

**Авторска справка за приносния характер на трудовете  
на гл. ас. Алмира Павлова Георгиева, представени за участие в конкурса за „доцент“**

Приносният характер на трудовете, представени за участие в конкурса могат да се  
обобщят в следните основни насоки:

- Динамика на про/антиоксидантния статус на мекотели и риби от характерни черноморски местообитания като отговор на промени в средата
- Антиоксидантна активност на природни вещества от животински произход
- Антиоксидантните ефекти на вещества получени от микроорганизми
- Антиоксидантни/прооксидантни ефекти (*in vivo* и *in vitro*) на синтетични вещества
- Биологична активност на натурални продукти от български маслодайни рози и подход към валоризацията на отпадъците, получени при производство розови масла
- Изследване на маркерите на оксидативен стрес в кръвната плазма и еритроцити на борци след изпълнение на тест на максималната кислородна консумация ( $VO_{2max}$ )

**Динамика на про/антиоксидантния статус на мекотели и риби от характерни черноморски местообитания като отговор на промени в средата**

Реакциите морските организми към различните замърсители могат да бъдат полиморфни в зависимост от вида, възрастта, храната и тежестта на стресовите фактори. Мидите са широко разпространени, уседнали безгръбначни организми. Като хранещи се посредством филтрация, те са способни да акумулират разтворените и утаени замърсители в морската вода. Мидата *Mytilus galloprovincialis* Lam. обитава приливни зони, прикрепена към скалите. Тя е най-устойчивия вид на неблагоприятните условия на морската среда, като толерира големи вариации на температурата, солеността, насищането с кислород и наличието на храна. Клиновите бентосни миди *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) са най-разпространеният вид, обитаващ плиткото пясъчно морско дъно, където се отлагат повечето антропогенни замърсители.

Детоксикацията *in vivo* на тежки метали, полициклични ароматни въглеводороди, полихлорирани бифенилни съединения и други ксенобиотици е свързана с генериране на активни форми на кислорода (АФК), които увреждат биомолекулите. Промените в оксидативния статус в тъканите на водните организми е в състояние да покаже наличието на замърсители и да даде оценка на състоянието на средата. При двучерупчестите, глутатионовият запас и активностите на ензимите глутатион пероксидаза (GPx) и глутатион S трансфераза (GST), чиито субстрат е редуциран глутатион (GSH) са много по-високи, отколкото при гръбначните, което предполага тяхното значение за жизнеспособността им. Промените в концентрациите на глутатион в цяла мида или в органите ѝ - хриле, крак, храносмилателна жлеза, както и активността на ензимите, чиито ко-субстрат е GSH, са подходящи биомаркери на химическо замърсяване. Антиоксидантното действие на GSH се свързва с директното елиминиране на АФК и индиректно като ко-субстрат на един от основните антиоксидантни ензими – глутатион пероксидаза (GPx). Окисленият глутатион (GSSG) се редуцира до GSH от глутатион редуктаза (GR), използвайки NADPH, който се генерира в пентозофосфатния път, в реакция, катализирана от глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа (G6PDH). В допълнение, GSH е субстрат на GST, основният ензим от фаза II в клетъчната детоксикация. Добре установено е, че инхибирането на ацетилхолинестераза (AChE) в морските организми се причинява главно от невротоксичните ефекти на органофосфатните и карбаматните пестициди, но също така и от тежки метали, детергенти и микропластмаси.

В публикациите, приложени за участие в конкурса, за първи път са изследвани маркерите на оксидативен стрес (ОС) в меката тъкан на миди от вида *Mytilus galloprovincialis*, *Donax trunculus*, *Chamelea gallina* от избрани локации по българското Черноморие с различна степен на антропогенно въздействие. Потвърди се, че промените в маркерите на ОС на изследваните миди корелират със степента

на замърсяване на околната среда. Анализите ни показват, че изследваните видове миди могат да се използват успешно при оценката и мониторинг на морската среда [1,2]. За да се осигури по-пълна оценка на „здравето“ на морската екосистема, ние препоръчваме данните от ОС да се комбинират с данни от други показатели като популационни и екосистемни индекси [1,2]. В нашите изследвания за пръв път е направено широкомащабно проучване на времевата и пространствената динамика на про/антиоксидантния баланс в хриле, крак и храносмилателна жлеза на мидите *Mytilus galloprovincialis* Lam., събрани през два сезона (юни и септември, 2017 – 2018 г.) от 11 находища с различни условия на местообитанията от Българското Черноморско крайбрежие. За първи път са търсени корелации между промените в показатели на ОС и концентрацията на метали в тъканите на черната мида. В хрилете на мекотелото, концентрацията на Pb и Zn са най-високи, както и степента на ОС в сравнение с другите тъкани – крак и храносмилателна жлеза, което се доказва от значително по-високите нива на липидна пероксидация (ЛП) заедно с повишените активности на антиоксидантни ензими каталаза (CAT), GPx, GST, супероксид дисмутаза (SOD), особено на G6PDH. Най-ниска степен на ОС са установени в крака. В храносмилателната жлеза се доказва относително ниска степен на ОС и най-висока концентрация на Cu. Установени са значими, корелации между изследваните тъканни биомаркери и концентрациите на натрупаните в различните органи на Cu, Pb, Zn и Cd. Значителната вариабилност в изследваните маркери на ОС показва различната чувствителност на органите към прооксидантите в околната среда [3,4]. Беше установено, че маркерите на ОС в хриле, храносмилателна жлеза и крак, варират между органите и локациите на пробонабиране. За първи път е предложен индекс на специфичен оксидативен стрес (СОС), с приложението на който се постига по-добра оценка на цялостния ефект на морската среда върху изследваните миди [5]. За първи път са установени характерни модели при вариациите в нивата на тотален глутатион (tGSH) и активността на свързаните с глутатион ензими в *Mytilus galloprovincialis* Lam. събрани от различни находища. Така получените резултати позволяват да се направят следните изводи: 1) състоянието на морската среда в северните находища провокира координиран отговор на системата за детоксикация на мидите с намаляване на тъканния tGSH и индуциране на GST; 2) активирането на антиоксидантната защита е резултат от хронично излагане на замърсители, най-вероятно пренасяни от река Дунав, за която се знае, че е основният замърсител на Северното Черноморие; 3) установената понижена активност на GPx при миди от южните находища показва липса на изразен ОС; 4) всички изследвани органи на *M. galloprovincialis* са подходящи за проследяване на тестваните биомаркери, но тъканта на ктенидия (хриле) се оказва по-подходяща [6]. Потвърдени са сезонните промени в про/антиоксидантния статус на *Mytilus galloprovincialis* Lam, които се дължат предимно на специфични сезонни вариации във факторите, отнасящи се до морската среда в конкретното находище [7].

