

РЕЗЮМЕТА НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК И НА АНГЛИЙСКИ ЕЗИК НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ

на доц. Мария Атанасова Раданова, д.б.,

представени за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „Професор ”
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Биохимия“,
обявен в Държавен вестник, бр. 7 от 23.01.2023 г.,

Научните трудове, чийто резюмета са включени в настоящия документ са представени с означенията съответстващи на групата показатели и тяхното съдържание, съгласно таблица 1. и таблица 2. в *Постановление №26 от 13 февруари 2019 г. на Министерския съвет* за професионално направление 4.3. Биологически науки. Същите означения на научните трудове са използвани и в академичната справка за публикациите, цитиранията и научните профили, изготвена от Библиотеката на МУ-Варна, предоставена като част от документите за участие в настоящия конкурс.

Резюмета на български език и на английски език са представени за:

- ✓ научните трудове, включени в показатели **A1.; B4.; Г7. и Г8.;**
- ✓ две пълнотекстови публикации в научни списания и сборници, извън минималните наукометрични изисквания за заемане на АД „професор“.

A1. Дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор“

Раданова. М. Проучване на молекулни ефекти от инхибирането на C1q при болни с лупусен нефрит, 2011, Медицински университет – Варна, ръководители: проф. Диана Иванова, дбн и проф. д-р Валентин Икономов, дм

Резюме

Противоречивата роля на C1q в патологията на лупусния нефрит определи интереса ни към изследване на влиянието на три еднородни инхибиторни механизма върху биологичните функции на белтъка. Значението на проучванията в тази област се състои от една страна във факта, че неконтролираното активиране на комплементната каскада е отговорно за бъбречните увреждания при лупусния нефрит и е част от патогенезата при системен лупус еритематодес (СЛЕ). Но от друга страна инхибирането на важни функции на C1q, като чистенето на апоптотични клетки и имунни комплекси, също води до развитието на СЛЕ и гломерулонефрит.

Целта дисертационния труд беше да се проучи действието на наличието на генетичен дефект – мутация или полиморфизъм в гените за C1q; наличието на анти-C1q автоантитела и взаимодействието на C1q с хема, с оглед изясняване на ролята на C1q в патогенезата на СЛЕ.

В резултат от изследванията установихме, че анти-gC1q автоантителата и хема, като молекули, взаимодействащи с глобуларния фрагмент на C1q могат да инхибират комплементната активация. В условия на патология те могат да ограничат уврежданията на собствените тъкани. Ето защо 70% от серопозитивните, за анти-gC1q антитела, пациенти бяха в ремисия. Докато молекули, свързващи се с колагеноподобния фрагмент на C1q, като анти-C1q

автоантителата не могат да ограничат комплентната активация, но напротив водят до нейното засилване. Ролята обаче на всеки инхибитор на C1q в патогенезата на СЛЕ трябва да се разглежда по отношение на това в какъв етап от развитието на болестта се включва. Защото анти-gC1q антителата макар и да инхибират комплементната атака, ако възникнат в началото на болестта биха могли да провокират сериозни тъканни увреждания поради инхибиране на C1q функциите при чистенето на апоптотични клетки и имунни комплекси. По отношение на генетичните дефекти, като инхибитори на C1q, само полиморфизмите не се отразяваха значително върху експресията и функционалната активност на C1q и на настоящия етап не може да се твърди, че изследваните от тях имат значение за появата и развитието на СЛЕ и лупусен нефрит.

Основните научни приноси на дисертационния труд са:

1. Полиморфизми, асоциирани със СЛЕ и неговата клинична активност в други изследвания не са свързани с риска от развитие на заболяването в българска кохорта и не се отразяват съществено върху нивата и функционалната активност на C1q.
2. За първи път е открит и характеризирен функционален дефицит на C1q, асоцииран с нормални плазмени нива на C1q.
3. За първи път са открити антитела срещу глобуларния фрагмент на C1q (анти-gC1q антитела) в пациенти с доказана лупусна нефропатия.
4. Открит е специфичен инхибиращ ефект на анти-gC1q антителата и хема върху взаимодействието на C1q с негови прицелни молекули и активиране на системата на комплемента по класическия път.

Abstract

The controversial role of C1q in the pathology of lupus nephritis determined our interest in investigating the influence of three endogenous inhibitory mechanisms on the protein's biological functions. The importance of studies in this area lies on the one hand in the fact that uncontrolled activation of the complement cascade is responsible for renal damage in lupus nephritis and is part of the pathogenesis in systemic lupus erythematosus (SLE). On the other hand, inhibition of important functions of C1q, such as clearance of apoptotic cells and immune complexes, also leads to the development of SLE and glomerulonephritis.

The aim of our dissertation was to examine the impact of genetic defect - a mutation or polymorphisms in C1q genes; the presence of anti-C1q autoantibodies and the interaction between C1q and heme, with a view to clarifying the role of C1q in the pathogenesis of SLE.

Our research revealed that anti-gC1q autoantibodies and heme, as molecules interacting with the globular fragment of C1q, can effectively inhibit complement activation. Under pathological conditions, they help limit damage to the body's own tissues. Notably, 70% of patients seropositive for anti-gC1q antibodies were in remission. Conversely, molecules binding to the collagen-like fragment of C1q - such as anti-C1q autoantibodies - do not restrict complement activation; instead, they enhance it. However, the role of any C1q inhibitor in SLE pathogenesis must be considered in terms of the disease stage. Because anti-gC1q antibodies, although inhibiting the complement attack, if they occur early in the disease could provoke serious tissue damage due to inhibition of C1q functions in clearing apoptotic cells and immune complexes.

Regarding genetic defects, including C1q inhibitors, only polymorphisms did not exert a significant impact on the expression and functional activity of C1q and at this stage, it cannot be claimed that those studied are relevant to the onset and development of SLE and lupus nephritis.

The primary scientific contributions of this dissertation work are:

1. Polymorphisms associated with SLE and its clinical activity, as observed in other studies, do not correlate with the risk of developing the disease in a Bulgarian cohort and do not significantly affect the levels or functional activity of C1q.
2. A functional deficiency of C1q associated with normal plasma levels of C1q was discovered and characterized for the first time.
3. Anti-gC1q antibodies, specifically targeting the globular fragment of C1q, were detected for the first time in patients with confirmed lupus nephropathy.
4. Anti-gC1q antibodies and heme were found to have a specific inhibitory effect on the interaction between C1q and its target molecules, and on the activation of the complement system via the classical pathway.

В4. Публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (*Web of Science* и *Scopus*), равностойни на хабилитационен труд

В4.1. 1. Radanova M, Mihaylova G, Nazifova-Tasinova N, Levkova M, Tasinov O, Ivanova D, Mihaylova Z, Donev I. *Oncogenic Functions and Clinical Significance of Circular RNAs in Colorectal Cancer*. *Cancers* (Basel). **2021 Jul 6;13(14):3395. doi: 10.3390/cancers13143395 (IF=6,575; Q1).**

Резюме:

Колоректалният карцином (КРК) се нарежда на второ място по честота на диагностициране при жените и на трето място при мъжете в световен мащаб. Поради това, откриването на нови, по-надеждни биомаркери за ранна диагностика, прогнозиране на метастази и резистентност към конвенционалните терапии е важно предизвикателство в борбата с това заболяване. Настоящият обзор представя кръговите РНК-и (circular RNAs, circRNA) с техните уникални характеристики като потенциални прогностични и диагностични биомаркери при КРК. Обзорът акцентира върху механизма на действие и ролята на circRNAs с онкогенни функции при КРК, както и върху връзката между тяхната експресия и клинично-патологичните характеристики на пациентите. Разбирането на ролята на онкогенните circRNAs в патогенезата на КРК нараства бързо и следващата стъпка е използването им като подходящи нови лекарствени цели за персонализираната терапия на пациентите с КРК.

