

Резюмета на **български език** от научните публикации на гл. ас. Росица Светолик Милчева, доктор, от секция “Патология” на ИЕМПАМ-БАН за участие в конкурс за заемане на академична длъжност “доцент” в област 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност “Имунология” (01.06.23), обявен в Държавен вестник – брой 38, стр. 79, от 28.04.2023 г.

Biologia 64/1: 180—186, 2009
Section Zoology
DOI: 10.2478/s11756-009-0015-9

Glycosylation changes in different developmental stages of *Trichinella*

Rositsa S. Milcheva^{1,3}, Svetlozara L. Petkova¹, Pavol Dubinský², Zuzana Hurniková²
& Pavel Babál^{3*}

¹Institute of Experimental Pathology and Parasitology, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., block 25, 1113 Sofia, Bulgaria

²Parasitological Institute, Slovak Academy of Sciences, Hlinkova 3, SK-04001 Košice, Slovakia

³Department of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University, Sasinkova 4, SK-81372 Bratislava, Slovakia; e-mail:

pavel.babal@fmed.uniba.sk

Резюме: Извършено е *in situ* идентифицирането на въглехидратните структури в чревните ларви на *Trichinella spiralis*, възрастните и L1 мускулните ларви, чрез лектинова хистохимия, с акцент върху O-свързаните гликани. Липсата на реактивност с два лектина-TML и MAL показва, че *Trichinella spiralis* не синтезира сиалова киселина. Реактивността с HPA, VVL-B4, PNA и UEA-I оцветяване предполага, че *T. spiralis* синтезира и експресира върху своята кутикула O-свързани гликани, аналогични на Tn-антиген (GalNAc- α -Ser/Thr), T-антиген (Gal- β 1,3-GalNAc- α -Ser/Thr), както и структури, аналогични на антигени от A-кръвна група (GalNAc- α 1,3-Gal- β 1,3(4)-(Fuc- α 1,2-)-R). Експресията на захаридните части е специфична за етапа. Структурите на кръвна група A и T-антиген бяха идентифицирани върху кутикулата на чревните и мускулните ларви. Структурата на Tn-антигена липсва в чревните ларви. Подходящи лиганди за WGA не са идентифицирани при възрастни индивиди. Получените резултати могат да допринесат за по-добро разбиране на гликобиологията на този паразитен нематод във връзка с окупацията на неговата вътреклетъчна ниша. Наличието на захаридни структури, аналогични на някои от тези, експресирани върху чревните епителни клетки, може да служи като защитен щит на повърхността на паразита.

Ключови думи: *Trichinella spiralis*; лектинова хистохимия; T-антиген; Tn-антиген; O-гликани

Apoptosis as the adaptation mechanism in survival of *Trichinella spiralis* in the host

Pavel Babal & Rosica Milcheva & Svetlozara Petkova & Pavol Janega & Zuzana Hurnikova

Резюме: Проучването оценява ролята на апоптозоиндуциращия фактор (AIF) в процеса на трансформация на набраздени мускулни клетки след окупация от *Trichinella spiralis*. Връзката му с други фактори, свързани с апоптозата [фактор 1, активиращ апоптотична протеаза, протеин X, свързан с Bcl-2 (BAX), Bcl-2, каспаза 3, сървивин, поли (ADP-рибоза) полимераза-1 (PARP-1) и ендотелна и индуцируема (iNOS) синтаза на азотен оксид] беше оценен чрез имунохистохимия. В контекста на ниската експресия на BAX и каспаза 3 и силното разпределение на AIF в саркоплазмата и ядрото в много ранния стадий на инфекцията, ние предполагаем, че AIF-медираното сигнализиране е включено в активирането на апоптозата в областта на окупацията на *Trichinella*. Във времевия ход на образуването на Поддържащата клетка на *Trichinella*, сървивин и каспаза 3 мигрираха в уголемените ядра със силна експресия на PARP-1. В края на капсулирането на *Trichinella*, експресията на всички проапоптотични фактори престава и само оцеляването в ядрата и позитивността на Bcl-2 в цитоплазмата продължават да се запазват в образуваната Поддържаща клетка. Експресията на саркоплазмената iNOS отсъства по време на процеса на дедиференциране на мускулните клетки и се появява отново в Поддържащата клетка. Изглежда, че регулирането нагоре и надолу на факторите на апоптозата в клетката на скелетните мускули представлява адаптивен механизъм, осигуряващ удобна ниша за паразита.