За първи път беше анализирана взаимовръзката между физическото състояние (индекс на състоянието) и промените в антиоксидантната защитна система на клиновидната псамофилна мида *Donax trunculus* L., събрана от представителни находища по българското черноморско крайбрежие с цел да се получи информация за устойчивостта и адаптацията ѝ към променящите се условия на околната среда. Активността на антиоксидантните ензими и концентрациите на tGSH, измерени в меката тъкан на *D. trunculus* варираха както сезонно, така и между отделните локации. Основният ензим за детоксикация от фаза II, GST показва по-висока активност през лятото в места с интензивен туризъм. Повишените ензимни активности в меката тъкан на *D. trunculus* показват активиране на антиоксидантната защитна система в отговор на стресовите фактори на околната среда, което е индикация за способността на мидата да се справи с индуцираният ОС и да се адаптира към местните условия и по този начин да поддържа здравето на екосистемата [8]. Беше установено, че измерената активност на AChE беше със значителни вариации между изследваните находища: най-значително инхибиране на AChE беше установено при миди от находища в близост до крайбрежни зони с интензивен туризъм, като големите курорти Слънчев бряг, Дюни, Аркутино и Приморско, което е показателно за замърсяването на тези райони с пестициди, тежки метали, детергенти и микропластмаси. Бяха установени и значителни сезонни различия в активността на AChE. По-висока активност на AChE беше регистрирана в мидите, събрани през есента, отколкото през другите сезони. Нашите резултати демонстрират за първи път наличието на значителни екоотоксикологични ефекти от антропогенното въздействие върху плитките сублиторални пясъчни местообитания по българското Черноморие, където *D. trunculus* е доминиращ вид [9].

Състоянието на морските екосистеми, може да бъде оценено чрез промени в про/антиоксидантния баланс и на други морски организми. В публикациите, включени в конкурсната документация, са отразени резултатите от сравнителното изследване на антиоксидантния статус на хриле и черен дроб на три бентосни риби – писия (*Platichthys flesus* Linnaeus, 1758), стронгил (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814), морски дракон (*Trachinus draco* Linnaeus, 1758), три бентопелагични видове - сафрид (*Trachurus mediterraneus* Steindachner, 1868), барбуня (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758), меджит (*Merlangius merlangus* Linnaeus, 1758) и пелагичния вид – цаца (*Sprattus* Linnaeus, 1758) от българското черноморско крайбрежие, което се прави за първи път. Беше установено, че стойностите на маркерите на ОС в хриле и черен дроб, варират както в зависимост от вида, така и от крайбрежния район, който обитават. Нашите резултати за първи път доказаха, че видовете стронгил и барбуня са по-уязвими към ОС, предизвикани от различни фактори на морската среда, в сравнение със сафрид и цаца. Въпреки това, тяхната антиоксидантна защитна система им позволява да понесат и да се адаптират към промените на околната среда от техните местообитания [10,11].

### **Антиоксидантна активност на природни вещества от животински произход**

Екстрактите от охлюви са сложни многокомпонентни смеси, за които са известни антибактериална, антивирусна, имуномодулираща, антиоксидантна и противовъзпалителна активности. Счита се, че оксидативният стрес, заедно с възпалителните и имунните механизми, са критични фактори в патогенезата на невродегенеративните заболявания. Скополамин-предизвиканото когнитивното увреждане се използва като модел на деменция от типа на Алцхаймер и е съпроводено с оксидативен стрес в мозъчната кора на плъхове. За първи път е установено е, че приложението на екстракт от слуз на охлюв *Helix aspersa* води до възстановяването на маркерите на ОС, близки до стойностите на здравите, не третирани със скополамин (Sco) животни, с което беше доказано, че екстрактът от охлюви има защитен ефект срещу Sco-модел на деменция, вероятно чрез антиоксидантен механизъм [12]. За първи път *in vitro* е направено подробно изследване на антиоксидантната активност на фракции от хемолимфа с MW<100 kDa и MW<1kDa и хемоцианин от *Helix lucorum*. Фракцията хемолимфа, съдържаща съединения с молекулно тегло (MW) <100kDa показва най-силен антирадикалов ефект по отношение на супероксиданион радикали ( $O_2^{\cdot-}$ ), както и най-добри хелатообразуващи свойства. Най-мощният улавящ ефект по отношение на хидроксилни радикали ( $\cdot OH$ ) показва хемоцианина, последван от MW<100kDa фракция. Най-слаб антирадикалов ефект спрямо  $O_2^{\cdot-}$  и  $\cdot OH$  и най-слаба хелатираща способност показва MW<1kDa фракцията. Анализът на състава на тестваните фракции разкрива високо съдържание на молекули с анфипатична структура, обуславящи като цяло хидрофобни повърхности в MW<1kDa фракция, а във фракцията MW<100kDa се доказва доминирането на няколко групи протеини с MW между 13-16 kDa, 23-25 kDa, 31-34 kDa, 49- 52 и около 62 kDa, които допринасят за цялостния антиоксидантен ефект на хемолимфа от *H. lucorum* [13].