Abstract:

Colorectal cancer (CRC) is ranked as the second most commonly diagnosed disease in females and the third in males worldwide. Therefore, the finding of new more reliable biomarkers for early diagnosis, for prediction of metastasis, and resistance to conventional therapies is an important challenge in overcoming the disease. The current review presents circular RNAs (circRNAs) with their unique features as potential prognostic and diagnostic biomarkers in CRC. The review highlights the mechanism of action and the role of circRNAs with oncogenic functions in the CRC as well as the association between their expression and clinicopathological characteristics of CRC

patients. The comprehension of the role of oncogenic circRNAs in CRC pathogenesis is growing rapidly and the next step is using them as suitable new drug targets in the personalized treatment of CRC patients.

B4.2. Radanova M, Mihaylova G, Tasinov O, Ivanova DP, Stoyanov GS, Nazifova-Tasinova N, Manev R, Salim A, Nikolova M, Ivanova DG, Conev N, Mihaylova Z, Donev I. *New Circulating Circular RNAs with Diagnostic and Prognostic Potential in Advanced Colorectal Cancer*. Int J Mol Sci. **2021** Dec 10;22(24):13283. doi: 10.3390/ijms222413283 (IF=6,208; Q1).

Резюме:

Кръговите РНК-и (circular RNAs, circRNA) са група специални ендеогенни дълги некодирани РНК, които са стабилни в кръвообращението и следователно по-подходящи като нови биомаркери за колоректален карцином (КРК). Целта на нашето изследване беше да се проучат нивата на експресия в плазмата на четири circRNAs: has_circ_0001445, hsa_circ_0003028, hsa_circ_0007915 и hsa_circ_0008717 при пациенти с КРК и да се оцени тяхната връзка с клиничко-патологичните характеристики и клиничния резултат на пациентите. CircRNAs бяха извлечени от плазмата на пациентите, получена преди провеждане на химиотерапия. Нивата на тяхната експресия бяха измерени чрез qPCR и изчислени чрез прилагане на метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Нивата на всичките четири circRNAs бяха значително повишени в плазмата на пациенти с КРК. При оптималните гранични стойности, has_circ_0001445 и hsa_circ_0007915 в плазмата могат съществено да разграничат пациенти с или без метастатичен КРК, с чувствителност 92.56% и специфичност 42.86% и с чувствителност 86.07% и специфичност 57.14%, съответно. Средната обща преживяемост (OS) на пациентите с висока/средна експресия на hsa_circ_0001445 беше 30 месеца, значително по-висока в сравнение със средната OS на пациентите с ниска експресия - 20 месеца (log-rank тест, $p = 0,034$). При мултивариатния регресионен анализ (Cox), ниските нива на hsa_circ_0001445 също бяха свързани с по-кратка преживяемост (HR = 1,59, 95% CI: 1,02–2,47, $p = 0,040$). Беше установено прогностично значение на hsa_circ_0001445 за пациенти с метастатичен КРК.

Abstract:

Circular RNAs (circRNAs) are a group of special endogenous long non-coding RNAs which are highly stable in the circulation, and, thus, more suitable as new biomarkers of colorectal cancer (CRC). The aim of our study was to explore the plasma expression levels of four circRNAs: has_circ_0001445, hsa_circ_0003028, hsa_circ_0007915 and hsa_circ_0008717 in patients with CRC and to evaluate their associations with clinicopathological characteristics and the clinical outcome of the patients. CircRNAs were extracted from patients' plasma obtained prior to chemotherapy. Their expression levels were measured by qPCR and calculated applying the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. The levels of all four circRNAs were significantly increased in the plasma of CRC patients. At the optimal cut-off values has_circ_0001445 and hsa_circ_0007915 in plasma could significantly distinguish between patients with or without metastatic CRC with 92.56% sensitivity and 42.86% specificity, and with 86.07% sensitivity and 57.14% specificity, respectively. The mean overall survival (OS) of patients with high/intermediate expression of hsa_circ_0001445 was 30 months, significantly higher in comparison with the mean OS of the patients with low expression—20 months (log-rank test, $p = 0.034$). In multivariate Cox regression analysis, the low

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор”

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

levels of hsa_circ_0001445 were also associated with shorter survival (HR = 1.59, 95% CI: 1.02–2.47, $p = 0.040$). A prognostic significance of hsa_circ_0001445 for patients with metastatic CRC was established.

B4.3. Radanova M, Mihaylova G, Mihaylova Z, Ivanova D, Tasinov O, Nazifova-Tasinova N, Pavlov P, Mirchev M, Conev N, Donev I. *Circulating miR-618 Has Prognostic Significance in Patients with Metastatic Colon Cancer*. *Curr Oncol*. **2021** Mar 15;28(2):1204-1215. doi: 10.3390/curroncol28020116. ISSN: 1718-7729 (IF=3,109; Q2).

Резюме:

Настоящото изследване оценява прогностичната роля на циркулиращата miRNA-618 при пациенти с метастатичен рак на дебелото черво (mCC), а също дали едниничен нуклеотиден полиморфизъм (SNP) rs2682818 в гена за miR-618 е свързан с предразположението към рак на дебелото черво и с нивата на експресия на зрялата miR-618. В изследването бяха включени общо 104 пациенти с mCC преди започване на химиотерапия. Нивата на експресия на miR-618 в циркулацията при mCC бяха оценени чрез количествен PCR TaqMan PCR анализ беше използван за rs2682818 SNP генотипиране. miR-618 беше свръхекспресирана в серума на пациенти с mCC. Пациентите с висока и средна експресия на miR-618 имаха значително по-дълга средна обща преживяемост (OS) от 21 месеца, в сравнение с пациентите с ниска експресия - 16 месеца. В допълнение, мултивариатният регресионен анализ (Cox) потвържда връзката между високите/средни нива на miRNA-618 и по-добрата обща преживяемост (HR = 0,51, 95% CI: 0,30–0,86, $p = 0,012$). miR-618 rs2682818 SNP на значително редуцира риска от развитие рак на дебелото черво както в хетерозиготния кодоминантен (AC срещу CC, OR = 0,39, 95% CI: 0,17–0,88, $p = 0,024$), така и в свръхдоминантния (AC срещу CC + AA, OR = 0,37, 95% CI: 0,16–0,85, $p = 0,018$) генетични модели. Нашите данни показват, че циркулиращата miRNA-618 може да бъде полезна като прогностичен биомаркер при mCC. Пациентите, носители на AC rs2682818 генотип, имат понижен риск от рак на дебелото черво в сравнение с пациентите с CC и AA генотипове.

Abstract:

Abstract: The present study evaluated the prognostic role of circulating miRNA-618 in patients with metastatic colon cancer (mCC) and whether miR-618 gene rs2682818 single nucleotide polymorphisms (SNP) are associated with colon cancer susceptibility and expression levels of mature miR-618. In total, 104 patients with mCC before starting the chemotherapy were investigated. The expression status of circulating miR-618 in mCC was evaluated by quantitative PCR. TaqMan PCR assay was used for rs2682818 SNP genotyping. miR-618 was overexpressed in serum of mCC patients. Patients with high and intermediate expression of miR-618 had a significantly longer mean overall survival (OS) of 21 months than patients with low expression -16 months. In addition, multivariate Cox regression analysis confirmed the association between high/intermediate levels of miRNA-618 and longer OS, HR = 0.51, 95% CI: 0.30–0.86, $p = 0.012$. miR-618 rs2682818 SNP significantly decreased the risk of colon cancer susceptibility in both heterozygous codominant (AC vs. CC, OR = 0.39, 95% CI: 0.17–0.88, $p = 0.024$) and overdominant (AC vs. CC + AA, OR = 0.37, 95% CI: 0.16–0.85, $p = 0.018$) genetic models. Our data suggest that circulating miRNA-618 could be useful as a prognostic biomarker in mCC. Patients harboring AC

rs2682818 genotype have a decreased risk for colon cancer in comparison with patients with CC and AA genotypes.

B4.4. Radanova M, Levkova M, Mihaylova G, Manev R, Maneva M, Hadgiev R, Conev N, Donev I. *Single Nucleotide Polymorphisms in microRNA Genes and Colorectal Cancer Risk and Prognosis*. Biomedicines. **2022** Jan 12;10(1):156. doi: 10.3390/biomedicines10010156 (IF=4,7; Q2).

