group in the structure of those APA inhibitors. The results showed the central role of NH₂-group in the structure of this type of inhibitors which is essential for their correct orientation in the enzyme active center.

The aim of this study is to present a novel highly specific inhibitor of APA – α -glutamyl hydroxamate, which was designed, synthesized and tested in kidney homogenates by our group. The apparent inhibitory constant was estimated as well. The novel compound has a potential to be used in different biomedical studies as well as a therapeutic agent.

Session B.

Chairpersons:

Prof. Mashenka Dimitrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Lora Dyakova, MSc

Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

BO1. BIOMEDICAL IMPLEMENTATION ON DNA METHYLATION IN DURATION THE DEVELOPMENT OF TUMOR CELLS

Victoriya Tsvetkova¹, Desislava Abadjieva²,

¹*Student of 9th French Language School, Sofia, Bulgaria*

²*Institute of Biology and Immunology of Reproduction, Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia, Bulgaria*

E-mail: viktoriya.ts.2015@feg.bg

This report presents the methylation process of DNA, describes the mechanisms of action and explains its role in terms of cancer cell development. Hypermethylation of cytosine in some genetic regions suppresses active transcription of genes. This jamming on the tumor suppressor genes are a necessary condition for tumorigenesis. There is no evidence yet whether DNA methylation can be considered as a sufficient precondition for the appearance of malignancies, although there are studies in this regard. However, due to the presence of DNA methylation in the development of tumor formations, it is claimed that by examining methylated genes, early detection of cancer cells and their successful treatment is possible.

Biomedical view of the DNA methylation process has future uses in oncology. It puts scientific questions, the solution of which would help to overcome a serious problem - the development of tumors.

Благодарност на проект „Въвеждане на съвременни методи от репродуктивната биология към образованието и работа с млади таланти“, ПМС №347/08.12.2016 г.

БИОМЕДИЦИНСКИ ПОГЛЕД ВЪРХУ МЕТИЛИРАНЕТО НА ДНК ПО ВРЕМЕ НА РАЗВИТИЕ НА ТУМОРНИ КЛЕТКИ

Виктория Цветкова¹, Десислава Абаджиева²

¹*9 Френска езикова гимназия „Алфонс дьо Ламартин“, София, България*

²*Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“, БАН, София, България*

E-mail: viktoriya.ts.2015@feg.bg

Настоящият доклад представя процеса метилиране на ДНК, описва механизмите на действие и обяснява ролята му от гледна точка на развитието на ракови клетки. Хиперметирането на цитозина в някои генетични участъци потиска активната транскрипция на гените. Това т. н. „заглушаване“ на тумор супресорните гени е задължително условие при туморогенезата. Все още няма данни дали ДНК метилирането само по себе си може да се смята достатъчна предпоставка за появата на злокачествени образувания, макар да има проучвания в тази насока. Въпреки това поради застъпеността на ДНК метилирането в развитието на туморни образувания се твърди, че чрез изследване на метилирани гени е възможно навременното откриване на ракови клетки и съответно успешното им третиране.

Биомедицински поглед върху процеса ДНК-метиране има бъдещи приложения в онкологията. Поставя научни въпроси, решението на които биха допринесли за преодоляването на един сериозен проблем - развитието на тумори.

ВО2. ДИЕТИЧНИ ЛИОФИЛИЗИРАНИ ХРАНИ НА ОСНОВАТА НА БИВОЛСКО МЕСО

И. Начева, Д. Митева, Кр. Димов, В. Цветкова, Ал. Влъчков

*Институт по криобиология и хранителни технологии, бул. Черни връх №53,
1407 София, България*

E-mail: aleksandar.valchkov@abv.bg; iliana_nacheva@abv.bg; venetapetrova@abv.bg

Резюме

Целта на научната разработка е създаване на лиофилизирани храни от биволско месо с добавки на масла и продукти от растителен произход. Разработени са рецептури и технологични схеми за получаване на иновативни месни храни с повишено съдържание на полиненаситени мастни киселини, което отговаря на по-високите изисквания на потребителите за консумиране на качествена и безопасна храна. Новите храни се отличават с високо съдържание на ω -3 и ω -6 мастни киселини и оптимално съотношение между тях, което способства за повишаване на хранителните и здравословни им качества. Подходящи са както за ежедневна консумация, така и за специализирано хранене – диетично, възстановително и лечебно хранене.

Ключови думи: диетични храни, биволско месо, мастни киселини, лиофилизация

Увод

Биволското месо е продукт с диетични качества, което се определя от ниското съдържание на липиди (под 1,5%) и по-високото съдържание на протеини (над 20%), минерални вещества и витамини [2,5,7]. Създаването на специализирани храни на

основата на биволско месо с добавени адитиви от растителен произход би довело до повишаване на техните здравословни ефекти [4,6].

Включените ядки и растителни масла съдържат значителни количества мастноразтворими витамини: А, Е, както и витамин С, притежаващи силни антиоксидантни свойства. Тези качества осигуряват превенция на сърдечно-съдови и някои онкологични заболявания, редуциране на телесните липиди, регулиране на кръвното налягане и др. [1,3]. Важен положителен ефект от добавените растителни компоненти е промяната на мастнокиселинния състав на формулираните храни.

Целта на настоящото изследване е създаване на диетични лиофилизирани храни от биволско месо с оптимизиран мастнокиселинен състав, подходящи за специализирано хранене.

Материали и методи

За изготвяне на новите храни е използвано термично обработено и обезкостено биволско месо. Създадени са рецептури на две храни: храна 1 – на зеленчукова основа с включени моркови, тиквички, червени чушки, карфиол, сусамов тахан, тиквено семе, нахут; храна 2 - на зърнено-плодова основа с включени сушени сини сливи, стафида, ориз и нахут.

Новите специализирани храни са лиофилизирани в промишлена сублимационна инсталация “Hochvacuum” TG -16.50 с кондуктивно нагряване и остатъчното налягане в сублиматора в диапазона на 10^{-1} – 10^{-2} mmHg. Общият мастно-киселинен състав на липидите в месните продукти е определен на газов хроматограф “Shimadzu-2010 (Kyoto, Japan).

Резултати и обсъждане

При формулиране състава на храните е постигнато обединяване на хранителните и лечебни свойства на изходните суровини за получаване на продукти с програмиран здравословен ефект. Храните са лиофилизирани при предварително програмирани технологични параметри.

В таблици 1-4 са представени основните групи мастни киселини, съдържащи се в липидите от биволско месо и на хранителните продукти, произведени от него, в нативно и лиофилизирано състояние.

Таблица 1. Наситени мастни киселини (g/100g мазнина)

SFA - наситени	контрола	храна 1	храна 2	храна-лио1	храна-лио 2
C-8:0	0,00	0,04	0,00	0,01	0,00
C-10:0	0,00	0,12	0,07	0,08	0,04
C-12:0	0,37	0,27	0,22	0,20	0,17
C-13:0	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01
C-14:0	3,14	2,34	2,48	2,05	2,55
C-15:0	0,31	0,25	0,28	0,23	0,29
C-16:0	23,36	20,11	23,34	20,43	23,47
C-17:0	0,58	0,45	0,53	0,47	0,66
C-18:0	16,12	13,00	14,80	14,37	15,27
C-20:0	0,51	0,30	0,30	0,34	0,32
C-21:0	0,00	0,04	0,04	0,06	0,04
C-22:0	0,00	0,14	0,18	0,23	0,10
C-23:0	0,18	0,01	0,05	0,05	0,00
C-24:0	0,10	0,02	0,06	0,10	0,00
C-26:0	0,30	0,00	0,00	0,04	0,00

Контрола – нативно биволско месо, храна 1 – храна на зеленчукова основа, храна 2 – храна на зърнено-плодова основа, храна-лио1 - лиофилизирана храна на зеленчукова основа, храна-лио2 - лиофилизирана храна на зърнено-плодова основа

С най-високо съдържание от групата на наситените мастни киселини (SFA) (табл.1) в биволското месо са палмитиновата (C-16:0), стеариновата (C-18:0) и миристиновата (C-14:0) киселини. В сравнение с общото съдържание на полиненаситените мастни киселини (PUFA) – 11,41 g/100g мазнина (табл.4) съдържанието на C-16:0 и C-18:0 е по-високо, както и общото съдържание на SFA (табл.4). Другите представители на SFA имат ниски стойности – под 1,00 g/100g мазнина.

От групата на наситените мастни киселини с най-висока застъпеност в храна 1 и храна 2 са миристиновата, палмитиновата и стеариновата киселини. Съдържанието на C14:0 в храна 1 слабо се редуцира след лиофилизацията с 0,29 g/100g мазнина, а в храна 2 слабо нараства с 0,07 g/100g мазнина. От всички наситени мастни киселини с най-високо съдържание е C16:0, което нараства слабо и в двете храни след лиофилизация. Съдържанието на C18:0 в храна 1 след лиофилизация нараства слабо с 1,37 g/100g мазнина, а в храна 2 нараства с 0,47 g/100g мазнина.

Таблица 2. Мононенаситени мастни киселини (g/100g мазнина)

MUFA	контрола	храна 1	храна 2	храна-лио 1	храна-лио 2
C-16:1n7	0,31	0,30	0,31	0,28	0,25
C-16:3n4	0,27	0,04	0,08	0,09	0,06
C-17:1n7	0,90	0,33	0,41	0,47	0,31
C18:1Trans-FA: C-18:1t4	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02
C-18:1t5/6/7	0,04	0,28	0,28	0,24	0,70
C-18:1t9	0,42	0,46	0,30	0,27	0,88
C-18:1t10	0,82	0,28	0,18	0,17	0,57
C-18:1t11	2,00	1,11	1,04	0,95	1,22
C-18:1t15	1,99	1,05	1,26	1,27	1,13
C18:1 Cis-FA C-18:1c9	33,93	37,17	34,72	35,62	32,81
C-18:1c12	0,38	0,06	0,11	0,10	0,19
C-18:1c13	0,03	0,14	0,17	0,15	0,15
C-18:1c15	0,00	0,04	0,06	0,06	0,08
C-20:1n9	0,15	0,08	0,11	0,14	0,12
C-22:1n9	0,55	0,69	0,14	0,21	0,05

В таблица 2 е представено съдържанието на мононенаситени мастни киселини (MUFA) в биволското месо и получените храни с добавени инградиенти преди и след лиофилизация. Голяма част от тях са съставени от цис- и транс изомери на олеиновата киселина. С най-голямо количество от групата на MUFA се откроява олеиновата киселина (C-18:1c9). Нейното ниво намалява и в двете проби след лиофилизация, съответно в храна 1 с 1,55 g/100g мазнина, а в храна 2 с 1,91 g/100g мазнина.

С високо съдържание, над 0,90 g/100g мазнина, са транс-изомерите (C18:1) – ваксенова к-на (C-18:1t11) и C-18:1t15. Съдържанието на C-18:1t11 в храна 1 след сублимационното сушене се редуцира слабо с 0,16 g/100g мазнина, а в храна 2 слабо нараства с 0,18 g/100g мазнина.

Таблица 3. Полиненаситени мастни киселини (g/100g мазнина)

PUFA	контрола	храна 1	храна 2	храна-лио 1	храна-лио 2
CLA: CLA9c,11t	0,05	0,12	0,20	0,22	0,07
CLA10t,12c	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00

CLA9c,11c	0,10	0,12	0,12	0,14	0,06
CLA9t,11t	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00
w-6: gC-18:3n6	0,67	0,04	0,03	0,01	0,03
C-20:2n6	0,33	0,11	0,15	0,19	0,01
C-20:3n6	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00
C-20:4n6	1,88	0,20	0,28	0,37	0,35
C-22:2n6	0,00	0,11	0,01	0,02	0,05
C-18:2t9,12	0,00	0,14	0,17	0,16	0,16
C-18:2c9,12	6,23	16,07	13,60	15,45	13,52
w-3: aC-18:3n3	0,58	0,92	0,70	1,33	1,36
C-20:3n3	0,00	0,83	0,80	1,13	0,79
C-20:5n3	0,00	0,43	0,36	0,51	0,05
C-22:5n3	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00
C-22:6n3	0,03	0,10	0,14	0,22	0,11

От групата на PUFA в биволското месо (табл.3) с най-високи стойности са линоловата киселина (C-18:2c9,12) – 6,23 g/100g мазнина, C-20:4n6 – 1,88 g/100g мазнина, гама-линоленовата киселина (gC-18:3n6) – 0,67 g/100g мазнина, алфа-линоленовата киселина (aC-18:3n3) – 0,58 g/100g мазнина и ейкозапентаеновата киселина (C-22:5n3) – 0,69 g/100g мазнина. Останалите мастни киселини от тази група, включително и представителите на CLA имат ниски стойности - под 0,50 g/100g мазнина.

От групата на полиненаситените мастни киселини в храни 1 и 2 преди и след лиофилизация в най-голямо количество са линоловата, алфа-линоленовата киселини и ейкозатриеновата киселина (C-20:3n3), като получените стойности са много по-високи спрямо контролната група. Съдържанието на линоловата киселина в пробите след лиофилизация в храна 1 намалява с 0,62 g/100g мазнина, а в храна 2 намалява незначително с 0,08 g/100g мазнина. Количеството на алфа-линоленовата киселина в пробите е много по-малко от това на линоловата киселина и е под 2,00 g/100g мазнина. Съдържанието на алфа-линоленовата киселина в храна 1 след лиофилизация нараства с 0,41 g/100g мазнина, а в храна 2 нараства с 0,66 g/100g мазнина.

Таблица 4. Групи мастни киселини (g/100g мазнина)

Групи мастни к-ни	контрола	храна 1	храна 2	храна-лио1	храна-лио 2
SFA	44,97	37,12	42,36	38,67	42,92
MUFA	41,87	42,16	39,32	40,12	38,85
C-18:1Trans-FA	5,29	3,22	3,13	2,95	4,78
C-18:1Cis-FA	34,32	37,07	34,74	35,69	33,26
PUFA	11,41	19,19	16,56	19,75	16,56
CLA	0,52	0,24	0,32	0,36	0,13
ω-3	1,30	2,28	2,00	3,19	2,32
ω-6	9,60	16,67	14,24	16,20	14,11
ω-6/Σ ω-3	7,38	7,31	7,12	5,08	6,08
Branched FA	1,75	1,53	1,76	1,46	1,67

Биволското месо от бут (табл.4) има високо съдържание на наситени и мононенаситени мастни киселини. Цис-изомерите (C-18:1Cis-FA) имат високо съдържание – 34,32 g/100g мазнина, което се дължи на високото съдържание на олеиновата киселина в месото (табл.2). Съдържанието на транс-изомерите (C-18:1Trans-FA) в биволското месо от бут е ниско – 5,29 g/100g мазнина.

Общото количество на полиненаситени мастни киселини в биволското месо е по-ниско от съдържанието на SFA и MUFA. Към тях се отнасят ω-6 и ω-3 есенциални мастни киселини, както и спрегнатите мастни киселини (CLA). Съдържанието на CLA в биволското месо е ниско – 0,52 g/100g мазнина, както и нивото на ω-3 мастни киселини – 1,30 g/100g мазнина. Количеството на ω-6 мастните киселини обаче е доста по-високо

– 9,60 g/100g мазнина и съставлява по-голямата част от общото съдържание на PUFA в контролата. Отчетено е и съотношението ω -6/ ω -3 (7,38/100g мазнина).

Установено е, че количеството на SFA в храна 1 след лиофилизация се повишава незначително - от 37,12 до 38,67 g/100g мазнина. В храна 2 съдържанието на тази група мастни киселини след лиофилизация нараства още по-слабо с 0,56 g/100g мазнина. Мононенаситените мастни киселини в храните преди и след лиофилизация имат стойности между 39 и 42 g/100g мазнина. След лиофилизация съдържанието им се редуцира съответно, на храна 1 – с 2,04 g/100g мазнина, а на храна 2 – с 0,47 g/100g мазнина.

Съдържанието на цис-изомерите (C-18:1Cis-FA) на олеиновата киселина в храните преди и след лиофилизация е високо – средно около 35 g/100g мазнина. Установено е, че след лиофилизация съдържанието им слабо се редуцира с около 1,5 единици. За разлика от тях съдържанието на транс изомерите (C-18:1Trans-FA) е доста по-ниско. В храна 1 след лиофилизация количеството им слабо се редуцира с 0,27 g/100g мазнина, а в храна 2 се наблюдава обратния ефект – нарастват с 1,65 g/100g мазнина.

Съдържанието на полиненаситени мастни киселини в храна 1 и храна 2 се различава, както преди, така и след лиофилизация. Количеството на PUFA в храна 1 е по-високо, както преди, така и след сублимационното сушене, от това в храна 2. В процеса на лиофилизация то нараства незначително - само с 0,56 g/100g мазнина, а при храна 2 регистрираме абсолютно идентични стойности след процеса на сублимационно сушене от 16,56 g/100g мазнина. Констатирано е значително повишаване на съдържанието на PUFA спрямо контролната група, съответно с около 8 единици при храна 1 и 5 единици при храна 2. Съдържанието на ω -3 есенциални мастни киселини е ниско, както преди така и след лиофилизацията – около 2,00 g/100g мазнина. Количеството на тази група киселини в двете храни 1 и 2 след лиофилизация нараства слабо. Нивото на ω -6 есенциални мастни киселини е значително по-високо от това на ω -3 в храните 1 и 2, както преди, така и след процеса на сублимационно сушене. И в двете храни се забелязва, че съдържанието се редуцира слабо след лиофилизацията. Съотношението на ω -6/ ω -3 в храните преди лиофилизация има стойности 7,31 при храна 1 и 7,12 при храна 2. След лиофилизация се забелязва промяна в благоприятна посока на намаляване на тези стойности за сметка най-вече на повишените стойности на ω -3 в лиофилизираните храни - съответно до 5,08 при храна 1 и до 6,08 при храна 2. Прави впечатление, че храните от биволско месо се характеризират с високо съдържание на ω -6 и ω -3 мастни киселини, което способства за повишаване на неговите хранителни, вкусови и функционални качества.

Изводи

1. Включването на зеленчукови, плодови и зърнени компоненти като част от състава на новите храни води до оптимизиране на мастнокиселинния състав на изследваното биволско месо, изразено в редуциране на стойностите на наситените мастни киселини за сметка на повишаване на полиненаситените мастни киселини.
2. От получените два вида месни храни, с по-благоприятен за човешкото здраве ефект се отличава храната на зеленчукова основа. При нея констатираме по-ниски стойности на SFA и по-високи на PUFA, включително и на ω -6 и ω -3 есенциални мастни киселини в сравнение с храната на зърнено-плодова основа.

3. Влиянието на процеса на лиофилизация върху мастнокиселинния състав на изследваните храни е незначително и не са констатирани загуби на незаменими мастни киселини.