### **Антиоксидантните ефекти на вещества получени от микроорганизми**

Immunobeta® е имуностимулатор и пребиотик, получен от подбрани шамове дрожди (*Saccharomyces cerevisiae*) чрез процес на ензимна автолиза. Беше установено, че добавката от 0,4% Immunobeta® към храната на кокошки носачки, повлиява параметрите на ОС в кръвта, като намалява значително нивото на ЛП през студения период, повишава нивото на тотален глутатион (tGSH), регулира активността на САТ през горещия период и повишава активността на GPx през термонеутралните и горещите периоди, с което беше доказано, че добавянето на Immunobeta® към диетата намалява ОС, предизвикан от термичен стрес, и подобрява производителността на свободно отглежданите кокошки носачки [14].

За първи път беше доказано, че дихлорометановите екстракти, получени от биомаса на *Scenedesmus obliquus* от иновативно проектирани фотобиореактори (PBRs) притежават добър капацитет за редуциране на медни йони и потенцират синергично антибактериалната активност на пеницилин, флуорохинолони или етерично масло от риган срещу хранителните патогени *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, без да оказват *in vitro* цитотоксичност. UHPLC-HRMS анализът разкри, че и двата екстракта съдържат дълговерижни мастни киселини и каротеноиди, което обяснява техния антибактериален и антиоксидантен потенциал. Приложеният оригинален инженерен подход показва голям потенциал в модифицирането на метаболизма на микроводораслите за синтез на целеви биологично активни съединения от *S. obliquus* [15].

## **Антиоксидантни/прооксидантни ефекти (*in vivo* и *in vitro*) на синтетични вещества**

### **Влияние на йоните на мед и желязо при експериментален модел на диабет**

Алоксанът е често използвано вещество в лабораторната практика за предизвикване на експериментален диабет. Предполага се, че цитотоксичното действие на алоксан се медира от АФК. Образуването им се предшества от редукция на алоксан до диалурова киселина в присъствието на различни редуциращи агенти. Повторното окисление на диалуровата киселина обратно до алоксан води до образуване на  $O_2^{\bullet-}$  и водороден пероксид ( $H_2O_2$ ), също при реакцията между алоксан и диалурова киселина се образуват и междинни алоксанови радикали (АН.). По време на автоокислението на диалуровата киселина, присъствието на йони на преходни метали води до производството на  $\bullet OH$ , за които се смята, че са основният токсичен агент при диабет.

За първи път е изследвано *in vivo* влиянието на йоните на мед и желязо при експериментален модел на диабет. Единична доза (*i. p.*) на алоксан при плъхове води до увеличаване на кръвната глюкоза на 24-ия и 48-ия час и особено на 5-ия ден. На 5-ия ден след приложението на алоксан бяха наблюдавани леко повишаване на съдържанието на продуктите на белтъчното окисление и силно повишаване на протеазомна активност в черния дроб. За първи път беше установено, че след пет дневно инжектиране на алоксан, концентрацията на кръвната глюкоза при плъхове, предварително третирани с желязо, е подобна на тази на контролите, но при животните пре-третирани с мед, тя е значително по-ниска, от което следва изводът, че медта оказва инсулин-миметично действие [16]. Установено е *in vitro*, че диалуровата киселина дозозависимо повишава индуцираната от  $\bullet OH$  деструкция на дезоксирибоза. Прибавянето на аскорбинова киселина (редуктор на йони на металите с променлива валентност и алоксан) към реакционната смес, съдържаща дезоксирибоза и  $Fe^{3+}$  води до противоположни на диалурова киселина ефекти. Различните ефекти на  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$  и техните EDTA комплекси са по-отчетливи във Fenton ( $Fe^{3+}$ /аскорбинова киселина/ $H_2O_2$ ) и Fenton-подобна ( $Cu^{2+}$ /аскорбинова киселина/ $H_2O_2$ ) системи. В заключение, необходимо е да бъдат взети предвид многобройните конкурентни реакции в смеси, съдържащи АФК и йони на метали с променлива валентност или техни комплекси, когато се обсъждат *in vivo* и *in vitro* ефектите на алоксан/диалуринова киселина [17].

### **Ефект на прооксиданти и хелатора Десферал върху оксидативния статус и подвижността на сперматозоидите от мускусна патица**

При възникване на оксидативен стрес независимо от причината (ендогенна или екзогенна) в сперматозоидите се наблюдават следните процеси: 1) активните форми на кислорода (АФК) увреждат клетъчната мембрана, поради високото съдържанието на полиненаситени мастни киселини в нея, което води до понижена подвижност и затруднена фузия между сперматозоида и яйцеклетката; 2) АФК увреждат митохондриите, което понижава енергийната наличност в клетката и също може да затрудни движението на сперматозоидите. Нарушеният мотилитет е причина по-малък брой сперматозоиди да достигнат до яйцеклетката, а това силно намалява вероятността да настъпи оплождане. 3) АФК увреждат

дезоксирибонуклеиновата киселина (ДНК) на сперматозоидите. Много често, въпреки увредения си генетичен материал, сперматозоидите запазват оплодителната си способност, поради което е възможно да се развият ембриони с генетични изменения. Катализиращата роля на металните йони в Хабер-Вайсовата реакция лежи в основата на нашата хипотеза, че хелирането им ще предотврати образуването на хидроксилни радикали ( $\bullet\text{OH}$ ). За първи път е изследвана чувствителността на семенната течност от мускусна патица към ОС и ефекта на Desferal, прилаган като антиоксидант. В три прооксидантни системи в присъствието и отсъствието на Desferal бяха тествани подвижността и кинетичните параметри, както и нивото на ЛП и tGSH на сперматозоиди от мускусна патица. Въпреки, че включването на Desferal намалява ОС, то не подобрява нарушената от ОС подвижност на сперматозоидите [18].