Резюме:

Наблюдава се нарастващ интерес към единичните нуклеотидните полиморфизми (SNP) в гените на микроРНК-ите (miRNAs), които биха могли да бъдат свързани с предразположението към колоректален карцином (КРК), а оттам и с прогнозата на заболяването и/или отговора към лечението. Освен това, тези miRNAs-SNPs биха могли да служат като нови, нискоинвазивни инвазивни биомаркери за ранно откриване на КРК. В настоящата статия направихме задълбочен обзор на различни SNPs, които са били изследвани за връзка с риска от КРК, прогнозата и отговора на лечението. Анализираме също и резултатите от различни мета-анализи, както и възможните причини за докладвани противоречиви резултати, особено когато различни изследователски групи са изследвали един и същ SNP в ген за определена miRNA. Това показва необходимостта от повече проучвания от типа „случай-контрол“, включващи участници с различен етнически произход. Според нашия обзор, три miRNAs-SNPs – miR-146a rs2910164, miR-27a rs895819 и miR-608 rs4919510 – се очертават като обещаващи прогностични, диагностични и предикативни биомаркери за КРК, съответно.

Abstract:

There is growing interest in single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes of microRNAs (miRNAs), which could be associated with susceptibility to colorectal cancer (CRC) and therefore for prognosis of the disease and/or treatment response. Moreover, these miRNAs-SNPs could serve as new, low-invasive biomarkers for early detection of CRC. In the present article, we performed a thorough review of different SNPs, which were investigated for a correlation with the CRC risk, prognosis, and treatment response. We also analyzed the results from different meta-analyses and the possible reasons for reported contradictory findings, especially when different research groups investigated the same SNP in a gene for a particular miRNA. This illustrates the need for more case-control studies involving participants with different ethnic backgrounds. According to our review, three miRNAs-SNPs - miR-146a rs2910164, miR-27a rs895819 and miR-608 rs4919510 - appear as promising prognostic, diagnostic and predictive biomarkers for CRC, respectively.

B4.5. Doneva Y, Valkov V, Kashlov Y, Mihaylova G, Angelov A, **Radanova M.** *Circular RNA-miRNA mediated interaction in Myocardial Infarction*. J of IMAB. **2021** Apr-Jun;27(1): 3793-3798. doi: 10.5272/jimab.2021272.3793 . ISSN: 1312-773X (Q4).

Резюме:

Кръговите РНК-и (circRNAs) принадлежат към семейството на дългите не кодиращи РНК-и, но за разлика от линейната РНК, в кръговата РНК 3'- и 5'-краят на РНК молекулата са

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

свързани помежду си, образувайки кръгова структура. Доскоро се смяташе, че circRNAs са страничен продукт на сплайсинга, но сега е известно, че те имат широк спектър от биологични функции – от регулатори на генната експресия до регулатори на други некодиращи РНК-и – микроРНК-и (miRNAs). CircRNAs имат потенциала да бъдат терапевтични таргети и биомаркери при различни заболявания. Наличните данни и изследвания за този тип РНК-и при миокарден инфаркт при хората са оскъдни. Този обзор обобщава ролята на някои нови circRNA-miRNA взаимодействия при развитието на миокарден инфаркт.

Abstract:

Circular RNA (circRNAs) belong to the long noncoding RNA family, but unlike the linear RNA in circular RNA, the 3' and 5' end in the RNA molecule are joined together, forming their circular structure. Until recently, circRNAs have been believed to be a side product of splicing, but now it is known that they have a wide range of biological functions, from regulators of gene expression to regulators of other non-coding RNAs - microRNAs (miRNAs). CircRNAs have the potential of being therapeutic targets and biomarkers for diseases. There are little data and only several investigations about this type of RNAs in myocardial infarction in humans. This review summarizes the role of some new circRNA – miRNA interactions in the development of Myocardial Infarction.

Г7. Публикации, в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus), извън равностойните на хабилитационен труд

Г7.1. Conev NV, Dimitrova EG, Bogdanova MK, Kashlov YK, Chaushev BG, **Radanova MA**, Petrov DP, Georgiev KD, Bachvarov CH, Todorov GN, Kalchev KP, Popov HB, Manev RR, Donev IS. *RIPK3 expression as a potential predictive and prognostic marker in metastatic colon cancer*. Clin Invest Med. **2019** Mar 23;42(1):E31-E38. doi: 10.25011/cim.v42i1.32390 (IF=0,966; Q3).

Резюме:

Въведение: Ракът на дебелото черво е една от основните причини за смъртни случаи, свързани с рак. Терапията с 5-флуороурацил (5-FU) остава крайъгълният камък на лечението при тези пациенти. Резистентността към 5-FU представлява сериозна пречка, поради което откриването на нови прогностични маркери е от решаващо значение за подобряване на резултатите при лечението. Наскоро беше открит нов тип програмирана клетъчна смърт - некроптоза, която зависи от receptor interacting protein 3 (RIPK3). Предклиничните данни показват, че некроптическата клетъчна смърт е важен ефекторен механизъм на 5-FU медираната противораковата активност.

Цел: Да се изследва предиктивната и прогностична способност на RIPK3 експресията в първични тумори.

Методи: В това ретроспективно проучване са включени 74 пациенти с рак на дебелото черво в метастатичен стадий, всички лекувани с химиотерапия на базата на 5-FU като първа линия на терапия. Извършено е имунохистохимично оцветяване.

Резултати: Преживяемостта без прогресия при групата с ниска експресия на RIPK3 беше 5,6 месеца (95% CI, 4,4-6,8) спрямо 8,4 месеца (95% CI, 6,4-10,3) при групата с висока експресия ($p = 0,02$). Освен това, пациентите с висока експресия на RIPK3 имаха по-нисък риск от прогресия на заболяването (HR 0,61 (95% CI, 0,38-0,97; $p = 0,044$)). Пациентите с високи нива на експресия на RIPK3 също имаха значително по-дълга средна обща преживяемост (OS) от 29,3 месеца (95% CI, 20,8-37,8) в сравнение с тези с ниска експресия - 18,5 месеца (95% CI, 15,06-21,9) ($p = 0,036$). В допълнение, еднофакторният анализ показва, че високото ниво на експресия на RIPK3 е свързано с по-дълга обща преживяемост (HR 0,59 (95% CI, 0,35-0,98; $p = 0,044$)).

Заклучение: Това изследване показва, че експресията на RIPK3 в първични тумори на пациенти с метастатичен рак на дебелото черво трябва да бъде изследвана по-нататък за нейния потенциал като обещаващ предиктивен и прогностичен маркер.

Abstract:

Background: Colorectal cancer is one of the primary causes of cancer-related deaths and 5-fluorouracil (5-FU) therapy remains the cornerstone of treatment in these patients. Resistance to 5-FU represents a major obstacle; therefore, finding new predictive and prognostic markers is crucial for improvement of patient outcomes. Recently a new type of programmed cell death was discovered—necroptosis, which depends on receptor interacting protein 3 (RIPK3). Preclinical data showed that necroptotic cell death is an important effector mechanism of 5-FU-mediated anti-cancer activity.

Purpose: To investigate the predictive and prognostic performance of RIPK3 expression in primary tumors. Methods: Colon cancer patients ($n=74$) with metastatic stage were included in this retrospective study and all were treated with first-line 5-FU based chemotherapy. Immunohistochemical staining was performed.

Results: The progression free survival for the low expression group of RIPK3 was 5.6 months (95% CI, 4.4-6.8) vs 8.4 months (95% CI, 6.4-10.3) of the group with high expression ($p=0.02$). Moreover, patients with high expression of RIPK3 were associated with lower risk of disease progression HR 0.61 (95% CI, 0.38-0.97; $p=0.044$). Patients with high expression levels of RIPK3 also had significantly longer mean overall survival (OS) of 29.3 months (95% CI, 20.8-37.8) as compared with those with low expression: 18.5 months (95% CI, 15.06-21.9) ($p=0.036$). In addition, univariate analysis showed that high level of RIPK3 expression was associated with a longer OS HR 0.59 (95% CI, 0.35-0.98; $p=0.044$).

Conclusions: This study suggests that expression of RIPK3 in primary tumors of metastatic colon cancer patients should be further investigated for its potential as a promising predictive and prognostic marker.