Литература:

1. Георгиева, Л. Балканско здравословно хранене, 2009, 116-117.
2. Пеева Ц. Съвременно биволовство, 2006, 68-72.
3. Collins S. A., P. J. Shand, M. D. Drew. Stabilization of linseed oil with vitamin E, butylated hydroxytoluene and lipid encapsulation affects fillet lipid composition and sensory characteristics when fed to rainbow trout, *Animal Feed Science and Technology*, 170 (1-2), 2011, 53-62.
4. Nacheva I., D. Miteva, K. Dimov. Specialized meat-based foods for reconvalescent nutrition, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 20 (1), 2017, 40-48.
5. Naveena B.M., M. Kiran, K. Sudhakar Reddy, C. Ramakrishna, Suresh K. Devatkal. Effect of ammonium hydroxide on ultrastructure and tenderness of buffalo meat, *Meat Science*, 88 (4), 2011, 272-232.
6. Rodgers S. Value adding with functional meals, *Food Service Technology*, 4, 2004, 149-158.
7. Voloski F.L.S., L. Tonello, T. Ramires, G.G. Reta, E.H. Duval. Influence of cutting and deboning operations on the microbiological quality and shelf life of buffalo meat, *Meat Science*, 116, 2016, 207-212.

ВОЗ. ЖИЗНЕСПОСОБНОСТ И ПРЕЖИВЯЕМОСТ НА МЛЕЧНОКИСЕЛАТА МИКРОФЛОРА В НОВИ СИНБИОТИЧНИ ХРАНИ ОТ ОВЧЕ И КРАВЕ МЛЯКО

Илиана Начева, Александър Вълчков, Камелия Логиновска

*Институт по криобиология и хранителни технологии, бул. Черни връх 53,
1407 София, България*

E-mail: aleksandar.valchkov@abv.bg; iliana_nacheva@abv.bg

Резюме

Разработени са нови функционални синбиотични храни с висок процент живи, активни клетки на *L.bulgaricus* 1381, *Str.thermophilus* 1374 и *L.acidophilus* 1379. Комбинацията от шамове млечнокисели култури е подбрана експериментално по физиологична и биохимична характеристика, устойчива на условията в стомашно-чревния тракт на хората. Като изходни суровини са използвани овче мляко от породата Родопски цигай и краве мляко от Българско Родопско говедо. Млечнокиселите бактерии са включени в гел на хитозан, с което се повишава тяхната стабилност в моделни условия на храносмилане и се осигурява ефективна криозащита по време на криогенното им третиране. Съставът на новите храни е обогатен с натурални компоненти – зърнени (киноа, чия), плодове (черен бъз, манго), орехови ядки, сусамов тахан, растителни масла (ленено масло) и подсладители (фруктоза и стевия). Чрез обстойно определяне е установено, че новите синбиотични храни, обработени по метода на сублимационното сушене съдържат богат набор биологично активни вещества. Проведени са изследвания върху жизнеспособността на млечнокиселата микрофлора в синбиотичните продукти преди и след лиофилизация. В качеството на контрола е използвано прясно мляко, заквасено с избраната стартерна култура. Проведените микробиологични изследвания показват, че шамовете лактококи и

лактобацили в синбиотичните продукти след лиофилизация имат по-висок процент преживяемост (77,3% и 73% за *Str. thermophilus* в синбиотичните храни от овче и краве мляко и 72,1% и 65% за лактобацилите в същите храни), в сравнение с млечнокиселите бактерии от контролите след лиофилизация. Това показва, че новите лиофилизирани функционални храни са с по-висок титър на полезна микрофлора на щамовете *L.bulgaricus* 1381, *Str.thermophilus* 1374 и *L.acidophilus* 1379 в сравнение с лиофилизираните млека контроли.

Ключови думи: Синбиотични храни, млечнокисела микрофлора, преживяемост

Увод

Функционалните храни са традиционни храни, модифицирани по биотехнологичен път, които оказват специфичен, здравословен ефект върху организма, какъвто не е установен преди тяхното технологично третиране. Млякото и млечните продукти представляват основен компонент на функционалните храни, тъй като са носители на основните хранителни и биологично активни вещества - пълноценни протеини, липиди, голямо разнообразие от минерални вещества (Ca, Mg, Fe, Zn), витамини от група В - В₆, В₁₂; D, тиамин, рибофлавин и др., есенциални аминокиселини и мастни киселини - CLA, ω -3 и ω -6 мастни киселини, ензими и др. [5]. Те са подходяща среда за развитие на пробиотични бактерии и на техните асоциации, което създава възможност за получаване на разнообразен спектър от про- пре- и синбиотични храни [2]. Производството на екологично чисти и здравословни млека и млечни продукти е трайна тенденция през последните години, поради все по-високите изисквания на потребителите за консумиране на качествена и безопасна храна [7]. Установено е, че един от най-благоприятните методи за запазване жизнеспособността на полезната микрофлора в пробиотичните продукти в процеса на тяхното производство и дългосрочно съхранение е сублимационно сушене (лиофилизация). При този метод се съчетават два способа на консервиране - замразяване и сушене под вакуум при температури, непревишаващи критичните (тези, при които се нарушава микро- и макроструктурата на продукта). В цялостния процес на обработка, продуктите получават качествено нови свойства [1,6,8]. Повишеният интерес към лиофилизираните храни се обяснява с високото качество на крайния продукт, с напълно запазените им вкусови качества, цвят, аромат, хранителна и биологична стойност, тяхната многократно олекотеност, дълготрайно съхранение и удобство при транспортиране и предлагането им на пазара [4]. Ето защо по-голяма част от промишлените компании – производители на функционални храни, са се ориентирали към лиофилизацията като основен технологичен метод за получаване на качествена продукция с продължителна съхраняемост.

Материали и методи

Разработени са нови функционални синбиотични храни с висок процент живи, активни клетки на *L.bulgaricus* 1381, *Str.thermophilus* 1374 и *L.acidophilus* 1379. Комбинацията от щамове млечнокисели култури е подбрана експериментално по физиологична и биохимична характеристика, устойчива на условията в стомашно-чревния тракт на човека. Като изходни суровини са използвани овче мляко от породата Родопски цигай и краве мляко от Българско Родопско говедо. В състава на храните е включен полизахарида хитозан, в качеството си на пребиотик и полизахаридна гелна матрица. Млечнокиселите бактерии са включени в гел на хитозан, с което се повишава

тяхната стабилност в моделни условия на храносмилане и се осигурява ефективна криозащита по време на криогенното им третиране.

Съставът на новите храни е обогатен с натурални компоненти – зърнени (киноа, чия), плодове (черен бъз, манго), орехови ядки, сусамов тахан, растителни масла (ленено масло) и подсладители (фруктоза и стевия).

Чрез обстойно органолептично, физикохимично, биохимично и микробиологично определяне е установено, че новите синбиотични продукти, обработени по метода на сублимационното сушене съдържат богат набор биологично активни вещества - есенциални ω -3 и ω -6 мастни киселини, витамин С, антиоксиданти и други полезни за организма нутриенти - фибри, минерални вещества и др., които повишават в значителна степен хранителната и профилактично-лечебната им стойност.

Количественото съдържание и жизнеспособността на млечнокиселите бактерии са основните критерии, определящи биологичната активност и пробиотичните качества на опитните образци.

При замразяване и сублимационно сушене клетките се поддържат в състояние на анабиоза. Различните видове и щамове млечнокисели бактерии притежават различна чувствителност към сублимационното сушене.

Проведени са изследвания върху жизнеспособността на млечнокиселата микрофлора в синбиотичните продукти преди и след лиофилизация. В качеството на контрола са използвани прясно овче и краве мляко, заквасени с избраната стартерна култура. Определянето на броя жизнеспособни клетки е извършено по метода на пределните разреждания с последващи изчисления по таблицата на McCrady. Отчитането на преживяемостта на млечнокиселите бактерии след лиофилизация в проценти е изчислено по следната формула:

$\% \text{ преживели клетки} = (\text{брой преживели клетки} / \text{брой клетки } 0) \cdot 100$,
където:

x – момент на отчитане на преживяемостта;

0 – момент преди лиофилизация (брой жизнеспособни клетки преди лиофилизация).

Резултати и обсъждане

В таблици 1 и 2 са представени резултатите от проведените изследвания върху жизнеспособността на млечнокиселата микрофлора в нативните продукти и преживяемостта ѝ след лиофилизация.

Таблица 1. Жизнеспособност и преживяемост на млечнокиселата микрофлора в заквасено овче мляко и в синбиотична храна от овче мляко – нативни и лиофилизирани

Изследвани проби		Str.thermophilus		Прежи- ваемос т (%)	L.bulgaricus, L.acidophilus		Прежи- ваемост (%)
		Брой жизнеспособн и бактерии			Брой жизнеспособни бактерии		
		CFU/g	log		CFU/g	log	
Контрола - заквасено овче мляко	преди лиофилизация	1,5x10 ¹³	13,2	60,1	11,5x10 ¹⁰	11,1	48,6
	след лиофилизация	6,5x10 ⁷	7,8		2,5x10 ⁵	5,4	

Синбиотична храна	преди лиофилизация	15x10 ¹²	13,2	77,3	11,5x10 ¹⁰	11,1	72,1
	след лиофилизация	16x10 ⁹	10,2		9,5x10 ⁷	8,0	

Таблица 2. Жизнеспособност и преживяемост на млечнокиселата микрофлора в заквасено краве мляко и в синбиотична храна от краве мляко – нативни и лиофилизирани

Изследвани проби		Str.thermophilus		L.bulgaricus, L.acidophilus			
		Брой жизнеспособни бактерии		Прежи- ваемост (%)	Брой жизнеспособни бактерии		Прежи- ваемост (%)
Контрола- заквасено краве мляко	преди лиофилизация	1,5x10 ¹²	12,2	55,4	9,5x10 ⁹	10,0	46
	след лиофилизация	4,5x10 ⁶	6,7		4x10 ⁴	4,6	
Синбиотична храна	преди лиофилизация	15x10 ¹¹	12,2	73	9,5x10 ⁹	10,0	65
	след лиофилизация	7,5x10 ⁸	8,9		3,5x10 ⁶	6,5	

Резултатите от експериментите показват, че клетките на щамовете *L.bulgaricus* 1381 и *L.acidophilus* 1379 са с висока чувствителност към сублимационно сушене и в контролните проби (овче и краве мляко), без включен криопротектор, преживяемостта им е сравнително ниска - 48,6 %. Щам *Str.thermophilus* 1374 проявява по-висока устойчивост и преживяемостта на клетките му при замразяване и лиофилизация достига до 60,1%. Възможна причина за различната резистентност на микроорганизмите към сушенето, е различната чувствителност на клетъчната стена към напреженията, които възникват при замразяването и изсушаването, или различната способност на клетъчните ензими към денатурация. Установено е, че в синбиотичните храни и от двата вида мляко, преживяемостта на щамовете е по-висока спрямо контролите. В синбиотичната храна от овче мляко преживяемостта на *Str.thermophilus* е по-висока с 2,4 log единици, спрямо контролата и с 2,6 log единици при *L.bulgaricus* и *L.acidophilus*. Същата тенденция се запазва и при синбиотичната храна от краве мляко, като преживяемостта при стрептококите е по-висока с 2,2 log единици спрямо контролата, а за лактобактериите - *L.bulgaricus* и *L.acidophilus* - с 1,9 log единици. Данните показват, че преживяемостта на лактобактериите се повлиява в по-висока степен от включените допълнителни компоненти в синбиотичните храни спрямо стрептококите. Това се обяснява с използвания хидроколоид - хитозан в качеството на криозащитна среда, тъй като той освен че представлява биологично активен компонент се проявява и като ефективен криопротектор, като повишава стабилността на клетките и повлиява благоприятно преживяемостта им след лиофилизация. Освен това благоприятен физиологичен ефект върху жизнеспособността и резистентността на млечнокиселата микрофлора оказват и допълнително внесените естествени биогенни съставки на продуктите.

Анализът на получените резултати показва, че количеството активни клетки в овчето мляко ($1,5 \times 10^{13}$ CFU/g), непосредствено след коагулация, е по-високо в сравнение с кравето ($1,5 \times 10^{12}$ CFU/g). Тази тенденция се запазва и в синбиотичните храни. Различията в количественото съдържание на млечнокиселата микрофлора в зависимост от вида на млякото се дължат на по-високия буферен капацитет на овчето мляко, за което основно значение има белтъчното му съдържание. Вероятно различията в състава и количеството на белтъците и минералния състав оказва влияние върху развитието на активната микрофлора [3].

Микроскопската картина на контролните образци (овче и краве мляко) и синбиотичните храни в нативно и лиофилизирано състояние, показва добре оцветени стрептококови бактерии, във вид на диплококи и средно дълги верижки. Във всички проби се наблюдават *L.bulgaricus* и *L.acidophilus*, във вид на къси, плътни или леко издължени, добре оцветени пръчици, без видими различия с течните форми.

Изводи

Проведените микробиологични изследвания показват, че щамовете лактококи и лактобацили в синбиотичните продукти след лиофилизация имат по-висок процент преживяемост (77,3% и 73% за *Str.thermophilus* в синбиотичните храни от овче и краве мляко; 72,1% и 65% за лактобацилите в същите храни), в сравнение с контролите заквасени със същите щамове, след лиофилизация. Това показва, че новите лиофилизирани функционални храни са с по-висок титър на полезна микрофлора на щамовете *L.bulgaricus* 1381, *Str.thermophilus* 1374 и *L.acidophilus* 1379 в сравнение с лиофилизираните млека контроли. В синбиотичните храни са включени и много растителни добавки, богати на биологично-активни вещества, с което могат да се охарактеризират като 100% натурални, органични храни.

Литераура

1. Георгиева Л., Ц. Цветков. Научно-приложни аспекти на лиофилизацията и мястото ѝ в съвременната хранителна промишленост, Хранително-вкусова промишленост, 5, 2001, 3-4.
2. Кожев А., С. Кожев. Овче, козе и биволско мляко и продукти от тях, 2010, ИК Еньовче, София.
3. Методиева П. Изследване на основни технологични показатели при производство на българско кисело мляко от краве, козе и овче мляко, 2001, Дисертация, Стара Загора.
4. Петрова И., Л. Ангелов. Динамика в параметрите на овче мляко и млечни лиофилизати при пасища с различен ботаничен състав, 2007, УХТ, Пловдив, 55-59.
5. Цветкова В., Л. Ангелов. Характеристика на овче мляко и млечни продукти. Селскостопанска наука, 44(5), 2011, 12-18.
6. Nacheva I., L. Georgieva, Tsv. Tsvetkov. Possibilities for application of cellulose derivatives under cryoconservation of probiotics, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 13(2), 2007, 153–159.
7. Tsvetkova V. and L. Angelov. Influence of the season on the total lipids and fatty acid composition of the grasses at the different altitudes in the region of the Middle Rhodopes, BJAS, 16, 2011, 748-753.
8. Zvitov-Ya'ari R., A. Nussinovitch. Browning prevention in rehydrated freeze-dried non-blanchéd potato slices by electrical treatment, LWT - Food Science and Technology, 56(1), 2014, 194–199.

ВО4. ГЛАУКОМА

Надежда Стоянова, Стефани Димитрова

Медицински Университет София, Медицински факултет, София, България

E-mail: nadia_enjoylife@yahoo.com

Глаукомата е невродегенеративно заболяване, при което настъпват характерни промени в диска на зрителния нерв и в ретината. Те се изразяват в загуба на нервни клетки, водеща до атрофия и екскавация на зрителния нерв, които се съпътстват с прогресиращо ограничаване на периферното зрение и снижение на зрителните функции до слепота. Глаукомата е на второ място като причина за слепота след катарактата, но слепотата, причинена от катаракта, е оперативно лечима, поради което глаукомата остава на първо място като причина за невъзвратима слепота.

Различават се няколко вида глаукома. При първичната откритоъгълна глаукома не са изяснени причините. При първичната закритоъгълна глаукома основен фактор е главно къса предно-задна ос на очната ябълка, плитка предна камера, относително голяма или сферична леща и др. С напредване на възрастта настъпват изменения, водещи до блокиране на иридокорнеалния ъгъл и рязко покачване на вътреочното налягане. Вторичната глаукома бива няколко вида според причината, довела до повишаване на вътреочното налягане - травматична, възпалителна, неоваскуларна, от лещен произход, туморна, кортизонова. Вродена глаукома се дължи на непълноценно развитие на дренажната система на окото или е в резултат на дефекти в развитието му.

Диагнозата на глаукомата е трудна, тъй като повишеното вътреочно налягане предшества с месеци и години измененията в папилата и често протича безсимптомно. Основните методи на изследване и диагностициране на глаукомата са офталмоскопия, периметрия, гониоскопия и тонометрия.

Профилактиката на заболяването се постига чрез активното му търсене особено у родственици на болни с глаукома сред съответната възрастова група (35-40г.), чрез профилактични измервания на вътреочното налягане.

Лечението при глаукома е симптоматично и цели снижаване на вътреочното налягане до нормални стойности, а при вече увредена папила и до по-ниски. При откритоъгълната глаукома винаги се започва с медикаментозно лечение. Когато се изчерпят възможностите за медикаментозно повлияване, се предприема лазерна манипулация и едва след това, ако е необходимо, се прибегва до оперативно лечение. Медикаментозното лечение бива местно – капки, мехлеми и общо. Лазерна трабекулопластика – безкръвна процедура, чрез която се цели подобряване оттичането на вътрекамерната течност. Оперативно лечение – цели се създаване на нови пътища за оттичане на вътрекамерната течност.

Болните с откритоъгълна глаукома, лекувани хирургично, често се нуждаят от включване на медикаменти за поддържане на ниско налягане и се нуждаят от системно наблюдение от офталмолог до края на живота си. Лечението при остър глаукомен пристъп включва медикаменти. Лечението на глаукомата е по-успешно, ако се проведе още при първия пристъп. При нормализиране на налягането се пристъпва към оперативно лечение. Лечението на вродената глаукома е оперативно независимо от възрастта.

ВО5. ЖИВОТ С ДЕТСКА ЦЕРЕБРАЛНА ПАРАЛИЗА

Стефани Димитрова, Надежда Стоянова

Медицински Университет София, Медицински факултет, София, България

E-mail: nadia_enjoylife@yahoo.com, ssteffinka@abv.bg

С термина „Детска церебрална парализа” (ДЦП) се обособява комплекс от непрогресиращи двигателни промени- парези, неволеви движения, координационни нарушения и промени в мускулния тонус, които са резултат от мозъчни увреждания в пренаталния, интранаталния и постнаталния период с различна генеза. Чести придружаващи симптоми са епилептични припадъци и интелектуален дефицит. Честотата на ДЦП е 1,2-3 : 1000 деца.

Етиологията е различна- интранатално- вируси, медикаменти, други вещества, недоносеност на плода, протрахирано раждане. Най-честите постнатални причини са: менингити, енцефалити, тонично-клонични припадъци, остра дехидратация, черепно-мозъчни травми.

Анатомичните лезии могат да бъдат фокални, мутлифокални и дифузни като често са резултат от исхемични инциденти.

Успоредно с двигателния дефицит се наблюдават сетивни нарушения, зрителна и очедвигателна непълноценност, епилептични припадъци, говорни смущения, интелектуален дефицит.

Според водещите симптоми се класифицират следните форми: пирамидна, екстрапирамидна, церебеларна и смесена. От пирамидните форми най-разпространена е хемиплегичната форма (25-40%). Съществуват диплегична и двойнохемиплегична. Поставянето на диагнозата е трудно, защото няма метод, чрез който да се каже със сигурност, че се касае за детска церебрална парализа. Диагнозата се поставя на базата на различни видове информация: от майката, образни методи, електроенцефалография, електромиография.

