

**Резюмета на български и английски език на научните публикации
на гл. ас. д-р Лилия Владимирова Михайлова (Василева)
за участие в конкурс за доцент по направление 7.1. Медицина
за нуждите на лаборатория Метаболомика, департамент Биотехнология,
Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН
обявен в Държавен вестник бр. 28 от 02.04.2024 г.**

Списъкът съдържа представените за участие в конкурс за доцент **37 публикации с общ импакт фактор 130.96 като от тях 19 в Q1**. Д-р Михайлова е **водещ или кореспондиращ автор в 13** от тях.

Публикации са разпределени по групи показатели съгласно изискванията на ЗРАСРБ в съответното професионално направление, както следва: 24 публикации и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация, от които 12 включени по показател В и 12 по показател Г; и 13 публикации и доклади, публикувани в нереперирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове, включени по показател Г.

Публикации и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация, извън дисертационния труд

Включени по показател В

1. Todorova MN, Savova MS, **Mihaylova LV**, Georgiev MI (2024) Nurturing longevity through natural compounds: Where do we stand and where do we go? *Food Frontiers*, 5: 267-310. (**IF₂₀₂₂ 9.9, Q1**)

Abstract

The revolution in aging research through the past decade has driven the progress in interventions that promote longevity. Dissection of the “old” hallmarks of aging has provided solid data for the definition of at least three “new” ones, opening avenues for the development of novel hallmark-targeted pro-longevity approaches. The quest for geroprotectors is of enormous interest with the ultimate goal of finding the alchemical stone that induces healthy aging and increases lifespan, pushing the limits of human longevity or even uncovering the absence of such limits. Several of the well-appreciated geroprotectors that are recognized as longevity promoters are of natural origin such as metformin, resveratrol, aspirin, and spermidine. As the search for pharmacological modulators of healthspan and lifespan continues, numerous studies are focusing on the potential of plant secondary metabolites. The current review attempts to critically assess the available interventions and the breakthrough discoveries in the field of longevity research over the past decade. Correspondingly, novel approaches targeting the hallmarks of aging have been outlined, and the future goals in longevity research have been enlightened. Special emphasis has been placed on the potential of plant-derived compounds as pro-longevity agents.

Резюме

Революцията в изследванията на стареенето през последното десетилетие доведе до напредък в интервенциите за насърчаване на дълголетието. Изследването на така наречените “стари” белези на стареене, предостави солидни данни за идентифицирането на поне три “нови” такива, което откри възможности за разработването на нови подходи за насърчаване на дълголетието. Търсенето на геропротектори е от огромен интерес, като крайната цел е да се намери “алхимичният камък”, който да способства здравословно стареене и да увеличи продължителността на живота, разширявайки границите на

човешкото дълголетие или дори разкривайки липсата на такива граници. Няколко добре оценени геропротектори, признати за стимулатори на дълголетие, са от естествен произход, като метформин, ресвератрол, аспирин и спермидин. Тъй като търсенето на фармакологични модулатори на продължителността на здравето и живота продължава, многобройни проучвания се фокусират върху потенциала на растителните вторични метаболити. Настоящият преглед има за цел да предостави критична оценка на наличните интервенции и ключовите открития в областта на изследванията на дълголетие през последното десетилетие. Очертани са нови подходи, насочени към отличителните белези на стареенето, и са осветлени бъдещите цели в областта на изследванията на дълголетие. Специален акцент е поставен върху потенциала на съединенията от растителен произход като агенти за удължаване на живота.

2. Stoykova ID, Koycheva IK, Binev, BK, Mihaylova LV, Georgiev MI (2024) Molecular approaches to prevent UV-induced premature skin aging: focus on phytochemicals as photoprotectants. *Phytochemistry Reviews*, in press, DOI: 10.1007/s11101-024-09952-w. (IF₂₀₂₂ 7.7; Q1)

Abstract

Chronic exposure to ultraviolet radiation (UVR) leads to premature aging of the skin, with external manifestations of unsightly scars and internal molecular dysregulations that significantly reduce the protective function of the skin and increase the risk of cancer development. Photoprotection through daily application of sunscreen product is widely recommended to avoid UV-induced skin photodamage and to minimize the risk for dermal malignancies. However, the environmental hazard that is a consequence of the use of traditional sunscreen products drives the increased interest in the investigation of alternative UVR blockers. Due to their structural diversity, modulation of multiple molecular mechanisms, and favorable safety profile, natural plant-derived compounds have become attractive candidates for skin photoaging prevention. This review summarizes the critical aspects of skin photoaging, from its pathological characteristics and current photoprotective options to the specific molecular players that emerge as therapeutic targets. Special emphasis has been placed on phytochemicals targeting the molecular hallmarks of UV-induced skin aging. The potential of plant molecules to control oxidative stress, inflammation, photo-senescence, DNA damage, extracellular matrix components degradation, and to manage different types of UV-triggered cell death has been highlighted. Summarizing the molecular signalling pathways responsible for the photoprotective action of plant-derived molecules may provide meaningful outlook for development of new effective therapeutics options for prevention of skin photoaging.

Резюме

Хронично излагане на ултравиолетова радиация (UVR) води до преждевременно стареене, което външно се проявява под формата на неприятни белези, а вътрешно с молекулярни нарушения, които значително намаляват защитната функция на кожата и увеличават риска от развитие на рак. Фотозащита чрез ежедневно нанасяне на слънцезащитен продукт се препоръчва широко за избягване на фотувреждането на кожата, предизвикано от ултравиолетовите лъчи и за намаляване до минимум на риска от кожни злокачествени заболявания. Въпреки това, опасността за околната среда, която е следствие от употребата на традиционните слънцезащитни продукти, води до повишен интерес към изследването на алтернативни UVR блокери. Поради тяхното структурно разнообразие, модулация на множество молекулярни механизми и благоприятния профил на безопасност, естествените съединения от растителен произход се превърнаха в привлекателни кандидати за превенция на фотостареенето на кожата. Този преглед обобщава критичните аспекти на фотостареенето на кожата, от патологичните му характеристики и настоящите фотозащитни методи до специфичните молекулярни фактори, които се появяват като

терапевтични цели. Специално внимание е отделено на фитохимикалите, насочени към молекулярните особености на UV-индуцираното стареене на кожата. Потенциалът на растителните молекули да контролират оксидативния стрес, възпалението, фотостаренето, увреждане на ДНК, разграждането на компонентите на извънклетъчния матрикс, както и да контролират различните видове клетъчна смърт, предизвикана от UV-лъчите, е подчертан. Обобщаването на молекулярните сигнални пътища, отговорни за фотопротективното действие на молекули от растителен произход може да осигури значими перспективи за разработване на нови ефективни терапевтични средства за превенция на фотостаренето на кожата.

3. Mladenova SG[#], Todorova MN[#], Savova MS, Georgiev MI, **Mihaylova LV*** (2023) Maackiain mimics caloric restriction through *aak-2*-mediated lipid reduction in *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Molecular Sciences* 24(24): 17442. (IF₂₀₂₂ 5.6; Q1)

Abstract

Obesity prevalence is becoming a serious global health and economic issue and is a major risk factor for concomitant diseases that worsen the quality and duration of life. Therefore, the urgency of the development of novel therapies is of a particular importance. A previous study of ours revealed that the natural pterocarpan, maackiain (MACK), significantly inhibits adipogenic differentiation in human adipocytes through a peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR)-dependent mechanism. Considering the observed anti-adipogenic potential of MACK, we aimed to further elucidate the molecular mechanisms that drive its biological activity in a *Caenorhabditis elegans* obesity model. Therefore, in the current study, the anti-obesogenic effect of MACK (25, 50, and 100 μ M) was compared to orlistat (ORST, 12 μ M) as a reference drug. Additionally, the hybrid combination between the ORST (12 μ M) and MACK (100 μ M) was assessed for suspected synergistic interaction. Mechanistically, the observed anti-obesogenic effect of MACK was mediated through the upregulation of the key metabolic regulators, namely, the nuclear hormone receptor 49 (*nhr-49*) that is a functional homologue of the mammalian PPARs and the AMP-activated protein kinase (*aak-2*/AMPK) in *C. elegans*. Collectively, our investigation indicates that MACK has the potential to limit lipid accumulation and control obesity that deserves future developments.

Резюме

Разпространението на затлъстяването се превръща в сериозен здравен и икономически проблем в световен мащаб и е основен рисков фактор за съпътстващи заболявания, които влошават качеството и продължителността на живота. Поради това разработването на нови терапии е от особена важност. Предишно наше проучване разкри, че естественият птерокарпан, маакиаин (MACK), значително инхибира адипогенната диференциация в човешки адипоцити чрез пероксизомно пролифератор-активиран рецептор гама (PPAR) - зависим механизъм. Като се има предвид наблюдаваният антиадипогенен потенциал на MACK, ние имахме за цел да изясним допълнително молекулярните механизми, които определят биологичната му активност в модел на затлъстяване при *Caenorhabditis elegans*. Ето защо в настоящото проучване антиобезогенният ефект на MACK (25, 50 и 100 μ M), беше сравнен с орлистат (ORST, 12 μ M) като референтно лекарствено средство. Освен това е оценен ефекта на хибридната комбинация между ORST (12 μ M) и MACK (100 μ M) за предполагаемо синергично взаимодействие. Механистично, наблюдаваният антиобезогенен ефект на MACK е опосредстван от повишаване на регулацията на ключови метаболитни регулатори, а именно ядреният хормонален рецептор 49 (*nhr-49*), който е функционален хомолог на PPAR при бозайниците, и AMP-активираната протеин киназа (*aak-2*/AMPK) при *C. elegans*. В съвкупност, нашето изследване показва, че MACK има потенциал да ограничава натрупването на липиди и да контролира затлъстяването.

4. Savova MS, Mihaylova LV, Tews D, Wabitsch M, Georgiev MI* (2023) Targeting PI3K/AKT signaling pathway in obesity. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 159: 114244. (IF₂₀₂₂ 7.5; Q1)

Abstract

Obesity is a disorder with an increasing prevalence, which impairs the life quality of patients and intensifies societal health care costs. The development of safe and innovative prevention strategies and therapeutic approaches is thus of great importance. The complex pathophysiology of obesity involves multiple signaling pathways that influence energy metabolism in different tissues. The phosphatidylinositol 3-kinases (PI3K)/protein kinase B (AKT) pathway is critical for the metabolic homeostasis and its function in insulin-sensitive tissues is described in the context of health, obesity and obesity-related complications. The PI3K family participates in the regulation of diverse physiological processes including but not limited to cell growth, survival, differentiation, autophagy, chemotaxis, and metabolism depending on the cellular context. AKT is downstream of PI3K in the insulin signaling pathway, and promotes multiple cellular processes by targeting a plethora of regulatory proteins that control glucose and lipid metabolism. Natural products are essential for prevention and treatment of many human diseases, including obesity. Anti-obesity natural compounds effect multiple pathophysiological mechanisms involved in obesity development. Numerous recent preclinical studies reveal the advances in using plant secondary metabolites to target the PI3K/AKT signaling pathway for obesity management. In this paper the druggability of PI3K as a target for compounds with anti-obesity potential is evaluated. Perspectives on the strategies and limitations for clinical implementation of obesity management using natural compounds modulating the PI3K/AKT pathway are suggested.