Г7.2. Radanova M, Mihaylova G., Stoyanov G.St, Draganova V, Zlatarov A, Kolev N, Dimitrova E, Conev N, Ivanova D. *KRAS Mutation Status in Bulgarian Patients with Advanced and Metastatic Colorectal Cancer*. Int J Mol Sci. **2023**, 24, 12753. doi: 10.3390/ijms241612753 (IF=5,6; Q1).

Резюме:

Соматичните варианти в *RAS* гена са прогностични фактори за резистентност към анти-EGFR терапия при колоректален карцином (КПК) и влияят върху хода на заболяването. Нашето изследване имаше за цел да оцени честотата на *RAS* мутациите, с фокус върху вариантите в *KRAS* гена, както и връзката им с локализацията на тумора и някои клиничко-патологични характеристики при български пациенти с КПК. Проспективно изследвахме 236 пациенти с напреднал и метастатичен КПК. Геномната ДНК беше извлечена от тъканни проби от тумори, фиксирани във формалин и включени в парафин (FFPE). Използвахме комерсиално достъпни тестове за откриване на соматични мутации в *RAS* гена чрез real-time PCR. Общо 115 (48,73%) пациенти бяха носители на *RAS* мутации, като 106 (44,92%) бяха носители на *KRAS* мутации. Най-честата мутация в екзон 2 беше c.35G>T p.Gly12Val (32,56%). Не открихме значителна разлика в честотата на *KRAS* мутации според локализацията на тумора. Въпреки това, пациентите с мутация в екзон 4 на *KRAS* гена имаха 3,23 пъти по-често тумор в ректума, отколкото на други локализации (95% CI: 1,19–8,72, $p = 0,021$). Изследването на връзката между локализацията на тумора и *KRAS* мутациите в екзон 4 е от решаващо значение за по-доброто характеризиране на пациентите с КПК. Допълнителни изследвания с по-големи кохорти, особено при пациенти с рак на ректума, биха могли да осигурят ценна информация за проследяване на пациентите и избор на терапия.

Abstract:

RAS somatic variants are predictors of resistance to anti-EGFR therapy for colorectal cancer (CRC) and affect the outcome of the disease. Our study aimed to evaluate the frequency of *RAS*, with a focus on *KRAS* variants, and their association with tumor location and some clinicopathological characteristics in Bulgarian CRC patients. We prospectively investigated 236 patients with advanced and metastatic CRC. Genomic DNA was extracted from FFPE tumor tissue samples, and commercially available kits were used to detect *RAS* gene somatic mutations via real-time PCR. A total of 115 (48.73%) patients tested positive for *RAS* mutations, with 106 (44.92%) testing positive for *KRAS* mutations. The most common mutation in exon 2 was c.35G>T p.Gly12Val (32.56%). We did not find a significant difference in *KRAS* mutation frequency according to tumor location. However, patients with a mutation in exon 4 of *KRAS* were 3.23 times more likely to have a tumor in the rectum than in other locations (95% CI: 1.19–8.72, $p = 0.021$). Studying the link between tumor location and *KRAS* mutations in exon 4 is crucial for better characterizing CRC patients. Further research with larger cohorts, especially in rectal cancer patients, could provide valuable insights for patient follow-up and treatment selection.

Г7.3. Petrova MP, Donev IS, **Radanova MA**, Eneva MI, Dimitrova EG, Valchev GN, Minchev VT, Taushanova MS, Boneva MV, Karanikolova TS, Gencheva RB, Zhbantov GA, Ivanova AI, Timcheva CV, P Pavlov B, Megdanova VG, Robev BS, Conev NV. *Sarcopenia and high NLR are associated with the development of hyperprogressive disease after second-line pembrolizumab in patients with non-small-cell lung cancer*. Clin Exp Immunol. 2020 Dec;202(3):353-362. doi: 10.1111/cei.13505 (IF=4,33; Q2).

Резюме:

Целта на това мултицентрово ретроспективно проучване беше да се оцени честотата на хиперпрогресиращо заболяване (HPD) след лечение на втора линия с пембролизумаб при

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

пациенти ($n = 167$) с метастатичен недребноклетъчен рак на белия дроб (NSCLC), чиито тумори експресират programmed cell death ligand 1 (PD-L1) в $\geq 1\%$, както и да се потърсят хематологични и образни биомаркери, свързани с неговото развитие. Преди химиотерапия ретроспективно са анализирани съотношението неутрофили към лимфоцити (NLR1) и съотношението тромбоцити към лимфоцити (PLR1), както и NLR2 и PLR2 преди имунотерапия. Площта на мускула psoas major (PMMA) беше в позиция L3 на компютърна томография преди химиотерапия (PMMA1) и преди имунотерапия (PMMA2) ($n = 112$). Пациентите с $\Delta\text{PMMA} (1-\text{PMMA2}/\text{PMMA1}) \times 100 \geq 10\%$ бяха определени като имащи саркопения (ниска мускулна маса). След лечение с пембролизумаб при оценка на първото сканиране с компютърна томография (СТ), пациентите бяха разделени на следните групи: хиперпрогресиращи (HPs), прогресиращи (Ps), непрогресиращи (NPs) и псевдопрогресиращи (PPs). Хиперпрогресиращите пациенти (HPs) имаха значително по-високи нива на ΔPMMA , NLR2 и PLR2 в сравнение с другите пациенти. Освен това, при мултиноминален логистичен регресионен анализ, по-високите нива на ΔPMMA бяха свързани с намалена вероятност пациентът да бъде прогресиращ (P) (OR = 0,81; 95% CI = 0,65–0,99; $P = 0,047$) или непрогресиращ (NP) (OR = 0,76; 95% CI = 0,62–0,94; $P = 0,012$) в сравнение с хиперпрогресиращ (HP). По-високите NLR (съотношение неутрофили към лимфоцити) показват тенденция към намаляване на вероятността пациентът да бъде прогресиращ (P) в сравнение с хиперпрогресиращ (HP) (OR = 0,66; 95% CI = 0,42–1,06; $P = 0,09$), но значително намаляват вероятността да бъде непрогресиращ (NP) в сравнение с хиперпрогресиращ (HP) (OR = 0,44; 95% CI = 0,28–0,69; $P < 0,0001$). Нашите данни предполагат, че високото NLR2 преди имунотерапия и наличието на саркопения са потенциални рискови фактори за развитие на HPD (хиперпрогресиращо заболяване).

Abstract:

The aim of this multi-center retrospective study was to evaluate the incidence of hyperprogressive disease (HPD) after second-line treatment with pembrolizumab in patients ($n = 167$) with metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC) whose tumors expressed programmed cell death ligand 1 (PD-L1) in $\geq 1\%$ and to search for hematological and imaging biomarkers associated with its development. Prior to chemotherapy, neutrophil : lymphocyte ratio (NLR1) and platelet : lymphocyte ratio (PLR1), and prior to immunotherapy, NLR2 and PLR2 were retrospectively analyzed. The psoas major muscle area (PMMA) was calculated at the L3 position on computed tomography before chemotherapy (PMMA1) and before immunotherapy (PMMA2) ($n = 112$). Patients with $\Delta\text{PMMA} (1-\text{PMMA2}/\text{PMMA1}) \times 100 \geq 10\%$ were considered to have sarcopenia (low muscle mass). After treatment with pembrolizumab on the first computerized tomography (CT) scan evaluation, patients were subdivided as follows as: hyperprogressors (HPs), progressors (Ps), non-progressors (NPs) and pseudoprogessors (PPs). HPs had significantly higher ΔPMMA levels, NLR2 and PLR2 than the other patients. Moreover, in multinomial logistic regression analysis, higher levels of ΔPMMA were associated with a decreased likelihood of being a P [odds ratio (OR) = 0.81; 95% confidence interval (CI) = 0.65–0.99; $P = 0.047$] or an NP (OR = 0.76; 95% CI = 0.62–0.94; $P = 0.012$) versus an HP. Higher NLRs tended to decrease the likelihood of being a P versus an HP (OR = 0.66; 95% CI = 0.42–1.06; $P = 0.09$) and significantly decreased the likelihood of being an NP versus an HP (OR = 0.44; 95% CI = 0.28–0.69; $P < 0.0001$). Our

data suggest that a high pre-immunotherapy NLR2 and the presence of sarcopenia are potential risk factors for the development of HPD.