Диференциална диагноза се прави, както между отделните дорми на ДЦП, така е с: обменни енцефалопатии, левкодистрофия, невромускулни заболявания, синдром на Prader-Willi, синдром на Rett, мозъчни неоплазми.

Лечението е физикално, медикаментозно и хирургично. Значение имат кинезитерапията и рехабилитацията, чрез които се изработват двигателни умения и се осъществява профилактика на контрактурите.

Прогнозата зависи от тежестта на двигателния и интелектуалния дефицит, наличието на епилептични припадъци, своевременната диагноза и ранната рехабилитация

ВО6. ХРАНИТЕЛНА АЛЕРГИЯ ИЛИ КАК ЖИВОТЪТ СТАВА ПО-ТРУДЕН

Стефани Димитрова, Надежда Стоянова

Медицински Университет София, Медицински факултет, София, България

E-mail: nadia_enjoylife@yahoo.com, ssteffinka@abv.bg

Хранителната алергия (ХА) е проблем с увеличаваща се честота особено в детска възраст. Тя е нежелана реакция към храна, която протича по имунен механизъм, IgE медиран, клетъчно медиран или и двете едновременно. Това е най-честата проява на алергия в детска и кърмаческа възраст. Може да се асоциира с алергичен ринит, атопичен дерматит, астма. В Европа ХА е водеща причина за анафилаксия във

възрастта 0-14 години. Хранителни алергени могат да бъдат открити в околоплодната течност, а през плацентата алергени могат да се принесат и към плода, което е най-ранната сенсibilизация.

Повече от 120 храни са описани като алергени, като за Европа най-често се срещат следните: краве мляко, яйца, фъстъци, други ядки, пшеница, соя, риба, морски дарове.

Най-честият механизъм, по който протича ХА, е IgE-медирана алергична реакция. Формират се специфични IgE и настъпва сенсibilизация. При следващ контакт на сенсibilизирани с определен алерген, антиген-представящите клетки фагоцитират хранителните протеини и ги представят на Т-хелперните клетки. Освобождават се проинфламаторни цитокини. Активират се В-клетки. При следващ контакт се активират мастоцитите, базофилите и еозинофилите. Освобождават се медиатори, което предизвиква симптоми като уртикария, ангиоедем, бронхоспазм, анафилаксия.

Клинично ХА протива с кожни симптоми- най-често остра уртикария непосредствено след приема на алергена, гастроинтестинални симптоми- гадене, повръщане, коремни болки; респираторни симптоми- кихане, ринорея, назална конгестия, конюнктивит, кашлица и др. Анафилаксията е най-тежката и животозастрашаваща изява. „Псевдоалергични” реакции – наподобяват ХА, но без участието на имунни механизми. Дължат се на дефицити на ензими, които участват в храносмилането.

За доказване на диагнозата се използва *in vivo* кожен тест (skin prick test)- може да се провежда във всяка възраст, *in vitro*: доказване на специфични IgE. Прилага се елиминационна диета, като оценката от нейния ефект се прави на 2-4 седмица. Извършва се орален провокационен тест, проведен като „двойно-сляп плацебо контролиран” тест.

Лечението при остро незастрашаваща живота реакция е с антихистамини от нова генерация. При животозастрашаваща реакция се водят мероприятия за борба с шока. Дългосрочната стратегия включва елиминационна диета, обучение на пациента, родители и всички, които се грижат за деца с ХА, специфична имунотерапия, преоценка на ХА с провокации през определен интервал от време за доказване на развиващ се толеранс.

BO7. DRIED BLOOD SPOTS AS AN ALTERNATIVE MATERIAL WITH BIOMEDICAL APPLICATION FOR DIAGNOSIS OF VIRAL INFECTIONS

Adelina Pavlova, Stefka Krumova, Petya Genova-Kalu, Svetla Angelova, Irina Georgieva, Elitsa Golkocheva-Markova

National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Virology, Sofia, Bulgaria

E-mail: adioproject@abv.bg

Abstract

The idea of using blood collected on a paper card made of cellulose is attributed to Ivar Christian Bang (1869 – 1918), considered the father of modern clinical microanalysis. In 1924, Chapman O. summarizes the advantages of the dried blood spots (DBS) technique, stressing four main positions that are valid today: (1) in comparison with the conventional venipuncture, it requires less blood volume, which is particularly important in areas such as

pediatrics and neonatology; (2) the procedure for collection of blood is easy, inexpensive and non-invasive; (3) the risk of bacterial contamination or hemolysis is minimal; and (4) DBS can be maintained for a long time with almost no impact on the quality of the analysis.

In 1969/70 Guthrie published his famous method for neonatal screening for phenylketonuria from DBS and monitoring of congenital hypothyroidism and sickle cell disorders in newborns. Blood stored on filter paper can be used for detection of markers of a disease, such as acyl CoA dehydrogenase, human choriongonadotropin in Down syndrome and glycated hemoglobin in insulin dependent diabetes, as well as for evaluation of drug levels. Other areas of application of DBS are toxicology and pharmacokinetics, metabolic exchange, therapeutic drug monitoring, forensic toxicology studies, and control of environmental pollution. Mainly due to the limitations of sensitivity and specificity in the screening of such small volumes of blood (equivalent to 5-10 U/mL) data of DBS application in microbiology and virology is scarce. Practice shows that DBS can be used for detecting syphilis, antibodies against measles, mumps, polio virus, parainfluenza virus and respiratory syncytial virus, and also for the identification of Shigella in dried feces on filter paper.

In the past few years, DBS analysis makes triumphant procession in clinical laboratory diagnostics and chemistry and in some countries it is formulated national standard for collection of blood on filter paper as newborn screening. The presence of clinical samples, which can easily be collected, stored, transported and archived is particularly important, especially in areas that do not have appropriate facilities for the processing of blood products.

Keywords: dried blood spots, viral agents, neonatology

Acknowledgements: This study was financially supported by the project № DM03/1, 12.12.16 "Dried blood spots (DBS) as an alternative archive material for evidence of viral agents (measles, mumps, rubella, hepatitis B virus) in Bulgarian population", National Science Fund, 2016, Bulgaria

ВО7. ИЗСУШЕНИТЕ КРЪВНИ ПЕТНА КАТО АЛТЕРНАТИВЕН МАТЕРИАЛ С БИОМЕДИЦИНСКО ПРИЛОЖЕНИЕ ЗА ДИАГНОСТИКА НА ВИРУСНИ ИНФЕКЦИИ

Аделина Павлова, Стефка Крумова, Петя Генова-Калу, Светла Ангелова, Ирина Георгиева, Елица Голкочева-Маркова

*Национален център по заразни и паразитни болести, Отдел Вирусология,
София, България*

E-mail: adiproject@abv.bg

Абстракт

Идеята за използване на кръв, взета върху хартиена карта, изработена от целулоза се приписва на Ivar Christian Bang (1869 – 1918), считан за основоположник на съвременния клиничен микроанализ. През 1924 г., Chapman O. обобщава предимствата на техниката на изсушените кръвни петна (ИКП), като подчертава четири основни позиции, които са валидни и днес: (1) в сравнение с конвенционалната венепункция, се изисква по-малко обем кръв, което е особено важно в области като педиатрия и неонатология; (2) процедурата за събиране на кръв е лесна, евтина и неинвазивна; (3) рискът от бактериално замърсяване или хемолiza е минимален; и (4) ИКП могат да се запазят дълго време с почти никакво отражение върху качествата на анализа.

През 1969/70 г. Guthrie публикува известната си методика за неонатален скрининг на фенилкетонурия от ИКП и за наблюдение на вроден хипотиреоидизъм и

сърповидно-клетъчни разстройства при новородени. Съхранена върху филтърна хартия кръв може да бъде използвана за откриване на маркери на заболяване, като ацил СоА дехидрогеназа, човешки хорионгонадотропин при синдром на Даун и гликиран хемоглобин в инсулин зависим диабет, както и за оценка на лекарствени нива. Други области на приложение на ИКП са токсикология и фармакокинетика, метаболитен обмен, терапевтичен мониторинг на наркотични вещества, съдебно-токсикологични изследвания, както и контрол на замърсяване на околната среда. В микробиологията и вирусологията данните за приложение на ИКП са оскъдни, главно поради ограниченията за чувствителност и специфичност при скрининг на такива малки обеми кръв (еквивалентно на 5-10 U/mL). Практиката показва, че ИКП могат да бъдат използвани за изследване на сифилис, за откриване на антитела срещу морбили, паротит, полиовирус, параинфлуенца вирус и респираторен синцитиален вирус, а също така и за идентифицирането на *Shigella* в изсушен фецес върху филтърна хартия.

През изминалите няколко години ИКП анализът прави триумфално шествие в клиничната лабораторна диагностика и химия и в някои страни е формулиран национален стандарт за събиране на кръв върху филтърна хартия като скрининг на новородени. Наличието на клинични проби, които лесно могат да се събират, съхраняват, транспортират и архивират е особено важно, най-вече в области, които не разполагат с подходяща инфраструктура за обработка на кръвни продукти.

Ключови думи: изсушени кръвни петна, вирусни агенти, неонатология

Благодарности: Настоящото изследване е проведено с финансовата подкрепа на проект № ДМ03/1, 12.12.16 *“Изсушените кръвни петна (ИКП) като алтернативен, архивен материал за доказване на вирусни агенти (морбили, паротит, рубеола, хепатит В вирус) в българската популация”*, ФНИ-2016, България.

Session C.

Chairpersons:

Assoc. Prof. Julia Radenkova-Saeva, MD, PhD

*Clinic of Toxicology, Department for Adult, Emergency University Hospital
“N.I.Pirogov”, Sofia, Bulgaria*

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Boyka Andonova-Lilova, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

CO1. BIOLOGICAL ACTIVITY OF COPPER AND ITS EFFECTS ON ALZHEIMER’S DISEASE

Yuksel Mekov, Ivan Kostov, Georgi Zahariev, Neri Hadzhieva

*Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria
Plovdiv University “Paisii Hilendarski”, Plovdiv, Bulgaria*

Email: yu.mekov@abv.bg

Alzheimer’s disease is a chronic neurodegenerative disease, which causes about 70% of the cases with dementia. It manifests with progressive memory loss and cognitive decline. The copper has multifaceted role in the biological systems. It’s incorporated into a number of metalloenzymes involved in hemoglobin formation, drug metabolism, carbohydrate metabolism, catecholamine biosynthesis and etc. Copper is also irreplaceable part of enzymes that function to reduce reactive oxygen species (ROS) like: cytochrome c oxydase, superoxide dismutase, monoamine oxydase.

Nowadays, the role of the copper in Alzheimer’s disease pathogenesis has many supporters. It’s because of the fact that many researches show increased levels of copper in the cerebrospinal fluid of patients with AD, while others show elevated free copper plasma levels in AD.

References:

1. Basun, H., L. G. Forssell, L. Wetterberg, and B. Winblad, “Metals and trace elements in plasma and cerebrospinal fluid in normal aging and Alzheimer's disease,” *Journal of Neural Transmission—Parkinson's Disease & Dementia Section*, 3(4), 1991, pp. 231–258.
2. Brewer, . G. J. “The risks of copper toxicity contributing to cognitive decline in the aging population and to Alzheimer's disease,” *Journal of the American College of Nutrition*, 28(3), 2009, pp. 238–242.
3. Puig, S., D. J. Thiele, “Molecular mechanisms of copper uptake and distribution,” *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(2), 2002, pp. 171–180.

СО2. БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ЖЕЛЯЗОТО. ЖЕЛЯЗОДЕФИЦИТНА АНЕМИЯ

Доника Йорданова, Мая Недялкова, Нурхан Юсеин
Тракийски университет, Стара Загора, България

Email: donika_d6@abv.bg

Желязото е химичен елемент от групата на металите, чиято повърхност е блестяща и сребристо сива, но изложена на въздух оксидира и се покрива с червен или кафяв железен оксид (ръжда).

Познат е като един от най-разпространените в земната кора елементи, и съществуването му, е известно на хората още от древни времена.

В организма желязото служи като ядро на молекулата на хемоглобина, който е кислород носещия компонент на червените кръвни клетки. Наричан, като кислород носеща молекула, той притежава способността да разпределя кислород към клетките в мускулите, и особено скелетните мускули, и тези на сърцето. Представлява съставна част на редица ензими и протеини и играе ключова роля в процесите на растеж в организма.

Железният дефицит е едно от най-честите хронични заболявания при човека, като по-често боледувашите са жени. Симптомите от недостига на желязо са редица: умора, бледа кожа и лигавици и др. Тежките форми от своя страна могат да доведат до задух и сърцебиене при физически усилия, а при по-лек дефицит, често човек дълго време не може да усети проблема.

Източници:

1. Heavy Metals in the Environment - Bibudhendra Sarkar
2. British Medical Bulletin, 55(3), 1999, 556–567.
3. Тежки метали в околната среда и хранителните продукти – Проф. д-р Ставри Стоянов.

СО3. БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ВИТАМИН Б12

Мая Недялкова, Доника Йорданова, Нурхан Юсеин
Тракийски университет, Стара Загора, България

E-mail: maia.nedialkovaa@abv.bg

Витамин В12 или наричан още метилкобаламин, е най-сложният сред витамините, но в последните години е доста добре проучен. Той е представител на водноразтворимите витамини от група В, който се произвежда в храносмилателната система на животните, но не и в растенията. Оттук идва и въпросът, нашумял напоследък сред вегани и вегетарианци- Помагаме или вредим всъщност на самите себе си?

Дневните нужди от този витамин са малки, но дори при лек недостиг може да се стигне до анемични състояния, хронична умора и депресии.

Други са проблемите с нарушеното усвояване на витаминa, което може да доведе до стомашно-чревни проблеми, и усвояването му при вече съществуващи заболявания, като диабет, язви или след различни хирургични интервенции.

Източници:

1. <https://www.healthline.com/health/diabetes/b12-what-you-need-to-know>
2. Основи на медицинската биохимия - Доц. Борис Попов
3. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673602074391>

CO4. VITAMIN B12: STRUCTURE, BIOLOGICAL ACTIVITY, SOURCES AND MEDICAL USE

Stefan Stanev, Selen Hamdi, Pamela Boikova, Sevgin Efeliov

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

Email: stef4o03@abv.bg

Vitamin B₁₂, is a water-soluble vitamin that has a key role in the normal functioning of the brain and nervous system via the synthesis of myelin and the formation of red blood cells. It contains the biochemically rare element cobalt (chemical symbol Co) positioned in the center of a planar tetra-pyrrole ring called a corrin ring. The vitamin is produced by bacteria as hydroxocobalamin, but conversion between different forms of the vitamin occurs in the body after consumption. Another important feature of vitamin B12 is its involvement in the metabolism of nucleic acids.

Animals store vitamin B12 in liver and muscle and some pass the vitamin into their eggs and milk; meat, liver, eggs and milk are therefore sources of the vitamin for other animals, including people. For humans, the bioavailability from eggs is less than 9%, compared to 40% to 60% from fish, fowl and meat. Insects are a source of B12 for animals. Vitamin B12 is produced in nature only by some prokaryotes, it is not made by any multicellular or single-celled eukaryotes. It is synthesized by some gut bacteria in humans and other animals, but humans cannot absorb the B₁₂ made in their guts, as it is made in the colon which is too far from the small intestine, where absorption of B₁₂ occurs. Ruminants, such as cows and sheep, absorb B12 produced by bacteria in their guts.

Vitamin B12 is used to treat vitamin B12 deficiency, cyanide poisoning, and hereditary deficiency of transcobalamin II. It is given as part of the Schilling test for detecting pernicious anemia. For cyanide poisoning, a large amount of hydroxocobalamin may be given intravenously and sometimes in combination with sodium thiosulfate.

References:

1. Miller, A., Korem, M., Almog, R., Galboiz, Y. Vitamin B₁₂, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis. Journal of the Neurological Sciences, 2005.
2. "Vitamin B₁₂". Micronutrient Information Center, Linus Pauling Institute, Oregon State University. 2014.
3. Scott, J. M., Molloy, A. M. The Discovery of Vitamin B₁₂. Annals of Nutrition and Metabolism, 2012.

4. "Dietary Supplement Fact Sheet: Vitamin B₁₂". Office of Dietary Supplements, National Institutes of Health.
5. Institute of Medicine . Vitamin B₁₂, 1998.

CO5. ENVIRONMENTAL IMPACT OF HEAVY METALS AND WAYS TO MINIMISE THE ADVERSE EFFECTS OF THESE POLLUTANTS

Selen Hamdi, Pamela Boikova, Stefan Stanev, Sevgin Efeliyov

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

E-Mail: selen96@abv.bg

We can find heavy metals all around us, in the air, in the water and in the soil. Many of these heavy metals have been proven to have adverse effects on the health and well being of organisms. In fact a study published in the "*Journal of Aquaculture Research & Development*" titled "*Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution*" [1] looks at the toxic effects of heavy metals on fish.

This is a very good way in which to study the adverse effects of heavy metals as they are said to be the most important pollutants in an aquatic ecosystem, thus their adverse effects can be studied more extensively.

Heavy metals such as mercury cause neurological impairments and arsenic is said to interfere with the immune system of a fish. These findings are in much broader but nevertheless important ways helpful to understand the impact of heavy metals on the world. Furthermore by better understanding the ways in which heavy metals impact the environment we can devise ways by which we can control the adverse effects of these pollutants and strive for a better tomorrow.

References:

1. Authman, M.M.N., Zaki M.S., Khallaf E.A., Abbas H.H. Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution.
2. Järup, L. Hazards of heavy metal contamination.
3. Ning, L., Y. Liyuan, D. Jirui, P. Xugui. Heavy Metal Pollution in Surface Water of Linglong Gold Mining Area, China.
4. Wuana, R.A., Felix E. Okieimen Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation.

CO6. CHLORELLA

Rejep Birkov, Victoria Kaludova, Natali Kasheva

Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: birkov20@abv.bg

Chlorella is a food supplement which is completely organic. It is a blue-green sweet water seaweed, about 10 microns large and is only harvested in Japan and Taiwan. According to recent studies chlorella can boost your immune system and that is because of the many macronutrients it has- high amounts of protein, vitamins B₂, B₃, B₁, B₆, iron, phosphor, zinc, magnesium, chlorophyll. It has the ability to detox the organism of heavy metals, protects from radiation and UV rays, it can also lower blood pressure, blood sugar and cholesterol.

Over all it has many benefits in the human organism ,but because it has a cell wall it can't dissolve in our digestive system. That is why in order to sell it companies are removing the cell wall and distributing it on the market.