Alcohol based fixatives provide excellent tissue morphology, protein immunoreactivity and RNA integrity in paraffin embedded tissue specimens

Rositsa Milcheva^{a,c}, Pavol Janega^a, Peter Celec^b, Russy Russev^c, Pavel Babál^{a,*}

^aDepartment of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Sasinkova 4, 81372 Bratislava, Slovakia

^bDepartment of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Sasinkova 4, 81372 Bratislava, Slovakia

^cИЕМРАМ, Bulgarian Academy of Sciences, “Acad. G. Bonchev” Str. 25, 1113 Sofia, Bulgaria

Резюме:

Техниките за фиксиране, запазващи морфологичната точност, протеиновата антигенност и целостта на нуклеиновите киселини, могат да имат голямо въздействие върху основните и приложните биомедицински науки и диагностичната патология. Различни типове миши тъкани бяха фиксирани с неутрален буфериран формалин, етанол, допълнен с оцетна киселина и модифициран метакарн (метанол-Carnoy) фиксатор. Фиксираните с алкохол проби се обработват в тъканен процесор Autotechnicon или в инкубатор. Запазването на тъканната морфология беше оценено във всички проби и имунореактивността беше оценена с антители, специфични за протеини с ядрена, мембранна или цитоплазмена локализация. РНК се екстрахира от всички групи проби от фиксирани скелетни мускули на задните крайници и се оценява спрямо нефиксирана тъкан за запазване на нейното количество и качество чрез амплификация на генно-специфични фрагменти с различни дължини. И двата фиксатора на алкохолна основа запазват тъканната архитектура и специфичността на имунореактивността в отлично качество; подходът на изрязване не доведе до забележими разлики. Олигонуклеотидни фрагменти с дължина между 108 и 577 базови двойки бяха амплифицирани от всички групи проби от фиксирани в алкохол скелетни мускули в количества, сравними с нефиксираната мускулна тъкан. Ние заключаваме, че и двата фиксатора на алкохолна основа са отличен инструмент за съхранение на тъканни проби, предназначени за имунохистохимични и изследвания на експресията на иРНК, когато достъпът до свежи проби е ограничен.

The occupation of intestinal epithelium by *Trichinella spiralis* in BALB/C mice is not associated with local manifestation of apoptosis related factors

Rositsa Milcheva & Svetlozara Petkova & Zuzana Hurniková & Pavol Janega & Pavel Babál

Резюме: *Trichinella spiralis* активно преминава през епителните клетки на чревната лигавица, но морфологично тези клетки не показват видимо увреждане. Възможното активиране на апоптотични механизми в лигавицата на тънките черва след инфекция с ларви и възрастни *Trichinella spiralis* е изследвано чрез имунохистохимия. Спорадични отделни клетки от нормален чревен епител показват активиране на каспаза-3, повишена експресия на AIF или Вах. Ларвният стадий на чревната трихинелоза се характеризира с изкривяване на клетките на върховете на влакната, които са силно реактивни към антителата на каспаза-3, Вах и сурвивин. Имаше преходна загуба на експресията на сурвивин върху границата на четката на епителните клетки на 15-ия час след инфекцията, която се появи отново на петия ден. Bcl-2 промени нормалното си апикално разпределение и се премести в базалната част на епителните клетки. Не са наблюдавани значителни промени в експресията на избраните протеини, свързани с апоптозата, в чревните епителни клетки, непосредствено заобикалящи червеите. Наличието на *Trichinella* засяга чревните епителни клетки, но за разлика от мускулните клетки, инвазията им не инициира активиране на апоптотични фактори.