Г7.4. Gencheva R, Petrova M, Krалеva P, Hadjidekova S, **Radanova M**, Conev N, Stoyanov D, Arabadjiev J, Tazimova E, Bachurska S, Eneva M, Tsvetkova M, Zhbantov G, Karanikolova T, Manov D, Ivanova A, Taushanova-Hadjieva M, Staneva R, Dimitrova E, Donev I. *Prevalence and prognosis of PIK3CA mutations in Bulgarian patients with metastatic breast cancer receiving endocrine therapy in first-line setting*. Cancer Rep (Hoboken). 2023 Dec 26:e1966. doi: 10.1002/cnr2.1966 (IF=1,7; Q3).

Резюме:

Въведение и цели: Приблизително 40% от пациентите с HER2-негативни/HR-позитивни тумори на гърдата имат мутация в *PIK3CA* гена. Въпреки това, клиничните резултати при тази група пациенти варират между отделните проучвания. Нашата цел беше да определим разпространението на мутациите в *PIK3CA* гена при пациенти с метастатичен HR+/HER2–рак на гърдата в България, както и да оценим и сравним преживяемостта без прогресия (PFS) между групите: див тип (WT) и с мутация в реална клинична обстановка.

Методи: Три онкологични центъра в България събраха 250 тъканни проби между 2016 г. и 2022 г. за това мултицентрово ретроспективно проучване. Мутациите в *PIK3CA* бяха идентифицирани чрез Real-Time qPCR. Медианата на продължителността на проследяването беше 35 месеца.

Резултати: Средната възраст на групата с мутация беше $57,6 \pm 11,6$ години, в сравнение с $56,5 \pm 12,2$ години за групата див тип ($p = 0,52$). Процентът на пациентите с висцерални метастази беше 58,8% ($n = 147$). Приблизително 84,3% ($n = 210$) от пациентите бяха в постменопауза. 29,2% ($n = 73$) от пациентите имаха мутации в *PIK3CA*. Преобладаващата мутация беше в екзон 20, H1047R (46,5%). Открихме значима корелация само между наличието на мутация и метастатичното заболяване при диагностициране ($p = 0,002$). Като първа линия на лечение 67,1% от пациентите са получили ендокринна терапия (ЕТ) плюс инхибитор на циклин-зависимата киназа (CDK4/6), докато останалите са получили само ЕТ. Медианната PFS на пациентите в групата с мутацията беше 32 месеца (95% CI: 22–40) в сравнение с 24 месеца в групата див тип (95% CI: 21–36) ($p = 0,45$); HR = 0,86 (95% CI: 0,5–1,3) ($p = 0,46$). Потвърдихме заключението си чрез анализ на скората на склонност за съответствие (36 месеца [95% CI: 20–40] срещу 26 месеца [95% CI: 21–38], [$p = 0,69$]).

Abstract:

Background and aims: In approximately 40% of patients with HER2-negative/HR-positive breast cancer tumors, the *PIK3CA* gene is mutated. Despite this, clinical outcomes vary between studies in this cohort. We aimed to ascertain the prevalence of *PIK3CA* mutations in patients with metastatic HR+/HER2–breast in Bulgaria, as well the evaluation and comparison of progression free survival (PFS) between wild-type (WT) and mutation-positive groups in the real-world setting. **Methods:** Three oncology centers in Bulgaria collected 250 tissue samples between 2016 and 2022 for this multicentric retrospective study. *PIK3CA* mutations were identified using Real-Time qPCR. The median follow-up period was 35 months. **Results:** The mean age of the mutant cohort was 57.6 ± 11.6 years, compared to 56.5 ± 12.2 years for the WT cohort ($p = .52$). The percentage of patients with visceral metastasis was 58.8% ($n = 147$). Approximately 84.3% ($n =$

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор”

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

210) of the patients had reached postmenopause. 29.2% (n = 73) of the patients had PIK3CA mutations. The predominant mutation was present in exon 20, H1047R (46.5%). We found a significant correlation only between the presence of a mutation and the metastatic diseases at diagnosis (p = .002). As first-line therapy, 67.1% of patients received endocrine therapy (ET) plus cyclin dependent kinase (CDK4/6) inhibitor, while the remainder received ET alone. The median PFS of patients in the group with the mutation was 32 months (95%, CI: 22–40) compared to 24 months in the WT cohort ((95%, CI: 21–36) (p = .45)); HR = 0.86 (95%, CI: 0.5–1.3) (p = .46). We corroborated our conclusion using propensity matching score analysis, (36 months [95% CI: 20–40] vs. 26 months [95% CI: 21–38], [p = .69]).

Г7.5. Bekyarova G, Tzaneva M, Bratoeva M, Kotzev I, **Radanova M.** *Heme-oxygenase-1 upregulated by s-adenosylmethionine. Potential protection against non-alcoholic fatty liver induced by high fructose diet.* Farmacia, **2017**; 65(2): 262-267 (IF=1,507; Q2).

Резюме:

Прекомерната консумация на фруктоза в храната може да играе ключова роля в съвременните епидемии на **мастна болест на черния дроб**, затлъстяване и диабет - всички характеристики на метаболитния синдром. Това изследване оценява връзката между липидната пероксидация и други биомаркери на оксидативния стрес с промените в експресията на ензима хемооксигеназа-1 (НО-1) в мастен черен дроб при плъхове, предизвикан от диета с високо съдържание на фруктоза (ДВФ) и ефекта на S-adenosylmethionine (SAdMe). Двадесет и един мъжки плъха бяха разпределени на случаен принцип в три групи, всяка със по седем животни: група ДВФ (35% фруктоза в питейната вода в продължение на 16 седмици), група ДВФ + SAdMe (20 mg/kg телесно тегло в питейната вода в продължение на 16 седмици) и контролна група. В чернодробната тъкан са изследвани експресията на НО-1, малонов диалдехид (МДА) (маркер за липидна пероксидация), триглицериди (ТГ), нивата на SH-гр. и са проведени хистологични изследвания. Групата ДВФ показва микровезикуларна стеатоза без възпаление и фиброза. В групата ДВФ + SAdMe микровезикуларната стеатоза не беше установена. Експресията на НО-1 беше значително повишена при плъховете от групата ДВФ. SAdMe усилваше повишаването на експресията на НО-1. Нивата на МДА и ТГ бяха повишени в групата ДВФ. При плъховете от групата ДВФ с по-ниски нива на SH група се наблюдаваше по-висока експресия на НО-1. SAdMe потиска повишаването на нивата на липидна пероксидация и ТГ и предотвратява намаляването на нивата на SH-гр. В заключение, SAdMe има важен хепатопротективен ефект, като най-вероятно защитата се осъществява чрез повишаване на експресията на антиоксидантния ензим НО-1, за да се предотврати развитието на **мастна болест на черния дроб**.

Abstract:

Excessive dietary fructose intake may have an important role in the current epidemics of fatty liver disease, obesity and diabetes- features of metabolic syndrome. We evaluated the relationship between lipid peroxidation and other oxidative stress biomarkers with changes in expression of heme oxygenase-1 (HO-1) in rat fatty liver, induced by high fructose diet (HFD) and the effect of S-adenosylmethionine (SAdMe). Twenty-one male rats were randomly assigned to three groups of seven animals each: HFD (35% fructose in drinking water for 16 weeks) group, HFD + SAdMe (20 mg/kg b.w. in drinking water for 16 weeks) group and control group. HO-1 expression, malonyl

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

dialdehyde (MDA) (a marker of lipid peroxidation), triglycerides (TG), SH group levels and histological studies were performed on hepatic tissue. HFD group showed microvesicular steatosis without inflammation and fibrosis. In HFD+SAM group microvesicular steatosis was not established. The HO-1 expression was significantly increased in HFD rats. SEme augmented the increase in expression of HO-1. The levels of MDA and TG were elevated in HFD group. In HFD rats with lower levels of SH exhibited higher expression of HO-1. SAME inhibited the increase in lipid peroxidation and TG levels and prevented the decrease in SH levels. In conclusion, SAME has an important hepatoprotective effect and its protection is most probably exerted by increasing the expression of the antioxidant enzyme HO-1, in order to prevent the development of fatty liver.