References :

1. <https://draxe.com/7-proven-chlorella-benefits-side-effects/>
2. <https://www.webmd.com/vitamins-supplements/ingredientmono-907-chlorella.aspx?activeingredientid=907&activeingredientname=chlorella>
3. <https://examine.com/supplements/chlorella>

CO7. GINKGO BILOBA

Natali Kasheva, Victoria Kaludova, Rejep Birkov

Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: nathalie1@abv.bg

Ginkgo biloba is the most ancient, still preserved and existing healing wood species. The essences extracted from its leaves have many benefits to the human organism. Taken as a tee, capsules or tablets, these extracts affect mainly two processes. First of all, improving the brain blood supply and the rest of the tissues and secondly, boosting the cellular metabolism. Because of this, the extracts of Ginkgo biloba are used for different types of diseases with diverse etiology. They are particularly preferred for improving memory and concentration. In addition, these extracts are recommended for vascular diseases, atherosclerosis, glaucoma, vitiligo. The leaves of the plant contain high levels of flavonoids and terpenoids, antioxidants that are used as a protection against oxidative cell damage by harmful free radicals. Therefore, it is thought that Ginkgo biloba helps reducing the risk of developing cancer.

References:

1. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/263105.php>
2. <https://examine.com/supplements/ginkgo-biloba/>
3. <https://www.webmd.com/vitamins-supplements/ingredientmono-333-ginkgo.aspx?activeingredientid=33>
4. Чудото на Гинко билоба /Ginkgo biloba/

CO8. BENEFITS OF GREEN COFFEE BEANS EXTRACT IN HEALTH AND OBESITY

Pamela Boikova, Selen Hamdi, Stefan Stanev, Sevgin Efeliov

Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

Email: pamela.boikova@abv.bg

The human obesity is one of the biggest problems in the world. This is a condition where a person has accumulated so much body fat that it might have a negative effect on their health. Coffee is one of the most consumed beverages in the world, due to its unique aroma and stimulant properties. The green coffee contains Chlorogenic acids (CGA). CGA are cinnamic acid derivatives with biological effects mostly related to their antioxidant and

antiinflammatory activities. This study shows that the major CGA compounds present in green coffee are highly absorbed and metabolized in humans.

The underlying motivations are mainly concentration and memory enhancement and physical performance improvement. The green coffee extract has the ability to accelerate and increase the release of excess fluid from the body. In the recent years it has been widely used as food supplement for people who want to reduce their weight. The green coffee extract also lowers "bad" (LDL) cholesterol, regulates liver and pancreas work in human body. Green coffee bean extract improves obesity.

References:

1. Allan G., W. Bradbury, Don J. Halliday. Chemical structures of green coffee bean polysaccharides . J. Agric. Food Chem., 1990.
2. Yakugaku Zasshi.Oka K Pharmacological bases of coffee nutrients for diabetes prevention .
3. van Dijk A.E., Olthof M.R., Meeuse J.C., Seebus E., Heine R.J., van Dam R.M.Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance.
4. Igho Onakpoya, Rohini Terry, Edzard Ernst. The Use of Green Coffee Extract as a Weight Loss Supplement: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Clinical Trials.

CO9. HEALTH EFFECTS OF LYCOPENE

Nefize Ilyaz¹,Ralitsa Rumenova², Georgi Madzharov²

¹University "Prof. Dr. ParaskevStoyanov", 55 Marin Drinov str.,
9002 Varna, Bulgaria

²Trakia University,, 11 Armeyska str., 6000 Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: nefize.ilyaz@abv.bg

INTRODUCTION

Lycopene, is a bright red carotene and carotenoid pigment and phytochemical found in tomatoes and other red fruits and vegetables, such as red carrots, watermelons, gac, and papayas. It is obtained only through diet. Although lycopene is chemically a carotene, it has no vitamin A activity.Unlike many other natural compounds, lycopene is generally stable to processing when present in the plant tissue matrix(moreover its bioavailability improves). Also, it is insoluble in water. Structurally, lycopene is a tetraterpene and assembled from eight isoprene units that are composed entirely of carbon and hydrogen. Lycopene's eleven conjugated double bonds give its deep red color and its antioxidant activity in vitro. Owing to the strong color, lycopene is a useful food coloring (registered as E160d) and is approved for usage in the USA, Australia and New Zealand (registered as 160d) and the EU.

The aim of the present study was to summarizedata from epidemiological, as well as cell culture and animal, studies suggest that lycopene and the consumption of lycopene containing foods may affect cancer or cardiovascular disease risk.

METHODS

A literature review of the relevant studies published in PubMed and Scopus was made and the results were summarized.

RESULTS

As literature shows, lycopene is the most powerful antioxidant among carotenoids (about 100 times more powerful than vitamin E). Its antioxidant capabilities can protect your body from the damage induced by oxidative stress. It is discovered that lycopene protects brain cells by inhibiting apoptosis. Besides the antioxidant effect it reduces the risk of breast and prostate cancer and also cardiovascular diseases. Positive effects are also hypothesized in cases of other diseases such as cataracts, osteoporosis and neuropathy.

CONCLUSION

Lycopene is likely safe when taken by mouth in appropriate amounts. Daily supplements containing up to 120 mg of lycopene have been used safely for up to one year. No undesirable effects on the dose of lycopene or lycopene toxicity have been reported. Therefore, several arguments support the consumption of natural lycopene, as long as there are no contraindications according to the present knowledge.

Key words: lycopene, antioxidant, cancer, cardiovascular disease

Reference:

1. Gitenay, D., Lyan B., Rambeau M., Mazur A., Rock E. " Comparison of lycopene and tomato effects on biomarkers of oxidative stress in vitamin E deficient rats." Eur. J. Nutr., 46(8), 2007, 468-75.
2. Hadley, C.W., S.K. Clinton, S.J. Schwartz. "The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage," Journal of Nutrition, 133(3), 2003, pp. 727–732.
3. Giovannucci, E. Commentary: serum lycopene and prostate cancer progression: a re-consideration of findings from the prostate cancer prevention trial. Cancer Causes and Control, 22(7), 2011, pp. 1055–1059.
4. Forbes, K., D. Ilic, C. Hased. Lycopene for the prevention of prostate cancer. Cochrane Database of Systematic Reviews, 4, Article ID CD008007, 2009.
5. Bansal P., Gupta S.K., Ojha S.K., Nandave M., Mittal R., Kumari S., Arya D.S. Cardioprotective effect of lycopene in the experimental model of myocardial ischemia-reperfusion injury. Mol. Cell Biochem., 289(1-2), 2006, 1-9.
6. S. Schwarz, U. C. Obermüller-Jevic, E. Hellmis, W. Koch, G. Jacobi, and H. K. Biesalski, "Lycopene inhibits disease progression in patients with benign prostate hyperplasia," Journal of Nutrition, 138(1), 2008, pp. 49–53.
7. Atessahin A., Ceribasi A.O., Yilmaz S. Lycopene, a carotenoid, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rats. Basic Clin.Pharmacol.Toxicol., 100(6), 2007, 372-6.

CO10. ASPARTAME`S INFLUENCE IN THE HUMAN BODY

Ralitsa Rumenova², Georgi Madzharov², Nefize Ilyaz¹

¹Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov",
55 Marin Drinov str., 9002 Varna, Bulgaria

²Trakia University, 6000 Stara Zagora, Bulgaria
E-mail: ralitsarumenova.p@gmail.com

INTRODUCTION

Aspartame is one of the most popular artificial sweeteners available on the market. In fact, chances are good that you or someone you know has consumed an aspartame-containing diet soda within the past 24 hours. According to the American Cancer Society, aspartame is

approximately 200 times sweeter than sugar. So only a very small amount is needed to give food and beverages a sweet flavor. The acceptable daily intake recommendations from the FDA and EFSA are 50 milligrams per kilogram of body weight.

Aspartame is made by joining together the amino acids aspartic acid and phenylalanine.

METHODS

A literature review of the relevant studies published in PubMed and Scopus was made and the results were summarized.

RESULTS

In the body, aspartame is broken down into phenylalanine, aspartic acid, and methanol. Methanol can be toxic in high amounts, but the amounts that result from the breakdown of aspartame is lower than with many “natural” foods. For example, drinking a liter of diet soda would lead to consumption of 55 milligrams (mg) of methanol, as compared to as much as 680 mg of methanol from a liter of fruit juice.

CONCLUSION

Researchers use 2 main types of studies to try to determine if a substance or exposure causes cancer. (A substance that causes cancer or helps cancer grow is called a *carcinogen*.) In studies done in the lab, animals are exposed to a substance (often in very large doses) to see if it causes tumors or other health problems. It's not always clear if the results from these types of studies will apply to humans, but lab studies are the best way to find out if a substance has the potential to cause cancer in humans before widespread exposure occurs. Another type of study looks at cancer rates in different groups of people. Such a study might compare the cancer rate in a group exposed to a substance versus the rate in a group not exposed to it, or compare it to what the expected cancer rate would be in the general population. But studies in people can sometimes be hard to interpret, because there may be other factors affecting the results that are hard to account for.

Key words: Aspartame, cancer, results.

CO11. N-ACETYL TRYPTOPHAN GLUCOPYRANOSIDE (NATG) PROVIDES REDOX MODULATORY EFFECTS OF NO LEVELS AT ANTIBIOTIC-INDUCED PULMONARY FIBROSIS

Yanka Karamalakova¹, Galina Nikolova¹, Ana Piperova^{1*}, Poonam Malhotra², Raj Kumar², Veselina Gadjeva¹, Ana Tolekova³

¹*Department of Chemistry and Biochemistry, Trakia University,
6000 Stara Zagora, Bulgaria;*

²*Radiation Biotechnology Group, Division of Radioprotective Drug Development & Research, Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences, Delhi-110054, India*

³*Department Physiology, Pathophysiology and Pharmacology, Medical Faculty,
Trakia University, 6000 Stara Zagora, Bulgaria*

The progression of pulmonary fibrosis (PF/ lungs disease) leads to complex of interactions between different molecules and cells, characterized with oxidative changes, extracellular matrix deposition and pulmonary remodeling [1]. The use of cytotoxic antibiotics that induce dysfunctional changes in alveolar epithelial cells leads to increased formation of $\bullet\text{O}^-_2$, H_2O_2 , $\bullet\text{OH}$, including $\text{NO}\bullet$ radical [2]. Present study was focused on

determination of redox modulation (protective) efficacy of a secondary metabolite *N*-acetyl-l-tryptophan glucoside (NATG) isolated from radioresistant bacterium *Bacillus* sp. INM-1 against Bleomycin-induced damages in murine model. Radical-scavenging activity of NATG *in vitro* was assessed using SOD-like activity, RP, ABTS, OH, $\bullet\text{O}_2^-$, DPPH analysis. Redox modulatory effect of NATG *in vivo* was investigated in 24 animals (34g $\pm$ 3g; male, young, specific pathogen-free ICR mice) with registered PF. The animals treated intraperitoneally were divided into four groups: 1: control- standard diet; 2: Bleomycin alone (0.8 μ g/ml/ mouse in 50 μ l saline), 3: NATG (40 mg/ml) and 4: NATG (40 mg/ml)+ Bleomycin (0.8 μ g/ml). To assess scavenging potential of NATG, freshly-isolated blood plasma (0.4 cm³/ cold EDTA-containers) was collected from the aorta abdominalis puncture and investigated for MDA, SOD, CAT methods and by hematological analyzes. Bleomycin-induced intracellular NO $\bullet$ generation and its inhibition by NATG (40 mg/ml) treatment was evaluated by Carboxy-Ptio.K probe using EPR spectroscopy. Results of the study displayed 40mg/ml as effective dose (ED) of NATG. A significant ($p < 0.05$) decrease in MDA and significant ($p < 0.05$) increase in SOD and CAT was observed in NATG treated group/ serum as compared to Bleomycin alone. EPR analysis demonstrated significant ($p < 0.05$) reduction in NO $\bullet$ radical levels in plasma in NATG and NATG + Bleomycin treated groups as compared to Bleomycin alone treated group. Conclusively, present investigation suggests that NATG alone and in combination provide NO-redox modulatory effects in blood and further studies could evaluate detailed mechanisms of antioxidant protection in progression of PF.

CO12. PULSE WAVE VELOCITY: CAROTID-FEMORAL WAVE VELOCITY. THE GOLD STANDARD.

Елена Йофче, Елена Илиевска.

Медицински Факултет, Тракийски Университет, Стара Загора, България

E-mail: jofceelena14@gmail.com

PWV (Pulse wave velocity), the speed of propagation of arterial pressure waves through the arterial tree, is related to arterial stiffness and is a considerable prognostic marker for cardiovascular diseases. Aortic pulse wave velocity is a significant and independent predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease and in subject with essential hypertension[5]. With advancing age, wave reflections and arterial stiffness increase and elevate pulse and systolic pressures[2]. In clinical practice PWV is usually determined by arterial tonometry, with a non-invasive pressure sensor applied progressively over carotid and femoral arteries. The electrocardiogram is practiced as a timing reference to conclude the "transit time" between the upstroke of carotid and femoral pulse waveforms. Commercially available vascular ultrasound scanners assure a pulsed wave Doppler velocity signal, which should allow resoluteness of carotid-femoral transit time and hence PWV[3]. Carotid-femoral pulse wave velocity is determined from the time taken for the arterial pulse to distribute from the carotid to the femoral artery. Distribution time is measured variously from the foot of the waveform or point of maximum upslope. SphygmoCor, Complior are computer-based systems developed for the measurement of arterial rigidity[4]. The relative risk for cardiovascular incidents increases constantly as the rate of pulse wave propagation increases. The increase of carotid-femoral pulse wave velocity by 1 m / s corresponds to a 14% increase in the risk of cardiovascular events and 15% in cardiovascular and total mortality[1]. By directly reflecting arterial stiffness, having the best predictive value for cardiovascular exit and the

ease of its measurement, carotid-femoral pulse wave velocity is nowadays determined the gold standard for arterial stiffness assessment in daily practice[6].

References:

1. Costanzo, P., Perrone-Filardi P., Vassallo E., et al. Does Carotid Intima-Media Thickness Regression Predict Reduction of Cardiovascular Events? A Meta-Analysis of 41 Randomized Trials. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 56, 2010, 2006-2020.
2. Mitchell, G.F., H. Parise, E.J. Benjamin, M.G. Larson, M.J. Keyes, J.A. Vita, R. S. Vasan, D. Levy. Changes in Arterial Stiffness and Wave Reflection With Advancing Age in Healthy Men and Women. *The Framingham Heart Study*. 43, 2004, 1239-1245.
3. Jiang, B., Liu B., McNeill K.L., Chowienczyk P.J. Measurement of pulse wave velocity using pulse wave Doppler ultrasound: comparison with arterial tonometry. *Ultrasound Med. Biol.*, 34(3), 2008, 509-12.
4. Millasseau, S.C., A.D. Stewart, S.J. Patel, S.R. Redwood, P.J. Chowienczyk. Evaluation of Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity. Influence of Timing Algorithm and Heart Rate. *Hypertension*, 45, 2005, 222-226
5. Meaume, S., A. Benetos, O.F. Henry, A. Rudnichi, M.E. Safar. Aortic Pulse Wave Velocity Predicts Cardiovascular Mortality in Subjects >70 Years of Age, 21, 2001, 2046-2050.
6. Van Bortel, Luc M. Laurent, Stephane, Boutouyrie, Pierre, Chowienczyk, Phil, Cruickshank, J.K., De Backer. The European Society of Hypertension Working Group on Vascular Structure and Function and the European Network for Noninvasive Investigation of Large Arteries. *Journal of Hypertension*, 30(3), 2012, p 445-448.

CO13. ACUTE POISONING WITH CALCIUM ANTAGONIST VERAPAMIL – A CASE REPORT

Stoyanova R., J. Radenkova - Saeva

*Clinic of Toxicology, University Hospital for Emergency Medicine „N.I.Pirogov”,
21 Tottleben Blvd., 1606 Sofia, Bulgaria,*

E-mail: jrsaeva2@yahoo.co.uk

Abstract: The medicine Verapamil is a calcium antagonist. Verapamil reduces systemic vascular resistance, which determines its antihypertensive effect. Two hours after oral administration, the medicine reaches maximum plasma concentrations. It is a widespread drug and therefore often becomes a means of self-poisoning.

We present a case of an 87-year-old patient, who has taken a high dose of verapamil with suicidal intentions. She was admitted to the hospital in extremely severe general condition - coma, exotoxic shock, pulse rate 28/min. and non-measurable blood pressure values. Resuscitation, decontamination, detoxification, symptomatic treatment, as well as norepinephrine administration was performed. The patient recovered within 4 days without residual changes.

Key words: calcium antagonist, poisoning, exotoxic shock.

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ОСТРА МЕДИКАМЕНТОЗНА ИНТОКСИКАЦИЯ С КАЛЦИЕВ АНТАГОНИСТ - ВЕРАПАМИЛ

Стоянова Р., Ю. Раденкова – Саева

Клиника по токсикология, УМБАЛСМ „Н.И.Пирогов”
Бул. “Тотлебен” 21, 1606, София, България,

E-mail: jrsaeva2@yahoo.co.uk

Резюме: Медикаментът Верапамил е калциев антагонист. Антихипертензивният му ефект се дължи на намаляване на системното васкуларно съпротивление. Един два часа след перорално приложение достига максимални плазмени концентрации. Добре познат медикамент, той често става средство за самоотравяне.

Представяме случай на 87 годишна пациентка, която със суицидни намерения е приела висока доза верапамил. В болницата постъпва в крайно тежко общо състояние – кома, екзотоксичен шок, с пулсова честота 28/мин. и неизмерващи се стойности на артериалното налягане. Провеждането на реанимационно, депурационно, детоксично, симптоматично лечение, както и норепинефрин довеждат до отзвучаване на остро отравяне в рамките на 4 дни, без резидуални промени.

Ключови думи: калциев антагонист, отравяне, шок.

Калциевите антагонисти /КА/ представляват група медикаменти, които блокират навлизането на калциевите йони в мускулните клетки на кръвоносните съдове (артерии) и в клетките на сърдечния мускул, благодарение на което кръвоносните съдове се разширяват и това облекчава изтласкването на кръвта от сърцето. Калциевите антагонисти имат антихипертензивен и антистенокарден ефект [1].

Според съвременната класификация, калциевите антагонисти се систематизират в следните групи:

1. Бензодиазепини: *Diltiazem*;
2. Дихидропиридины: *Nifedipine, Nikardipine, Nimodipine, Amlodipine, Felodipine и др.*;
3. Фенилалкиламини: *Verapamil, Tiapamil, Gallopamil*;
4. Дифенилпиперазини: *Cinarizine, Flunarizine*;
5. Други: *Bepridil, Mebifradil, Ziconotide* [1].

Често прилагани, Калциевите антагонисти стават средство и за остри отравяния [6, 8, 12]. Постъпват в организма през храносмилателната система, метаболизират се в черния дроб и се елиминират през бъбреците. Основното токсично действие се свързва с възпрепятстване постъпването на калциеви йони по “бавните канали” тип L, които влизат в структурата на сърцето, гладките мускули на артериите и в по-малки количества в гладката мускулатура на бронхи, черва, матка. Калциевите антагонисти имат висока липофилност, свързват се с плазмените белтъци до 75 -90 %. В процеса на метаболизирането, си някои от тях образуват токсични метаболити, други /от групата на дихидропиридины/ се резорбират много бавно през стомашно-чревния тракт и могат да образуват токсични конгломерати с белтъците на стомашната лигавица [2, 4, 5, 6,].