### ***In vitro* ефекти на CB<sub>1</sub> рецепторни лиганди**

Установено е, че канабиноидите арахидонил-2-хлоретиламид (ACEA; селективен агонист на CB<sub>1</sub>-рецептора) и N-пиперидин-1-ил)-5-(4-хлорофенил)-1-(2,4-кохлорофенил)-4-метил-1H-пирозол-3-карбоксамид (SR141716A; селективен CB<sub>1</sub>-рецепторен антагонист) не променят нивото на tGSH и нямат ефект върху активността на антиоксидантните ензими в мозъчен хомогенат на плъх, с което е доказано *in vitro* отсъствието на прооксидантна активност на CB<sub>1</sub> рецепторните лиганди. ACEA и SR141716 инхибират Fe<sup>2+</sup>-индуцираната ЛП в мозъчен хомогенат и  $\bullet\text{OH}$ -провокираното разграждане на дезоксирибоза в системата Fenton. С това, за първи път е установено, че антиоксидантната активност на тестваните канабиноиди се дължи, на метал-хелатираща им активност [19].

### ***Изследване in vivo и in vitro на оксидативния статус при инхибиране на протеазомната активност при различни условия***

Разрушаването на окислително модифицираните протеини играе ключова роля в поддържането на клетъчния живот. Установена е повишена активност на протеазомния комплекс по време на възстановяване от оксидативен стрес, затова протеазомата може да се разглежда като съществена част от антиоксидантната защита система на клетката. При *in vivo* експерименти с плъхове третирани с протеазомният инхибитор N-бензилоксикарбонил (Cbz)-Leu-Leu-левцинал (MG132) беше установено увеличаване на индуцираната ЛП и количеството на окислените протеини, намалено ниво на tGSH, повишени активности на SOD, CAT и GPx и значително намаляване на химотрипсин- (ChT-L) протеазомната активност в чернодробния цитозол. Приложен *In vitro* в хепатоцити, MG132 увеличава генерирането на активните форми на кислорода. Този ефект не се наблюдава в присъствието на CAT или манитол [20].

Много чернодробни заболявания са свързани с патологично натрупване на мед в черния дроб. Токсичността на медта е свързана с образуването на реактивни кислородни видове. Целта на изследването беше да се проучи дали пептидазната активност на чернодробните протеазоми на плъх е повлияна от хронично, в продължение на 2 седмици, и остро третиране с мед. За да се оцени ролята на протеазомата, беше използван MG132. С нашата работа се доказва за първи път, че степента на индуцирания от мед ОС в черен дроб на плъх, зависи от начина на приложение на медта и индуцираният от мед оксидативен стрес *in vivo* е свързан с промени в каталитичната активност на протеазомата [21].

За първи път е установено, че тридесет-минутната исхемия, последвана от 60-минутна реперфузия на странични и медиални лобове на черния дроб на мъжки плъхове води до повишаване на ЛП и нивото на протеиновите карбонили (PC), активността на CAT и SOD и намалява нивото на tGSH. Индуцираният от исхемия/реперфузия (IRI) оксидативен стрес е по-силно изразен в митохондриите, което доказва, че тези органели са преференциално засегнати от IRI. Плазмените нива на LDH и AST бяха намалени от MG132 както по време на исхемия, така и по време на реперфузия, докато стойностите на ALT бяха намалени само след 30 минутна реперфузия. MG132 не повлиява нивото на ЛП и GSH в черния дроб, но повишава PC и намалява ChT-L и активността и активността на CAT и СОД. С това за първи път е доказано, че MG132 упражнява защитен ефект по време на ранната фаза на реперфузия и модулира прооксидантния/антиоксидантния статус на черния дроб на плъх, подложен на топла IRI [22].

## **Изследване на про/антиоксидантните свойства на новосинтезирани аналози на ноцицептина**

Ноцицептин (N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>) регулира различни функции на ЦНС като възприемчивост за болка, обучение и памет, страх и безпокойство, глад, двигателна активност и др. В литературата съществуват данни за наличие на връзка между ноцицептин и ОС предимно в ЦНС. Оксидативният стрес индуцира експресията на 2-та невропептидни гена: опиоид проенкефалин и опиоид-свързания проорфанин (също известен като проноцицептин), което предполага роля на ноцицептин и енкефалина при стресови отговори на ЦНС и невропатологични условия, включващи генериране на АФК. Това определя интереса към изследване на способността на ноцицептина, както и на негови структурни аналози, да променят нивата на клетъчните антиоксиданти както в норма, така и в патология.

За първи път са изследвани ефектите на ноцицептин и неговите структурни аналози ([Dab9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>, [Dap9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>, [Orn9] N/OFQ(1-13)NH<sub>2</sub> и [Cav9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>) върху нивата на ЛПП и клетъчните антиоксиданти в мозъка на контролни и третирани с каинова киселина (КА) плъхове. Установено е, че Dab9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub> и Dap9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>, за разлика от N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>, [Orn9] N/OFQ(1-13)NH<sub>2</sub> и [Cav9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>, леко повишават ЛПП. Всички тествани невропептиди не променят клетъчните антиоксиданти. След приложение i.c.v на КА, е установена повишаване на ЛПП и намаляване нивото на глутатион на 1<sup>вия</sup>, 4<sup>тия</sup> и 24<sup>тия</sup> час. Всички аналози на ноцицептин, въведени 30 мин преди КА, не оказват ефект върху активността на антиоксидантните ензими, но леко намаляват повишеното от КА ниво на ЛПП, а нивото на tGSH се възстановява само от [Cav9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub>. При *in vitro* изследване [Cav9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub> показва най-добър антиоксидантен капацитет в химични системи, генериращи АФК. В заключение, заместването на лизин (Lys) в молекулата на ноцицептин с други аминокиселини може да допринесе за наличието на антиоксидантни свойства. От изследваните невропептиди (*in vivo* и *in vitro*), [Cav9]N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub> показва най-добри антиоксидантни свойства [23,24].

## **Сравнително изследване на антиоксидантния капацитет на производни на амантадин и мемантин**

NMDA рецепторният антагонист амантадин първоначално е известен като антивирусно лекарство, но по-късно е установено, че подобрява симптомите на болестта на Паркинсон (PD). Механизмът на действие на това лекарство при PD все още е неясен. Една от хипотезите за развитието на невродегенеративните заболявания, към които принадлежи PD, е ОС. При PD, е установен допаминов дефицит в субстанция nigra. Известно е, че тази мозъчна структура е особено богата на допамин, чиито катаболизъм се осъществява чрез ензимна оксидация от моноаминооксидаза, тирозинхидролаза и чрез неензимна автооксидация, при което се генерират АФК. Добавянето на антиоксиданти, вит. С или високи дози на вит. Е, към диетата или приемани парентерално е част от терепевтичната стратегия за превенция и лечение на PD.