SERUM SIALIC ACID LEVELS IN *TRICHINELLA SPIRALIS* INFECTED RATS

Dimitar Ivanov, Rositsa Milcheva, Svetlozara Petkova, Margarita Gabrashanska

Резюме: Сиаловите киселини, голямо семейство производни на невраминова киселина, са киселинни монозахариди, присъстващи като краен компонент на олигозахаридните вериги на много гликопротеини и гликолипиди. Те играят важна роля в много физиологични и патологични процеси като клетъчно-клетъчни комуникации, взаимодействие клетка-субстрат, адхезия, поддържане на серумните гликопротеини в кръвообращението, регулиране на имунния отговор и насочване на протеини. Проучванията показват, че оценката на серумната сиалова киселина може да бъде ценен индикатор за диагностика и прогноза на много възпалителни заболявания. В настоящото изследване ние изследвахме съдържанието на свободна, свързана с липиди и протеин сиалова киселина в нормален серум и в серум на плъхове с инфекция с *Trichinella spiralis* в различни фази на заболяването. Експериментът обхваща 8 седмици след заразяването. Анализът на данните разкрива, че серумните концентрации на сиалова киселина в инфектираните с *Trichinella* плъхове са значително по-високи (на седмица 8) от тези, открити при здравите контроли. Наблюдава се силна положителна корелация между серумните нива на различните форми на сиалова киселина и развитието на заболяването.

Ключови думи: Сиалова киселина, *Trichinella spiralis*, острофазови протеини, възпаление

NUCLEAR DISTRIBUTION OF PROTEINS IN SKELETAL MUSCLE FIBRE INVADED BY *TRICHINELLA SPIRALIS*

Rositsa Milcheva, Svetlozara Petkova, Dimitar Ivanov, Ivan Iliev, Pavol Janega, Pavel Babal

Резюме: Комплексът Поддържаща клетка – *Trichinella spiralis* е обект на изследователски интерес в продължение на много десетилетия поради тенденцията на набраздените миофибри да отговарят на нуждите на инвазивния паразит без никакви усилия да се защитава. Тази биологична система е отличен модел за изследване на широките и все още неидентифицирани адаптивни способности на набраздената мускулна тъкан. В тази работа ние демонстрираме повишена регулация на двата ядрени протеина поли (ADP-рибоза) полимераза-1 (PARP-1) и ядрен антиген на пролифериращи клетки (PCNA) в ядрата на заетата част от скелетните мускулни влакна във времеви курс на неговата трансформация към Поддържаща клетка след инвазия от *T. spiralis*. Ние също така показваме, че процесът на трансформация е свързан с ядрено разпределение на фактор, индуциращ апоптоза (AIF), Bcl-2 свързан протеин X (Bax) и каспаза-3, които обикновено се намират в други клетъчни отделения, и протеини с произход от *Trichinella*. Очевидно *Trichinella* има способността да регулира вътреклетъчните системи, което все още не е напълно разбрана. Представените резултати отварят някои нови гледни точки относно пластичността на клетките на скелетната мускулатура.

Ключови думи: ядро, скелетен мускул, *Trichinella*

INFLUENCE OF FUMONISIN B1 AND DEOXYNIVALENOL ON THE IMMUNE SYSTEM OF CHICKENS AFTER APPLICATION IN QUANTITIES, NATURALLY PRESENTED IN FODDERS

Katerina Todorova, Petar Dimitrov, Reneta Toshkova, Simona Lazarova, Elena Gardeva, Liliya Yossifova, Boyka Andonova-Lilova, Rositsa Milcheva, Russy Russev

Резюме: Фумонизин В1(FB1) и деоксиниваленол (DON) са микотоксини, чийто прием може да доведе до тежки интоксикации, промени в структурата и функцията на различни органи, имunosупресия или рак. Целта на това изследване беше фокусирана върху влиянието на FB1 и DON върху имунната система на пилетата в концентрации, които обикновено съществуват в природата. FB1 и DON се прилагат поотделно или в комбинация в диетата на пилетата за период от две седмици. Анализи на жизнеспособността и функционалната активност на лимфоцитите и макрофагите бяха проведени *in vitro*. Морфоструктурните промени се определят чрез рутинни хистопатологични и ултраструктурни изследвания на тимуса, далака и *bursa Fabricii*. Нашите резултати показват, че броят на жизнеспособните кръвни лимфоцити от групата, приемаща FB1/DON, е значително намален, както и тяхната пролиферативна активност и митогенен отговор. Лимфоцитите от далака показват намалена пролиферация, но запазен митогенен отговор. Функциите на макрофагите – разпространение и фагоцитоза също са значително намалени. Хистологичните и ултраструктурните находки разкриват промени в лимфоидните органи, разграничени главно в групите FB1 и FB1/DON. Стигнахме до заключението, че приложените концентрации на FB1 и DON, и по-специално тяхната комбинация, могат да повлияят на здравето и имунния статус на домашни птици.