Резюме

Затлъстяването е заболяване с нарастващо разпространение, което влошава качеството на живот на пациентите и увеличава обществените разходи за здравеопазване. Затова разработването на безопасни и иновативни стратегии за превенция и терапевтични подходи за контрол на затлъстяването е от голямо значение. Сложната патофизиология на затлъстяването включва множество сигнални пътища, които влияят върху енергийния метаболизъм в различни тъкани. Сигналният път на фосфатидилинозитол 3-киназа (PI3K)/протеин киназа Б (AKT) е от решаващо значение за метаболитната хомеостаза и в настоящия обзор е описана неговата физиологична функция, както и участието му в патофизиологията на затлъстяването и свързаните с него усложнения в контекста на инсулинзависимите тъкани. Семейството PI3K кинази участва в регулирането на различни физиологични процеси, включително клетъчен растеж, оцеляване, диференциация, автофагия, хемотаксис и метаболизъм в зависимост от клетъчния контекст. Протеин киназата Б е последващ ефектор по веригата на PI3K в инсулиновия сигнален път и инициира множество клетъчни процеси, като насочва множество регулаторни протеини, които контролират глюкозната и липидната обмяна. Природните продукти са от съществено значение за превенцията и лечението на много човешки заболявания, включително затлъстяването. Съдържащите се в тях съединения, повлияват затлъстяването посредством въздействие върху множество от молекулярните механизми, участващи в патофизиологията на заболяването. Многобройни скорошни предклинични проучвания разкриват напредъка в използването на растителни вторични метаболити за таргетиране на PI3K/AKT сигналния път за превенция и терапия на затлъстяването. В тази статия е извършена задълбочена оценка на възможността за повлияване на това метаболитно нарушение посредством нормализиране на функцията на PI3K. Предложени са перспективи за стратегиите и ограниченията за клинично прилагане на лечение на затлъстяването с помощта на природни съединения, модулиращи PI3K/AKT пътя

5. Marchev AS, **Vasileva LV**, Amirova KM, Savova MS, Koycheva IK, Balcheva-Sivenova ZP, Vasileva SM, Georgiev MI* (2021) Rosmarinic acid - From bench to valuable applications in food industry. *Trends in Food Science & Technology* 117: 182-193. (IF2021 **16.002**; Q1)

Abstract

Rosmarinic acid (RA) is widely distributed in plant species of Lamiaceae and Boraginaceae families, among others. Structurally RA is an ester of caffeic acid and 3,4-dihydroxyphenyllactic acid with well explored biosynthetic pathway, physiological functions in plants and (potential) biological activities. Great number of herbal preparations and food supplements, containing RA, are marketed claiming for beneficial health effects. Furthermore, due to the inhibition of lipid peroxidation and bacterial growth, RA is approved for use as natural antioxidant and/or preservative in food industry. The present review will explore the contemporary biotechnological approaches for RA mass-production and will attempt summarize its main biological properties based on recent studies. Implications for technological and chemical modification of RA aiming at its improved bioavailability will be presented. Future applications in food industry and potential functional food development will be proposed. The advances in biotechnological production of RA provide effective and “green” approach which worth further implementation to a large-scale application. Numerous *in vitro* and *in vivo* studies confirm many of the claimed health-promoting effects of RA, as well as, its value as food additive. Despite the recent improvements in RA stability and bioavailability, its use in food products should be thoroughly evaluated until a tight balance between safety and efficiency is set.

Резюме

Розмариновата киселина (РК) е широко разпространена в растителни видове от семейства Lamiaceae и Boraginaceae, наред с други. В структурно отношение РК е естер на кафеената и 3,4-дихидроксифенилмлечната киселини с добре проучен биосинтетичен път, физиологични функции в растенията и (потенциални) биологични активности. На пазара се предлагат голям брой билкови препарати и хранителни добавки, съдържащи РК, които претендират за благоприятни ефекти върху здравето. Освен това, поради потискането на липидната пероксидация и бактериалния растеж, РК е одобрена за използване като естествен антиоксидант и/или консервант в хранителната промишленост. Настоящият обзор ще разгледа съвременните биотехнологични подходи за промишлено производство на РК и ще се опита да обобщи основните ѝ биологични свойства въз основа на скорошни проучвания. Ще бъдат представени възможностите за технологично и химично модифициране на РК с цел подобряване на бионаличността. Ще бъдат предложени бъдещи приложения в хранително-вкусовата промишленост и потенциални разработки на функционални храни. Напредъкът в биотехнологичното производство на РА осигурява ефективен и "зелен" подход, който заслужава по-нататъшно внедряване за широкомащабно приложение. Многобройни *in vitro* и *in vivo* проучвания потвърждават много от твърденията за благоприятни за здравето ефекти на РК, както и нейната значимост като хранителна добавка. Въпреки неотдавнашните подобрения в стабилността и бионаличността на РК, употребата ѝ в хранителни продукти трябва да бъде внимателно оценена, докато се установи строг баланс между безопасност и ефективност.

6. Savova MS, **Vasileva LV**, Mladenova SG, Amirova KA, Ferrante C, Orlando G, Wabitsch M, Georgiev MI* (2021) *Ziziphus jujuba* Mill. leaf extract restrains adipogenesis by targeting PI3K/AKT signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 141: 111934. (IF2021 **7.419**; Q1)

Abstract

The escalation in the global prevalence of obesity has focused attention on finding novel approaches for its management. *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJL) leaf extract is reported as a traditional

remedy for diverse pathological conditions, including obesity. The present study investigated whether ZJL affects adipogenic differentiation in human adipocytes. Additionally, following metabolite profiling of the extract, apigenin (APG), betulinic acid (BA) and maslinic acid (MA) were selected for biological activity evaluation. The possible interactions between APG, BA, MA and target proteins with a central role in adipogenesis were assessed through molecular docking. The potential mechanisms of ZJL, APG, BA and MA were identified using transcriptional analysis through real-time quantitative PCR and protein abundance evaluation by Western blotting. The obtained results revealed a concentration-dependent reduction of accumulated lipids after ZJL, BA and MA application. The key adipogenic transcription factors peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) and CCAAT-enhancer-binding protein alpha (C/EBP α) were strongly decreased at a protein level by all treatments. Moreover, the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) signaling pathway was found to be involved in the anti-adipogenic effect of ZJL, APG and BA. Collectively, our findings indicate that ZJL and its pure compounds hampered adipocyte differentiation through PI3K/AKT inhibition. Among the selected compounds, BA exhibits the most promising anti-adipogenic activity. Furthermore, being a complex mixture of phytochemicals, the ZJL extract could be utilized as source of yet unknown bioactive leads with potential implementation in obesity management.

Резюме

Разпространението на затлъстяването в световен мащаб ексалира, което насочи вниманието към намирането на нови подходи за неговото управление. *Ziziphus jujuba* Mill. (ZJL) се съобщава като традиционно средство за лечение на различни патологични състояния, включително затлъстяване. Настоящото проучване изследва дали ZJL влияе върху адипогенната диференциация в човешки адипоцити. Освен това, след профилиране на метаболитите на екстракта, апигенин (APG), бетулиновата киселина (BA) и маслиновата киселина (MA), бяха избрани за оценка на биологичната активност. Възможните взаимодействия между APG, BA, MA и целевите протеини с централна роля в адипогенезата, бяха оценени чрез молекулярен докинг анализ. Потенциалните механизми на действие на ZJL, APG, BA и MA бяха идентифицирани чрез количествен PCR в реално време и оценка на количеството на протеините чрез Имуноблот. Получените резултати разкриват зависимо от концентрацията намаляване на натрупаните липиди след прилагане на ZJL, BA и MA. Ключовите адипогенни транскрипционни фактори пероксизомен пролифератор-активиран рецептор гама (PPAR γ) и CCAAT-енхансер-свързващ протеин алфа (C/EBP α) са силно намалени на протеиново ниво при всички третирания. Освен това е установено, че сигналният път на фосфоинозитид 3-киназа (PI3K)/протеин киназа B (AKT) участва в антиадипогенния ефект на ZJL, APG и BA. Като цяло, нашите открития показват, че ZJL и чистите съединения съдържащи се в него, възпрепятстват диференциацията на адипоцитите чрез инхибиране на PI3K/AKT. Сред избраните съединения BA показва най-обещаваща антиадипогенна активност. Освен това, тъй като е сложна смес от фитохимикали, екстрактът от ZJL може да се използва като източник на все още неизвестни биоактивни съединения с потенциал за приложение в лечението на затлъстяването.

7. Koycheva IK, **Vasileva LV**, Amirova KM, Marchev AS, Balcheva-Sivenova ZP, Georgiev MI* (2021) Biotechnologically produced *Lavandula angustifolia* Mill. extract rich in rosmarinic acid resolves psoriasis-like inflammation through Janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling. *Frontiers in Pharmacology* 12: 680168. (IF₂₀₂₁ 5.988; Q1)

Abstract

Psoriasis is a common skin pathology, characterized by dysregulation of epidermal keratinocyte function attended by persistent inflammation, suggesting that molecules with anti-inflammatory potential may be effective for its management. Rosmarinic acid (RA) is a natural bioactive molecule known to have an anti-inflammatory potential. Here we examined the effect of

biotechnologically produced cell suspension extract of *Lavandula angustifolia* Mill (LV) high in RA content as treatment for psoriasis-associated inflammation in human keratinocytes. Regulatory genes from the nuclear factor kappa B (NF- κ B) and Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) signalling pathways were upregulated upon stimulation with a combination of interferon gamma (IFN- γ), interleukin (IL)-17A and IL-22. We also observed that both LV extract and RA could inhibit JAK2, leading to reduced STAT1 phosphorylation. Further, we demonstrated that LV extract inhibited phosphoinositide 3-kinases (PI3K) and protein kinase B (AKT), which could be implicated in reduced hyperproliferation in keratinocytes. Collectively, these findings indicate that the biotechnologically produced LV extract resolved psoriasis-like inflammation in human keratinocytes by interfering the JAK2/STAT1 signaling pathway and its effectiveness is due to its high content of RA (10%). Hence, both LV extract and pure RA possess the potential to be incorporated in formulations for topical application as therapeutic approach against psoriasis.

Резюме

Псориазисът е често срещана кожна патология, характеризираща се с дисрегулация на функцията на епидермалните кератиноцити, придружена от постоянно възпаление, което предполага, че съединения с противовъзпалителен потенциал могат да бъдат ефективни за неговото лечение. Розмариновата киселина (РА) е естествено биоактивно вещество, за което е известно, че има противовъзпалителен потенциал. Тук изследвахме ефекта на биотехнологично произведен екстракт от клетъчна суспензия на *Lavandula angustifolia* Mill (LV) с високо съдържание на РА, като средство за лечение на свързаното с псориазис възпаление при човешки кератиноцити. Регулаторните гени от сигналните пътища на ядрения фактор карпа В (NF- κ B) и Janus киназа/сигнален трансдюсер и активатор на транскрипцията (JAK/STAT) бяха повишени при стимулиране с комбинация от интерферон гама (IFN- γ), интерлевкин (IL)-17A и IL-22. Също така наблюдавахме, че както екстрактът от LV, така и РА могат да инхибират JAK2, което води до намаляване на фосфорилирането на STAT1. Освен това доказахме, че екстрактът от LV инхибира фосфоинозитид 3-киназите (PI3K) и протеин киназа В (AKT), което може да бъде свързано с намалената хиперпролиферация в кератиноцитите. В своята съвкупност, тези констатации показват, че биотехнологично произведеният екстракт от ЛВ разрешава псориазисоподобно възпаление в човешки кератиноцити чрез намеса в сигналния път JAK2/STAT1 и неговата ефективност се дължи на високото съдържание на РА (10 %). Следователно както екстрактът от LV, така и чистият РА притежават потенциала да бъдат включени във формули за локално приложение като терапевтичен подход срещу псориазис.