Г7.6. Bratoeva K, Nikolova S, Merdzhanova A, Stoyanov GS, Dimitrova E, Kashlov J, Conev N, **Radanova M.** *Association Between Serum CK-18 Levels and the Degree of Liver Damage in Fructose-Induced Metabolic Syndrome.* Metab Syndr Relat Disord. **2018** Sep;16(7):350-357. doi: 10.1089/met.2017.0162 (IF=1,597; Q2).

Резюме:

Въведение: Патогенезата на неалкохолната мастна чернодробна болест като компонент на метаболитния синдром (МетС) включва активиране на апоптозата в стеатозни хепатоцити. Като маркери за диагностика и оценка на тежестта на заболяването се изследват фрагменти, генерирани от каспаза, като цитокератин-18 (СК-18) при пациенти с различни чернодробни нарушения. Целта на изследването беше да се открият ранни биомаркери на апоптозата и да се изясни тяхната роля в оценката на наличието и степента на чернодробно увреждане при модел на МетС.

Материали и методи: Използвахме мъжки плъхове Wistar, разделени на две групи (n = 7): контролна и група с консумация на вода с високо съдържание на фруктоза (ВВФ) (35% царевичен сироп с фруктоза за 16 седмици). Метаболитните нарушения и чернодробното увреждане бяха изследвани чрез хистохимия (хематоксилин и еозин), имунохистохимични, имунологични и биохимични тестове.

Резултати: Нашите резултати показаха значително повишение СК-18 и съотношението про-/антиапоптозни Bax/Bcl2 в черния дроб и серума, както и намалени нива на HMGB1 (маркер за некроза) в ВВФ групата, в сравнение с контролната група. Всички плъхове от групата ВВФ развиха затлъстяване, хипергликемия, хепатомегалия, микровезикуларна стеатоза, дисбаланс в чернодробната антиоксидантна защита чрез измерване на малонов диалдехид и сулфхидрилни групи (SH), без възпаление и фиброза. Наблюдаваха се повишени нива на триглицеридите, тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- α) и С-реактивен протеин в серума, без промени в нивата на серумните аминотрансферази в сравнение с контролната група. В резултат на приложения регресионен анализ определихме, че променливите TNF- α (0,92) и SH (0,659) имат силно комплексно влияние върху нивата на СК-18 в черния дроб с прогнозирана стойност на модела R = 0,9.

Заклучение: Повишените нива на СК-18 в серума в ВВФ групата и тяхната връзка с хистологичните промени в черния дроб и биохимичните показатели показват ключовата роля на апоптозата в патогенезата на чернодробното увреждане, индуцирано от ВВФ, както и надеждността на СК-18 като биомаркер за неинвазивна оценка на чернодробни увреждания при МетС.

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

Abstract:

Background: The pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease as a component of metabolic syndrome (MetS) involves the activation of apoptosis in steatotic hepatocytes. Caspase-generated fragments such as cytokeratin-18 (CK-18) in patients with various hepatic impairments are investigated as markers for diagnosis and assessment of disease severity. The goal of the study was to capture early biomarkers of apoptosis and elucidate their role in assessing the presence and extent of hepatic damage in a MetS model. **Materials and Methods:** We used male Wistar rats, divided into two groups (n = 7): control and high-fructose drinking (HFD) (35% fructose corn syrup for 16 weeks). Metabolic disorders and liver damage were studied by histochemistry (hematoxylin and eosin), immunohistochemical, immunological, and biochemical testing. **Results:** Our results showed significant increase in liver and serum levels of CK-18 and pro/apoptotic Bax/Bcl2 ratio, and decreased levels of HMGB1 (marker of necrosis) in the HFD group when compared with the control. All HFD rats developed obesity, hyperglycemia, hepatomegaly, microvesicular steatosis, an imbalance in hepatic antioxidative defense by measuring malondialdehyde and sulfhydryl groups (SH) with no inflammation and fibrosis, elevated serum levels of triglycerides, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and C-reactive protein without changes in serum aminotransferase levels relative to the control group. As a result of the applied regression analysis, we have determined that the variables TNF- α (0.92) and SH (0.659) have a strong complex effect on hepatic CK-18 levels with predicted value of the model $R = 0.9$. **Conclusion:** The elevated CK-18 serum levels in the HFD group and their association with the histological changes in the liver and biochemical indicators demonstrate the key role of apoptosis in the pathogenesis of HFD-induced liver damage and the reliability of CK-18 as a biomarker for noninvasive assessment of liver damages in MetS.

Г7.7. Levkova M, **Radanova M**, Angelova L. *Potential role of dynein-related genes in the etiology of male infertility: A systematic review and a meta-analysis*. *Andrology*. 2022 Nov;10(8):1484-1499. doi: 10.1111/andr.13287 (IF=4,6; Q1).

Резюме:

Въведение: Свързаните с динеин гени може да имат роля в етиологията на мъжкото безплодие, особено в случаите на нарушена подвижност на сперматозоидите. **Цели:** Целта на този обзор е да се състави списък на най-важните кандидат-гени, свързани с динеина, които могат да допринесат за безплодието при мъжете. **Материали и методи:** Беше проведено търсене в бази, като бяха използвани ключовите думи "dynein", "male", "infertility" и бяха приложени строги критерии за включване на статиите. Беше извършен и мета-анализ, като бяха използвани подходящи от намерените проучвания от типа случай-контрола. Отношението на шансовете (OR), резултатът от Z-теста и нивото на значимост бяха определени с помощта на фиксиран модел със стойност на p от 0,05. За проверка на пристрастността на публикациите бяха използвани графики на Фунел. **Резултати:** На критериите за включване отговаряха 35 проучвания. Бяха открити общо 15 гена, отговорни за производството на динеинови структурни протеини, за производството на динеинови сглобяващи фактори и потенциално свързани с мъжкото безплодие. Общо пет проучвания от типа случай-контрола бяха подходящи за включване в мета-анализа. Вариациите в гените, свързани с динеин, са свързани с повишен риск от мъжко безплодие ($OR = 21,52$, 95% доверителен интервал 8,34-

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор”

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

55,50, Z тест = 6,35, $p < 0,05$). Процентът на хетерогенност, I^2 , е 47,00%. Липсата на варианти в динеиновите гени е предимство и това е статистически значимо. Обсъждане: Резултатите от настоящия преглед показват, че патогенни варианти в гените както за синтеза на динеин, така и за факторите за сглобяване на динеин могат да бъдат свързани с мъжко безплодие без наличие на други, подлежащи симптоми. Заключение: Разгледаните в това проучване гени, които участват както в производството, така и в сглобяването на динеина, могат да се използват като молекулярни цели за бъдещи изследвания на етиологията на проблемите с подвижността на сперматозоидите.

Abstract:

Background: The dynein-related genes may have a role in the etiology of male infertility, particularly in cases of impaired sperm motility. Objectives: The goal of this review is to compile a list of the most important dynein-related candidate genes that may contribute to male factor infertility. Materials and methods: Databases were searched using the keywords “dynein,” “male,” “infertility,” and by applying strict inclusion criteria. A meta-analysis was also performed by using the eligible case-control studies. The odd ratios (ORs), the Z-test score, and the level of significance were determined using a fixed model with a p value of 0.05. Funnel plots were used to check for publication bias. Results: There were 35 studies that met the inclusion criteria. There were a total of 15 genes responsible for the production of dynein structural proteins, the production of dynein assembling factors, and potentially associated with male infertility. A total of five case-control studies were eligible for inclusion in the meta-analysis. Variants in the dynein-related genes were linked to an increased the risk of male infertility (OR = 21.52, 95% confidence interval 8.34–55.50, Z test = 6.35, $p < 0.05$). The percentage of heterogeneity, I^2 , was 47.00%. The lack of variants in the dynein genes was an advantage, and this was statistically significant. Discussion: The results from the present review illustrate that pathogenic variants in genes both for dynein synthesis and for dynein assembly factors could be associated with isolated cases of male infertility without any other symptoms. Conclusions: The genes addressed in this study, which are involved in both the production and assembly of dynein, could be used as molecular targets for future research into the etiology of sperm motility problems.