За първи път са изследвани *in vitro* новосинтезираните амантадинови деривати фенил-аланин (4-F) амантадин (4-F)Phe-Am, тирозинил-амантадин (L,D-Tyr-Am) и фенил-аланин – амантадин (L Phe-Am). Не се установи разлика в активността на (4-F)Phe-Am, (L,D-Tyr-Am) и (L Phe-Am) и амантадин по отношение на инхибирането на •O<sub>2</sub><sup>-</sup> и •OH, като е потвърдена слабата антиоксидантна активност на амантадин. Изследваните производни(4-F)Phe-Am и (L Phe-Am) имат също несъществен ефект срещу DPPH радикали, който е малко по-висок от този на амантадин и (L,D-Tyr-Am). Хелаторният ефект на (4-F)Phe-Am и (L Phe-Am) е малко по висок в сравнение с амантадин. В заключение, модификацията на амантадин с аминокиселини, повишава неговите относително слаби антиоксидантни свойства, но те вероятно не са свързани с ефекта му срещу болестта на Паркинсон [25].

Болестта на Алцхаймер (AD) е най-честият тип деменция при възрастните хора. Тъй като оксидативният стрес е важна характеристика на AD, може да се предположи, че конюгирането на наличните лекарства с вещества, притежаващи антиоксидантни свойства, може да доведе до благоприятен ефект. Мемантин е използван за забавяне прогресията на умерена и тежка форма на AD. При изследване на антиоксидантния капацитет на 7 аналога на мемантин (MEM) с Gly, Ala, β-Ala, Val, Phe, Phe (4-F) и Gly-Gly се установи, че те оказват незначителен ефект върху редукцията на DPPH•. Phe-

MEM, (4-F)-Phe-MEM и Gly-Gly-MEM демонстрираха  $\bullet\text{O}_2^-$  скевинджер потенциал. Phe-съдържащите производни оказват защитен ефект върху  $\bullet\text{OH}$ -индуцираното разграждане на дезоксирибоза и показваха способност за хелатиране на желязни йони. В заключение, изследваните Phe-съдържащи MEM производни показват добра антиоксидантна активност и може да се очаква, че ще имат положителен ефект при лечението на AD [26].

### ***Комбинация на озелтамивир и S-аденозил-L-метионин като ефективна терапевтична стратегия за потискане на оксидативно увреждане в белите дробове, причинено от инфекция с грипен вирус при мишки***

Патогенезата на грипната инфекция е свързана с два основни процеса в организма: увреждане на белите дробове на базата на репликация на вируса, свръхпроизводство на свободни радикали, дефицит на антиоксиданти и развитие на оксидативен стрес. Монотерапията със S-аденозил-1-метионин (SAM), който е прекурсор на ендогенния антиоксидант GSH не повлиява маркерите на оксидативния стрес в белите дробове при мишки, заразени с грипен вирус, докато комбинацията на антивирусния агент озелтамивир и SAM, повлиява благоприятно както вирусологичните параметри - вирусен титър, индекс на защита и средно време на преживяемост, така и биохимичните маркери на оксидативен стрес. В заключение, комбинирането на SAM и озелтамивир в доза от 1/4 от оптималната терапевтична може да се разглежда като перспективна терапия на грипна вирусна инфекция [27].

### ***Противовъзпалителни и антидепресантни лекарства и участие на АФК (активни форми на кислорода) при тяхното действие***

#### *Изследване антиоксидантната активност на целекоксиб и амтолметин гуацил*

При *in vitro* проучвания на потенциалната антиоксидантна активност на целекоксиб (селективния инхибитор на цикло-оксигеназа-2) и амтолметин гуацил (AMG -нестероидното противовъзпалително лекарство) в хомогенат от черен дроб, лигавица на стомах и лигавица дебело черво на плъхове за първи път е установено, че целекоксиб и AMG не променят активността на GPx, GR, Glc6PDH, както и нивото на tGSH. Присъствието на AMG води до повишена SOD активност и тенденция към инхибиране на индуцираната ЛП в лигавица на стомах и лигавица на колон. В черен дроб целекоксиб и AMG намаляват спонтанната и индуцираната ЛП, но активността на SOD се повишава само в присъствието на AMG. При изследване в система, генериращи кислородни радикали, се установи, че AMG и толметин (основният метаболит на AMG) инхибират  $\bullet\text{OH}$ , докато целекоксиб не проявява такъв ефект. От получените резултати е направено заключението, че AMG и целекоксиб притежават антиоксидантни свойства. [28].

#### *Ефекти на пентоксифилин и дезипрамин (in vivo и in vitro)*

За първи път беше установено, че пентоксифилин (PTX) и дезипрамин приложени i.p. 30 минути преди карагенол (CG), намаляват CG-индуцирания оток на лапата на плъх, повишават CG-индуцирано понижаване на нивото на чернодробния tGSH. Двете вещества имат добра антирадикалова активност в химични системи, генериращи АФК ( $\bullet\text{O}_2^-$  и  $\bullet\text{OH}$ ). В заключение, PTX и дезипрамин притежават антиоксидантно действие [29,30].

### **Биологична активност на продукти от български маслодайни рози и подход към валоризацията на отпадъците, получени при производство розови масла**

За първи път чрез газова хроматография с FID система, е определен хроматографският профил на етерично масло от българската *Rosa alba* L. Установени са *in vitro* добра способност на маслото за хелатиране на желязните йони, инхибиране на DPPH и  $\text{O}_2^{\bullet-}$  и за първи път е доказан антигенотоксичен потенциал на маслото [31,32]. За първи път е изследван с 7890A/5975 GC-MS система и е сравнен фитохимичният профил на хидрозоли, получени чрез водно-парна дестилация на цветове от *Rosa alba* L. и *Rosa damascena* Mill., отглеждани в опитно поле на ИРЕМК, Казанлък. Беше установено, че двата хидрозола притежават добър капацитет за инхибиране на индуцирана ЛП и добър ефект срещу  $\text{O}_2^{\bullet-}$  и  $\bullet\text{OH}$ , с което се доказва антиоксидантни им свойства [33,34].