8. Mladenova SG[#], Vasileva LV[#], Savova MS, Marchev AS, Tews D, Wabitsch M, Ferrante C, Orlando G, Georgiev MI* (2021) Anti-adipogenic effect of *Alchemilla monticola* is mediated via PI3K/AKT signaling inhibition in human adipocytes. *Frontiers in Pharmacology* 12: 707507. (IF₂₀₂₁ 5.988; Q1)

Abstract

Obesity is a persistent and continuously expanding social health concern. Excessive fat mass is associated with increased risk for chronic diseases including diabetes, atherosclerosis, non-alcoholic steatohepatitis, reproductive dysfunctions and certain types of cancer. *Alchemilla monticola* Opiz is a perennial plant of the Rosaceae family traditionally used to treat inflammatory conditions and as component of a weight loss herbal mixtures. In the search for bioactive leads with potential anti-adipogenic effect from *A. monticola* extract (ALM), we have employed nuclear magnetic resonance (NMR) based metabolomics to obtain data for the actual phytochemical profile of the extract. Further, molecular docking simulation was performed against key adipogenic targets for the most abundant compounds in the ALM extract. Evaluation of the biological activity was done in human adipocytes exposed to ALM (5, 10 and 25 μ g/mL), pure astragaloside (AST) or

quercitrin (QUE; 5, 10 and 25 μM). Investigation of the molecular pathways involved was performed through gene expression and Western blot analyses. According to the docking predictions strong putative affinity of both AST and QUE towards peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K) was present. Assessment of the intracellular lipid accumulation revealed anti-adipogenic activity of ALM. Correspondingly, the expression of adipogenic genes CAAT/enhancer-binding protein alpha (CEBPA) and PPARG was downregulated upon ALM and AST treatment. The Western blotting results exposed protein kinase B (AKT), PI3K and PPAR γ as targets for the inhibitory effect of ALM and AST on adipogenesis. Collectively, we demonstrate the anti-adipogenic effect of ALM and its active compound AST in human adipocytes. Furthermore, PI3K/AKT signaling pathway is identified to mediate their anti-adipogenic action. Additionally, we provide a broader insight of the phytochemical composition of *A. monticola*. Hence, the identified secondary metabolites worth further exploration as potentially active in obesity management.

Резюме

Затлъстяването е постоянен и непрекъснато разрастващ се проблем за здравеопазването. Прекомерното натрупване на мастна тъкан се свързва с повишен риск от хронични заболявания, включително диабет, атеросклероза, неалкохолен стеатохепатит, репродуктивни дисфункции и някои видове рак. *Alchemilla monticola* Opiz е многогодишно растение от семейство Rosaceae, което традиционно се използва за лечение на възпалителни състояния както и като компонент от билкови смеси за отслабване. В търсене на природни молекули с потенциален антиадипогенен ефект от екстракта от *A. monticola* (ALM) използвахме метаболомика, базирана на ядрено-магнитен резонанс (ЯМР), за да получим данни за фитохимичния профил на екстракта. Освен това беше извършен молекулен докинг анализ за най-характерните чисти съединения в екстракта от ALM към ключови протеинови структури участващи в адипогенезата. Оценката на биологичната активност е направена в човешки адипоцити, изложени на ALM (5, 10 и 25 $\mu\text{g/ml}$), чист астрагалин (AST) или кверцитрин (QUE; 5, 10 и 25 μM). Изследването на ключови за адипогенезата молекулярни пътища беше извършено чрез анализи на генната експресия и имуноблотирание. Според докинг анализа е налице предполагаем афинитет на свързване за AST и QUE към пероксизомния пролифератор-активиран рецептор гама (PPAR γ) и фосфоинозитид 3-киназата (PI3K). Оценката на втреклетъчното натрупване на липиди разкри антиадипогенна активност на ALM. Съответно експресията на адипогенните гени CAAT/енхансер-свързващ протеин алфа (CEBPA) и PPARG беше понижена при третиране с ALM и AST. Резултатите от имуноблот анализа разкриват протеин киназа B (AKT), PI3K и PPAR γ като основни мишени за инхибиращия ефект на ALM и AST върху адипогенезата. В обобщение, настоящият труд демонстрира антиадипогенния ефект на ALM и AST в човешки адипоцити. Освен това установено, че PI3K/AKT сигналния път опосредства тяхното антиадипогенно действие. Представени са данни, които допълват фитохимичния състав на *A. monticola*. Следователно идентифицираните вторични метаболити заслужават по-нататъшно проучване като потенциални природни молекули за повлияване на затлъстяването

9. **Vasileva LV**, Savova MS, Tews D, Wabitsch M, Georgiev MI* (2021) Rosmarinic acid attenuates obesity and obesity-related inflammation in human adipocytes. *Food and Chemical Toxicology* 149: 112002. (IF₂₀₂₁ 5.572; Q1)

Abstract

Chronic low-grade inflammation is a hallmark of obesity and its related metabolic disorders. At the same time signaling from pro-inflammatory factors such as transforming growth factor beta (TGF- β) or interleukin 17A (IL- 17A) are proposed as crucial for the commitment of fibroblast progenitor cells towards adipogenic differentiation. Modulation of inflammation during

adipogenic differentiation is incompletely explored as a potential approach to prevent metabolic disorders. Rosmarinic acid (RA) is a caffeic acid derivative known for its anti-inflammatory effects. Experimental studies of its activity on adipogenic factors or *in vivo* obesity models are, however, controversial and hence insufficient. Here, we investigated the anti-adipogenic action of RA in human Simpson-Golabi-Behmel syndrome (SGBS) adipocytes. Gene expression levels of key players in adipogenesis and lipid metabolism were assessed. Furthermore, a molecular mechanism of action was proposed. The most prominent effect was found on the translation of C/EBP α , PPAR γ and adiponectin, as well as on the modulation of *TGF1B* and *IL17A*. Interestingly, involvement of NRF2 signaling was identified upon RA treatment. In summary, our findings indicate that RA prevents inflammation and excessive lipid accumulation in human adipocytes. Data from the molecular analysis demonstrate that RA has potential for treatment of obesity and obesity-related inflammation.

Резюме

Хроничното нискостепенно възпаление е отличителен белег на затлъстяването и свързаните с него метаболитни нарушения. В същото време се предлага сигнализирането от провъзпалителни фактори, като трансформиращ фактор на растежа бета (TGF- β) или интерлевкин 17A (IL- 17A), да е от решаващо значение за насочването на фибробластните прогениторни клетки към адипогенна диференциация. Модулирането на възпалението по време на адипогенната диференциация е не добре проучено като потенциален подход за предотвратяване на метаболитни нарушения. Розмариновата киселина (РА) е производно на кафеената киселина, известно с противовъзпалителните си ефекти. Експерименталните изследвания на нейната активност върху адипогенни фактори или *in vivo* модели на затлъстяване обаче са противоречиви и поради това недостатъчни. Тук изследвахме антиадипогенното действие на РА в човешки адипоцити със синдрома на Симпсън-Голаби-Бемел (SGBS). Бяха оценени нивата на гена експресия на ключови участници в адипогенезата и липидния метаболизъм. Освен това беше предложен молекулярен механизъм на действие. Най-изразеният ефект беше установен върху транслацията на C/EBP α , PPAR γ и адипонектин, както и върху модуляцията на TGF1B и IL17A. Интересно е, че при лечението с РА е установено участието на NRF2 сигнализацията. В обобщение, нашите открития показват, че РА предотвратява възпалението и прекомерното натрупване на липиди в човешките адипоцити. Данните от молекулярния анализ показват, че РА има потенциал за лечение на затлъстяването и свързаното с него възпаление.

10. **Vasileva LV**, Savova MS, Amirova KA, Balcheva-Sivenova ZP, Ferrante C, Orlando G, Wabitsch M, Georgiev MI* (2020) Caffeic and chlorogenic acids synergistically activate browning program in human adipocytes: Implications of AMPK- and PPAR-mediated pathways. *International Journal of Molecular Sciences* 21(24): 9740. (IF₂₀₂₀ 4.556; Q1)

Abstract

Caffeic acid (CA) and chlorogenic acid (CGA) are phenolic compounds claimed to be responsible for the metabolic effects of coffee and tea consumption. Along with their structural similarities, they share common mechanisms such as activation of the AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling. The present study aimed to investigate the anti-obesity potential of CA and CGA as co-treatment in human adipocytes. The molecular interactions of CA and CGA with key adipogenic transcription factors were simulated through an *in silico* molecular docking approach. The expression levels of white and brown adipocyte markers, as well as genes related to lipid metabolism, were analyzed by real-time quantitative PCR and Western blot analyses. Mechanistically, the CA/CGA combination induced lipolysis, upregulated AMPK and browning gene expression and downregulated peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) at both transcriptional and protein levels. The gene expression profiles of the CA/CGA-co-treated adipocytes strongly resembled brown-like signatures. Major pathways identified included the

AMPK- and PPAR-related signaling pathways. Collectively, these findings indicated that CA/CGA co-stimulation exerted a browning-inducing potential superior to that of either compound used alone which merits implementation in obesity management. Further, the obtained data provide additional insights on how CA and CGA modify adipocyte function, differentiation and lipid metabolism.

Резюме

Кафеевата киселина (CA) и хлорогеновата киселина (CGA) са фенолни съединения, за които се твърди, че отговарят за положителните метаболитни ефекти при консумацията на кафе и чай. Заедно с техните структурни прилики, те споделят общи молекулярни механизми като активиране на AMP-активирана протеин киназа (AMPK). Настоящото проучване има за цел да изследва антиадипогенния потенциал на комбинацията от CA и CGA в *in vitro* модел на затлъстяване. Взаимодействието на CA и CGA с ключовите адипогенни транскрипционни фактори са симулирани чрез *in silico* молекулярен докинг подход. Генната експресия на маркери свързани с диференциацията на бели и кафяви мастни клетки, както и гени, свързани с липидния метаболизъм, бяха анализирани чрез количествена полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време и имуноблот анализи. Комбинираното третиране с CA/CGA стимулира липолизата, повишава експресията на AMPK, както и на гени характерни за кафявата мастна тъкан. Потискането на експресията на пероксизомния пролифератор-активиран рецептор гама (PPAR γ) е потвърдено както на транскрипционно, така и на протеиново ниво. Профилът на генна експресия на CA/CGA-третираните адипоцити има голяма прилика с този на кафявите адипоцити. Основните повлияни от третирането пътища са AMPK и PPAR. Колективно тези констатации показват, че комбинираното приложение CA/CGA индуцира преминаването на бяла в кафява мастна тъкан в по-голяма степен, в сравнение с това на всяко от двете съединения, използвано самостоятелно. Освен това получените данни дават допълнителна информация за това как CA и CGA повлияват адипоцитната функция, диференциацията и липидния метаболизъм

11. **Vasileva L**, Savova M, Amirova K, Dinkova-Kostova A, Georgiev MI* (2020) Obesity and NRF2-mediated cytoprotection: Where is the missing link? *Pharmacological Research* 156: 104760. (IF₂₀₂₀ 7.658; Q1)

Abstract

The expanding dimensions of the global health crisis of overweight population has defined the term “globesity”. Among the most common pathological conditions connected with excessive adiposity are hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension which result in chronic non-communicable diseases (NCD) such as metabolic syndrome (MetS), type 2 diabetes (T2D), and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). The contribution of inflammatory-immune reactions in obesity and its related co-morbidities is unequivocal. Increased levels of free fatty acids (FFA), reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) overloads the homeostatic system resulting in pro-inflammatory adipokines secretion, immune-activation and chronic inflammation in obesity. The cellular mechanisms of defense against oxidative stress are orchestrated by the transcription factor nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2 (NRF2). Excessive oxidative stress in the cell activates NRF2 which upregulates genes encoding major cytoprotective enzymes such as NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1), heme oxygenase 1 (HO1), and glutathione S-transferases (GST). The present review aims to clarify the interconnections between chronic inflammation, oxidative overload and NRF2-mediated cytoprotection as potential therapeutic approach in obesity.