Ключови думи: деоксиниваленол, фумонизин В1, домашни птици

**Increased sialylation as a phenomenon in accommodation of the parasitic nematode
Trichinella spiralis (Owen, 1835) in skeletal muscle fibres**

Rositsa Milcheva^{1,2}, Dimitar Ivanov¹, Ivan Iliev¹, Russy Russev¹, Svetlozara Petkova¹, Pavel Babál²

¹Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria; ²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia

Резюме: Биологията на сиаловите киселини е обект на интерес в много модели на придобита и наследствена патология на скелетните мускули. Настоящото изследване се фокусира върху промените в сиалилирането в скелетните мускули на мишката след инвазия от паразитния нематоден *Trichinella spiralis* (Owen, 1835). Асинхронна инфекция с *T. spiralis* е индуцирана при мишки, които са били умъртвени в различни времеви точки от мускулната фаза на заболяването. Нивата на свободна сиалова киселина, сиалилирани гликопротеини и общата сиалилтрансферазна активност бяха количествено определени. Беше извършена хистохимия с лектини, специфични за сиалова киселина, за да се локализира разпределението на сиалилираните гликоконюгати и да се изясни вида на връзката на остатъците от сиалова киселина върху въглехидратните вериги. Повишено вътреклетъчно натрупване на α -2,3- и α -2,6-сиалирани гликоконюгати се открива само в засегнатата саркоплазма на мускулни влакна, нападнати от паразита. Нивата на свободна и свързана с протеин сиалова киселина са повишени и общата сиалилтрансферазна активност също е повишена в скелетната мускулна тъкан на животни с трихинелоза. Предполагаме, че биологичното значение на това явление може да бъде свързано с осигуряването на целостта на новосформираната Поддържаща клетка в заобикалящата здрава скелетна мускулна тъкан. Повишеното сиалиране може да инхибира съкратителната способност на засегнатата мускулна клетка чрез намалено йонно затваряне на мембраната, подпомагайки процеса на настаняване на паразита.

Ключови думи: гликозилиране, сиалова киселина, Поддържаща клетка

Доклади на Българската академия на науките
Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences
Tome 68, No 5, 2015

FUMONISIN B1 CYTOTOXICITY AND SUBCELLULAR LOCALIZATION IN DUCK EMBRYO CELL LINE DEC 99

Katerina Todorova, Ivan Ivanov, Ani Georgieva, Simona Lazarova, Rosica Milcheva, Petar Dimitrov, Rumen Dimitrov, Russy Russev

Резюме: Проведено е сравнително изследване на цитотоксичния ефект на фумонизин В1 (FB1) върху клетъчни линии BALB/с 3Т3 и DEC 99. Новоизпитаната клетъчна линия DEC 99 изглежда по-чувствителна от линията BALB/с 3Т3 според извършения анализ на поглъщане на неутрално червено. Изследванията със светлинен микроскоп на DEC 99 култури, третирани с FB1, показват променен монослой с свободни от клетки пространства и изобилие от мъртви клетки. Имуноцитохимичните техники (имунофлуоресцентно и имунозлатно маркиране) доказаха проникването на токсина през клетъчните мембрани. Токсинът се визуализира в цитоплазмата и в ядрото на третираните клетки.

Ключови думи: фумонизин В1, клетъчна линия DEC 99, имуноцитохимия

INHIBITORY EFFECT OF SOME NUCLEOTIDES, AND NUCLEOTIDE SUGAR DERIVATIVES ON THE MICROSOMAL SIALYLTRANSFERASE ACTIVITY OF MCF-7 CELLS

Dimitar Ivanov, Radostina Alexandrova, Rositsa Milcheva, Katerina Todorova

Резюме: Сиалирането на гликопротеини и гликолипиди играе важна роля в много процеси на клетъчната повърхност, като клетъчно-клетъчна комуникация, взаимодействие на клетъчната повърхност, адхезия и регулиране на имунния отговор. Следователно, инхибиторите на сialiлтрансферазите за регулиране на сиалирането могат да бъдат от медицински интерес, особено при терапията на ракови заболявания. В настоящото изследване ние изследвахме инхибирането на общата сialiлтрансферазна активност на цитидин 50-монофосфат N-ацетилневраминови киселини в MCF-7 микрозомна фракция, използвайки различни нуклеотидни инхибитори и новосинтезирани производни на невраминова киселина. Цитидиновите нуклеотиди показват най-висок инхибиторен ефект върху съединенията, тествани в това проучване. Силата на инхибиране за всички нуклеотиди нараства с броя на фосфатните групи. Открихме, че 4 mM AMP не инхибира ензима в MCF-7 клетки, докато 2 mM ATP инхибира ензимната активност с 50,9%.