За първи път е направен обширен литературен обзор на данните за маслодайните видовете *Rosa damascena* Mill., *Rosa alba* L., *Rosa centifolia* L. и *Rosa gallica* L. Анализирани и сравнени са основните биологични активности на техните етерични масла, хидролати, и екстракти. Систематизирани са данните описващи: (i) ботаническите характеристики; (ii) фитохимичния профил; (iii) биологични свойства на екстрактите от тези видове рози, отглеждани в България, Турция, Индия и Близкия Изток. В заключение, етеричните масла и екстрактите, получени от тези рози, поради богатството си на вторични метаболити като полифеноли, флавоноиди (напр. флаволи, флавоноли, антоцианини), ароматични съставки (монотерпени, сесквитерпени), притежават широк спектър терапевтични свойства - противовъзпалителни, муколитични, деконгестантни и антиоксиданти и др. [35]. За първи път е направен анализ (чрез UHPLC-HRMS) на химичния състав на отпадните води от дестилацията на етеричните масла (ОВ) от българските *Rosa alba* L., *Rosa damascena* Mill., *Rosa gallica* L. и *Rosa centifolia* L. Идентифицирани бяха моно- и ди- ацилирани гликозиди на кверцетин и кемпферол, елагова киселина и нейни производни, както и галова киселина и нейните производни катехин и епикатехин. За първи път беше доказано *in vitro*, че изследваните ОВ имат антинеопластична, значителна антиоксидантна [36,37] и антихерпес вирусна (HSV-1 ) активност [37].

### **Изследване на маркерите на оксидативен стрес в кръвната плазма и еритроцити на борци след изпълнение на тест на максималната кислородна консумация ( $VO_{2max}$ )**

Добре известно е, че при интензивна физическа активност консумацията на кислород се увеличава от 10 до 20 пъти в сравнение с консумацията в покой. Вдишваният кислород е жизненоважен за производството на АТФ от митохондриите, но при физиологични условия, заедно с производството на АТФ, от 2 до 5% от кислорода се редуцира непълно и образува АФК. В зависимост от степента на индуцирания ОС може да настъпи увреждане на организма или да се активира адаптивен отговор. Следователно промените в про/антиоксидантния статус могат да служат като индикатор за адаптационни процеси, протичащи в тялото на спортиста в резултат на тренировъчния процес. Максималният аеробен тест ( $VO_{2max}$ ) често се използва за проследяване на работоспособността на спортистите и тяхното ниво на тренировка. Беше установено, че след провеждането на  $VO_{2max}$  на борци, концентрацията на плазмения протеин се повишава значително. За първи път беше въведен индивидуален фактор на хемоконцентрация, за оценка на ОС при спортисти след натоварване. С използването на този фактор, беше установено значително намаление на ЛП. Нивата на тоталния антиоксидантен капацитет след провеждането на  $VO_{2max}$  са значително повишени в сравнение с първоначалните. В заключение, промените в биомаркерите на ОС трудно могат да бъдат установени поради компенсаторните механизми, поради което стойностите им трябва да се коригират в съответствие с фактора на хемоконцентрация [38].

Основната функция на еритроцитите е да снабдяват клетките с кислород, за да поддържат аеробния метаболизъм. В тази си роля, те са в постоянен контакт с кислорода и са изложени на въздействие на АФК. Основният източник на АФК в червените кръвни клетки е автоокислението на оксигемоглобин до метхемоглобин, при което се образуват  $\bullet O_2^-$  с последващо образуване на водороден пероксид. Известно е, че скоростта на автоокисление се увеличава с намаляване на рН и  $PO_2$  (което често се наблюдава при физически натоварвания). Редукцията на кислорода до супероксид и нитрита до азотен оксид стартира каскади от окислителни реакции, които предизвикват ОС в еритроцитите и водят до тяхното увреждане. За първи път беше доказано, че след изпълнението на  $VO_{2max}$ , значително се повишава Нб в кръвната плазма, а в еритроцитите бяха регистрирани намаляване на ЛП, липса на промени в нивото на tGSH и повишаване на активността на GPx, докато активността на CAT и SOD остава непроменена. Следователно при активно спортуващите преобладават еритроцитите, които са по-устойчиви на оксидативен стрес, поради ускорената хемолиза, предизвикана от физическо натоварване, което води до елиминиране на старите и оксидативно модифицирани клетки [39].