Резюме

Разширяващите се измерения на глобалната здравна криза, свързана с наднорменото тегло на населението, определиха термина "globesity". Сред най-често срещаните патологични

състояния, свързани с прекомерното затлъстяване, са хипергликемията, инсулиновата резистентност, дислипидемията и хипертонията, които водят до хронични незаразни болести (НЗБ) като метаболитен синдром (МетС), диабет тип 2 (Т2Д) и неалкохоличен стеатохепатит (НАСХ). Приносът на възпалително-имунните реакции за затлъстяването и свързаните с него съпътстващи заболявания е недвусмислен. Повишените нива на свободните мастни киселини (СМК), реактивните кислородни видове (ROS) и реактивните азотни видове (RNS) претоварват хомеостатичната система, което води до провъзпалителна секреция на адипокини, имунна активация и хронично възпаление при затлъстяване. Клетъчните механизми на защита срещу оксидативния стрес се организират от транскрипционния фактор ядрен фактор на еритроидите 2 р45-свързан фактор 2 (NRF2). Прекомерният оксидативен стрес в клетката активира NRF2, който регулира гените, кодиращи основните цитопротективни ензими, като NAD(P)H:хинон оксидоредуктаза 1 (NQO1), хем оксигеназа 1 (HO1) и глутатион S-трансферази (GST). Настоящият преглед има за цел да изясни взаимовръзките между хроничното възпаление, оксидативното претоварване и цитопротекцията, медирана от NRF2, като потенциален терапевтичен подход при затлъстяването.

12. **Vasileva LV, Marchev AS, Georgiev MI*** (2018) Causes and solutions to “globesity”: The new fa(s)t alarming global epidemic. *Food and Chemical Toxicology* 121: 173-193. (IF₂₀₁₈ 3.775; Q1)

Abstract

Diverse groups of factors are leading to increased weight gain and obesity, such as certain genetic phenotypes, neuroendocrine disturbances, the administration of some drugs, behavioral, social and environmental factors. The progressively escalating rates of overweight and obesity worldwide have led to an introduction of a new term “globesity”. Excessive accumulation of body fat and especially of visceral adipose tissue is the main predisposing factor for the development of metabolic syndrome and other obesity related co-morbidities. At the present moment only few pharmacotherapeutics are used for long-term treatment of obesity acting on narrow target spectra, e.g. pancreatic and gastric lipase inhibition, acting as adrenomimetics or activating the satiety centers in hypothalamus. Plant-based medications that accelerate weight loss, proved to be safe, effective and widely available, would be a preferable alternative for anti-obesity treatments. As plant extracts are multicomponent systems they could also act by more than one mechanism, including decreased lipid absorption, decreased energy intake, increased energy expenditure, decreased pre-adipocyte differentiation and proliferation, decreased lipogenesis and increased lipolysis. The current review gives a summary of the risk factors for obesity development and its characteristics consequences. Current treatment options, combining lifestyle changes and conventional treatment with commercial anti-obesity drugs have been described as well. Special emphasis on in vitro, in vivo and human studies, of potential medicinal plant extracts and phytochemicals, such as polyphenols, terpenoids, alkaloids, saponins, able to modulate the molecular pathways and gene/protein expressions related to obesity, have been highlighted.

Резюме

Разнообразни групи фактори водят до увеличаване на теглото и затлъстяване, като например определени генетични фенотипи, невроендокринни смущения, прием на някои лекарства, поведенчески, социални и екологични фактори. Прогресивно нарастващите нива на наднормено тегло и затлъстяване в световен мащаб доведоха до въвеждането на нов термин "глобус". Прекомерното натрупване на телесни мазнини и особено на висцерална мастна тъкан е основният предразполагащ фактор за развитието на метаболитен синдром и други съпътстващи заболявания, свързани със затлъстяването. Понастоящем за дългосрочно лечение на затлъстяването се използват само няколко фармакотерапевтични продукта, които действат върху тесен целеви спектър, например инхибиране на

панкреатичната и стомашната липаза, действат като адреномиметици или активират центровете за ситост в хипоталамуса. Лекарствата на растителна основа, които ускоряват загубата на тегло, доказали своята безопасност, ефективност и широка достъпност, биха били предпочитана алтернатива за лечение срещу затлъстяване. Тъй като растителните екстракти са многокомпонентни системи, те биха могли да действат и по повече от един механизъм, включително намаляване на липидната абсорбция, намаляване на енергийния прием, увеличаване на енергийния разход, намаляване на преадипоцитната диференциация и пролиферация, намаляване на липогенезата и увеличаване на липолизата. Настоящият преглед съдържа обобщение на рисковите фактори за развитие на затлъстяване и неговите характерни последици. Описани са и съвременните възможности за лечение, съчетаващи промени в начина на живот и конвенционално лечение с комерсиални лекарства срещу затлъстяване. Специален акцент е поставен върху *in vitro*, *in vivo* и човешките изследвания на потенциални екстракти от лечебни растения и фитохимикали, като полифеноли, терпеноиди, алкалоиди, сапонини, способни да модулират молекулярните пътища и генните/протеиновите експресии, свързани със затлъстяването.

Включени по показател Г

13. Stoykova ID, Koucheva IK, Binev, BK, **Mihaylova LV**, Benina MY, Alipieva KI, Georgiev MI (2024) Myconoside and calceolarioside E restrain UV-induced skin photoaging by activating NRF2-mediated defense mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences* 25(4): 2441. (IF₂₀₂₂ 5.6; Q1)

Abstract

Chronic and excessive ultraviolet (UVA/UVB) irradiation exposure is known as a major contributor to premature skin aging, which leads to excessive reactive oxygen species generation, disturbed extracellular matrix homeostasis, DNA damage, and chronic inflammation. Sunscreen products are the major preventive option against UVR-induced photodamage, mostly counteracting the acute skin effects and only mildly counteracting accelerated aging. Therefore, novel anti-photoaging and photopreventive compounds are a subject of increased scientific interest. Our previous investigations revealed that the endemic plant *Haberlea rhodopensis* Friv. (HRE) activates the antioxidant defense through an NRF2-mediated mechanism in neutrophils. In the present study, we aimed to investigate the photoprotective potential of HRE and two of its specialized compounds—the phenylethanoid glycosides myconoside (MYC) and calceolarioside E (CAL)—in UVA/UVB-stimulated human keratinocytes in an *in vitro* model of photoaging. The obtained data demonstrated that the application of HRE, MYC, and CAL significantly reduced intracellular ROS formation in UVR-exposed HaCaT cells. The NRF2/PGC-1 α and TGF-1 β /Smad/Wnt signaling pathways were pointed out as having a critical role in the observed CAL- and MYC-induced photoprotective effect. Collectively, CAL is worth further evaluation as a potent natural NRF2 activator and a promising photoprotective agent that leads to the prevention of UVA/UVB-induced premature skin aging.

Резюме

Известно е, че хроничното и прекомерно излагане на ултравиолетово (UVA/UVB) облъчване има основен принос за преждевременното стареене на кожата, което води до прекомерно генериране на реактивни кислородни видове, нарушена хомеостаза на извънклетъчния матрикс, увреждане на ДНК и хронично възпаление. Слънцезащитните продукти са основната възможност за превенция на фотоуврежданията, предизвикани от UVR, като противодействат най-вече на острите ефекти върху кожата и само в слаба степен противодействат на ускореното стареене. Поради това новите антифотостареещи и фотопротективни съединения са обект на засилен научен интерес. Нашите предишни изследвания разкриха, че ендемичното растение *Haberlea rhodopensis* Friv. (HRE) активира

антиоксидантната защита чрез механизъм, опосредстван от NRF2, в неутрофилите. В настоящото проучване имахме за цел да изследваме фотозащитния потенциал на HRE и две специфичните за него съединения - фенилетаноидните гликозиди миконозид (MYC) и калцеолариозид Е (CAL) - при UVA/UVB-стимулирани човешки кератиноцити в *in vitro* модел на фотостареене. Получените данни показват, че прилагането на HRE, MYC и CAL значително намалява образуването на вътреклетъчни ROS в изложени на UVR HaCaT клетки. Сигналните пътища NRF2/PGC-1 α и TGF-1 β /Smad/Wnt бяха посочени като имащи решаваща роля за наблюдавания фотопротективен ефект, предизвикан от CAL- и MYC. В своята съвкупност CAL заслужава по-нататъшна оценка като мощен естествен активатор на NRF2 и обещаващ фотопротективен агент, който води до предотвратяване на UVA/UVB-индуцираното преждевременно стареене на кожата.

14. Todorova MN, Savova MS, **Mihaylova LV**, Georgiev MI (2024) Icariin improves stress resistance and extends lifespan in *Caenorhabditis elegans* through *hsf-1* and *daf-2*-driven hormesis. *International Journal of Molecular Sciences* 25(1): 352. (IF₂₀₂₂ 5.6; Q1)

Abstract

Aging presents an increasingly significant challenge globally, driven by the growing proportion of individuals aged 60 and older. Currently, there is substantial research interest in pro-longevity interventions that target pivotal signaling pathways, aiming not only to extend lifespan but also to enhance healthspan. One particularly promising approach involves inducing a hormetic response through the utilization of natural compounds defined as hormetins. Various studies have introduced the flavonoid icariin as beneficial for age-related diseases such as cardiovascular and neurodegenerative conditions. To validate its potential pro-longevity properties, we employed *Caenorhabditis elegans* as an experimental platform. The accumulated results suggest that icariin extends the lifespan of *C. elegans* through modulation of the DAF-2, corresponding to the insulin/IGF-1 signaling pathway in humans. Additionally, we identified increased resistance to heat and oxidative stress, modulation of lipid metabolism, improved late-life healthspan, and an extended lifespan upon icariin treatment. Consequently, a model mechanism of action was provided for icariin that involves the modulation of various players within the stress-response network. Collectively, the obtained data reveal that icariin is a potential hormetic agent with geroprotective properties that merits future developments.

Резюме

Стареенето се явява все по-сериозно предизвикателство в световен мащаб, обуславено от нарастващия дял на хората на възраст 60 и повече години. Понастоящем съществува значителен изследователски интерес към интервенциите в полза на дълголетието, които да таргетират ключови сигнални пътища, с цел не само удължаване на живота, но и подобряване на здравословното състояние. Един особено обещаващ подход включва предизвикване на хорметичен отговор чрез използване на природни съединения, определяни като хорметини. Различни проучвания представят флавоноида икарин като полезен срещу свързаните с възрастта заболявания, като сърдечносъдови и невродегенеративни състояния. За валидиране на потенциалните му свойства за удължаване на живота, използвахме *Caenorhabditis elegans* като експериментална платформа. Натрупаните резултати показват, че икаринът удължава живота на *C. elegans* чрез модулиране на DAF-2, съответстващ на сигналния път на инсулин/IGF-1 при хората. Освен това установихме повишена устойчивост към топлинен и оксидативен стрес, модулация на липидния метаболизъм, подобрен здравен статус в края на живота и удължена продължителност на живота при третиране с икариин. В резултат на това беше представен молекулярен механизъм на действие на икариин, който включва модулиране на различни участници в сигналната мрежата за реакция към стрес. В съвкупност, получените данни

разкриват, че икариин е потенциален хорметин с геропротективни свойства, което заслужава допълнително научно внимание в бъдеще.

15. Koycheva IK, Vasileva LV, Todorova MN, Balcheva-Sivenova ZP, Alipieva K, Ferrante C, Orlando G, Georgiev MI* (2021) Leucosceptoside A from devil's claw modulates psoriasis-like inflammation *via* suppression of the PI3K/AKT signaling pathway in keratinocytes. *Molecules* 26(22): 7014. (IF₂₀₂₁ 4.927; Q2)

Abstract

Psoriasis is a chronic inflammatory skin condition characterized by abnormal keratinocyte proliferation and differentiation that is accompanied with dysregulated immune response and abnormal vascularization. Devil's claw (*Harpagophytum procumbens* (Burch.) DC. ex Meisn.) tubers extract has been used both systemically and topically for treatment of chronic inflammatory diseases such as arthritis, osteoporosis, inflammatory bowel disease, among others. However, its potential mechanisms of action against psoriasis remains poorly investigated. The human keratinocyte HaCaT cell line is a well-accepted *in vitro* model system for inflammatory skin disorders such as psoriasis. The present study involved an exploration of the effect of biotechnologically produced *H. procumbens* (HP) cell suspension extract and pure phenylethanoid glycosides verbascoside (VER) and leucosceptoside A (LEU) in interferon (IFN)-/interleukin (IL)-17A/IL-22-stimulated HaCaT cells as a model of psoriasis-like inflammation. Changes in key inflammatory signaling pathways related to psoriasis development were detected by reverse transcription polymerase chain reaction and western blotting. Treatment with LEU, but not VER and HP extract improved psoriasis-related inflammation *via* suppression of the PI3K/AKT signaling in IFN-/IL-17A/IL-22-stimulated HaCaT cells. Our results suggest that LEU may exhibit therapeutic potential against psoriasis by regulating keratinocyte differentiation through inhibition of the PI3K/AKT pathway.