Верапамилът е добре познат медикамент, той често става средство за самоотравяне. Антихипертензивният му ефект се дължи на намаляване на системното васкуларно

съпротивление. Един два часа след перорално приложение достига максимални плазмени концентрации [1].

Представяме **клиничен случай** на самоотравяне с верапамил при 87 годишна пациентка, която със суицидни намерения, на фона на алкохолен прием е погълнала неуточно количество Верапамил таблетки от 120 мг., назначени от лекар за лечение на артериална хипертония. Около 4 - 5 часа след инцидента, близките и я намират в безсъзнателно състояние. Извикали екип на Бърза помощ. Докарана в Противошокова зала на УМБАЛСМ „Н.И.Пирогов“.

Постъпва в крайно тежко общо състояние. В безсъзнание – кома. Бледа кожа, ефективно дишане с дихателна честота 10 вд./мин. Артериално налягане – не се измерва – 0/0. Мек, филиформен пулс, със сърдечна честота 28-30 уд./ мин. Корем – мек, допуска дълбока палпация, крайници - без отоци. Веднага се започва лечение с инфузии на Физиологичен разтвор и разтвор на Ringer. Поради хемодинамично значима брадикардия и хипотония са приложени Атропин и Адреналин, при непрекъснат моторинг на жизнените показатели. Гастроинтестинална дезактивация се започва със стомашна промивка с воден разтвор на медицински въглен. При задържаща се брадикардия – 42 уд./мин, към терапията се включват още 2 ампули Атропин сулфат.

Основна грижа при отравяне с блокери на калциевите канали е осигуряване на ефективно дишане и съсредоточаване върху запазването на адекватна циркулация. Корекцията на киселинно алкалните нарушения и електролитните аномалии, също е важна за оптимизиране на сърдечната функция [7,14]. Инфузирани са 40 мл. Sodium bicarbonate 8.4%. Разширен е обема на инфузии, но артериалното налягане не се повишава до желаните стойности. Персистира хипотензията, което налага прилагане на вазопресор – 1 ампула Допамин на перфузор. Вазопресорите са необходими за адекватна реанимация, трябва да се започне ранното им прилагане при хипотонични пациенти с отравяне с блокер на калциевите канали. Те стимулират контрактилитета на миокарда и предизвикват вазоконстрикция, като по този начин поддържат кръвното налягане и сърдечния дебит [3].

При пациентката с хипотензия и брадикардия първоначално е приложен допамин в умерени до високи дози, за да се поддържа сърдечната честота. При неповлияване от максимална доза допамин, много автори препоръчват да се добави норепинефрин. Различни комбинации от допамин, норепинефрин, епинефрин, фенилефрин, вазопресин са били използвани при хипотония и шок [9,10,11,13]. При обследвания случай това не се е наложило.

След близо 5-часова агресивна сърдечно-съдова подкрепа и оксигенотерапия в Противошокова зала на Болницата, със стойности на артериалното налягане 90/40 и пулс 68 уд./мин., пациентката е настанена в Клиника за интензивно лечение /КИЛ/. В КИЛ продължава мониторирането на жизнените показатели, оксигенацията и инфузирането на водносолеви и глюкозни разтвори, вазопресорната поддръжка със умерени дози допамин, гастроинтестиналната деконтаминация с промивка на червата /очистителни клизми/, протекцията на стомашната лигавица и прилагане на нискомолекулярен хепарин за предотвратяване на усложненията от забавената сърдечна циркулация.

След 48-часово лечение в интензивното отделение пациентката е настанена в Клиниката по токсикология – Отделение-възрастни за продължаване на лечението и проследяване на жизнените показатели. Продължава се инфузионната терапия и катехоламиновата поддръжка със средни дози допамин до достигане на нормални стойности на фреквенцията и артериалното налягане. След физикална рехабилитация и психиатрична оценка, след четири дневно лечение, болната е дехоспитализирана без резидуални промени.

Литература

1. Терзииванов Д., И. Атанасова, Клинична фармакология, 2013.
2. Ramoska, E.A., Spiller H.A., Winter M., Borys D. A one-year evaluation of calcium channel blocker overdoses: toxicity and treatment. *Ann. Emerg. Med.*, 22(2), 1993, 196-200.
3. Koury, S.I., Stone C.K., Thomas S.H. Amrinone as an antidote in experimental verapamil overdose. *Acad. Emerg. Med.*, 3(8), 1996, 762-7.
4. Arroyo, A.M., Kao L.W. Calcium channel blocker toxicity. *Pediatr. Emerg. Care.*, 25(8), 2009, 532-8; quiz 539-40.
5. Ramoska, E.A., Spiller H.A., Myers A. Calcium channel blocker toxicity. *Ann. Emerg. Med.*, 19(6), 1990, 649-53.
6. Derlet, R.W., Horowitz B.Z. Cardiotoxic drugs. *Emerg. Med. Clin. North. Am.*, 13(4), 1995, 771-91.
7. Kerns, W. Management of beta-adrenergic blocker and calcium channel antagonist toxicity. *Emerg. Med. Clin. North. Am.*, 25(2), 2007, 309-31.
8. Ashraf, M., Chaudhary K., Nelson J., Thompson W. Massive overdose of sustained-release verapamil: a case report and review of literature. *Am. J Med Sci.*, 310(6), 1995, 258-63.
9. Wood, D.M., Wright K.D., Jones A.L., Dargan P.I. Metaraminol (Aramine) in the management of a significant amlodipine overdose. *Hum. Exp. Toxicol.*, 24(7), 2005, 377-81.
10. Smilkstein, M.J. Perfusion salad: making sense of verapamil overdose. *Acad. Emerg. Med.*, 3(2), 1996, 99-100.
11. Kanagarajan, K., Marraffa J.M., Bouchard N.C., Krishnan P., Hoffman R.S., Stork C.M. The use of vasopressin in the setting of recalcitrant hypotension due to calcium channel blocker overdose. *Clin. Toxicol. (Phila.)*, 45(1), 2007, 56-9.
12. Thompson, W., Ashraf M., Chaudhary K., Nelson J. Massive overdose of sustained-release verapamil: a case report and review of literature. *Am. J. Med. Sci.*, 310(6), 1995, 258-63.
13. Sztajnkrzyer, M.D., Bond G.R., Johnson S.B., Weaver A.L. Use of vasopressin in a canine model of severe verapamil poisoning: a preliminary descriptive study. *Acad. Emerg. Med.*, 11(12), 2004, 1253-61.
14. Hofer, C.A., Smith J.K., Tenholder M.F. Verapamil intoxication: a literature review of overdoses and discussion of therapeutic options. *Am. J. Med.*, 95(4), 1993, 431-8.

CO14. FRUCTOSE AND POTENCIAL MECHANISMS FOR INSULIN RESISTANCE

Елена Йофче и Елена Илиевска

Тракийски Университет, Стара Загора, България

E-mail: ilievskaelena18@yahoo.com

Abstract:

The consumption of soft drinks and confectionery sweetened with fructose has increased a lot during past several years and it's partly responsible for the increase of visceral adiposity, dyslipidemia and insulin resistance-pathological characteristics of metabolic syndrome. High-fructose feeding leads to hypertriglyceridemia, which increase

visceral adipose deposition. Higher portal delivery of free fatty acids from visceral adiposity to the liver, contribute to hepatic triglyceride accumulation and insulin resistance[1]. Factors like glycerol, hormones, and pro-inflammatory cytokines, which are involved in the development of insulin resistance are also being released by adipose tissue[3]. VLDL production is upregulated and that increase lipid delivery to muscle[1]. On the other hand fructose can initiate hepatic insulin resistance in a way that is not connected with the visceral adiposity. Fructose does not stimulate insulin secretion from pancreatic B cells, that suggest that dietary fructose may lead to energy intake and weight gain[2]. When insulin resistance is accompanied by dysfunction of pancreatic islet β -cells there is failure to control blood glucose levels results. Abnormalities in β -cell function are therefore critical in defining the risk and development of type 2 diabetes[3]. In conclusion visceral adiposity and impairment of B β -cell function contribute to the development of insulin resistance.

Keywords: fructose, insulin, visceral adiposity, dyslipidemia

References:

1. Stanhope, K.L., P.J. Havel. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr. Opin. Lipidol.*, 19(1), 2008, 16-24. doi: 10.1097/MOL.0b013e3282f2b24a.
2. Elliott, S.S., N.L. Keim, J.S. Stern, K. Teff, P.J. Havel. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76(5), 2002, 911-922.
3. S. E. Rebecca L. Hull & Kristina M. Utzschneider Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 2006, 14840-6.

CO15. INOSITOL AND ITS EFFECTS ON INSULIN RESISTANCE AND POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Viktoriya Trendafilova, Angel Todev, Aleksander Petrov

Trakia University, Medical Faculty, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: victoria.tr95@gmail.com

Inositol is a chemical compound - a derivative of cyclohexane that was once considered a member of the Vitamin B complex, however, it is produced in the human body from glucose and is not an essential nutrient.

It exists in nine stereoisomers, of which D-chiro-inositol and myo-inositol are proven to play a major role in the development of insulin resistance and polycystic ovary syndrome (PCOS), which in many cases go together – studies show that at least 50% of the cases of PCOS are related to insulin resistance. Both of these conditions are commonly spread worldwide, with PCOS affecting 1 in 15 women and thus a lot of research is being made in order to find most effective treatment or to optimize the already existing one.

In this overview, we will look at the beneficial effects inositol has on these conditions, such as improving insulin sensitivity, balancing hormones, positively influencing ovary function and even improving fertility rates amongst patients. Another positive quality of inositol is its minimal side effects, thus it is available in the form of food supplement.

References

1. Ahmed, D. Use of Myo-inositol for Ovulation Induction in Patients with Polycystic Ovary Syndrome, 2017.
2. Baillargeon, J., Iuorno, M., Apridonidze, T. and Nestler, J. Uncoupling Between Insulin and Release of ad-Chiro-Inositol–Containing Inositolphosphoglycan Mediator of Insulin Action in Obese Women With Polycystic Ovary Syndrome, 2010.
3. Dunaif, A. Insulin Resistance and the Polycystic Ovary Syndrome: Mechanism and Implications for Pathogenesis, 1997.
4. Nestler, J. Role of Hyperinsulinemia in the Pathogenesis of the Polycystic Ovary Syndrome, and Its Clinical Implications, 1997.

CO16. THE APPLICATION OF NANOTECHNOLOGY IN MEDICINE

Sevgin Efeliyov, Pamela Boikova, Selen Hamdi, Stefan Stanev

Trakia university, Stara Zagora, Bulgaria

Email: sevgin123@mail.bg

Nanotechnology, or systems/device manufacture at the molecular level, is a multidisciplinary scientific field undergoing explosive development. The genesis of nanotechnology can be traced to the promise of revolutionary advances across medicine, communications, genomics and robotics. On the surface, miniaturisation provides cost effective and more rapidly functioning mechanical, chemical and biological components.

A complete list of the potential applications of nanotechnology is too vast and diverse to discuss in detail, but without doubt one of the greatest values of nanotechnology will be in the development of new and effective medical treatments (i.e., nanomedicine). This review focuses on the potential of nanotechnology in medicine, including the development of nanoparticles for diagnostic and screening purposes, artificial receptors, DNA sequencing using nanopores, manufacture of unique drug delivery systems, gene therapy applications and the enablement of tissue engineering.

References:

1. Jason, H. Sakamoto, Anne L. van de Ven, B. Godin, Enabling individualized therapy through nanotechnology, Pharmacol Res. Author manuscript; available in PMC 2010 August
2. Zahid, M., B. Kim, R. Hussain. DNA nanotechnology: a future perspective. Nanoscale Res. Lett., 8(1), 2013, 119. Published online 2013 March 4. doi: 10.1186/1556-276X-8-119
3. Gupta, H.L., P. Gupta, R. Gupta. Nanotechnology in ophthalmology. Indian J. Ophthalmol., 2013.

CO17. NANOTECHNOLOGY IN THE FIELD OF ONCOLOGY

Victoria Kaludova, Natali Kasheva, Rejep Birkov

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: vikinka168@gmail.com

Cancer therapies are currently limited to surgery, radiation, and chemotherapy. These methods risk damage to normal tissues or incomplete eradication of the cancer. Nanotechnology can target chemotherapies directly and selectively to cancerous cells and neoplasms and enhance the therapeutic efficacy of radiation-based and other current treatment modalities.

The traditional use of nanotechnology in cancer therapeutics has been to improve the pharmacokinetics and reduce the systemic toxicities of chemotherapies. That is why nanosized carriers are being used to deliver the drugs to the tumor cells and neoplasms. The advantage is that they can increase the delivered drug's overall therapeutic index through nanoformulations.

References:

1. National cancer institute- <https://www.cancer.gov/sites/ocnr>
2. Journal of Nuclear Medicine & Radiation Therapy-
<https://www.omicsonline.org/open-access/applications-of-nanotechnology-in-cancer-a-literature-review-of-imaging-and-treatment-2155-9619.1000195.php?aid=32071>
3. US National Library of Medicine , National Institutes of Health-
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057038/>

CO18. NANOTECHNOLOGY AND ITS APPLICATION IN MEDICINE AND OPHTHALMOLOGY

Deyan Marinov, Angel Todev, Aleksander Petrov, Victoria Trendafilova

Trakia University, Faculty of Medicine, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: deyan.marinov.15@trakia-uni.bg

In my presentation I am going to talk about Nanotechnology- definition , aims and its tribute in Medicine. I have hit one of the main goals of Nanomedicine - comprehensive monitoring, control, protection and improvement of biological systems at the molecular level, using engineering nanomodels and nanostructures to achieve a healing result .

The applications of nanotechnologies in Ophthalmology are described (design of fractal devices implanted in the eyes; delivery of drugs in the eyes using a micro-pump device ; treatment of degenerative diseases of the retina with gene therapy; method for increasing the penetration of drops into the eyes). The revolutionary approaches in Nanotechnology are being followed , focusing on current therapeutic challenges such as drug delivery and post-operative scar removal. Nanotechnologies can provide an opportunity to address unresolved issues (eg treatment of patients with degenerative eye diseases).

References:

1. Robert, A. What is Nanomedicine. Freitas Jr., 2004.
2. Mamo, T., E. Ashley, Moseman, N. Kolishetti. Emerging nanotechnology approaches for HIV/AIDS treatment and prevention. PMC, 2010.
3. Zahid, M., B. Kim, R. Hussain. DNA nanotechnology: a future perspective, 2013.
4. Gupta, H.L., P. Gupta, R. Gupta. Nanotechnology in ophthalmology. Indian J. Ophthalmol., 2013.
5. Nanotechnology Approaches for Ocular Drug Delivery. Middle East Afr. J. Ophthalmol., 2013.
6. Nanotechnology and Nanotoxicology in Retinopathy. Int. J. Mol. Sci., 2011.

**CO19. NANOTECHNOLOGIES AND NEW MATERIALS WITH BIOMEDICAL USE
- A BIORESORBABLE EVEROLIMUS-ELUTING SCAFFOLD**

Ivan Kostov, Uksel Mekov, Georgi Zahariev, Neri Hadzieva

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: ivan.k.kostov@abv.bg

The role of stents in medicine is of great importance. It is a stretchable tube made of metal (mostly stainless steel, an alloy of chromium and cobalt or a chromium and platinum alloy) or different polymers of small size that are placed in a blood vessels or hollow structures to keep them constantly open and prevents clogging.

In recent years a sterile bioresorbable stent-Absorb BVS (Bioresorbable Vascular Scaffold System) has appeared on the market. The introduction of such a product into the daily practice of invasive cardiology is the next major step in the successful fight against ischemic heart disease. ABSORB's allow the treatment of coronary heart attacks by placing a bioresorbable stent that gradually disappears over a period of 1 years without leaving a permanent metal implant in the heart of the patient.

As the drug-emitting stents, ABSORB's is coated with a drug-cytostatic called everolimus. It is also made of polylactic acid (PLA) with a number of medical applications that have been successfully used since 1960. As it is known, PLA has the ability to degrade during the natural metabolic process unlike existing stents. ABSORB's has the advantage of fully absorbing after a period of 1 years, leaving an anatomically and physiologically restored coronary vessel without a metal implant with preserved vasomotorics and diameter. The results of the clinical trials prove the superior benefits of the product, which are comparable, even better than the high-quality drug-emitting stents. The tracking of patients with implanted ABSORB's has a clear tendency to reduce the symptoms of angina.

References:

1. Journal of the American College of Cardiology, 66(21), 2015, 2310-2314.
2. The Lancet. 385(9962), 2015, 43-54.

CO20. ACCELERATED WOUND HEALING USING NANOPARTICLES

Aleksander Petrov ,Angel Todev, Viktoriya Trendafilova, Deyan Marinov

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

E-mail: aetodev@gmail.com

Ever since Richard Feynman predicted the emergence of nanoscience in 1959, this field has emerged as one of the fastest growing developments of the 21st century. With regard to its application in medicine, nanotechnology has the potential to vastly improve current therapies and diagnostics as well as pave the way for unprecedented avenues, all due to its ability to work at a nanoscale level.

The treatment of skin wounds represents an important research area due to the important physiological and aesthetic role of this tissue.

The role of nanoparticles in wound healing with regard to improving results and minimizing adverse effects. This includes current therapies, developments, and future directions. To fully appreciate the potential of nanoparticle application in wound healing, an understanding of the wound-healing process is required.

During the last years, nanoparticles have emerged as important platforms to treat skin wounds. Silver, gold, and copper nanoparticles, as well as titanium nanoparticles, have shown potential therapeutic effects on wound healing. Due to their specific characteristics, nanoparticles such as nanocapsules, polymersomes, solid lipid nanoparticles, and polymeric nanocomplexes are ideal vehicles to improve the effect of drugs (antibiotics, growth factors, etc.) aimed at wound healing. Also another part in accelerating the wound healing is by speeding hemostasis. NO-releasing nanoparticles can potentially be a new generation of antimicrobial therapy against resistant microbes.

References:

1. HAMBLIN, M.R.. NANOSCIENCE IN DERMATOLOGY - 2016 Elsevier Inc.
2. Peng, L.H., Wei W., Qi X.T. et al. Epidermal stem cells manipulated by pDNA-VEGF165/CYD-PEI nanoparticles loaded gelatin, 2013.
3. Nguyen, T.A., Friedman A.J. Curcumin: a novel treatment for skinrelated disorders. J. Drugs Dermatol., 2013.

CO21. PROCESSING OF VISUAL INFORMATION

Arsalan Ahmar Bangash, Shivam Bhathela, Abdurahman Moalin

Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

CO22. L-CARNITINE - OR HOW TO USE THE POWER IN OURSELFS

Georgi Madzharov, Nefize Ilyaz, Ralitsa Rumenova

¹*Medical University "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov" 55 Marin Drinov str.,
9002 Varna, Bulgaria*

²*Trakia University, Stara Zagora, 6000 Stara Zagora, Bulgaria*

E-mail: g.majarov@abv.bg

INTRODUCTION

Some people have low L-carnitine levels due to a genetic disorder, taking certain drugs, or a medical therapy (some kidney diseases) that uses up the body's L-carnitine. L-carnitine is an amino acid which is naturally produced in the body. It is a building block for proteins. L-carnitine is used for conditions such as heart and blood vessels including heart related chest pain, congestive heart failure (CHF), heart complications of a disease called diphtheria caused by circulation problems (intermittent claudication), and high cholesterol.