## Препратки:

1. Yakimov, L.P.; Tsvetanova, E.R.; **Georgieva, A.P.**; Nenkova, G.T.; Chipev, N.H.; Alexandrova, A.V. Comparative Analysis of the Oxidative Stress in Bulgarian Black-Sea Bivalves and their Bioindicator Potential. *Acta Zoologica Bulgarica* **2020**, 147-153.
2. Tsvetanova, E.; Yakimov, L.; **Georgieva, A.**; Nenkova, G.; Alexandrova, A. Preliminary Study of the Oxidative Status of the Psammophilic Bivalve Species (*Chamelea gallina* L., 1758) from Representative Habitats along the South Bulgarian Black Sea Coast. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences* **2021**, 74, 544-552, doi:10.7546/CRABS.2021.04.09.
3. Yakimov, L.; Alexandrova, A.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Chipev, N. Accumulated heavy metals and oxidative status in tissues of the Black Sea mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819). In Proceedings of 10 th Anniversary "Seminar of Ecology -2017"; pp. 110-115.
4. Yakimov, L.P.; Tsvetanova, E.R.; **Georgieva, A.P.**; Chipev, N.H.; Alexandrova, A.V. Variations in Antioxidant Defense System of the Black Black Sea Mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. *Ecologia Balkanica* **2019**, Special Edition, 71-80.
5. Yakimov, L.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Petrov, L.; Alexandrova, A. Assessment of the oxidative status of black sea mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) from Bulgarian coastal areas with introduction of a specific oxidative stress index. *Journal of Environment Protection and Ecology* **2018**, 19, 1614-1622.
6. **Georgieva, A.**; Yakimov, L.; Kalchev, K.; Tsvetanova, E.; Chipev, N.; Alexandrova, A. Variations of glutathione level and glutathione related enzymes activities in *mytilus galloprovincialis* lam. From the bulgarian black sea coastal region. *Journal of Environmental Protection and Ecology* **2021**, 22, 532-541.
7. Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Chipev, N.; Alexandrova, A. Seasonal changes in the pro/antioxidant status of mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) from Bulgarian Black Sea coastal habitats. *BioRisk приета за печат: 2021*, 17, doi:0.3897/biorisk.17.77279.
8. **Georgieva, A.**; Alexandrova, A.; Chipev, N.; Tsvetanova, E. State of antioxidant defense system in wedge clams from Bulgarian Black Sea as a measure of resistance to environmental impacts *BioRisk приета за печат: 2021*, 17, doi:10.3897/biorisk.17.77384.
9. **Georgieva, A.**; Alexandrova, A.; Tsvetanova, E.; Chipev, N. State of the Marine Environment along the Bulgarian Black Sea Coast as Indicated by Acetylcholinesterase Activity of Wedge Clam (*Donax trunculus* Linnaeus 1758). *Ecologia Balkanica* **2021**, Special Edition, 135-143.
10. Alexandrova, A.; Chipev, N.; Raev, Y.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Raykov, V. Is the Marine Environment of the Black Sea Stressful for Organisms: A Pilot Assessment of Oxidative Stress in Bulgarian Coastal Fish Species. *Ecologia Balkanica* **2021**, Special Edition, 163-172.
11. Alexandrova, A.; Raev, J.; Dimitrov, D.; Chipev, N.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Raykov, V. Comparative study on the oxidative stress of commercially important fish species from localities with different ecological conditions along the Bulgarian Black Sea coast. *BioRisk приета за печат: 2021*, 17, doi:10.3897/biorisk.17.77300
12. Tsvetanova, E.; Alexandrova, A.; **Georgieva, A.**; Tancheva, L.; Lazarova, M.; Dolashka, P.; Velkova, L.; Dolashki, A.; Atanasov, V.; Kalfin, R. Effect of mucus extract of *Helix aspersa* on scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rat's brain. *Bulgarian Chemical Communications* **2020**, 52, 107-111.
13. Alexandrova, A.; Petrov, L.; Velkova, L.; Dolashki, A.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Dolashka, P. Antioxidant activity of fractions isolated from hemolymph of garden snail *Helix lucorum*. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* **2021**, 9, 143-152.
14. Gerzilov, V.; Boncheva, V.; Alexandrova, A.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Nenkova, G.; Bozakova, N. Influence of Immunobeta® Dietary Supplementation on Egg Production and Some Parameters of Oxidative Stress in Laying Hens. *Journal of Agricultural Science and Technology* **2019**, 21, 1117-1130.
15. Zaharieva, M.M.; Zheleva-Dimitrova, D.; Rusinova-Videva, S.; Ilieva, Y.; Brachkov, A.; Balabanova, V.; Gevrenova, R.; Kim, T.C.; Kaleva, M.; **Georgieva, A.**, et al. Antimicrobial and Antioxidant Potential of *Scenedesmus obliquus* Microalgae in the Context of Integral Biorefinery Concept. *Molecules* **2022**, 27, 1-25.
16. Alexandrova, A.; **Georgieva, A.**; Petrov, L.; Tsvetanova, E.; Kirkova, M. Comparative study of alloxan effects in copper-loaded and iron-loaded rats: lipid peroxidation, protein oxidation, proteasome and antioxidant enzyme activities *Central European Journal of Biology* **2006**, 1, 235-248.
17. Alexandrova, A.; **Georgieva, A.**; Kirkova, M. Alloxan and Dialuric Acid. Effects on OH-Provoked Degradation of Deoxyribose in the Presence of Different Metal Ions. *COMPRES RENDUS-ACADEMIE BULGARE DES SCIENCES* **2006**, 59(3). 305-311.
18. Gerzilov, V.; Alexandrova, A.; Andreeva, M.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Petrov, P.; Stefanov, R. Effect of prooxidants and chelator Desferal on the oxidative status and sperm motility of Muscovy semen. *Toxicology Reports* **2022**, 9, 276-283.
19. Kessiova, M.; Alexandrova, A.; **Georgieva, A.**; Kirkova, M.; Todorov, S. In vitro effects of CB1 receptor ligands on lipid peroxidation and antioxidant defense systems in the rat brain. *Pharmacol Rep* **2006**, 58, 870-875.
20. Alexandrova, A.; Petrov, L.; **Georgieva, A.**; Kirkova, M.; Kukan, M. Effects of proteasome inhibitor, MG132, on proteasome activity and oxidative status of rat liver. *Cell Biochem Funct* **2008**, 26, 392-398, doi:10.1002/cbf.1459.