Резюме

Псориазисът е хронично възпалително състояние на кожата, характеризиращо се с абнормна пролиферация и диференциация на кератиноцитите, което се придружава от нерегулиран имуен отговор и абнормна васкуларизация. Екстрактът от грудки на дяволски нокът (*Harpagophytum procumbens* (Burch.) DC. ex Meisn.) се използва както системно, така и локално за лечение на хронични възпалителни заболявания като артрит, остеопороза, възпалителни заболявания на червата и др. Въпреки това потенциалните му механизми на действие срещу псориазис остават слабо проучени. Човешката кератиноцитна клетъчна линия HaCaT е добре приета *in vitro* моделна система за възпалителни кожни заболявания, като псориазис. Настоящото проучване включва изследване на ефекта на биотехнологично произведен екстракт от клетъчна суспензия на *H. procumbens* (HP) и чистите фенолетанонидни гликозиди вербаскозид (VER) и левкосептозид А (LEU) при стимулирани с интерферон (IFN)-/интерлевкин (IL)-17A/IL-22 HaCaT клетки като модел на псориазис-подобно възпаление. Промените в ключови възпалителни сигнални пътища, свързани с развитието на псориазис, са открити чрез обратна транскрипционна полимеразно-верижна реакция и имуоблот. Третирането с екстракт от LEU, но не и с VER и HP, подобрява свързаното с псориазис възпаление чрез потискане на PI3K/AKT сигнализацията в стимулирани с IFN-/IL-17A/IL-22 HaCaT клетки. Нашите резултати показват, че LEU може да има терапевтичен потенциал срещу псориазис чрез регулиране на кератиноцитната диференциация чрез инхибиране на пътя PI3K/AKT.

16. Marchev AS, Vasileva LV, Amirova KM, Savova MS, Balcheva-Sivenova ZP, Georgiev MI* (2021) Metabolomics and health: from nutritional crops and plant-based pharmaceuticals to profiling of human biofluids. *Cellular and Molecular Life Sciences* 78: 6487-6503. (IF₂₀₂₁ 9.234; Q1)

Abstract

During the past decade metabolomics has emerged as one of the fastest developing branches of “-omics” technologies. Metabolomics involves documentation, identification, and quantification of metabolites through modern analytical platforms in various biological systems. Advanced analytical tools, such as gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), liquid chromatography/mass spectroscopy (LC/MS), and non-destructive nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, have facilitated metabolite profiling of complex biological matrices. Metabolomics, along with transcriptomics, has an influential role in discovering connections between genetic regulation, metabolite phenotyping and biomarkers identification. Comprehensive metabolite profiling allows integration of the summarized data towards manipulation of biosynthetic pathways, determination of nutritional quality markers, improvement in crop yield, selection of desired metabolites/genes, and their heritability in modern breeding. Along with that, metabolomics is invaluable in predicting the biological activity of medicinal plants, assisting the bioactivity-guided fractionation process and bioactive leads discovery, as well as serving as a tool for quality control and authentication of commercial plant-derived natural products. Metabolomic analysis of human biofluids is implemented in clinical practice to discriminate between physiological and pathological state in humans, to aid early disease biomarker discovery and predict individual response to drug therapy. Thus, metabolomics could be utilized to preserve human health by improving the nutritional quality of crops and accelerating plant-derived bioactive leads discovery through disease diagnostics, or through increasing the therapeutic efficacy of drugs *via* more personalized approach. Here, we attempt to explore the potential value of metabolite profiling comprising the above-mentioned applications of metabolomics in crop improvement, medicinal plants utilization, and, in the prognosis, diagnosis and management of complex diseases.

Резюме

През последното десетилетие метаболомиката се превърна в един от най-бързо развиващите се клонове на "-омикс" технологии. Метаболомиката включва документиране, идентифициране и количествено определяне на метаболитите в различни биологични системи чрез съвременни аналитични платформи. Съвременната аналитична апаратура, като газова хроматография в тандем с маспектрометрия (GC/MS), течна хроматография с маспектроскопия (LC/MS) и неструктивният спектроскопски анализ базиран на ядрено-магнитен резонанс (ЯМР), улесниха профилирането на метаболити в сложни биологични матрици. Метаболомиката, заедно с транскриптомиката, имат съществена роля за откриване на връзките между генетичната регулация, фенотипирането на метаболитите и идентифицирането на биомаркери. Цялостното метаболитно профилиране позволява интегриране на обобщените данни в посока контролиране на биосинтетични пътища, определяне на маркери за хранителни качества, подобряване на добива на култури, подбор на желани метаболити/гени и тяхната наследственост в съвременната селекция. Наред с това метаболомиката е изключително важна за прогнозиране на биологичната активност на лечебни растения, за подпомагане процеса на откриването на биологично-активни вещества, както и служи като инструмент за контрол на качеството и удостоверяване на автентичността на търговски продукти от растителен произход. Метаболомният анализ на човешки телесни течности се прилага в клиничната практика за разграничаване на физиологичното от патологичното състояние при хората, за подпомагане на ранното откриване на биомаркери на заболявания и за прогнозиране на индивидуалния отговор на лекарствената терапия. По този начин метаболомиката може да се използва за запазване на човешкото здраве чрез подобряване на хранителното качество на културите и ускоряване на откриването на биологично-активни вещества от растителен произход чрез диагностика на заболяванията или чрез повишаване на терапевтичната ефикасност на лекарствата чрез осигуряване на персонализиран подход. В този обзор е проучена изключително важната роля на метаболитното профилиране, включващо гореспоменатите приложения на

метаболизмът в подобряването на културите, използването на лечебни растения и в прогнозирането, диагностицирането и терапията на комплексни заболявания

17. Georgiev MI, **Vasileva L**, Savova M (2021) Antiobesity molecules of natural origin: Call for lead finding acceleration. *Food Frontiers* 2(1): 23-24.

Graphical abstract only (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/fft.2.59>)

Резюмето към публикацията е само графично

18. Saracheva K*, Hrishev P, **Vasileva LV**, Topolov M, Nikolova J, Getova D (2020) Effects of new generation triptans - frovatriptan and almotriptan on hemodynamic parameters in intact male and female rats. *Acta Pharmaceutica* 70(2): 239-247. (IF₂₀₂₀ 2.230, Q4)

Abstract

The introduction of the second generation triptans in clinical and experimental practice was a major progress in the pharmacotherapy of migraine. Frovatriptan is a second generation triptan with strong 5-HT_{1B/1D} serotonergic agonism and low 5-HT_{1A/7} receptor affinity, while almotriptan possesses not only the typical 5-HT_{1B/1D} receptor agonist activity, but shows an affinity to the 5-HT_{1F} receptor. The aim of our study was to assess the impact of frovatriptan and almotriptan on hemodynamics in male and female rats. We used a non-invasive "tail-cuff" method to measure the arterial blood pressure. Female and male Wistar rats were treated separately with high and low dosages of frovatriptan and almotriptan. Male and female rats showed reduction in all hemodynamic parameters, but only male rats showed an increase in the heart rate. In general, we could say that both almotriptan and frovatriptan potentiate cardiovascular safety.

Резюме

Въвеждането на второто поколение триптани в клиничната и експерименталната практика е значителен напредък във фармакотерапията на мигрената. Frovatriptan е триптан от второ поколение със силен 5-HT_{1B/1D} серотонинергичен агонизъм и нисък афинитет към 5-HT_{1A/7} рецепторите, докато almotriptan притежава не само типичната 5-HT_{1B/1D} рецепторна агонистична активност, но показва афинитет към 5-HT_{1F} рецептора. Целта на нашето проучване беше да се оцени влиянието на фроватриптан и алмотриптан върху хемодинамиката при мъжки и женски плъхове. За измерване на артериалното кръвно налягане използвахме неинвазивен метод "опашка-ръкавица". Женски и мъжки плъхове от породата Wistar бяха третирани поотделно с високи и ниски дози фроватриптан и алмотриптан. Мъжките и женските плъхове показаха намаление на всички хемодинамични параметри, но само при мъжките плъхове се наблюдаваше увеличение на сърдечната честота. Като цяло може да се каже, че и алмотриптанът, и фроватриптанът опосредстват сърдечносъдовата безопасност.

19. **Vasileva LV***, Ivanovska M, Murdjeva M, Saracheva K, Georgiev MI* (2019) Immunoregulatory natural compounds in stress-induced depression: An alternative or an adjunct to conventional antidepressant therapy? *Food and Chemical Toxicology* 127: 81-88. (IF₂₀₁₉ 4.679, Q1)

Abstract

The interplay of chronic stress, neuroinflammation and altered immune reactivity has been shown to be important for the pathophysiology of brain disorders such as schizophrenia, depressive disorders and post-traumatic stress disorder. This immuno-inflammatory theory has been extensively studied in the past three decades leading to the formation of the integrative discipline of psychoneuroimmunology. Targeting of the central nervous system by conventional pharmacotherapeutic methods is mainly through modulation of neuroendocrine systems such as

the dopaminergic, GABA-ergic, adrenergic and serotonergic systems. In recent years an increasing number of both experimental and clinical studies have shown that antidepressants can affect the immune system by reducing the production of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6 and TNF- α . However, due to the serious adverse effects accompanying the chronic administration of psychoactive drugs there is a continuous need to produce novel therapeutics that are both potent and safe. The present review aims to summarize the current knowledge in the field of psychoneuroimmunology and to delineate the main interactions between stress, inflammation, immunity and the brain. Additionally, this paper explores the use of plant-derived molecules that display a strong anti-stress effect and simultaneously modulate the immune response as an alternative or adjuvant to classical antidepressant drugs.

Резюме

Доказано е, че взаимодействието между хроничния стрес, невровъзпалението и променената имунна реактивност е важно за патофизиологията на мозъчни разстройства като шизофрения, депресивни разстройства и посттравматичен стрес. Тази имуноинфламаторна теория е широко проучена през последните три десетилетия, което доведе до формирането на интегративната дисциплина психоневроимунология. Насочването на конвенционалните фармакотерапевтични методи към централната нервна система е главно чрез модулиране на невроендокринните системи, като допаминергичната, ГАМК-ергичната, адренергичната и серотонинергичната система. През последните години все по-голям брой експериментални и клинични проучвания показват, че антидепресантите могат да повлияят на имунната система, като намалят производството на провъзпалителни цитокини като IL-1 β , IL-6 и TNF- α . Въпреки това, поради сериозните неблагоприятни ефекти, съпътстващи хроничното прилагане на психоактивни лекарства, съществува постоянна необходимост от създаване на нови терапевтични средства, които са едновременно ефикасни и безопасни. Настоящият обзор има за цел да обобщи съвременните познания в областта на психоневроимунологията и да очертае основните взаимодействия между стреса, възпалението, имунитета и мозъка. Освен това настоящата статия разглежда използването на растителни молекули, които проявяват силен антистресов ефект и едновременно с това модулират имунния отговор, като алтернатива или допълнение към класическите антидепресанти.