L-carnitine is often taken as a weight loss supplement. It plays a crucial role in the production of energy by transporting fatty acids into our cell's mitochondria. Our bodies produce L-carnitine from amino acids lysine and methionine and vitamin C. In addition to the L-carnitine produced in your body, you can also obtain small amounts from the diet by eating animal products like meat or fish. People take L-carnitine for improving their workouts at the gym. L-carnitine helps to transport fat, particularly long-chain fatty acids, into the mitochondria of cells. Once there, they can be oxidized—used as fuel—to generate adenosine triphosphate, or ATP. There are few negative side effects from L-carnitine supplementation at reasonable doses—it can cause nausea, abdominal cramps, vomiting, and diarrhea when taken in high doses. Rare side effects can include muscle weakness in uremic patients and seizures in people with seizure disorders.

METHODS

A literature review of the relevant studies published in PubMed and Scopus was made and the results were summarized.

REFERENCES

1. <https://www.bodybuilding.com/fun/your-expert-guide-to-l-carnitine.html>

2. <https://www.webmd.com/vitamins-supplements/ingredientmono-1026-l-carnitine.aspx?activeingredientid=1026>

Key words: L-carnitine, supplementation, effects.

CO23. THE ROLE OF LEPTIN AND GHRELIN IN THE REGULATION OF FOOD INTAKE

Leptin resistance.

Айлин Сали

Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора, България

E-mail: aylin.sali@abv.bg

Leptin and ghrelin are hormones that have a major influence on energy balance. Leptin regulates long-term regulation of energy balance, suppressing food intake and thereby inducing weight loss. It also acts on other systems and functions of the human body, for example: fertility, immunity, brain function and others.

The purpose of this review is to provide background information on the leptin and ghrelin hormones, their role in food intake and body weight in humans, and their mechanism of action. In addition the potentials of leptin and ghrelin as drug targets will be discussed.

Ghrelin is an endogenous orexigenic peptide, fast-acting hormone, seemingly playing a role in meal initiation. On the other hand ghrelin is also involved in long-term body-weight regulation by inducing adiposity.

In obese people the circulating level of the anorexigenic hormone leptin is increased, while the level of orexigenic hormone ghrelin is decreased. It is established that obese patients are leptin-resistant. The problem is that the leptin signal is not working. There is a whole "ton of leptin floating around", but the brain does not "see" that it is there. Leptin resistance is believed to be the main biological abnormality in human obesity.

References:

1. Klok, M.D., S. Jakobsdottir, M.L. Drent. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans. *Obes. Rev.*, 8(1), 2007, 21-34.
2. Gunanars, K. Leptin and Leptin resistance. <https://www.healthline.com/nutrition/leptin-101>.
3. Soni, A.C., M. Conroy, R.H. Mackey, L.H. Kuller. Ghrelin, Leptin, Adiponectin, And Insulin Levels and Concurrent and Future Weight Change in Overweight Postmenopausal women. *Menopause*, 18(3), 2011, 296-301.
4. Meier, U., A.M. Gressner. Endocrine Regulation of Energy Metabolism: Review of Pathobiochemical and clinical Chemical Aspects of Leptin, Ghrelin, Adiponectin, and Resistin. *Clin. Chem.*, 50(9), 2004, 1511-25.

СО24. КОСТТА КАТО ЕНДОКРИНЕН ОРГАН. БИОЛОГИЧНА РОЛЯ НА ОСТЕОКАЛЦИНА

N. Hristov¹, D. Marinova², M. Ivanova¹

¹*Faculty of Medicine, Trakia University, 18 Armeyska str., 6003 Stara Zagora, Bulgaria*

²*Department of Anatomy, Histology, Cytology and Biology, Faculty of Medicine, Medical University – Pleven, 1 Sv. Kliment Ohridski str., 5800 Pleven, Bulgaria.*

Email: nikolayhrist@gmail.com; drdesko@gmail.com

Костната тъкан е специализирана съединителна тъкан, която съдържа клетки и минерализирано междуклетъчно вещество. Основната роля на костите е тяхната опорна и защитна функция. Съвременните литературни сведения подчертават считаната до сега за второстепенна функция на костта, а именно участието и като ендокринен орган в поддържане на хомеостазата. С настоящия литературен обзор ние представяме един хормон, произвеждан от остеобластите на костната тъкан - остеокалцин.

На локално ниво остеокалцинът повлиява костната минерализация. Като хормон той стимулира инсулиновата секреция от бета клетките на панкреаса, паралелно с което повишава чувствителността на скелетната мускулатура и мастната тъкан към инсулин. Остеокалцинът регулира натрупването на мастната тъкан и секрецията на тестостерон от Лайдиговите клетки в тестисите, което има значение за репродукцията и костната здравина. Описва се влияние на хормона върху паметта и настроението. С изброените хормонални функции на остеокалцина, костта се явява като един от ендокринните органи в човешкото тяло.

CP1 NEMATODE INFECTIONS AND TUMORS IN HUMANS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria
E-mail: tsocheva_n@abv.bg*

ABSTRACT

Literature data were summarized in the present work about observed cases of combination of nematode infections with malignant tumors in humans. Some nematode infections like *Strongyloides stercoralis* infection had been recognized as causative factors for human cancer. Possible mechanisms of the carcinogenic effect of these parasites on the infected hosts were discussed such as development of chronic inflammation elicited by the parasites, changed host immune response and possible carcinogenic effects from certain parasitic excretory-secretory products.

CP2. CESTODE INFECTIONS AND TUMORS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev St., Bl. 25, Sofia 1113, Bulgaria
E-mail: tsocheva_n@abv.bg*

ABSTRACT

Literature data were summarized in a review article about combinations of natural and experimental cestodoses with tumors in animals and humans. A relation between the parasitic infections and development of the tumors was detected. Data for investigations on experimental combined models of cestodoses and tumors were collected. Clinical cases of cestodoses in patients combined with tumors were described. Although the pathogenic mechanisms of interactions between parasite infections and carcinogenesis remained unclear, we guessed that the initial carcinogenic effect was probably a function of the duration and severity of the infection, the changed from the parasites host immune response and such variables as ingestion of dietary carcinogens.

CP3. PATHOGENESIS OF INTERACTION BETWEEN CHRONIC FASCIOLOSIS AND EXPERIMENTAL DIETHYLNITROSAMINE CARCINOGENESIS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, M. P. Gabrashanska

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria
E-mail: tsocheva_n@abv.bg; m_gabrashanska@abv.bg*

ABSTRACT

The studies on the interaction between experimental fasciolosis and chemically induced by diethylnitrosamine (DNA) liver carcinogenesis revealed two opposite phenomena depending of the DNA application schedule during the both phases of the helminth infection: tumor growth stimulation at DNA-treatment during acute phase of fasciolosis and tumor growth inhibition after DNA-application during chronic phase of fasciolosis in rats. Morphological data proving the tumor growth inhibiting effect of chronic fasciolosis were summarized. Possible immune and biochemical mechanisms of interaction between the both pathogenic factors were discussed. A hypothesis was put forward about the possible role of endogenous biologically active substances, cell proliferation inhibitors, of parasite and host origin, in the pathogenesis of interaction between chronic fasciolosis and experimental DNA carcinogenesis.

CP4. ZINC-COPPER HYDROXOCHLORIDE MIXED CRYSTALS APPLICATION ON FASCIOLA HEPATICA EXPERIMENTALLY INFECTED RABBITS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, M. P. Gabrashanska, V. N. Nanev

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria
E-mail: veselinnanev@gmail.com*

ABSTRACT

The effect of double hydroxochloride mixed crystals of zinc (Zn) and copper (Cu): $(Zn_xCu_{1-x})_2(OH)_3Cl$ was tested in acute phase of fasciolosis in experimentally infected with *Fasciola hepatica* rabbits establishing their body weights, mortality, liver vitamins A, C, and E levels, liver trace elements Cu and Zn contents, and liver enzyme copper-zinc superoxide dismutase activity (CuZn-SOD). The experiments were performed on twenty 32-days old male Chinchilla rabbits, divided into the following 4 groups: group I – controls (healthy animals), group II – rabbits treated with Zn-Cu hydroxochloride mixed crystals, group III - rabbits experimentally infected with *F. hepatica* and group IV – *F. hepatica* infected and Zn-Cu hydroxochloride mixed crystals treated animals. The rabbits were orally infected with 60 metacercariae of *F. hepatica*. Two weeks later (14 days p.i.), the animals were treated per os with Zn-Cu hydroxochloride mixed crystals in a dose of 0.020 g basic salt per rabbit for 7 days. The experiments were lasted 60 days post infection (p.i.). Liver vitamins A, C, E contents, liver Cu and Zn levels and liver CuZn-SOD activity were investigated. Liver vitamins A, C, E contents, Zn and Cu levels and CuZn-SOD activity were not significantly changed in the treated with mixed crystals animals compared to the controls. The animal body

weights and mortality were not affected. The body weights were reduced, mortality was increased and the levels of liver vitamins A, C, E; Cu and Zn contents and CuZn-SOD activity were decreased in *F. hepatica* infected rabbits. The body weights and mortality were kept near to the controls after application of Zn-Cu mixed crystals on *F. hepatica* infected animals. A beneficiation of the antioxidant status was established in combined *F. hepatica* infected and hydroxochloride mixed crystals treated rabbits compared to only *F. hepatica* infected animals. Decreased contents of liver vitamins A, C and E, trace elements Zn and Cu and CuZn-SOD activity under fasciolosis were increased near to the control levels after mixed crystals application on the infected animals. Double hydroxochloride mixed crystals of Zn and Cu could be used to restore the affected under fasciolosis antioxidant defence system in experimental rabbits.

CP5. THERMOLABLE BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH CELL PROLIFERATION INHIBITOR ACTIVITIES FROM PARASITE AND HOST ORIGIN UNDER EXPERIMENTAL FASCIOLOSIS

N. T. Tsocheva-Gaytandzhieva, R. Toshkova, E. Nikolova, D. Wesselinova, A. Filchev, L. Rupova-Popjordanova, V. Nanev, M. Gabrashanska

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria
E-mail: tsocheva_n@abv.bg*

ABSTRACT

In regard of previous investigations of ours establishing inhibitory effect of chronic fasciolosis on different experimental tumors *in vivo*, we aimed to isolate and characterize biologically active substances (BASes) from parasite and host origin under experimental fasciolosis and to investigate their cell proliferation activities *in vitro*. BASes were isolated from tissues of mature helminths *Fasciola hepatica*, livers and spleens of *F. hepatica* infected and healthy rats by method of aqueous tissue homogenate ethanol precipitation. Gel-chromatography, SDS-electrophoresis and amino acid composition analysis were carried out for biochemical characteristics of the substances. It was established that all newly isolated BASes were formed of two fractions (14300 D and 57200 D MW respectively), but their amino acid contents differed from one another. The effects of BASes on cell proliferation were investigated *in vitro* on non-tumor cells (healthy rats spleen lymphocyte cells) and tumor cell cultures (chicken hepatoma MC29 and hamster myeloid Graffi tumour cells) by [3H]-Thymidine test. The strongest growth inhibiting effect was manifested by BAS isolated from tissues of *F. hepatica* on hepatoma MC29 cell cultures. The cell growth inhibiting effects of BASes isolated from livers and spleens of *F. hepatica* infected hosts were stronger than the effects of BASes isolated from the tissues of healthy rats. Tissue specific and species non-specific activities of the newly isolated from livers and spleens substances were established. The BAS isolated from *F. hepatica* tissues shows tissue non-specific activity. We suggested that further future investigations in this field of science would reveal more possibilities for practical application of such type of substances in the therapy of various socially significant diseases (tumors, autoimmune diseases, etc.).

Session D.

Chairpersons:

Assoc. Prof. Radostina Alexandrova, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Abedulkadir Abudalleh, MSc, PhD

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Secretary: Desislav Dinev, MSc

*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

DO1. BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Lactobacillus* STRAINS

Ivo Ganchev

*Department of General Microbiology, The Stephan Angeloff Institute of Microbiology,
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

Microbial biofilms are a predominant microbial style of life in natural and technical ecosystems. The aim of this study is to evaluate the impact of metabolites produced during the cultivation of lactobacilli in MRS broth, on the biofilm-formation activity of Gram positive and Gram negative bacteria. Thus, the inhibitory effect of eight *Lactobacillus* strains, isolated from homemade dairy products, has been estimated. A strain-specific anti-biofilm activity of cells-free supernatants from eight exponential *Lactobacillus* cultures of on the biofilms formed by *Bacillus subtilis* NBIMCC 170 and *Escherichia coli* K12 strain 1655 and by co-culture of *B. subtilis* NBIMCC 168 - *E.coli* K12- 1655 was observed. The most promising result – a strong anti-biofilm forming effect, was obtained with *Lactobacillus plantarum* L32 strain in MRS broth.

Key words: biofilms, *Lactobacillus* strains, anti-biofilm activity, *B. subtilis* , *E.coli* K12 1655

Acknowledgments: The author is grateful to Assoc. Prof. Svetla Danova from Institute of Microbiology, BAS, Assoc. Prof. Milena Mourjeva from Institute of Biology and Immunology of Reproduction, BAS, and Prof. Markus Maniak from University of Kassel, Germany. This study was support by Institute of Microbiology, BAS, Grant I-11/2014, and The “Erasmus+” Program (Grant TM-10/2016-2017)

REFERENCES

1. Fariq, A., A.Saeed. Curr. Microbiol., 72, 2016, 489–495.
2. Kolenbrander, P., R. Andersen, D. Blehert, P. Eglund, J. Foster, R. Palmer. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66 (3), 2002, 486–505.
3. Rickard, A., P. Gilbert, N.J. High, P. Kolenbrander, P. Handley. Trends in Microbiology, 11(2), 2003, 94-100.

4. Lengowski, M., M. Witzig, J. Möhring, G.M. Seyfang, M. Rodehutschord. *Anaerobe*, 34, 2015, 132–138.
5. Rickard, A., A.J. McBain, R.G. Ledder, P.S. Handley, P. Gilbert. *FEMS Microbiology Letters*, 220, 2003, 133-140.
6. Landini, P., D. de Antoniani, J. Burgess, R. Nijland. *Appl Microbiol Biotechnology*, 86, 2010, 813- 823.
7. Hill, C. et al., *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 11, 2014, 506–514.
8. Dobрева-Yosifova, G., L. Yocheva, A. Mehmed, S. Danova, S. Antonova-Nikolova, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23 (1), 2009, 801-805.
9. Georgieva, R., L. Yocheva, L. Tserovska, G. Zhelezova, N. Stefanova, A. Atanasova, A. Danguleva, G. Ivanova, N. Karapetkov, N. Rumyan, E. Karaivanova. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(1), 2015, 8491.
10. Petrova, M., R. Georgieva, S. Dimitonova, N. Ivanovska, N. Hadjieva, Sv. Danova. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23, 2009, 627-631.
11. Dimitrov, Z., I. Gotova, E. Chorbajiska. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(6), 2014, 1079-1083.
12. R. Tropcheva, R. Georgieva, S. Danova. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(4) : 121-124 (2011)
13. Taheur, F., B. Kouidhi, K. Fdhila, H. Elabed, R. Slama, K. Mahdouani, A. Bakhrouf, K. Chaieb. *Microbial Pathogenesis*, 97, 2016, 213-220.
14. Rickard, A., P. Gilbert, N.J. High, P. Kolenbrander, P. Handley. *Trends in Microbiology*, 11(2), 2003, 94-100.
15. Groudeva, V., P. Moncheva, S. Naumova, B. Gocheva, T. Nedeva, S. Antonova-Nikolova. *Manual of Microbiology*, The “St. Kliment Ohridski” University, Sofia, 2013, 146-153.
16. Danova, S., D.Sc. Thesis, BAS, Sofia, Bulgaria, 2015.
17. Vacheva, A., R. Georgieva, S. Danova, R. Mihova, M. Marhova, S. Kostadinova, K. Vasileva, M. Bivolarska, S. Stoitsova. *Cent. Eur. J. Biol.*, 7(2), 2012, 219-229.
18. Hamon, M., B.A. Lazazzera. *Molecular Microbiology*, 42(5), 2001, 1199–1209.

DO2. BIOCHEMICAL STUDIES IN RATS WITH POLYMERIC HYDROGEL IMPLANTS

Nanev V.¹, I. Vladov¹, P. Dimitrov¹, K. Todorova¹, N. Tsocheva-Gaytandzhieva¹, K. Ruseva, D. Nikolova, M. Simeonov, E. Vassileva², M. Gabrashanska¹

¹Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria

E-mail: m_gabrashanska@abv.bg

²Sofia University “St. K. Ohridski”, Faculty of Chemistry and Pharmacy, Laboratory of Structure and Properties of Polymers, James Bourchier Blvd. No 1, 1164 Sofia, Bulgaria

ABSTRACT

Hydrogels are polymeric materials distinguished by high water content and diverse physical and chemical properties. Polymer hydrogels are widely used as scaffolds and

materials for biomedical application due to the close mechanical behavior that they possess as compared to the body tissues.

The aim of our study was to investigate the biocompatibility of polyzwitterionic hydrogel systems as bone implants. To this purpose, three groups of polymeric networks were studied. The 1st type was poly (sulfobetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with 4 wt% N, N'-methylene-bis-acrylamide *neat* (PSB4) and hybriide, obtained after *in situ* formation of calcium phosphates (PSB4-CaP). The 2nd type was poly (sulfobetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with polyethylene glycol diacrylate (PEGDA) with different concentration of the crosslinking agent PEGDA. The 3rd group was poly (carboxybetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with PEGDA with different concentrations (6p CBMA and 7p CBMA). The 4th group are control- without implants.

The materials were implanted in the soft tissues of male albino Wistar rats (subcutaneously and intramuscularly). There was a control group of animals with surgically made skin pockets but without hydrogels placement in them. The rats were euthanized 3 months after the implantations. Blood samples were collected to study a serum alkaline phosphatase activity and serum Ca and P contents. Ca and P contents were determined biochemically in the soft tissues surrounding the implants.

The results showed that the studied biochemical parameters were in normal physiological values with non-significant deviations. There were no signs of inflammation or harmful effects in the soft animal tissues in the places of implantations. The conducted *in vivo* studies indicated that the investigated polymer hydrogels were well-tolerated, non-toxic and biocompatible.

Key words: Polymer hydrogels, polycarboxybetaines (PCB), polysulfobetaines (PSB), carboxybetaine methacrylate (CBMA), biocompatibility, bone implants.

INTRODUCTION

Hydrogels are polymeric materials distinguished by high water content and diverse physical and chemical properties. Polymer hydrogels are widely used as scaffolds and materials for biomedical application due to the close mechanical behavior that they possess as compared to the body tissues (Bonchev et al., 2017).