Ключови думи: MCF-7 клетки, сialiлтрансфераза, нуклеотидни инхибитори

Accumulation of α -2,6-sialyoglycoproteins in the muscle sarcoplasm due to *Trichinella sp.* invasion

Rositsa Milcheva*, Pavol Janega, Peter Celec, Svetlozara Petkova, Zuzana Hurniková, Barbora Izrael-Vlková, Katerina Todorova, Pavel Babál

Резюме: Сиалирането на гликопротеините в скелетната мускулна тъкан не е добре проучено, въпреки че съществената роля на сиаловите киселини за правилната мускулна функция е доказана от много изследователи. Инвазията на паразитната нематода *Trichinella spiralis* в мускулите с последващо образуване на Поддържащата клетка-паразитен комплекс иницира повишено натрупване на сиалилирани гликопротеини в засегнатата област на мускулното влакно. Целта на това изследване е да опише някои подробности за α -2,6-сиалирането в нахлулите мускулни клетки. Асинхронна инвазия с инфекциозни ларви на *T. spiralis* беше експериментално индуцирана при мишки. Областите на заетата саркоплазма са реактивни към специфичен за α -2,6-сиалова киселина аглутинин на *Sambucus nigra* по време на целия процес на трансформация в Поддържащата клетка. Цитоплазмата на развиващата се Поддържаща клетка реагира с аглутинин на *Helix pomatia*, аглутинин на *Arachis hypogea* и *Vicia villosa* lectin-B4 след предварителна обработка с невраминидаза. Повишена регулация на ензима ST6GalNAc1 и низходяща регулация на ензима ST6GalNAc3 бяха открити по време на хода на това изследване. Резултатите от нашето проучване предполагат натрупване на сиалил-Tn-Ag б⁶-сиалил лактозамин, SiA- α -2,6-Gal- β -1,3-GalNAc- α -Ser/Thr и Gal- β -1,3 -GalNAc(SiA- α -2,6)- α -1-Ser/Thr олигозахаридни структури в заетата саркоплазма. Допълнителни изследвания в тази област ще развият разбирането за удивителните адаптивни способности на скелетната мускулна тъкан.

Ключови думи: Поддържаща клетка; сиалови киселини; скелетни мускули; *Trichinella*

ABSENCE OF ST3GAL2 AND ST3GAL4 SIALYLTRANSFERASE EXPRESSIONS IN THE NURSE CELL OF *TRICHINELLA SPIRALIS*

R. S. MILCHEVA¹, P. JANEGA², S. L. PETKOVA¹, K. S. TODOROVA¹, D. G. IVANOV¹ & P. BABÁL²

¹Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum – Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria, ²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia

Резюме: Това проучване имаше за цел да опише някои промени в гликозилирането в Поддържащата клетката на *Trichinella spiralis* в скелетния мускул на мишка. Тъканните проби бяха подложени на лектинова хистохимия с лектин на *Maackia amurensis* (MAL), фъстъчен аглутинин (PNA) и десиалиране на невраминидаза, за да се провери и анализира структурата на α -2,3-сиалилирани гликопротеини, открити в засегнатата саркоплазма. Експресиите на две сиалилтрансферази бяха изследвани чрез имунохистохимия. Установи се, че заетата част от клетката на скелетната мускулатура реагира със синтез на предполагаем сиалил-тантиген и α -2,3-сиалилактозамин структура, които остават натрупани по време на развитието на Поддържащата клетка. Ензимите β -галактозид- α -2,3-сиалилтрансферази 2 и 4, които биха могли да бъдат отговорни за сиалирането на всяка от тези структури, обаче не присъстваха в нахлулите мускулни части, въпреки че техните експресии в здравата околна тъкан остават устойчиви. Нашите резултати допринасят за допълнително разбиране за удивителните способности на *Trichinella spiralis* да манипулира генетичната програма на своя гостоприемник.