20. Doncheva N*, **Vasileva LV**, Saracheva K, Dimitrova D, Getova D (2019) Study of antinociceptive effect of ketamine in acute and neuropathic pain models in rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 28(5): 573-579. (IF₂₀₁₉ 1.514, Q4)

Abstract

Glutamate N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors are known for their importance in the perseverance of chronic neuropathic pain. Ketamine, an intravenous anesthetic agent, is a non-competitive blocker of NMDA receptors. Applied in anesthetic doses, ketamine has antinociceptive effects in various animal pain models. The objective of this study was to investigate the anti-nociceptive effect of ketamine in acute and neuropathic pain models in rats. To study the anti-nociceptive effect of ketamine on acute pain, 40 Wistar rats were divided into 5 groups (n = 8): control, positive control group and 3 experimental groups treated intraperitoneally (ip.) with 30 mg/kg bw, 40 mg/kg bw and 50 mg/kg bw ketamine, respectively. The anti-nociceptive effect was evaluated in hot plate, analgesy-meter and formalin tests. The model of neuropathic pain was induced by left sciatic nerve ligation. Twenty-four Wistar rats were divided into 3 groups (n = 8): sham-control group, model group and ketamine-treated group subsequently tested in hot plate and analgesy-meter tests. In the hot plate test, the rats treated with ketamine presented increased reaction latency at the 120th min and 180th min compared to the controls. In the analgesy-meter test, ketamine produced an anti-nociceptive effect at the 60th min compared to the controls. In the formalin test, the paw licking time across the early phase of testing was reduced in the rats treated

with the 2 higher doses of ketamine. In a neuropathic pain model, ketamine increased the reaction latency at the 120th min and 180th min compared with the model group in the hot plate test. In the analgesy-meter test, in the ketamine-treated animals the paw withdrawal threshold increased at the 60th min compared with the model group. Our results suggest that ketamine produces peripheral anti-nociceptive effect in an acute pain model. Also, it relieves thermal and mechanical allodynia after 14 days of treatment in a neuropathic pain model.

Резюме

Глутаматните N-метил-D-аспартат (NMDA) рецептори са известни с важността си за устойчивостта на хроничната невропатична болка. Кетаминът, интравенозен анестетик, е неконкурентен блокер на NMDA рецепторите. Приложен в анестетични дози, кетаминът има антиноцицептивни ефекти при различни животински модели на болка. Целта на това проучване е да се изследва антиноцицептивният ефект на кетамин при модели на остра и невропатична болка при плъхове. За да се изследва антиноцицептивният ефект на кетамин върху острата болка, 40 плъха от породата Wistar бяха разделени на 5 групи (n = 8): контролна група, положителна контролна група и 3 експериментални групи, третирани интраперитонеално (ip.) съответно с 30 mg/kg телесна маса, 40 mg/kg телесна маса и 50 mg/kg телесна маса кетамин. Антиноцицептивният ефект е оценен чрез тестовите с гореща плоча, аналгетик и формалин. Моделът на невропатична болка беше предизвикан чрез лигиране на левия седалищен нерв. Двадесет и четири плъха от породата Wistar бяха разделени на 3 групи (n = 8): контролна група, моделна група и група, третирана с кетамин, които впоследствие бяха изследвани при тестовите с гореща плоча и аналгетичен метър. При теста с гореща плоча плъховете, третирани с кетамин, показват повишена латентност на реакцията на 120-ата и 180-ата минута в сравнение с контролите. При теста с аналгетичен метър кетаминът предизвиква антиноцицептивен ефект на 60-ата минута в сравнение с контролите. При теста с формалин времето за облизване на лапата в ранната фаза на теста е намалено при плъховете, третирани с двете по-високи дози кетамин. При модела на невропатична болка кетаминът увеличава латентността на реакцията на 120-ата и 180-ата минута в сравнение с моделната група при теста с гореща плоча. При теста с аналгетичен метър при третираните с кетамин животни прагът на изтегляне на лапата се увеличава на 60-ата минута в сравнение с моделната група. Нашите резултати показват, че кетаминът предизвиква периферен антиноцицептивен ефект при модел на остра болка. Също така той облекчава термичната и механичната алодиния след 14-дневно лечение в модел на невропатична болка.

21. **Vasileva LV***, Saracheva K, Ivanovska M, Petrova A, Marchev A, Georgiev M, Murdjeva M, Getova D (2018) Antidepressant-like effect of salidroside and curcumin on the immunoreactivity of rats subjected to a chronic mild stress model. *Food and Chemical Toxicology* 121: 604-611. (IF₂₀₁₈ 3.775, Q1)

Abstract

Deregulated cytokines' production is found in depressed patients. Salidroside and curcumin both have been described with potential antidepressant-like activities. The present study investigated the effect of pure salidroside, curcumin and their combination on the immunoreactivity of animals, subjected to a chronic mild stress (CMS) model, followed by lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation. Wistar male rats were separated in the following six groups: control, CMS model, fluoxetine (2.5 mg/kg, oral), salidroside (5 mg/kg, oral), curcumin (20 mg/kg, oral) and salidroside + curcumin (5 mg/kg + 20 mg/kg, oral). Changes in glucose preference, spatial learning and exploratory behavior were recorded. The IL-6 levels in the rats' sera and of the TNF- α levels in the rats' sera and the brain tissue homogenate were evaluated. The groups exposed to stress and treated with fluoxetine, salidroside, curcumin or salidroside + curcumin showed increase in the glucose preference and locomotor activity, as well as, decrease in the escape latency and the

cytokines' levels compared to the CMS model group. The chronic stress induced behavioral alternations and increased cytokines' levels in rats which were reversed by administration of salidroside and curcumin, suggesting antidepressant-like effects comparable to that of fluoxetine and potential synergistic interaction regarding the anti-inflammatory and anti-stress effects.

Резюме

При пациентите с депресия се наблюдава дебалансирано производство на цитокини. Салидрозидът и куркуминът са описани с потенциални антидепресантни свойства. Настоящото проучване изследва ефекта на чист салидрозид, куркумин и тяхната комбинация върху имунореактивността на животни, подложени на модел на хроничен лек стрес (CMS), последван от възпаление, предизвикано от липополизахарид (LPS). Мъжките плъхове от породата Wistar бяха разделени на следните шест групи: контрола, модел CMS, флуоксетин (2,5 mg/kg, перорално), салидрозид (5 mg/kg, перорално), куркумин (20 mg/kg, перорално) и салидрозид + куркумин (5 mg/kg + 20 mg/kg, перорално). Бяха регистрирани промени в предпочитанията към глюкоза, пространственото обучение и изследователското поведение. Оценени са нивата на IL-6 в серумите на плъховете и на TNF- α в серумите на плъховете и в хомогената на мозъчната тъкан. Групите, изложени на стрес и третирани с флуоксетин, салидрозид, куркумин или салидрозид + куркумин, показаха повишаване на предпочитанията към глюкозата и двигателната активност, както и намаляване на латентността на бягството и нивата на цитокините в сравнение с групата на модела CMS. Хроничният стрес предизвиква поведенчески промени и повишава нивата на цитокините при плъховете, които се повлияват от приложението на салидрозид и куркумин, което предполага антидепресантоподобни ефекти, сравними с тези на флуоксетина, и потенциално синергично взаимодействие по отношение на противовъзпалителните и антистресовите ефекти.

22. Ivanova S, Vasileva LV* (2017) Current and emerging strategies in osteoporosis management. *Current Pharmaceutical Design* 23: 1-9. (IF₂₀₁₇ 2.757, Q2)

Abstract

The abnormal loss of bone tissue is defined as osteoporosis. Increased risk of fractures, low bone mineral density (BMD) and loss of the structural and biomechanical properties of the bone tissue characterize this pathological condition. Physiologically bone undergoes a continuous remodeling process involving balance between the activity of osteoblast and osteoclast. Disruption in this balanced condition increases the risk of osteoporosis. Both sexes are affected, but with higher prevalence in women after menopause. This review aims to enlighten the established and emerging trends in prevention and treatment of bone loss. Herbal supplementation and physical exercises are suggested as addition to the well-established therapy in prevention and management of osteoporosis. Treatment strategies of osteoporosis include non-pharmacological treatment - diet rich of calcium and vitamin D, healthy lifestyle, proper exercise plan, and pharmacological therapy. Preventive and treatment strategies have to consider combination of non-pharmacological and pharmacological approaches for minimization of the fracture risk in osteoporosis.

Резюме

Ненормалната загуба на костна тъкан се определя като остеопороза. Повишеният риск от фрактури, ниската костна минерална плътност (КМП) и загубата на структурните и биомеханичните свойства на костната тъкан характеризират това патологично състояние. Физиологично костта преминава през непрекъснат процес на ремоделиране, включващ баланс между активността на остеобластите и остеокластите. Нарушаването на това балансирано състояние увеличава риска от остеопороза. Засегнати са и двата пола, но с по-голяма честота при жените след менопаузата. Целта на този преглед е да осветли установените и новите тенденции в превенцията и лечението на костната загуба. Предлагат

се билкови добавки и физически упражнения като допълнение към утвърдената терапия при профилактиката и лечението на остеопорозата. Стратегиите за лечение на остеопорозата включват нефармакологично лечение - диета, богата на калций и витамин D, здравословен начин на живот, подходящ план за физически упражнения и фармакологична терапия. Стратегиите за превенция и лечение трябва да отчитат комбинация от нефармакологични и фармакологични подходи за минимизиране на риска от фрактури при остеопороза.

23. **Vasileva LV***, Doncheva N, Marchev A, Georgiev M, Getova D (2016) Beneficial effect of commercial *Rhodiola* extract in rats with scopolamine-induced memory impairment on active avoidance. *Journal of Ethnopharmacology* 193: 586-591. (IF₂₀₁₆ **2.981**; Q1)

Abstract

Rhodiola rosea L., family Crassulaceae also known as Golden Root or Arctic root is one of the most widely used medicinal plants with effect on cognitive dysfunction, psychological stress and depression. The aim of the study was to examine the effect of a standardized commercial *Rhodiola* extract on learning and memory processes in naive rats as well as its effects in rats with scopolamine-induced memory impairment. Sixty male Wistar rats were used in the study. The experiment was conducted in two series - on naive rats and on rats with scopolamine-induced model of impaired memory. The active avoidance test was performed in an automatic conventional shuttle box set-up. The criteria used were the number of conditional stimuli (avoidances), the number of unconditioned stimuli (escapes) as well as the number of intertrial crossings. The chemical fingerprinting of the standardized commercial *Rhodiola* extract was performed by means of nuclear magnetic resonance (NMR). Naive rats treated with standardized *Rhodiola* extract increased the number of avoidances during the learning session and memory retention test compared to the controls. Rats with scopolamine-induced memory impairment treated with *Rhodiola* extract showed an increase in the number of avoidances during the learning session and on the memory tests compared to the scopolamine group. The other two parameters were not changed in rats treated with the extract of *Rhodiola* in the two series. It was found that the studied *Rhodiola* extract exerts a beneficial effect on learning and memory processes in naive rats and rats with scopolamine-induced memory impairment. The observed effect is probably due to multiple underlying mechanisms including its modulating effect on acetylcholine levels in the brain and MAO-inhibitory activity leading to stimulation of the monoamines neurotransmission. In addition the pronounced stress-protective properties of *Rhodiola rosea* L. could also play a role in the improvement of cognitive functions.

Резюме

Rhodiola rosea L., семейство Crassulaceae, известен още като златен корен или арктически корен, е едно от най-широко използваните лечебни растения с ефект върху когнитивната дисфункция, психологическия стрес и депресията. Целта на изследването е да се проучи ефектът на стандартизиран търговски екстракт от родиола върху процесите на учене и памет при наивни плъхове, както и въздействието му при плъхове с индуцирани от скополамин нарушения на паметта. В изследването са използвани 60 мъжки плъхове от породата Wistar. Експериментът е проведен в две серии - върху наивни плъхове и върху плъхове с модел на увреждане на паметта, предизвикано от скополамин. Тестът за активно избягване беше проведен в автоматична конвенционална кутия за совалки. Използваните критерии бяха броят на условните стимули (избягвания), броят на безусловните стимули (бягства), както и броят на пресичанията между опитните секции. Химическият отпечатък на стандартизирания търговски екстракт от златен корен беше извършен чрез ядрено-магнитен резонанс (ЯМР). Плъхове, третирани само със стандартизиран екстракт от родиола, увеличиха броя на избягванията по време на обучителната сесия и теста за запазване на паметта в сравнение с контролите. Плъховете с индуцирано от скополамин увреждане на паметта, третирани с екстракт от златен корен, показаха увеличение на броя

на избягванията по време на сесията за учене и на тестовете за запазване на паметта в сравнение с групата със скополамин. Другите два параметъра не се променят при плъховете, третирани с екстракт от родиола в двете серии. Установено е, че изследваният екстракт от златен корен оказва благоприятен ефект върху процесите на учене и памет при наивни плъхове и плъхове с увреждане на паметта, предизвикано от скополамин. Наблюдаваният ефект вероятно се дължи на множество основни механизми, включително на модулиращия му ефект върху нивата на ацетилхолин в мозъка и MAO-инхибиращата активност, водеща до стимулиране на моноаминовата невротрансмисия. Освен това изразените стрес-защитни свойства на *Rhodiola rosea* L. също биха могли да играят роля за подобряването на когнитивните функции.