Compounds with promising usage in surgery especially as an effective wound regeneration system are zwitterionic polymers due to their chemical structure resemble many naturally occurring substances. Polycarboxybetaines (PCB) are analogues to the betaine form of α -amino acids and have the lowest protein absorption found. Polysulfobetaines (PSB) have also a zwitterionic moiety but they do not have a naturally existing analogue (Kokubo et al., 2003).

We focused in our survey on composite polymer-reinforced calcium phosphate pastes and poly (sulfobetaine and carboxybetaine methacrylate) (PSB, PCB) networks with promising addendum in wound dressing procedures, surgery and dental medicine.

MATERIALS AND METHODS

Synthesis of polymer-reinforced nanometric calcium phosphates /hydroxyapatite nanoparticles/ was performed for molar pulp coverage. For the synthesis of poly (sulfobetaine methacrylate) (PSB) and poly (carboxybetaine methacrylate) (PCB) networks substances (PSB in aqueous solution; PCB dissolved in ethylene glycol / ethanol / distilled water in a 3: 1: 1 ratio) were mixed with initiators K₂S₂O₈ or Na₂S₂O₅, (NH₄)₂S₂O₈ and the crosslinking agent or N, N'-Methylenebisacrylamide with varying concentrations. The compound was homogenized and then allowed to crosslinking polymerization carried out at 60° for 6 - 15 hours. The resulting hydrogels were purified from the unreacted reagents by dipping them into a large amount of distilled water. The water was changed every day within 2 weeks as the

waters were monitored with UV every day. Part of the prepared networks after drying, in order to obtain PSB + CaP, were immersed in a 0.6M CaCl₂ solution, where they stayed for 48 hours. The samples were washed with water and immersed in a 0.3M solution of K₂HPO₄.

Animal design and implantation of biomaterials

In vivo studies were performed in order to test the biological response of the polymer hydrogels. The tests were performed on experimental rats and the defects were introduced on soft tissues (subcutaneous, near the muscles application) (Pearce et al., 2007).

All procedures were consistent with the definitions and recommendations for in vivo animal studies, designed to provide initial evidence of medical device safety, potential performance when used in a living system, and/or the biologic response to the device, in accordance with International Standard ISO 10993 -1:2009 Part 6- Tests for local effects after implantation. The animal usage was in accordance with the requirements and Regulation № 15/ 03.02.2006 regarding laboratory animals and animal welfare (Cativa et al., 2019). An aseptically surgical procedure was used after a standard ketamine & xylazine anaesthesia in appropriate doses. Sterilized implants were inserted in the fossa poplitea near to the fascial superficies of muscle fibers and bundles of the biceps femoral muscle. After 12 weeks of evaluation period all animals were humanely euthanized. To enable access to the subcutaneous space and implants were made incisions full thickness through the skin and surrounding muscle tissues.

The aim of our study was to investigate the biocompatibility of polyelectrolyte hydrogel systems as bone implants. To this purpose, three groups of polymeric networks were studied. The 1st type was poly (sulfobetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with 4 wt. % N, N'-methylene-bis-acrylamide neat (PSB4) and hydride, obtained after in situ formation of calcium phosphates (PSB4-CaP). The 2nd type was poly (sulfobetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with polyethylene glycol acrylate (PEGDA) with different concentration of the crosslinking agent PEGDA. The 3rd group was poly (carboxybetaine methacrylate) network, obtained by cross-linking with PEGDA with different concentrations (6p CBMA and 7p CBMA). The 4th group are control- without implants (Samaddar et al., 2019).

The materials were implanted in the soft tissues of male albino Wistar rats (subcutaneously and intramuscularly). There was a control group of animals with surgically made skin pockets but without hydrogels placement in them. The rats were euthanized 3 months after the implantations. Blood samples were collected to study a serum alkaline phosphatase activity and serum Ca and P contents.

Standard haematological and biochemical laboratory tests were performed on blood and serum parameters. The markers of bone metabolism (total alkaline phosphatase (TAP) activity and bone alkaline phosphatase (BAP), calcium (Ca), phosphorus (P), as well as markers of potential hepatotoxicity (aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity (ASAT, ALAT) etc. were measured on an apparatus - MINDRAY, BC-88A, haematological indicators determined on MINDRAY, BC -2800.

Ca and P content in soft tissues determined by atomic absorption method. The element content changes in soft tissues around the implant are an important early indicator of biochemical homeostasis and some parameters of the body's reactivity to implants.

Statistical analysis of the results.

They was carried out on the Prism 4.0 programme. The distribution of data was determined- a Gaussian one. The determination of the distribution was performed using the test of Kolmogorov- Smirnov and D'Agostino- Pearson. In the Grubb test application no extreme value have been found (they are strongly differing from the mean one, usually negligible. Variation analysis was used for determining the mean values, the standard deviation (SD) and the significance criterion (P) of four groups. The comparison of the mean values of

these parameters was carried out using the Student's t- criterion, Bonferroni's Multiple Comparison Test. Analysis of variance and Student's t-test were used for statistical processing of the results. Values of * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ were considered statistically significant compare to control.

Histological procedures for light microscopy.

After surgical excision tissue samples (10/10/10mm in size) with introduced implants were routinely fixed in 10% buffered formalin, rinsed in water and placed in 8% formic acid for demineralization. After dehydration in graded ethanol and xylene clearing, materials were embedded in paraffin. Tissue sections (3-5 μm thick) were stained in H&E and examined by light microscope (Leica DM 5000B, Wetzlar, Germany).

The sections were examined standardly for the presence of a fibrous capsule and its thickness, newly formed vessels, foreign body reaction and occurrence of various types of inflammatory cells (Anderson et al., 2008). Evaluation system of three categories was used to measure the microscopic observations. The inflammatory reactions were scored according to the following criteria (Sheikh et al., 2015):

- No reaction or slight reaction: Fibrous capsule formation and absence of inflammatory cells or presence of a fibrous capsule formation with few lymphocytes and plasmocytes.
- Moderate reaction: Fibrous capsule formation with the presence of macrophages (MA), polymorph nuclear leukocytes (PMNL), lymphocytes, and plasmocytes.
- Severe reaction: Presence of large accumulations of PMNL, lymphocytes, plasmocytes, macrophages, foreign-body giant cells, and congested capillaries.

RESULTS AND DISCUSSION

Zwitterionic polymers are able to absorb the excess of exudate and prevent bacteria adhesion and the formation of biofilms (Liang et al., 2019), useful in biomedical application (Fig.4).

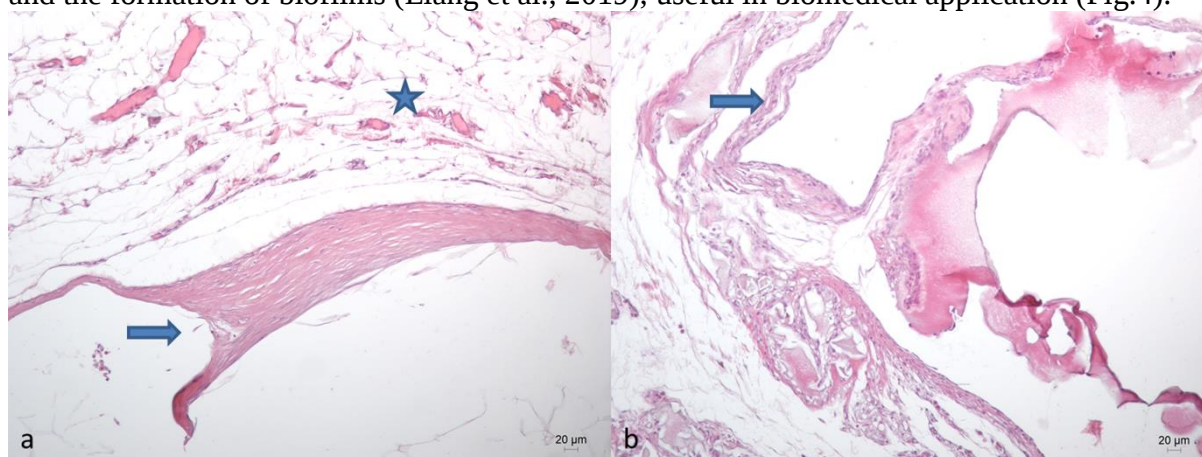


Fig.4 a, b- Formation of a thin fibrous capsule (arrow) and newly formed capillaries (5-point star) peripherally to the neoformative fibrous tissues. H&E.

The results for the Ca and P contents are shown in Figure 1-3.

Fig.1. Content of Ca and P in muscle of experimental rats

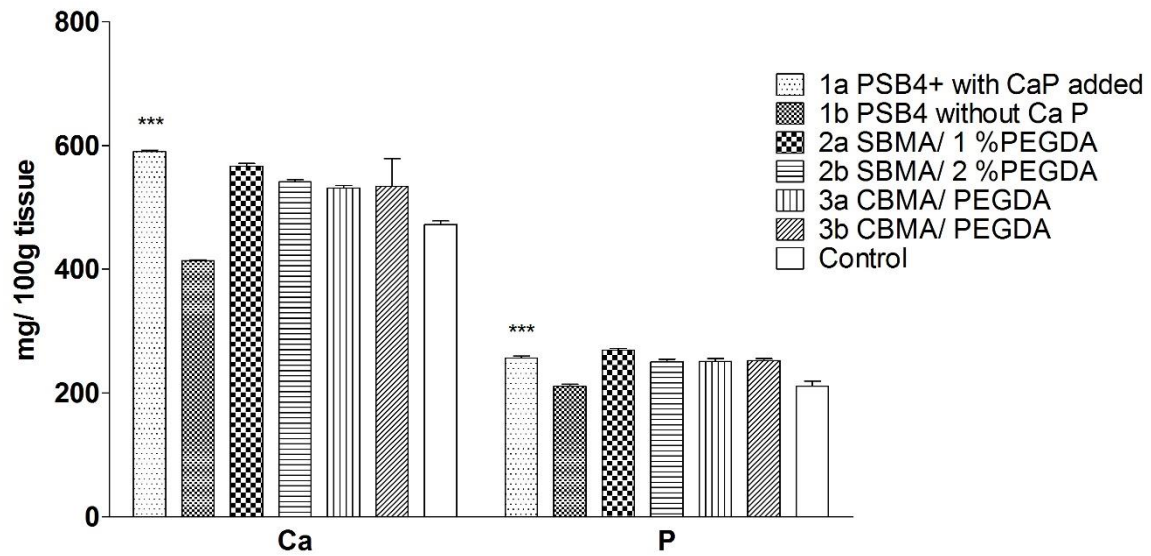


Fig.2. Content of Ca and P in serum of experimental rats

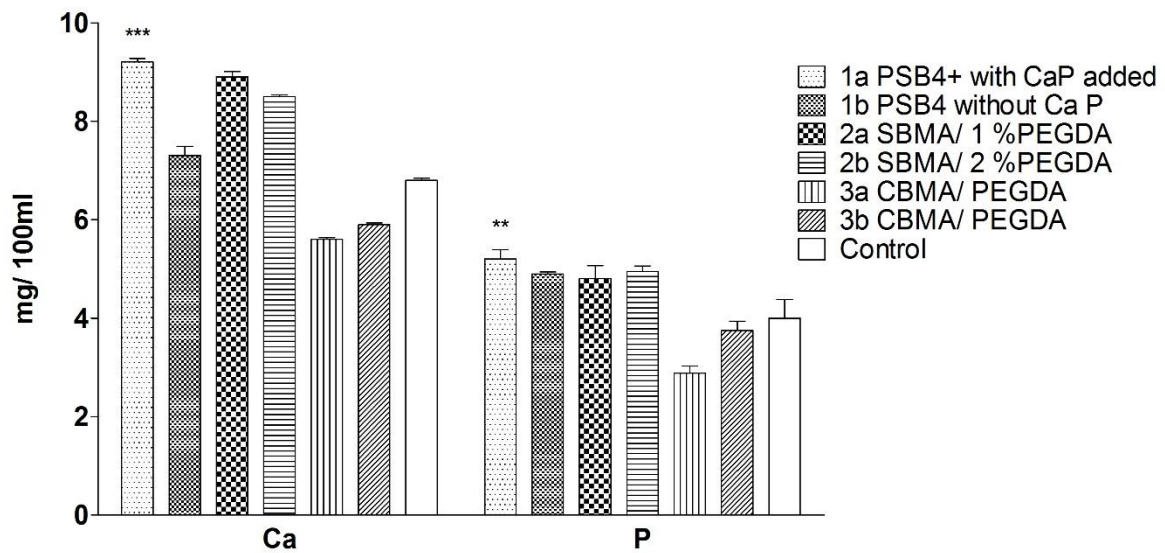
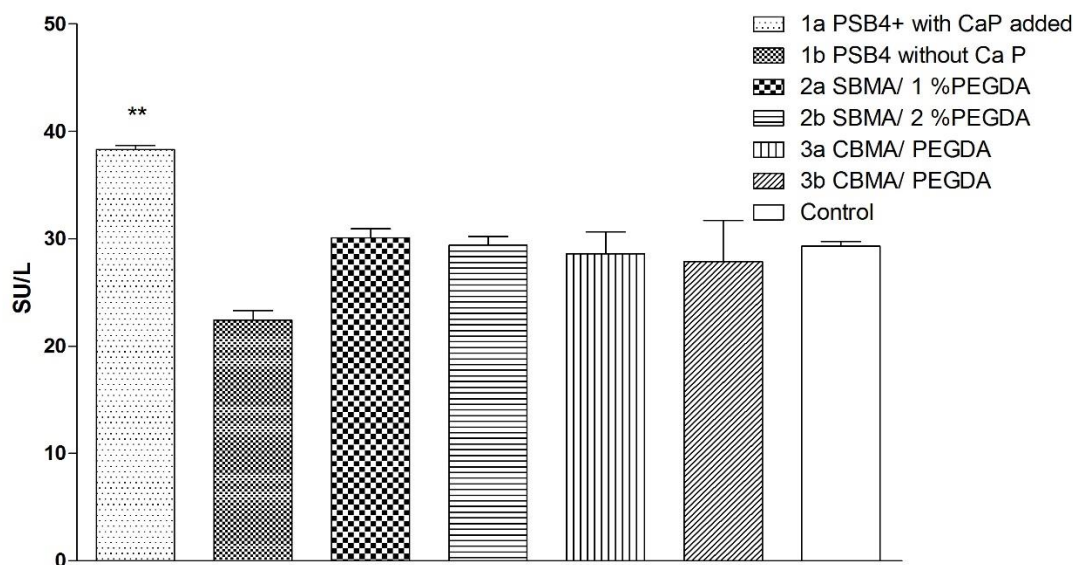


Fig.3. Content of ALP in serum of experimental rats



It gives the impression of alkaline phosphatase (AF) in subgroup 1a that is increased relative to the control and those in the other groups. The content of Ca is also slightly elevated, while that of P is similar to that of the other groups. It can be assumed that the increased activity of AF is associated with upcoming processes of mineralization in the surrounding tissue.

The values of the parameters in the other 2 groups were similar and there were no data on deviations from the norm. Biochemical parameters suggest good biocompatibility of the new materials with the experimental model tissues - rats.

The results showed that the studied biochemical parameters were in normal physiological values with non-significant deviations. There were no signs of inflammation or harmful effects in the soft animal tissues in the places of implantations. The conducted *in vivo* studies indicated that the investigated polymer hydrogels were well-tolerated, non-toxic and biocompatible.

ACKNOWLEDGEMENTS: This study was financially supported by the Bulgarian National Science Foundation, Project № DFNI T 02/5 12.12.2014-17.

REFERENCES

- Anderson, J., D. Rodriguez, D. Chang. Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in Immunology*, 20 (2), 2008, 86-100.
- Bonchev, A., M. Simeonov, R. Vasileva, Review: A biomimetic approach for human enamel remineralization. *IJSR*, 7(10), 2018, 1416-1438.
- Cativa, N.M., M.S.A. Cerimedo, J. Puig, G. F. Arenas, F. Trabadelo, M. A. Ayude, M. A. Zensich, G. M. Morales, W. F. Schroeder, H. E. Romeo, C. E. Hoppe. Poly (ethylene glycol) - based cross- linked films with aligned channels: combining cryogenic processing and photopolymerization for the design of micro-patterned oriented platforms. *Molecular Systems Design & Engineering*, 1, 2019.
- Kokubo, T., H. Kim, M. Rawashita. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*, 24, 2003, 2161-2175.
- ISO 10993-6:2009 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation.

Liang, J., Guo Z., Timmerman A., Grijpma D., Poot A. Enhanced mechanical and cell adhesive properties of photo-crosslinked PEG hydrogels by incorporation of gelatin in the networks. *Biomed. Mater.*, 14(2), 2019. doi: 10.1088/1748-605X/aaf31b.

Pearce, A., M. Richards, S Milz, E Schneider, V Pearce. 2007. Animal model for implant material research in bone: a review. *European Cells and Materials*. 13:1-10.

Samaddar, P., S. Kumar, Ki-Hyun Kim. Polymer hydrogels and their applications toward sorptive removal of potential aqueous pollutants. *Polymer Reviews*, 2019, 04-11.

Sheikh, Z., P. J. Brooks, O. Barzilay, N. Fine, M. Glogauer. Macrophages foreign body giant cells and their response to implantable Biomaterials. *Materials (Basel)*, 8(9), 2015, 5671-5701. doi: 10.3390/ma8095269.

DO3. COMPARISON OF THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF MEDICINAL PLANTS FROM THE RHODOPE MOUNTAINS WITH COMMERCIALY PURCHASED PLANTS

Nelly Georgieva, Zhenya Yordanova, Ganka Chaneva, Miroslava Zhiponova

Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Sofia University "St. Kliment Ohridski", Sofia, Bulgaria

E-mail: neli95gg@abv.bg

Phenolic compounds are secondary metabolites of plants with different activities such as protection against pathogens and predators, mechanical support, attraction of pollinating animals and seed distributors, and protection against ultraviolet radiation. Phenols also perform various functions in the human body - antioxidant protection, anti-viral, antibacterial, anti-tumor and anti-inflammatory activity. The aim of this study was to examine the phenolic compounds and antioxidant activity in the following medicinal plants: yarrow (*Achillea millefolium*), chamomile (*Matricaria recutita*), thyme (*Thymus vulgaris*), peppermint (*Mentha piperita*), green tea (*Camellia sinensis*). Extracts were prepared from herbs grown in Rhodope Mountains in the period of flowering, and commercially purchased ones. From the experimentally obtained results, we analyzed the correlation between total phenol content and antioxidant activity. It can be concluded that endogenous and exogenous factors may influence the concentration of phenolics. These studies could be applied to study the optimal conditions for growing different herbs and their potential beneficial effects on health.

Keywords: secondary metabolites, phenolics, antioxidant potential, medicinal plants

References

Działo, M., Mierziak J., Korzun U., Preisner M., Szopa J., Kulma A. The Potential of Plant Phenolics in Prevention and Therapy of Skin Disorders. *International journal of molecular science*, 17(2), 2016, 160.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E1. *Analytical Biochemistry*, 269 (2), 1999, 337–341.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 1999, 152–178.

Chacko, S.M., Thambi, P.T., Kuttan, R., Nishigaki, I.. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese Medicine*, 5, 2010, 13.

Pandey, K.B., Rizvi, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 2009, 270-278.