21. Alexandrova, A.; Petrov, L.; **Georgieva, A.**; Kessiova, M.; Tzvetanova, E.; Kirkova, M.; Kukan, M. Effect of copper intoxication on rat liver proteasome activity: relationship with oxidative stress. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **2008**, *22*, 354-362.
22. Alexandrova, A.; Petrov, L.; **Georgieva, A.**; Kessiova, M.; Tzvetanova, E.; Kirkova, M.; Kukan, M. Effect of MG132 on proteasome activity and prooxidant/antioxidant status of rat liver subjected to ischemia/reperfusion injury. *Hepatology Research* **2008**, *38*, 393-401.
23. Tzvetanova, E.; Nenkova, G.; **Georgieva, A.**; Alexandrova, A.; Girchev, R.; Kirkova, M. Effects of structural analogues of nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> on brain antioxidant status in kainic acid-treated rats. *Cell Biochem Funct* **2011**, *29*, 135-141, doi:10.1002/cbf.1733.
24. Tzvetanova, E.; **Pavlova, A.**; Alexandrova, A.; Nenkova, G.; Petrov, L.; Kirkova, M.; Girchev, R.; Naydenova, E. Are nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> and its structural analogue [ORN(9)]nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub> able to affect brain antioxidant status in control and kainic acid-treated rats? *Cell Biochem Funct* **2009**, *27*, 243-250, doi:10.1002/cbf.1566.
25. Stankova, I.; Chayrov, R.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Alexandrova, A. Comparative study of the antioxidant capacity of some Amantadine derivatives. *Current Topics in Peptide & Protein Research* **2019**, *20*, 67-72.
26. Stankova, I.G.; Stoilkova, A.I.; Chayrov, R.L.; Tsvetanova, E.R.; **Georgieva, A.P.**; Alexandrova, A.V. In Vitro Antioxidant Activity of Memantine Derivatives Containing Amino Acids. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **2020**, *54*, 268-272.
27. Mileva, M.; Dimitrova, A.; Krastev, D.; Alexandrova, A.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Galabov, A. Oseltamivir and S-Adenosyl-L-Methionine Combination as Effective Therapeutic Strategy for Suppression of Oxidative Damage in Lung Caused by Influenza Virus Infection in Mice. *Drug Res (Stuttg)* **2020**, *70*, 273-279, doi:10.1055/a-1147-8824.
28. Kirkova, M.; Alexandrova, A.; Kessiova, M.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Todorov, S. Potential antioxidant activity of celecoxib and antolmetin guacyl: in vitro studies. *Auton Autacoid Pharmacol* **2007**, *27*, 13-18, doi:10.1111/j.1474-8673.2006.00391.x.
29. Vircheva, S.; Alexandrova, A.; **Georgieva, A.**; Mateeva, P.; Zamfirova, R.; Kubera, M.; Kirkova, M. In vivo effects of pentoxifylline on enzyme and non-enzyme antioxidant levels in rat liver after carrageenan-induced paw inflammation. *Cell Biochem Funct* **2010**, *28*, 668-672, doi:10.1002/cbf.1705.
30. Vircheva, S.; Nenkova, G.; **Georgieva, A.**; Alexandrova, A.; Tzvetanova, E.; Mateeva, P.; Zamfirova, R.; Kirkova, M. Effects of desipramine on the antioxidant status in rat tissues at carrageenan-induced paw inflammation. *Cell Biochem Funct* **2012**, *30*, 18-23, doi:10.1002/cbf.1812.
31. Gateva, S.; Jovtchev, G.; Chanev, C.; **Georgieva, A.**; Stankov, A.; Dobрева, A.; Mileva, M. Assessment of anti-cytotoxic, anti-genotoxic and antioxidant potentials of Bulgarian Rosa alba L. essential Oil. *Caryologia* **2020**, *73*, 71-88.
32. Jovtchev, G.; Stankov, A.; Gateva, S.; **Georgieva, A.**; Dobрева, A.; Dimiskovska, B.; Mileva, M. Does Essential Oil of Rosa alba L. Hide Cytotoxic and Genotoxic Potential? In Proceedings of XX International ECO-Conference – Safe Food, Novi Sad, Serbia, 2016, 28-30th September; pp. 209-216
33. **Georgieva, A.**; Dobрева, A.; Tzvetanova, E.; Alexandrova, A.; Mileva, M. Comparative Study of Phytochemical Profiles and Antioxidant Properties of Hydrosols from Bulgarian Rosa Alba L. and Rosa Damascena Mill. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2019**, *22*, 1362-1371, doi:10.1080/0972060X.2019.1699867.
34. **Georgieva, A.**; Tzvetanova, E.; Alexandrova, A.; Nenkova, G.; Mileva, M. Lipid peroxidation in liposomes. In Proceedings of Experimental models and methods in biomedical research, Sofia, 2015, May 12-14; pp. 153-160.
35. Mileva, M.; Ilieva, Y.; Jovtchev, G.; Gateva, S.; Zaharieva, M.M.; **Georgieva, A.**; Dimitrova, L.; Dobрева, A.; Angelova, T.; Vilhelmova-Ilieva, N., et al. Rose Flowers-A Delicate Perfume or a Natural Healer? *Biomolecules* **2021**, *11*, 127, doi:10.3390/biom11010127.
36. **Georgieva, A.**; Ilieva, Y.; Kokanova-Nedialkova, Z.; Zaharieva, M.M.; Nedialkov, P.; Dobрева, A.; Kroumov, A.; Najdenski, H.; Mileva, M. Redox-Modulating Capacity and Antineoplastic Activity of Wastewater Obtained from the Distillation of the Essential Oils of Four Bulgarian Oil-Bearing Roses. *Antioxidants (Basel)* **2021**, *10*, doi:10.3390/antiox10101615.
37. Ilieva, Y.; Dimitrova, L.; **Georgieva, A.**; Vilhelmova-Ilieva, N.; Zaharieva, M.M.; Kokanova-Nedialkova, Z.; Dobрева, A.; Nedialkov, P.; Kussovski, V.; Kroumov, A.D., et al. In Vitro Study of the Biological Potential of Wastewater Obtained after the Distillation of Four Bulgarian Oil-Bearing Roses. *Plants* **2022**, *11*, 1-19, doi:10.3390/plants11081073.
38. Alexandrova, A.; Eroglu, Y.; Petrov, L.; Makaveev, R.; **Georgieva, A.**; Tzvetanova, E. Blood plasma oxidative stress parameters after maximal oxygen consumption test in wrestlers. *International Journal of Sport Studies* **2016**, *6*, 359-366.
39. Alexandrova, A.; Petrov, L.; Makaveev, R.; Tsvetanova, E.; **Georgieva, A.**; Kolimechkov, S. Erythrocyte oxidative status after maximal aerobic test in wrestlers. *Човек. Спорт. Медицина* **2019**, *19*, 15-21.