Ключови думи: Поддържаща клетка, сиалови киселини, сиалилтрансферази, *Trichinella spiralis*

CYTOTOXICITY OF THE *FUSARIUM* MYCOTOXIN DEOXYNIVALENOL ON MAMMALIAN AND AVIAN CELL LINES

K. TODOROVA¹, A. GEORGIEVA¹, R. MILCHEVA¹, D. IVANOV¹ & I. KALKANOV²

¹Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum – Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria; ²Department of General and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

Резюме: Трихотецените са микотоксини, които се срещат в зърната и могат да доведат до остро и хронично отравяне при животни и хора. Дезоксиниваленолът (DON) е трихотецен тип В, който засяга протеиновия синтез, имунната система, което води до мозъчни, кръвни и бъбречни нарушения. Целта на тази работа беше да се оцени *in vitro* цитотоксичността и патологичните ефекти на DON в краткосрочни експерименти върху клетки от нетуморни и туморни постоянни клетъчни линии и да се сравни тяхната чувствителност. Извършено е клетъчно култивиране на BALB/c 3T3, DEC 99, MDA-MB-231, MCF-7 и Hela клетки. Използвани са количествени и качествени методи за оценка на цитотоксичността на базата на статистически и морфологични анализи за определяне на влиянието върху жизнеспособността и пролиферативната активност: тест за цитотоксичност с неутрален червен прием (NRU), 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)- Тест с 2,5-дифенилтетразолиев бромид (MTT) и флуоресцентна микроскопия. Цитотоксичният ефект на DON се оценява след период на експозиция от 24 часа. Лечението с DON индуцира значителни промени в растежа и морфологията на клетките, включващи ранна и късна апоптоза и признаци на некроза. Установено е статистически значимо намаление на жизнеспособността на всички клетъчни линии при концентрации на DON, започващи от 1,9 µg/mL до 3,7 µg/mL, като са изчислени средните IC50 концентрации. Според стойностите на IC50 се определя йерархичният ред на чувствителността на клетъчните линии.

Ключови думи: цитотоксичност, дезоксиниваленол, постоянни клетъчни линии

Volume 65(2):253-261, 2021
Acta Biologica Szegediensis
<http://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs>
DOI:10.14232/abs.2021.2.253-261

Expression of sialyltransferases from the *St3gal*, *St6gal* and *St6galnac* families in mouse skeletal muscle and mouse C2C12 myotubes

Rositsa S. Milcheva*, Any K. Georgieva, Katerina S. Todorova, Svetlozara L. Petkova

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

РЕЗЮМЕ: В скелетните мускули сиаловите киселини имат голямо значение за тяхното функционално поддържане и правилна структурна организация. Нашата работа описва експресиите на *St3gal*, *St6gal* и *St6galnac* сиалилтрансферази, специфични за гликопротеини в миши скелетни мускули и миши C2C12 миотуби. Лектинова хистохимия, цитохимия и лектиново петно бяха използвани за демонстриране на локализацията на мембраната и електрофоретичните профили на α -2,3- и α -2,6-сиалилирани гликопротеини. Нивата на експресия на сиалилтрансферазите се анализират чрез RT-PCR в реално време и Western blot. Ензимите *St6gal2* и *St6galnac1* не се експресират в скелетната мускулна тъкан и C2C12 миотуби. И в двете експериментални групи иРНК от семейството на *St3gal* преобладават над експресиите на иРНК на семействата *St6gal* и *St6galnac*. Профилите на експресията на сиалилтрансфераза показват разлики между двете експериментални групи, илюстрирани от липсата на експресии на иРНК за гените *St3gal6* и *St6galnac3* в клетъчните проби C2C12 и от различните дялове на ензимите *St3gal3* и *St3gal4* в двете експериментални групи. Различните модели на ензимни експресии в двете експериментални групи съответстват на разликите между техните профили на α -2,3- и α -2,6-сиалилиран гликопротеин. Тези резултати могат да бъдат полезно допълнение към знанията относно гликозилирането на скелетната мускулна тъкан.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: C2C12 миотубули, сиалиране, сиалилтрансферази, скелетни мускули

Sonochemically engineered nano-enabled zinc oxide/amylase coatings prevent the occurrence of catheter-associated urinary tract infections

Aleksandra Ivanova^a, Kristina Ivanova^a, Ilana Perelshtein^b, Aharon Gedanken^b, Katerina Todorova^c, Rositsa Milcheva^c, Petar Dimitrov^c, Teodora Popova^d, Tzanko Tzanov^{a,*}