DO4. CHEMICAL COMPOSITION AND INHIBITORY EFFECTS OF TANACETUM VULGARE L. ON PROLINE-SPECIFIC ENZYME ACTIVITY IN BREAST CANCER CELLS

A.Vasileva¹, M. Dimitrova², V. Lozanov¹, V. Mitev¹, I. Ivanov¹

¹*Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Medical University of Sofia, Sofia, Bulgaria*

²*Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

E-mail: vasileva_anelia@abv.bg

Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV), fibroblast activating protein (FAP) and prolyl oligopeptidase (POP) belong to the S9 family of serine peptidases. These peptidases are specific for proline-containing peptides and macromolecules. Postprolin peptidases modify biologically active peptides and alter their cellular function [1]. Increased activity levels of these enzymes are observed in various pathological conditions, including malignancies [2,3]. Inhibitors of these enzymes are potential therapeutic agents and some DPP IV inhibitors are used as drug substances in the treatment of type II diabetes. In recent years, there is interest towards substances of natural origin that are selective inhibitors of these enzymes. It has been found that certain hydroxycinnamoylquinic acids and flavonoids as well as their derivatives are POP inhibitors have good selectivity to DPP IV [4]. The main components in *Tanacetum vulgare* blossom extract are hydroxycinnamoylquinic acids and flavonoid derivatives, which are potential inhibitors of these peptidases.

Due to the variation in the quantitative and qualitative composition of the herb blossom depending on the habitat, it is important to establish the composition of the extract used by us. By LC-HRMS we determined the major compounds in the extract of *tanacetum vulgare*. The effect of the total extract on proline-specific enzyme activity in three human mammary gland cell lines (normal and cancerous) was studied using Z-Gly-Pro-AMC as a substrate. In all three cell lines, concentration-dependent inhibition was observed, with the rate of inhibition in MDA-MB-231 (high-invasive breast cancer cells) being the highest. The extract was divided into separate fractions and their inhibitory activity was assayed on the MDA-MB-231 cell line. It was found that the IC₅₀ of the fraction shows the highest degree of inhibition is 10 µg/mL. On the other hand, the *tanacetum vulgare* extract inhibits mildly recombinant DPP IV, indicating a high selectivity of the inhibitors to the proline-specific endopeptidase activity. These inhibitors have potential of therapeutic agents, including anti-tumor effect.

Reference:

1. Handbook of Proteolytic Enzymes (Ed. N. D. Rawlings, G. Salvesen), 3edn, Academic Press Elsevier, 2013
2. Yazbeck, R., Jaenisch S.E., Abbott C.A. Potential disease biomarkers: dipeptidyl peptidase 4 and fibroblast activation protein. *Protoplasma*, 2017. doi:10.1007/s00709-017-1129-5.

3. Babkova, K., Korabecny J., Soukup O., Nepovimova E., Jun D., Kuca K. Prolyl oligopeptidase and its role in the organism: attention to the most promising and clinically relevant inhibitors. *Future Med. Chem.*, 9(10), 2017, 1015-1038.
4. Dos Santos, M.Z., Dalcol II(1), Adolpho L., Teixidó M., Tarragó T., Morel A., Giralt E., Chemical Composition and Inhibitory Effects of *Hypericum brasiliense* and *H. connatum* on Prolyl Oligopeptidase and Acetylcholinesterase Activities. *Med. Chem.* 12(5), 2016, 457-63.

DO5. ВЛИЯНИЕ НА МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ С ШИФОВИ БАЗИ ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА И ПРОЛИФЕРАТИВНАТА АКТИВНОСТ НА КУЛТИВИРАНИ В ЛАБОРАТОРНИ УСЛОВИЯ ТУМОРНИ КЛЕТКИ

Десислав Динев¹, Таня Живкова¹, Лора Дякова², Милена Георгиева³, Георги Милошев³,
Габриела Маринеску⁴, Даниела-Кристина Кулица⁴, Луминица Патрон⁴, Радостина
Александрова¹

¹*Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей,
Българска академия на науките, София, България*

²*Институт по невробиология, Българска академия на науките, София, България*

³*Институт по молекулярна биология, Българска академия на науките, София,
България*

⁴*Институт по физикохимия "Илие Маргулеску", Букурещ, Румъния.*

DO6 ВЛИЯНИЕ НА МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ С ШИФОВИ БАЗИ ИЛИ КОДЖИКОВА КИСЕЛИНА ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА И ПРОЛИФЕРАТИВНАТА АКТИВНОСТ НА ТУМОРНИ КЛЕТКИ

Милена Главчева¹, Радостина Александрова¹, Таня Живкова¹, Лора Дякова², Здравка
Петрова¹, Десислав Динев¹, Габриела Маринеску³, Даниела-Кристина Кулица³,
Луминица Патрон³

¹*Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей,
Българска академия на науките, София, България*

²*Институт по невробиология, Българска академия на науките, София, България*

³*Институт по физикохимия "Илие Маргулеску", Букурещ, Румъния.*

DO7. ЗАМЪРСЯВАНЕТО НА ОКОЛНАТА СРЕДА С НЯКОИ ТЕЖКИ МЕТАЛИ И ИНОВАТИВНИ МЕТОДИ ЗА ТЕСТВАНЕ НАЛИЧИЕТО И М В ОРГАНИЗМА НА ЧОВЕКА

Юлия Караиванова

*Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов” , БАН
бул. "Цариградско шосе" N 73, София 1113, България
E-mail: ivanovaborisova2013@abv.bg*

Главната причина за замърсяване на околната среда с тежки метали е антропогенната дейност, която е свързана с различни източници на вредни емисии, надвишаващи естествените концентрации. Повечето от тях са в състояние да взаимодействат с генетични и епигенетични механизми, и да променят хода на нормалното развитие. В дългосрочен план, дори ниска експозиция на тези тежки метали повлиява на човешкото здраве, като проява на имуносупресия, ендокринни

смущения, репродуктивни аномалии и рак и др. Тестовите за установяване наличието им в организма, е начин да се предпазим от последващи усложнения. Важен подход при интоксикация с тежки метали е използването на комбинирана терапия с клинични и неклинични методи и нови иновативни технологии.

Ключови думи: тежки метали, токсикация, тестване, клинични методи, неклинични методи, наличието на тежки метали в организма, замърсяване, заболявания, екологични проблеми, здравословни проблеми, превенция

Увод

Човечеството е изложено на най-високите регистрирани в историята нива на олово, живак, арсен, кадмий, мед, никел, бисмут, ванадий, калай, алуминий, бром и др. Въпреки, че през последните години се обръща по-голямо внимание на новите иновативни методи и технологии в металургичната промишленост и останалите производства, относно опазване на околната среда, още се регистрират остатъчни количества от някои тежки метали. Те попадат в организма по орален или инхалаторен път. Острите и хронични отравяния с тях в повечето случаи водят до невъзможността за възстановяване първоначалните функции на организма. Засегнатите от токсичността на тежките метали ензими излизат под 5% нормалната си активност. Тестовите за установяване наличието на тежки метали в тялото, е начин да се предпазим от последващи усложнения, а възможността за прилагане на ГРВ-биоелектрографията-нов метод за оценяване на екологичното пространство и влиянието на околната среда върху човека. Важен подход при интоксикация с тежки метали е използването на комбинирана терапия с клинични и неклинични методи. Прилагане и разработване, насърчаване, развитието и разпространението на най-нови технологии, щадящи околната и методи за превенция и откриване наличието на тежките метали в организма на човека.

Изложение

Тежките метали не са биогенни елементи. Метали, които имат плътност, по-висока от 5 гр./см³, се приемат за тежки. Токсичното действие на определен тежък метал зависи от химичната форма в която се намира. Те се срещат в природата под формата на стабилни и водонеразтворими съединения – оксиди, сулфиди, карбонати и силикати. В тези количества не предизвикват здравни и екологични проблеми. Токсичните прояви на тези метали се дължат на генерирането на реактивни видове на кислорода и азота. Последни проучвания показват, че металите действат като катализатори в оксидативни реакции на биологични макромолекули и затова токсичността, свързана с тези метали може да се дължи на оксидативно тъканно увреждане. Докато редокси-активните метали като желязо, мед, хром, ванадий и кобалт участват в окислително-възстановителни реакции, свързани с трансфер на електрони, то редокси-неактивните метали като олово, кадмий, живак, никел и други, разрушават молекулите на основните антиоксиданти, особено на тиол-съдържащи антиоксиданти и ензими. Ние сме изложени на токсични метали ежедневно, без значение по какъв начин, от замърсяване на атмосферния въздух, води, почви, прибори за готвене, хранене, инструментариум, който използваме, почистващи препарати, козметика, опаковки, металите в устната кухина (корони, пломби, импланти, скоби и т.н.) и те имат разрушително въздействие върху организма на човека. Повечето от тях са в състояние да преминат през плацентата и да взаимодействат с генетични и епигенетични механизми, и да променят хода на нормалното развитие. Интоксикацията е трудна за диагностициране от лекарите. В дългосрочен план, дори ниска експозиция на тези

тежки метали повлиява на човешкото здраве, като проява на имunosупресия, ендокринни смущения, репродуктивни аномалии и рак и др. Изчислено е, че всяка година има повече от 13 милиона смъртни случаи, причинени от екологични причини. Почти една трета от тежестта на смъртността и заболяемостта в по-слабо развитите региони се дължи на екологични замърсявания.

Неклинични и клинични методи за определяне степента на интоксикация на човека с тежки метали.

Едни от най-често използваните начини за установяване наличието на тежки метали в организма на човека са: чрез кръвен тест, чрез изследване на урината, чрез изследване на слюнка, чрез изследване на потта, чрез анализ на коса или нокти, чрез анализ за метали във фецес, ICP-OES и ICP –MS, AAS-метода, ITM метод, метод на нозологична диагностика и др. Това може да се постигне частично и с приложение на сензори за оценяване на хомеостазата на биосистемата(ГРВ-биоелектрографията-за изучаване на свойствата на металите и сплавите и жизнената дейност на човека)-една иновативна и алтернативна технология.

Превенция от токсикация

Най-лесен начин е приемане на Витамин А , Витамин Б-комплекс, Витамин С и флавоноиди, Фибри, Хелатотерапия, Лецитин, Калций, Германий , Цинк, Клеп, Коензим Q10, чесън, Гинко, Готу кола, всички билки съдържащи сяра.

Заклучение

Токсичните увреждания в следствие замърсяване на околната среда с тежки метали е все по-често срещан проблем днес. Медицината не може самостоятелно да се бори и да го овладее. Необходимо е да се направи задълбочен анализ на икономическото, социалното и научноизследователското развитие на обществото и постигане координация и съгласуваност с националните, европейските и международни политики за конкуренция, опазване и подобряване на околната среда и равните възможности. Въвеждането на нови добри практики, методи и технологии е не само наложително, но и задължително. Повишаване на производствената, екологична и здравна култура на обществото, като цяло и на всеки отделен индивид за постигане на устойчиво развитие. Нашата цел е научно разработване и насърчаване развитието и разпространението на най- нови технологии, щадящи околната и методи за превенция и откриване наличието на тежките метали в човека.

Литература:

1. Бекяров, Г. Тежки метали-въздействието им върху здравето, източници на замърсяване и неклинични методи за определянето им в тялото на човека. Експертно становище, Пловдив, 2009.
2. Маклаков, Г. Възможности за приложение на ГРВ-технологията за мониторинг на околната среда. Сборник с доклади от Дванадесетата научна конференция с международно участие “Космос. Екология. Сигурност” SES-2016, БАН, 2016, с. 327–334
3. Сачанска, Г. Токсичност на тежките метали върху човешкия организъм- олово, мед, цинк. Доклад, Конференция ”Екологизация”-IV, 7-8 юни 2012.,
4. СТОЯНОВ, С. Тежки метали в околната среда и хранителните продукти; Токсично увреждане при човека, 1999.
5. Станчев и др., 1982; Райков и др., 1984. Кадмий като замърсител в околната среда

6. Интернет - www.bb-team.org/articles/2613_mikroelementi-himichnite-molekuli-na-zdraveto
7. Интернет-www.bjcancer.com; -npg – nature publishing group
8. Интернет - bg.wikipedia.org/wiki
9. Интернет – eea.government.bg
10. Интернет – www.lechitel.bg/newspaper.php
11. Интернет- www.club-zdrave.bg/ 2015
12. www.moew.government.bg., Доклад., Оценка на влиянието на контролираните атмосферни замърсители върху човешкото здраве
13. Интернет - www.naturalnews.com <http://biopogled.com/децата-с-аутизъм-имат-повече-токсични-метали-в-кръвта-17/03/2013>
14. Интернет - www.puls.bg/health/children/news_19250.html
15. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)., Biological Trace Element Research в Университет в щата Аризона (Arizona State University), 17/03/2013

ENVIRONMENTAL POLLUTION WITH SOME HEAVY METALS AND INNOVATIVE METHODS TO TEST THEIR PRESENCE IN THE HUMAN BODY

Julia Karaivanova

Institute of Biology and Immunology of Reproduction "Acad. K. Bratanov ", Bulgarian
Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria
E-mail: ivanovaborisova2013@abv.bg

Abstract

The main cause of environmental pollution with heavy metals is anthropogenic activity, which is associated with various sources of harmful emissions exceeding natural concentrations. Most of them are able to interact with genetic and epigenetic mechanisms, and change the course of normal development. In the long run, even low exposure to these heavy metals affects human health, such as immunosuppression, endocrine disruption, reproductive anomalies and cancer, etc. Testing for their presence in the body is a way to prevent further complications. An important approach to heavy metal intoxication is the use of combination therapy with clinical and non-clinical methods and new innovative technologies.

Key words: heavy metals, pollution, toxicity, intoxication, testing, diseases, clinical methods, non-clinical methods, ecological problems, health problems, prevention

Introduction

Mankind is exposed to the highest levels of lead, mercury, arsenic, cadmium, copper, nickel, bismuth, vanadium, tin, aluminum, bromine and others registered in history. Although more recent attention has been paid to new innovative methods and technologies in metallurgical production and other environmental productions, residual amounts of some heavy metals are still registered. They fall into the body by oral or inhalatory route. Acute and chronic poisoning with them in most cases leads to the inability to restore the original functions of the body. Heavy metals affected by enzymes exhibit less than 5% of their normal activity. Tests to detect the presence of heavy metals in the body are a way to prevent further complications, and the ability to apply ODS bioelectrography - a new method of assessing the environmental space and the impact of the environment on humans. An important approach to

heavy metal intoxication is the use of combination therapy with clinical and non-clinical methods. Apply and develop, promote, develop and distribute the latest environmentally friendly technologies and methods to prevent and detect the presence of heavy metals in the human body.

Exposition

The toxic effect of a heavy metal depends on the chemical form in which it is found. They occur in nature in the form of stable and water-insoluble compounds - oxides, sulphides, carbonates and silicates. In these amounts do not cause any health or environmental problems. The toxic effects of these metals are due to the generation of reactive species of oxygen and nitrogen. Recent studies have shown that metals act as catalysts in oxidative reactions of biological macromolecules and therefore the toxicity associated with these metals can be due to oxidative tissue damage. While redox-active metals such as iron, copper, chromium, vanadium and cobalt are involved in electron transfer-related oxidation-remediation reactions, redox-inactive metals such as lead, cadmium, mercury, nickel and the like destroy the molecules of the major antioxidants, especially thiol-containing antioxidants and enzymes. We are exposed to toxic metals daily, no matter how, from air pollution, water, soils, cooking utensils, meals, tools we use, cleaning products, cosmetics, packing, metal in the oral cavity (crowns, seals, implants, braces, etc.) and they have a devastating effect on the human body. Most of them are able to cross the placenta and interact with genetic and epigenetic mechanisms and change the course of normal development. Intoxication is difficult to diagnose by doctors. In the long run, even low exposure to these heavy metals affects human health, such as immunosuppression, endocrine disruption, reproductive anomalies and cancer, etc. It is estimated that each year there are more than 13 million deaths caused by environmental reasons. Almost one third of the severity of mortality and morbidity in less developed regions is due to environmental pollution.

Non-clinical and clinical methods for determining the degree of human intoxication with heavy metals.

Some of the most commonly used methods for detecting the presence of heavy metals in the human body are: blood tests, urinalysis, saliva research, sweat research, hair or nail analysis, metal analysis in faeces, ICP-OES and ICP-MS, AAS method, ITM method, nosological diagnosis method, etc. This can be achieved partly through the use of sensors for the assessment of homeostasis of the bio-system (bioelectrography for the study of metals and alloys properties and human activity) - an innovative and alternative technology

Prevention of Toxicity
The easiest way is to take Vitamin A, Vitamin B Complex, Vitamin C and Flavonoids, Fibers, Heat Therapy, Lecithin, Calcium, Germanium, Zinc, Clip, Coenzyme Q10, Garlic, Ginkgo, Gotowa, all herbs containing sulfur.

Conclusion

Toxic damage due to environmental pollution with heavy metals is an increasingly common problem today. Medicine can not fight alone and control it. It is necessary to carry out a thorough analysis of the economic, social and research development of society and to achieve coordination and coherence with national, European and international competition policies, environmental protection and improvement and equal opportunities. The introduction of new good practices, methods and technologies is not only imperative but also mandatory. Increasing the production, environmental and health culture of society as a whole and of each individual to achieve sustainable development. Our goal is to scientifically develop and promote the development and dissemination of the latest environmentally friendly

References

- Bekyarov, G. Heavy metals - their impact on health, sources of pollution and non-clinical methods for their determination in the human body. Expert Opinion., Plovdiv., October 2009.
- Maklakov, G. Opportunities to apply the PLW technology for environmental monitoring. Collection of papers from the 12th scientific conference with international participation "Cosmos.Ecology.Security"SES-2016,BAS,2016,pp.327-334
- Sakanska, G. Toxicity of heavy metals on the human body - lead, copper, zinc. Report, Conference"Ecology"-IV,7-8June2012.,
- Dr..Maneva, P. Reasons for biochemical imbalance in autistic children and their treatment. 2013
- STOYANOV, S.Heavy metals in the environment and food products;Toxic injury in humans.,1999
- Stanchev et al., 1982; Raikov et al., 1984. Cadmium as a pollutant in the environment
- Internet -www.bb-team.org
- Internet -www.bb-team.org/articles/2613_mikroelementi-himichnite-molekuli-na-zdraveto
- Internet -www.bb-team.org
- Internet -www.bjcancer.com;-npg – nature publishing group
- Internet - bg.wikipedia.org/wiki
- Internet – eea.government.bg
- Internet – www.lechitel.bg/newspaper.php
- Internet - www.club-zdrave.bg/ 2015
- Internet - www.naturalnews.com http:
- www.moew.government.bg.,, Report., Assessment of the Impact of Controlled Atmospheric Pollutants on Human Health
- Internet - www.naturalnews.com [http://biopogled.com/децата-с-аутизъм-имат-повече-токсични метали в кръвта](http://biopogled.com/децата-с-аутизъм-имат-повече-токсични-метали-в-кръвта) 17/03/2013
- Internet - www.puls.bg/health/children/news_19250.html
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Biological Trace Element Research at the Arizona State University (Arizona State University), 17/03/2013