24. Ivanova S, Vasileva LV, Ivanova S, Peikova L, Obreshkova D (2015) Osteoporosis: therapeutic options-a review. *Folia Medica* 57(3): 181-190. (SJR₂₀₁₅ 0.183, Q3)

Abstract

The definition of osteoporosis was originally formulated at a conference of the World Health Organization (WHO) in 1993 as 'a systemic skeletal disease characterized by decreased bone mass and altered micro-architecture of bone tissue, leading to enhanced bone fragility and risk of fractures'. Osteoporosis is characterized by low bone mineral density (BMD) and loss of the structural and bio-mechanical properties that are required to maintain bone homeostasis. This review aims to address the currently available options in prevention and treatment of osteoporosis. Management of osteoporosis includes non-pharmacological treatment - diet rich of calcium and vitamin D, healthy lifestyle, proper exercise plan, and pharmacological therapy. Combination of non-pharmacological and pharmacological treatment options have to be considered for prevention of osteoporosis and minimization of the risk of fractures. Given the heterogeneity of osteoporosis syndrome and lack of significant number of comparative studies, the choice of a pharmacological agents should be individualized.

Резюме

Дефиницията на остеопорозата е формулирана първоначално на конференция на Световната здравна организация (СЗО) през 1993 г. като "системно скелетно заболяване, характеризиращо се с намалена костна маса и променена микроархитектура на костната тъкан, което води до повишена чупливост на костите и риск от фрактури". Остеопорозата се характеризира с ниска костна минерална плътност (КМП) и загуба на структурните и биомеханичните свойства, които са необходими за поддържане на костната хомеостаза. Целта на настоящия преглед е да разгледа наличните понастоящем възможности за превенция и лечение на остеопорозата. Управлението на остеопорозата включва нефармакологично лечение - диета, богата на калций и витамин D, здравословен начин на живот, подходящ план за физически упражнения и фармакологична терапия. За превенция на остеопорозата и минимизиране на риска от фрактури трябва да се обмисли комбинация от нефармакологични и фармакологични възможности за лечение. Като се има предвид хетерогенността на синдрома на остеопорозата и липсата на значителен брой сравнителни проучвания, изборът на фармакологични средства трябва да бъде индивидуализиран.

Включени по Г

Публикации 25 до 30, както и 36 са представени като кратки доклади (short communications) в редактирани колективни токове и формата им не включва резюме.

25. **Mihaylova LV**, Mladenova SG, Savova MS, Balcheva-Sivenova Z, Marchev AS, Georgiev MI* (2022) PPAR γ inhibition mediates *Alchemilla monticola* Opiz anti-adipogenic effect in human adipocytes. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin* 68 (suppl. 2): 161-162.
26. Savova MS, Apostolov A, **Mihaylova LV**, Georgiev MI* (2022) Modulation of adipogenesis by *Polygonum hydropiper* L. and *P.aviculare* L. extracts. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin* 68 (suppl. 2): 155-156.
27. Saracheva K*, Hrishev P, **Vasileva LV**, Topolov M, Dimitrova D, Yankova M, Getova D (2021) Hemodynamic effects of almotriptan and frovatriptan on male rats with experimental model of migraine. *European Neuropsychopharmacology* 53 (suppl. 1): S400–S401, P.0544.
28. Saracheva K*, **Vasileva LV**, Getova D (2019) Effects of frovatriptan and almotriptan on locomotor activity in female rats with experimental model of migraine. *European Neuropsychopharmacology* 29 (suppl. 1): S226–S267, P.308.
29. Papagianni E*, Salampasi A, **Vasileva LV**, Dimitrova D (2018) Glutamatergic neurotransmission and the role of NMDARs in anxiety: a review. *Conference book from Scientific Conference "Science and Youth 2018"*, 143-149.
30. Dimitrova D*, **Vasileva LV**, Papagianni E, Getova D (2017) Effects of lamotrigine in open-field, water maze and step-through tests in rats. *European Neuropsychopharmacology* 26 (suppl. 2): S734, P.1.j.022.
31. **Василева Л***, Гетова Д (2017) Анти-ноцицептивен ефект на стандартизирани екстракти от *Rhodiola rosea* L. и *Curcuma longa* L. при плъхове. *Сборник статии от Юбилейни Научни Конференции по Фармакология и Клинична Фармакология за Млади Учени*, 45-50.

Abstract

Study the effect of extracts of *Rhodiola rosea* L. and *Curcuma longa* L. on nociception in rats. Male Wistar rats (6 groups, n = 8) were treated with: saline 10 ml/kg; Metamizole 25 mg/kg; Rhodiola 250 mg/kg; Rhodiola 500 mg/kg; Curcuma 250 mg/kg; Curcuma 500 mg/kg; Four different nociceptive tests were used. In test analgesimeter the rats treated with Rhodiola in the low dose and Curcuma increased their reaction compared with the initial hour of the respective group and with Metamizole group. In the "hot plate" test the groups treated with Rhodiola and Curcuma in the low dose increased latency compared with the corresponding initial testing. In tail flick test the group with Curcuma in the high dose increased the latency compared to the initial hour of the group and the respective control. In the formalin test groups treated with Rhodiola in the high dose and Curcuma reduced the time spent for paw licking in the late phase. The data show that the extracts exhibit anti-nociceptive effects in all used pain models.

Резюме

Изследване на ефекта на екстракти от *Rhodiola rosea* L. и *Curcuma longa* L. върху ноцицепцията при плъхове. Мъжки плъхове от породата Wistar (6 групи, n = 8) са третирани с: физиологичен разтвор 10 ml/kg; метамизол 25 mg/kg; Rhodiola 250 mg/kg; Rhodiola 500 mg/kg; Curcuma 250 mg/kg; Curcuma 500 mg/kg; Използвани са четири различни ноцицептивни теста. При теста аналгетикар плъховете, третирани с Rhodiola в ниска доза и Curcuma, увеличиха реакцията си в сравнение с началния час на съответната група и с

групата на Metamizole. При теста "гореща плоча" групите, третирани с *Rhodiola* и *Curcuma* в ниска доза, увеличиха латентността в сравнение с началния час на съответното тестване. При теста "frail flick" групата с *Curcuma* във висока доза увеличава латентността в сравнение с началния час на съответната група и съответната контрола. При формалиновия тест групите, третирани с *Rhodiola* във висока доза и *Curcuma*, намаляват времето, изразходвано за облизване на лапата в късната фаза. данните показват, че екстрактите проявяват антиноцицептивни ефекти при всички използвани модели на болка.

32. **Vasileva LV***, Getova D (2016) *Rhodiola rosea* L. standardized extract on passive avoidance in rats. *International Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7: 1-6.

Abstract

Rhodiola rosea L. originates from the plant family Crassulaceae and is known as an adaptogen increasing resistance to various stressors. The present study aimed to evaluate the effects of a commercially available standardized *Rhodiola rosea* L. extract administered intraperitoneally on cognitive processes in naive rats by using two passive avoidance tests. Methodology/Principal findings: Male Wistar rats were pre-treated for 10 days with extract from *Rhodiola* in doses 50 mg/kg or 100 mg/kg. Step-through and step-down tests were used. Following two days of training memory retention tests were performed on the 3rd and 10th day. A criterion for step-through test was latency of reaction 180 s and for step-down test - latency of reaction 60 s. The statistical evaluation was done in SPSS 17.0. In step-down test rats with both doses of extract decreased latency time during learning session and on long memory retention test, compared to the same day controls. In step-trough test rats with the high dose of the extract decreased significantly the latency time during two days of learning session and on short and long memory retention tests, compared to the same day controls. Based on our results it can be speculated that the studied extract of *Rhodiola* influences passive avoidance condition stimuli reactions in dose-dependent manner. To clarify the exact influence of the studied extract more behavioral tests should be performed with higher doses of the studied extract. Our observations reveal some stimulating effect of *Rhodiola* standardized extract on the formation of memory traces.

Резюме

Rhodiola rosea L. произхожда от растителното семейство Crassulaceae и е известен като адаптоген, повишаващ устойчивостта към различни стресови фактори. Целта на настоящото проучване е да се оцени въздействието на наличен в търговската мрежа стандартизиран екстракт от *Rhodiola rosea* L., приложен интраперитонеално, върху когнитивните процеси при наивни плъхове чрез използване на два теста за пасивно избягване. Методология/основни резултати: Мъжки плъхове от породата Wistar са третирани предварително в продължение на 10 дни с екстракт от *Rhodiola* в дози 50 mg/kg или 100 mg/kg. Използвани са тестове за преминаване през стъпало и за намаляване на стъпало. След двудневно обучение на 3-ия и 10-ия ден са проведени тестове за запазване на паметта. Критерий за теста "стъпка напред" беше латентността на реакцията 180 s, а за теста "стъпка надолу" - латентността на реакцията 60 s. Статистическата оценка беше направена в SPSS 17.0. При теста "step-down" плъховете с двете дози екстракт намалиха времето на латентност по време на сесията за учене и на теста за запазване на дългата памет в сравнение с контролите от същия ден. При теста "step-trough" плъховете с високата доза на екстракта намалиха значително времето на латентност по време на двудневната сесия за учене и на тестовите за задържане на кратка и дълга памет, в сравнение с контролите от същия ден. Въз основа на получените резултати може да се предположи, че изследваният екстракт от родиола влияе върху реакциите на стимулите в състояние на пасивно избягване в зависимост от дозата. За да се изясни точното влияние на изследвания екстракт, трябва да се проведат повече поведенчески тестове с по-високи дози от изследвания екстракт. Нашите

наблюдения разкриват известен стимулиращ ефект на стандартизирания екстракт от родиола върху формирането на следи от паметта.

33. Saracheva K*, Vasileva LV, Getova D (2016) Pharmacotherapy of post-traumatic stress disorder. *World Journal of Pharmaceutical Research* 5(6): 75-87.

Abstract

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a serious psychological disorder caused by an unexpected shocking event, such as sexual assault, warfare, serious injury or threat. However, being exposed to a traumatic experience does not automatically mean that a person will develop PTSD. It can be divided in two types. Type 1 results from a single trauma. Type 2 results from protracted and recurring trauma. PTSD is a pleomorphic disorder with symptoms in multiple domains (headache, pain, etc.) and perhaps for this reason (among others) combination treatments seem to be the standard in clinical practice. Effective treatments include both pharmacologic and psychosocial management. The principal goals of pharmacotherapy for PTSD should aim at 1) reducing core PTSD symptoms in all three clusters (re-experience, avoidance and numbing and increased arousal); 2) reducing functional impairment and disability; 3) improving life quality; 4) improving resilience to stress or trauma; 5) reducing co-morbidity such as depression, other anxiety disorders and substance abuse; 6) preventing relapse; and 7) preventing the development of PTSD in candidates who are at high risk of non-recovery after a trauma. Our review aimed to evaluate the available scientific data for pharmacological treatment in PTSD. Most studies involve antidepressants: selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), selective noradrenalin reuptake inhibitors (SNRIs), monoamine oxidase inhibitors (MAOIs), tricyclic antidepressants (TCAs) and other serotonergic agents (trazodone and nefazodone). Antiadrenergic drugs tested include alpha-2 receptor agonists (clonidine and guanfacine) and the beta-receptor antagonist (propranolol). Other drugs tested include benzodiazepine, anxiolytics, antipsychotic agents and triptans for headache relief.