^aGroup of Molecular and Industrial Biotechnology, Department of Chemical Engineering, Universitat Politècnica de Catalunya, Rambla Sant Nebridi 22, 08222, Terrassa, Spain

^bThe Department of Chemistry and Institute for Advanced Materials and Nanotechnology, Bar-Ilan University, Ramat-Gan 52900, Israel

^cInstitute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Geo Milev, 1113 Sofia, Bulgaria

^dFaculty of Veterinary Medicine, University of Forestry, 10 Sveti Kliment Ohridski Ave, 1756 Sofia, Bulgaria

РЕЗЮМЕ: Свързаните с катетър инфекции на пикочните пътища (CAUTI), причинени от биофилми, са най-честите инфекции, свързани със здравеопазването. Необходими са нови антибиофилмови покрития, за да се увеличи продължителността на живота на уринарните катетри, да се намали разпространението на CAUTI и да се намали развитието на антимикробна резистентност. Тук антибактериалните наночастици от цинков оксид (ZnO NPs) бяха покрити с разграждащ матрицата на биофилм ензим амилаза (AM) и едновременно отложени върху силиконови уринарни катетри в едноетапен сонохимичен процес. Получените наноактивирани покрития инхибират образуването на биофилм от *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* съответно с 80% и 60% за до 7 дни *in vitro* в модел на катетеризиран пикочен мехур с рециркулация на изкуствена урина поради допълващия режим на антибактериално и антибиофилмово действие, осигурено от NP и ензима. През този период покритията не предизвикват токсичност за клетъчни линии на бозайници. *In vivo*, нанопроектираните катетри с покритие от ZnO@AM демонстрират по-ниска честота на бактериурия и предотвратяват ранната поява на CAUTIs в заешки модел, в сравнение с животните, третирани с девствени силиконови устройства. Нанофункционализацията на катетри с хибридни ZnO@AM покрития се явява обещаваща стратегия за превенция и контрол на CAUTI в клиниката.

Ключови думи: Сонохимия, Амилаза, Наночастици на цинков оксид, Инхибиране на биофилм, Превенция на бактериални инфекции

The synthesis of UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE), α -dystroglycan, and β -galactoside α -2,3-sialyltransferase 6 (ST3Gal6) by skeletal muscle cell as a response to infection with *Trichinella spiralis*

R. MILCHEVA^{1,*}, K. TODOROVA², A. GEORGIEVA³, S. PETKOVA⁴

Institute of experimental morphology, pathology and anthropology with museum – Bulgarian Academy of Sciences. Acad. G. Bonchev Str., block 25, Sofia 1113, Bulgaria, 1,*ORCID 0000-0003-1103-9026, E-mail: ^{1*}rosicamilcheva@abv.bg, ²katerinagencheva@yahoo.com, ³georgieva_any@abv.bg, ⁴svetlozarapetkova@abv.bg

Резюме: Клетката-сестра на паразитната нематода *Trichinella spiralis* е уникална структура, създадена след генетична, морфологична и функционална модификация на малка част от инвазираните скелетни мускулни влакна. Дори ако новоразвитата цитоплазма на Поддържащата клетка вече не е контрактилна, тази структура остава добре интегрирана в околната здрава тъкан. Нашите предишни изследвания предполагат, че този процес е придружен от повишена локална биосинтеза на сиалилирани гликопротеини. В тази наша разработка изследвахме експресиите на три протеина, функционално свързани с процеса на сиалиране. Ензимът UDP-N-ацетилглюкозамин 2-епимераза/N-ацетилманозамин киназа (GNE) е ключов инициатор на биосинтетичния път на сиалова киселина. α -дистрогликанът е единственият идентифициран сиалилиран гликопротеин в скелетните мускули досега, носещ сиалил- α -2,3-Gal- β -1,4-GlcNAc- β -1,2-Man- α -1-O-Ser/Thr гликан. Третият протеин, представляващ интерес за това изследване, е ензимът β -галактозид α -2,3-сиалилтрансфераза 6 (ST3Gal6), който прехвърля сиалова киселина за предпочитане върху Gal- β -1,4-GlcNAc като акцептор и по този начин се счита, че като подходящ кандидат за сиалирането на α -дистрогликана. Експресиите на трите протеина бяха анализирани чрез PCR в реално време и имунохистохимия върху модифицирани с метакарн фиксирани парафинови тъканни срезове на проби от скелетни мускули на мишка, събрани на дни 0, 14 и 35 след инфекцията. Според нашите открития, повишената регулация на GNE е характеристика на ранния и късния етап от развитието на Поддържащата клетка. Допълнителни характеристики на този процес са повишените експресии на α -дистрогликан и ензима ST3Gal6. Ние предоставихме убедителни доказателства, че повишеният локален синтез на сиалови киселини е характеристика на Поддържащата клетка на *T. spiralis* и поне отчасти се дължи на свръхекспресия на α -дистрогликан. В допълнение, косвенно предполагахме, че ензимът ST3Gal6 е включен в процеса на сиалиране на основния олигозахариден компонент на α -дистрогликан.