Г7.8. Kosturkova M, Mihaylova G, Kadinov V, **Radanova M.** *Rheumatoid arthritis and complement system.* Rheumatology (Bulgaria) (Revmatologija (Bulgaria)). **2020**; 28(4), 51-58. doi:<https://doi.org/10.35465/28.4.2020> (Q2).

Резюме:

Системата на комплемента е важна част от имунния отговор. Нормалното ѝ функциониране е задължително за защитата на организма от патогени, както и за почистването му от имунни комплекси, апоптотични клетки и клетъчен дебрис. Прекалената ѝ активация обаче може да доведе до отделяне на множество проинфламаторни и цитотоксични медиатори, причиняващи възпаление и тъканна увреда. Участието на комплемента в патогенезата на ревматоидния артрит (РА) е безспорно, но прецизните механизми, по които то се осъществява и съответно възможностите за повлияването им, са все още обект на изследвания. Целта на настоящия обзор е да очертае и систематизира събраните до момента научни доказателства в това отношение.

Abstract:

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор”
в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“,
обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

The complement system represents a major part of the immune response. Its normal functioning is mandatory for the organism's defence against pathogens and for the clearance of immune complexes, apoptotic cells and cellular debris. Its over-activation however can lead to generation of many pro-inflammatory and cytotoxic mediators, causing inflammation and tissue damage. The participation of the complement system in rheumatoid arthritis' (RA) pathogenesis is indisputable but its precise mechanisms and the opportunities for influencing them are still an object of investigation. The aim of this review is to outline and systematize all the relevant scientific evidence.

Г7.9. Kosturkova MB, Mihaylova GM, Shivacheva TK, **Radanova MA**. Association of C1q gene cluster variants with rheumatoid arthritis: a pilot study. *Rheumatol Int.* **2022** Jun;42(6):1073-1083. doi: 10.1007/s00296-022-05089-1 (IF=4; Q2).

Резюме:

Единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) в генния клъстер за C1q са били свързвани преди това с автоимунитет и системен лупус еритематозес, но данните за тяхната връзка с ревматоидния артрит (RA) са оскъдни. В настоящото проучване оценихме връзките на пет SNPs (rs665691, rs682658, rs172378, rs292001 и rs294179) в C1q генетичния регион с RA и някои от неговите клинични и имунологични характеристики. В изследването участваха 58 пациенти с RA и 67 здрави контроли, съответстващи по възраст и пол, всички с европейски произход. Те са бяха генотипирани за петте SNPs, използвайки TaqMan тест за алелна дискриминация, а нивата на C1q бяха оценени чрез ELISA. В групата на пациентите с RA бяха измерени ревматоиден фактор и антитела срещу цикличен цитрулиниран пептид (съответно латекс-аглутинационен тест и ELISA), а също така беше събрана съответната клинична информация. Пациентите с RA и здравите контроли показаха сходни честоти на алели и генотипове на rs665691, rs682658 и rs294179. Минорния G-алел и GG генотипът на rs172378 са свързани с RA (OR = 2,80; 95% CI 1,62–4,81; p = 0,0002 и OR = 5,01; 95% CI 1,55–16,24; p = 0,007, съответно), както и AA генотипът на rs292001 (OR = 3,23; 95% CI 1,15–9,08; p = 0,026). Нивата на C1q бяха значително по-ниски (все още в норма) в групата на пациентите с RA в сравнение със здравите доброволци: 89 µg/ml (68–121) срещу 114 µg/ml (60–169), p < 0,0001. Установена беше значима връзка между rs172378 и rs292001 и RA, за разлика от rs665691, rs682658 и rs294179. Пациентите с RA имаха по-ниски нива на C1q в сравнение със здравите контроли. Нашите резултати съответстват на досегашните научни познания и добавят допълнителна яснота от гледна точка на българска кохорта.

Abstract:

Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in C1q gene cluster were previously linked to autoimmunity and SLE, but data are scarce for their association with RA. In the present study, we evaluated associations of five SNPs (rs665691, rs682658, rs172378, rs292001 and rs294179) in the C1q genetic region with RA and some of its clinical and immunologic characteristics. Fifty-eight RA patients and 67 age- and gender-matched healthy controls, all Caucasian, participated in the study. They were genotyped for the five SNPs using TaqMan allelic discrimination assay, and their C1q levels were estimated by ELISA. Rheumatoid factor and anti-citrullinated peptide antibodies were measured (using latex agglutination and ELISA resp.) in the RA patients' group and relevant clinical information was collected. RA patients and healthy controls had similar

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

frequencies of alleles and genotypes of rs665691, rs682658 and rs294179. Minor G-allele and GG genotype of rs172378 were associated with RA (OR=2.80; 95% CI 1.62–4.81; $p=0.0002$ and OR=5.01; 95% CI 1.55–16.24; $p=0.007$, resp.), as well as AA genotype of rs292001 (OR=3.23; 95% CI 1.15–9.08; $p=0.026$). C1q levels were significantly lower (still normal) in RA patients' group compared to healthy volunteers: 89 $\mu\text{g/ml}$ (68–121) vs 114 $\mu\text{g/ml}$ (60–169), $p<0.0001$. Significant association was established between rs172378 and rs292001 and RA, in contrast to rs665691, rs682658 and rs294179. RA patients had lower C1q levels than healthy controls. Our findings correspond to the scientific knowledge so far and add additional clarity from a Bulgarian cohort.

Г8. Публикувана глава от книга или колективна монография

Г8.1. Radanova M, Roumenina LT, Vasilev V. Detection of Anti-C3b Autoantibodies by ELISA. Methods Mol Biol. 2021;2227:133-139. doi: 10.1007/978-1-0716-1016-9_13. ISBN: 978-1-0716-1015-2

Резюме:

Автоантитела срещу протеини на системата на комплемента са включени в патологичния процес на много заболявания, в това число и на лупусния нефрит, С3 гломерулопатия и атипичен хемолитично-уремичен синдром. Методът описва откриването на автоантитела, насочени към централния компонент на комплемента С3 чрез ELISA. Тези автоантитела (IgG) се откриват при около 30% от пациентите с лупусен нефрит и по-рядко при случаи с С3 гломерулопатия. Автоантителата разпознават активния С3b фрагмент и имат явни функционални последици. Те усилват формирането на С3 конвертазата и предотвратяват инактивирането на С3b от фактор Н и комплементен рецептор 1. Също така те усилват депозицията на фрагменти за активиране на комплемента върху апоптотични клетки, напр. Наличните към момента данни за връзките на анти-С3 автоантитела с клинични, лабораторни и хистологични маркери за активност на лупусен нефрит, както и връзките на анти-С3 с класически имунологични маркери за активност на автоимунен процес при пациенти с лупусен нефрит, като хипокомplementемия и високи нива на анти-dsDNA, биха могли да идентифицират тези автоантитела като потенциален маркер за оценка на активността на лупусния нефрит. Тези автоантитела корелират с тежестта на заболяването и могат да се използват за идентифициране на пациенти с лупусен нефрит, които са били склонни към обостряне. Следователно откриването на такива автоантитела може да насочи клиницистите да оценят и предскажат тежестта и да управляват терапията на лупусния нефрит.

Abstract:

Autoantibodies against complement proteins are involved in the pathological process of many diseases, including lupus nephritis, C3 glomerulopathies, and atypical hemolytic uremic syndrome. This method describes the detection of autoantibodies targeting the central complement component C3 by ELISA. These autoantibodies (IgG) are detected in up to 30% of the patients with lupus nephritis and more rarely in cases with C3 glomerulopathies. These autoantibodies recognize the active fragment C3b and have overt functional consequences. They enhance the formation of the C3 convertase and prevent the inactivation of C3b by Factor H and complement receptor 1. Moreover, they enhance the deposition of complement activation fragments on

activator surfaces, such as apoptotic cells. The data currently available on the relations of anti-C3 autoantibodies with clinical, laboratory, and histological markers for activity of lupus nephritis, as well as the relations of anti-C3 with classical immunological markers for activity of autoimmune Process in patients with lupus nephritis, such as hypocomplementemia and high levels of anti-dsDNA, could identify these autoantibodies as a potential marker for evaluation the activity of lupus nephritis. These autoantibodies correlate with the disease severity and can be used to identify patients with lupus nephritis who were prone to flare. Therefore, the detection of such autoantibodies could guide the clinicians to evaluate and predict the severity and to manage the therapy of lupus nephritis.