Резюме

Посттравматичното стресово разстройство е сериозно психологическо разстройство, причинено от неочаквано шокиращо събитие, например сексуално насилие, война, сериозно нараняване или заплаха. Въпреки това, излагането на травматично преживяване не означава автоматично, че човек ще развие посттравматично стресово разстройство. То може да бъде разделено на два вида. Тип 1 е резултат от единична травма. Тип 2 е резултат от продължителна и повтаряща се травма. Посттравматичното стресово разстройство е плеоморфно разстройство със симптоми в множество области (главоболие, болка и др.) и може би поради тази причина (наред с други) комбинираното лечение изглежда е стандарт в клиничната практика. Ефективните лечения включват както фармакологични, така и психосоциални терапии. Основните цели на фармакотерапията на посттравматичното стресово разстройство трябва да са насочени към 1) намаляване на основните симптоми на ПТСР в трите клъстера (повторно преживяване, избягване и притъпяване и повишена възбуда); 2) намаляване на функционалните увреждания и инвалидност; 3) подобряване на качеството на живот; 4) подобряване на устойчивостта към стрес или травма; 5) намаляване на съпътстващи заболявания като депресия, други тревожни разстройства и злоупотреба с вещества; 6) предотвратяване на рецидив; и 7) предотвратяване на развитието на посттравматично стресово разстройство (ПТСР) при кандидати, които са изложени на висок риск от невъзстановяване след травма. Нашият преглед имаше за цел да оцени наличните научни данни за фармакологичното лечение на ПТСР. Повечето проучвания включват антидепресанти: селективни серотонинови инхибитори на обратното захващане (SSRIs), селективни инхибитори на обратното захващане на норадреналина (SNRIs), моноаминови оксидазни инхибитори (MAOI), трициклични антидепресанти (TCA) и други серотонинергични средства (тразодон и нефазодон). Изследваните антиадренергични

лекарства включват алфа-2 рецепторни агонисти (клонидин и гуанфацин) и бета-рецепторен антагонист (пропранолол). Други изпитвани лекарства включват бензодиазепини, анксиолитици, антипсихотични средства и триптани за облекчаване на главоболието.

34. Сарачева К*, Василева ЛВ, Хрисчев П, Николова Ю, Гетова Д (2016) Кардиоваскуларни ефекти на серотониновия агонист алмотриптан върху интактни мъжки и женски плъхове. *Научни трудове на Съюз на Учените в България – Пловдив, Серия Г – Медицина, фармация и дентална медицина Том XIX*, 19: 52-57. ISSN 2534-9392.

Abstract

Migraine-specific triptans have revolutionized the treatment of migraine and are usually drugs of choice to treat migraine attacks in progress. Triptan application in clinical practice is risky because of the appearance of cardiovascular effects in patients with uncontrolled blood pressure or ischemic heart disease. There is not plenty experimental scientific data on antimigraine drugs cardiovascular tonus and arterial blood pressure effects. So, the aim of the the present study is some hemodynamic indexes of the new generation antimigraine drug almotriptan application to be examined. Three groups (n=8) of sexually mature male and female Wistar rats were used: 1 - control animals, 2- animals treated subcutaneously with almotriptan 3mg/kg, 3 - animals treated subcutaneously with almotriptan 6mg/kg. The following effects of almotriptan were examined: systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), pulse pressure (PP), mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR) were examined by the use of NIBP200A Blood Pressure System of BIOPAC ® Systems for noninvasive measurement of 53 ABP and HR. Male rats group treated with almotriptan 3mg/kg significantly decreased DBP and MAP compared to control group, moreover the same group significantly increased the HR. Animals treated with almotriptan 6mg/kg increased the HR only compared to the control. On the other side the female group treated with almotriptan 3mg/kg significantly decreased DBP and MAP values. As to the female rats treated with the higher dosage of almotriptan significantly decreased values of SBP, DBP and MAP compared to the control. Both female groups did not show any significant changes of the HR. The hemodynamic variations registered in almotriptan's application in both dosages would be commented in concern with 5HT_{1B} receptors' activation. The increase in HR in male rats treated with both dosages almotriptan would be discussed as compensatory mechanism.

Резюме

Специфичните за мигрената триптани направиха революция в лечението на мигрената и обикновено са лекарства на избор за лечение на протичащи мигренозни пристъпи. Прилагането на триптани в клиничната практика е рисковано поради появата на сърдечносъдови ефекти при пациенти с неконтролирано кръвно налягане или исхемична болест на сърцето. Няма много експериментални научни данни за ефектите на антимигренозните лекарства върху сърдечно-съдовия тонус и артериалното кръвно налягане. Затова целта на настоящото проучване е да се изследват някои хемодинамични показатели при приложението на новото поколение антимигренозно лекарство алмотриптан. Използвани са три групи (n=8) полово зрели мъжки и женски плъхове от породата Wistar: 1 - контролни животни, 2 - животни, третирани подкожно с алмотриптан 3mg/kg, 3 - животни, третирани подкожно с алмотриптан 6mg/kg. Изследвани са следните ефекти на алмотриптана: систоличното кръвно налягане (SBP), диастоличното кръвно налягане (DBP), пулсовото налягане (PP), средното артериално кръвно налягане (MAP) и сърдечната честота (HR) са изследвани с помощта на системата за кръвно налягане NIBP200A на BIOPAC ® Systems за неинвазивно измерване на 53 ABP и HR. Животните, лекувани с алмотриптан 6mg/kg, увеличават само HR в сравнение с контролата. От друга страна, женската група, третирана с алмотриптан 3mg/kg, значително намалява стойностите

на DBP и MAP. Що се отнася до женските плъхове, лекувани с по-високата доза алмотриптан, значително намаляват стойностите на SBP, DBP и MAP в сравнение с контролата. И при двете женски групи не се наблюдават значими промени на ВЧ. Хемодинамичните промени, регистрирани при прилагането на алмотриптан в двете дози, биха могли да се коментират във връзка с активирането на 5HT1B рецепторите. Повишаването на ВЧ при мъжките плъхове, третирани и с двете дози алмотриптан, би могло да се обсъди като компенсаторен механизъм.

35. Doncheva N*, **Vasileva LV**, Ivanovska M, Petrova A, Murdjeva M, Getova D (2016) Protective effect of multiple administration of alpha – lipoic acid in lipopolysaccharide – induced model of inflammation in rats. *Scholars Academic Journal of Pharmacy* 5(4): 95-99.

Abstract

Alpha-lipoic acid is well known antioxidant and has anti-inflammatory effects. It is used to treat diabetic neurovascular and metabolic problems. The aim of our study was to evaluate the anti-inflammatory effect of alpha-lipoic acid (ALA) in lipopolysaccharide (LPS) - induced model of inflammation in rats. Forty male Wistar rats were divided in five groups (n=8): control, model group and three experimental groups treated with 30, 60 and 90 mg/kg alpha-lipoic acid for 14 days. The inflammation was induced by a single dose administration of LPS from *Escherichia coli* 055: B in dose 250 µg/kg i.p. After four hours the animals were sacrificed and blood samples were collected. The levels of two proinflammatory factors including tumor necrosis factor- alpha (TNF-alpha) and interleukin -6 (IL-6) were measured by Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). Intraperitoneal administration of LPS increased the level of both TNFalpha and IL-6 in the model group compared to the control group. In all ALA treated groups the level of TNF-alpha was significantly decreased (p<0, 05) compared to the model group. In contrast, IL-6 release in the group treated with 30 mg/kg ALA was significantly (p<0, 05) higher than the model group. There was no significant reduction (p<0, 05) in the level of IL-6 in all experimental groups. Our present study demonstrates that chronic ALA administration significantly protects against lipopolysaccharide-induced inflammation in rats.

Резюме

Алфа-липоевата киселина е добре познат антиоксидант и има противовъзпалително действие. Използва се за лечение на диабетни невросъдови и метаболитни проблеми. Целта на нашето проучване беше да се оцени противовъзпалителният ефект на алфа-липоевата киселина (ALA) при липополизахарид (LPS) - индуциран модел на възпаление при плъхове. Четиридесет мъжки плъхове от породата Wistar бяха разделени на пет групи (n=8): контролна група, моделна група и три експериментални групи, третирани с 30, 60 и 90 mg/kg алфа-липоева киселина в продължение на 14 дни. Възпалението е предизвикано чрез еднократно приложение на LPS от *Escherichia coli* 055:В в доза 250 µg/kg i.p. След четири часа животните са умъртвени и са взети кръвни проби. Нивата на два провъзпалителни фактора, включително тумор некротизиращ фактор-алфа (TNF-алфа) и интерлевкин -6 (IL-6), бяха измерени чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA). Интраперитонеалното приложение на LPS увеличава нивото на TNFalpha и IL-6 в моделната група в сравнение с контролната група. Във всички групи, третирани с ALA, нивото на TNF-alpha е значително понижено (p<0, 05) в сравнение с моделната група. За разлика от това, освобождаването на IL-6 в групата, третирана с 30 mg/kg ALA, е значително (p<0, 05) по-високо в сравнение с моделната група. Не се наблюдава значително намаляване (p<0, 05) на нивото на IL-6 във всички експериментални групи. Настоящото ни проучване показва, че хроничното приложение на ALA значително предпазва от индуцирано от липополизахарид възпаление при плъхове.

36. Doncheva N*, Vasileva LV, Saracheva K, Getova D (2015) Antinociceptive effects of ketamine and alpha-lipoic acid in rats with neuropathic pain. *European Neuropsychopharmacology* 25 (suppl. 2): S243-244.
37. Pankova S, Vasileva L, Petkova V* (2015) A review of current treatment options for osteoporosis in Bulgaria. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(5): 01-12.

Abstract

Bone undergoes a continuous remodeling process involving resorption and formation. Any process that disrupts this balance by increasing resorption relative to formation may result in osteoporosis. Osteoporosis is defined as abnormal loss of bone predisposing to fractures. Osteoporosis is characterized by low bone mineral density (BMD) and loss of the structural and biomechanical properties that are required to maintain bone homeostasis. This review aims to enlighten the current trends in prevention and treatment of osteoporosis in Bulgaria. Recent studies suggest potential role of physical exercises in prevention and management of osteoporosis. Management of osteoporosis includes non-pharmacological treatment - diet rich of calcium and vitamin D, healthy lifestyle, proper exercise plan, and pharmacological therapy. Combination of non-pharmacological and pharmacological treatment options have to be considered for prevention of osteoporosis and minimization of the risk of fractures. More randomized control trial should be done using variable combined methods of treatment.

Резюме

Костта преминава през непрекъснат процес на ремоделиране, включващ резорбция и формиране. Всеки процес, който нарушава този баланс, като увеличава резорбцията спрямо формирането, може да доведе до остеопороза. Остеопорозата се определя като необичайна загуба на костна маса, която предразполага към фрактури. Остеопорозата се характеризира с ниска костна минерална плътност (КМП) и загуба на структурните и биомеханичните свойства, които са необходими за поддържане на костната хомеостаза. Настоящият обзор има за цел да осветли съвременните тенденции в превенцията и лечението на остеопорозата в България. Последните проучвания показват потенциалната роля на физическите упражнения в превенцията и лечението на остеопорозата. Управлението на остеопорозата включва нефармакологично лечение - диета, богата на калций и витамин D, здравословен начин на живот, подходящ план за физически упражнения и фармакологична терапия. За превенция на остеопорозата и минимизиране на риска от фрактури трябва да се обмисли комбинация от нефармакологични и фармакологични методи на лечение. Трябва да се проведат повече рандомизирани контролни изпитвания с използване на различни комбинирани методи на лечение.