Ключови думи: α -дистрогликан, GNE, Поддържаща клетка, Сиалова киселина, Скелетни мускули, *Trichinella spiralis*

***Trichinella spiralis* (Owen, 1835) Induces Increased Dystrophin Expression in Invaded Cross-striated Muscle**

Rositsa Milcheva¹, Iveta Mečiarová², Katerina Todorova¹, Valeria Dilcheva¹, Svetlozara Petkova¹, Pavel Babál³

Резюме:

Предназначение: Дистрофинът и дистрофиновият гликопротеинов комплекс служат като цитоскелетен интегратор, критичен за стабилността на мускулната мембрана. Целта на настоящото изследване беше да се изясни експресията на дистрофин протеин и иРНК в скелетната мускулна тъкан по време на мускулната фаза на трихинелоза при мишки.

Методи: Мускулна тъкан се събира от мишки, експериментално заразени с *Trichinella spiralis* на дни 0, 14 и 40 след заразяването. Експресията на дистрофин в мускулната тъкан беше изследвана чрез имунохистохимия с антитела срещу три различни домена на протеина и нивата на експресия на *Dys* иРНК чрез PCR в реално време.

Резултати: Наличието на дистрофинов протеин се увеличава в дедиференциращата цитоплазма в ранния стадий на мускулна инфекция и се запазва също и в зрялата Поддържаща клетка, съдържаща паразита. Той беше придружен от значително повишена експресия на *Dys* иРНК на 14 и 40 дни след инфекцията.

Заключение: Нашите открития показват, че дистрофинът играе роля в регенерацията на мускула и в образуването и стабилността на Поддържащата клетка за сигурността на оцеляването на паразита.

Ключови думи: дистрофин, Поддържаща клетка, скелетен мускул, *Trichinella spiralis*

Novel Triple Stimuli Responsive Interpenetrating Poly(Carboxybetaine Methacrylate)/Poly(Sulfobetaine Methacrylate) Network

Konstans Ruseva^{1,*}, Katerina Todorova², Tanya Zhivkova², Rositsa Milcheva², Dimitar Ivanov², Petar Dimitrov², Radostina Alexandrova² and Elena Vassileva^{1,*}

¹Laboratory on Structure and Properties of Polymers, Department of Pharmaceutical and Applied Organic Chemistry, Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University “St. Kl. Ohridski”, 1 J. Bourchier Blvd., 1164 Sofia, Bulgaria

²Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., Bl. 25, 1113 Sofia, Bulgaria

* Correspondence: ohtkr@chem.uni-sofia.bg (K.R.); ohtev@chem.uni-sofia.bg (E.V.);

Tel.: +359-281-614-95 (K.R.)

Резюме: Проучването съобщава за синтеза и характеризирането на нови тройни стимули, които реагират взаимопроникваща полимерна мрежа (IPN), базирана на две полицвителионни мрежи, а именно от поли (карбоксиветин метакрилат) и поли (сулфоветин метакрилат). Zwitterion IPN хидрогелът демонстрира способността да се разширява или свива в отговор на промени в три „биологични“ външни стимула като температура, рН и концентрация на сол. IPN хидрогелът показва добра механична стабилност. Освен това са демонстрирани други важни характеристики като нецитотоксичност и антибиообрастваща активност срещу три широко разпространени бактерии като *P. Aeruginosa*, *A. Baumannii* и *K. Pneumoniae*. Поведението *in vivo* на новия цвителионен IPN хидрогел предполага, че този интелигентен материал има много добър потенциал като биоматериал.

Ключови думи: взаимопроникваща полимерна мрежа, поли (сулфоветин метакрилат), поли (карбоксиветин метакрилат), тройна реакция на стимули, биоматериал