Г8.2. Radanova M. 2023. *Transcribed-Ultra Conserved Regions (T-UCRs) a new light on a dark matter*. Noncoding RNA - The Dark Matter of the Genome. IntechOpen Limited, London, UK. DOI:10.5772/intechopen.113015, ISBN 978-1-80356-711-2

Резюме:

Транскрибираните ултра консервативни региони (T-UCRs) представляват нов клас дълги некодиращи РНК-и, получени от ултра консервативни участъци (UCRs) на ДНК. Откриването на специфични за рака мутации в UCRs и тяхното разположение в геномни региони, свързани с рак, предполага, че T-UCRs също играят роля в канцерогенезата. Механизмите зад тяхното действие обаче остават неясни. Взаимодействията им с микроРНК-и не са добре разбрани и в момента са предмет на дебат. Подобно на други некодиращи РНК-и, T-UCRs показват тъкан-специфична и болест-специфична експресия, което ги прави обещаващи кандидати за биомаркери или терапевтични цели при рак и други заболявания. Тази глава има за цел да направи обзор на съвременните знания за функционалните ефекти на T-UCRs при рак и други заболявания, да обсъди ролята на T-UCRs като регулатори и регулирани, и да представи техния потенциал като биомаркери за мониторинг на заболяване.

Abstract:

Transcribed Ultra-Conserved Regions (T-UCRs) are a novel class of long non-coding RNAs derived from Ultra-Conserved Regions (UCRs) of DNA. The discovery of cancer-specific mutations in UCRs and their location in cancer-associated genomic regions suggests that T-UCRs also play a role in carcinogenesis. However, the mechanisms behind their actions remain unclear. Their interactions with microRNAs are not well understood and are currently a subject of debate. Like other non-coding RNAs, T-UCRs exhibit tissue- and disease-specific expression, making them promising candidates for biomarkers or therapeutic targets in cancer and other diseases. This chapter aims to review the current knowledge on the functional effects of T-UCRs in cancer and other diseases, discuss the role of T-UCRs as regulators and regulated, and present their potential as disease monitoring biomarkers.

Пълнотекстови публикации в научни списания и сборници, извън минималните наукометрични изисквания за заемане на АД „професор“.

1. Sokrateva TD, Roussev BH, Nashar MA, Kiselova-Kaneva YD, Mihaylova GM, Todorova MN, Pasheva MG, Tasinov OB, Nazifova-Tasinova NF, Vankova DG, Ivanova DP, **Radanova**

Участие в конкурс за заемане на АД „Професор“

в професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност „Биохимия“, обявен в ДВ, бр. 7 от 23.01.2023 г.

МА, Ts Galunska B, Vlaykova TI, Ivanova DG. *Effects of sulphur-containing mineral water intake on oxidative status and markers for inflammation in healthy subjects*. Arch Physiol Biochem. **2021**;127(4):327-336. doi:10.1080/13813455.2019.1638416.

Резюме:

Контекст: Сярните минерални води (СМВ) имат широк спектър на приложение. Съдържанието на сяра в минералните води се счита за възможен определящ фактор за техните противовъзпалителни или провъзпалителни ефекти.

Цел: Да се изследват лечебните свойства на минералната вода от Варненския басейн, като се анализират възможните антиоксидантни и противовъзпалителни ефекти.

Материали и методи: Проведена е интервенция с прием на Варненска СМВ със здрави доброволци. Измерени са общите тиоли, общият глутатион и неговите фракции, реактивните кислородни метаболити, малонов диалдехид (MDA), вътреклетъчна адхезионна молекула (ICAM-1) и васкуларна адхезионна молекула (VCAM-1). Анализирани са също експресията на гените на с-глутамил-цистеинил лигаза (GCL) и sICAM-1.

Резултати: В края на интервенцията се наблюдава значително повишение на общия глутатион и общите тиоли. Експресиите на гените на GCL и sICAM-1 са се увеличили след интервенцията.

Заклучение: Консумацията на СМВ подобрява редокс статуса на организма. Предполагаме, че тези полезни ефекти може да се дължат на установените високи нива на сярсъдържащи съединения във варненската минерална вода.

Abstract:

Context: Sulphurous mineral waters (SMW) have a wide range of applications. Sulphur content of mineral waters is considered as possible determinant for their anti-inflammatory or pro-inflammatory effects.

Objective: To explore the healing properties of Varna basin mineral water by analysing possible antioxidative and anti-inflammatory effects.

Materials and methods: An intervention with Varna SMW intake was performed with healthy volunteers. Total thiols, total glutathione and its fractions, reactive oxygen metabolites, malondialdehyde, intracellular adhesion molecule (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) were measured. Expression of c-glutamyl-cysteinyl ligase (GCL) and sICAM-1 genes was also analysed.

Results: A significantly increased total glutathione and total thiols were observed at the end of the intervention. GCL and sICAM-1 gene expressions were increased after the intervention.

Conclusion: SMW consumption improved redox status of the body. We suggested that these beneficial effects may be attributed to the established high levels of sulphur-containing compounds in Varna mineral water.

2. Roussev B, Sokrateva T, Nashar M, **Radanova M**, Komosinska-Vashev K, Olczyk P, Potoroko I Y, Ivanova D. *Effects of sulfur-containing mineral water on the renal function: a human interventional study*. Compt Rend Acad Bulg Sci. **2019**;72(11):1577-1584.

Резюме:

Минералната вода от Варненския басейн се класифицира като сярна. Известно е, че тази вода има благоприятни ефекти върху човешкото здраве, но тези познания в момента се основават на емпирични данни. Целта на изследването беше да се получат научни данни за метаболитните и здравословните ефекти на Варненската минерална вода. Група от 50 здрави индивиди приемаха вода с известен минерален състав от избрани източници в продължение на 8 седмици. Биохимичните показатели в кръвта и 24-часова урина бяха анализирани преди и след интервенцията. Резултатите показват, че след интервенцията средните плазмени нива на креатинин и височувствителен С-реактивен протеин (hs-CRP) са намалели, а прогнозната скорост на гломерулна филтрация (eGFR) и диурезата са се увеличили значително. Допълнително, ефективността на бъбречната функция беше оценена чрез изключване на фактора диуреза при някои участници с по-ниска диуреза в края на интервенцията. Промените в нивата на креатинина и eGFR потвърдиха подобрената бъбречна функция. В заключение, лечебният потенциал на сярната минерална вода от Варненския басейн се проявява чрез подобрени маркери за бъбречна функция и възпаление. Получените в това изследване резултати са първите научни данни в подкрепа на емпиричните данни и биха могли да бъдат интересни за специалисти в областта на медицината и общественото здраве.

Abstract:

Varna basin mineral water is classified as sulphurous. This water is known to have beneficial effects on the human health but this knowledge is based currently on empirical data. The aim of the study was to receive scientific data about the metabolic and healthy effects of Varna mineral waters. A group of 50 healthy individuals consumed water with known mineral content from selected sources for 8 weeks. Biochemical parameters in blood and 24-hours urine were analyzed before and after the intervention. Results showed that after the intervention the mean plasma levels of creatinine and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP) decreased, and estimated glomerular filtration rate (eGFR) and diuresis increased significantly. Additionally, the renal function effectivity was assessed by excluding the diuresis factor for selected participants with lower diuresis at the end of the intervention. Changes in levels of creatinine and eGFR confirmed the improved kidney function. In conclusion, the healing potential of sulphurous mineral water from Varna basin is manifested by improved markers for kidney function and for inflammation. The results obtained in this study are the first scientific data in support of empirical data and could be of interest for specialists in the field of medicine and public health.

Дата: 15.03.2024 г.
гр. Варна

Изготвил:



(доц. М. Раданова, д.б.)