

**НАУЧНА ДЕЙНОСТ**  
**НА ДОЦ. Д-Р АНЕЛИЯ АЛЕКСАНДРОВА ДИМИТРОВА, ДМ**  
**РЪКОВОДИТЕЛ НА КАТЕДРА "ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ"**  
**ПРИ МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ПЛЕВЕН**

**ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЯ**

1. **Автореферат.** Съдово-протективни ефекти на цинковата суплементация – експериментални проучвания. 2007

**МОНОГРАФИИ**

2. **Патофизиологични и клинични промени при стареене.** Под редакцията на Д. Страшимиров. ISBN: 978-954-756-082-6, Издателство към МУ-Плевен. Участие в следната глава: Ендотелна дисфункция, съдова стена и стареене. 2008;21-32.

**Резюме**

*Стареенето, старостта и дълголетие то остават и до днес актуален и все още недостатъчно проучен проблем. Една от съвременните концепции за стареенето е схващането, като физиологичен и патофизиологичен процес. Стареенето се свързва също с възникващи нарушения в централните регулации, тъй като централно-регулаторните механизми обуславят промените в растежа, трофиката, дишането, движението и адаптацията към условията на средата. Още от миналото столетие е изтъквана ролята на нервната система и нервната регулация като основна сила в жизнените процеси при стареене. В процеса на стареенето освен централнорегулаторните механизми, значение имат и инкреторните функции на ендокринната система. Различни са становищата, коя от жлезите има водещо значение в процесите на стареене. Несъмнено е значението на хипоталамо-хипофизно-надбъбречна система, половите жлези и тимусът, като главен регулатор на имунната хомеостаза.*

*В монографията са представени нови концепции за молекулните механизми на стареенето. Разгледани са взаимовръзките между стареене и атеросклероза; между артериална хипертония и ендотелна дисфункция. Подробно е описана ролята на оксидативния стрес в процеса на стареенето. Особено място е отделено на физиологичните промени при възрастни и стари хора в отсъствие на болест. Също така са разгледани и специфичните особености в клиничното протичане на някои от най-честите заболявания (виж съдържанието).*

*Монографията е предназначена за студенти по медицина, стоматология и фармация, за лекари и други специалисти с медицинско образование, за научни работници, както и за широк кръг от читатели с интерес към тази тематика.*

3. Atanasova M, **A. Dimitrova**, B. Ruseva, A. Stoyanova, M. Georgieva, E. Konova. Quantification of Elastin, Collagen and Advanced Glycation End Products as Functions of Age and Hypertension. In: **Senescence** (Tetsuji Nagata, ed) InTech, Croatia, 2011; p. 519-530.

### **Summary**

*The book "Senescence" is aimed to describe all the phenomena related to aging and senescence of all forms of life on Earth, i.e. plants, animals and the human beings. The book contains 36 carefully reviewed chapters written by different authors, aiming to describe the aging and senescent changes of living creatures, i.e. plants and animals.*

*We investigated the effects of aging and hypertension on the proteins of extracellular matrix of thoracic aortas in rats. Male and female spontaneously hypertensive (SHR) and Wistar-Kyoto rats (WKR), at 2-, 4- and 8-months of age were used. The elastin content was determined by hot alkali hydrolysis of the aortas. Aortic collagen content was determined by assaying the hydroxyproline present in the alkaline solution. Glycation of purified aortic elastin was tested by direct determination of advanced glycation end products (AGE) formed in vivo. Maillard reaction-related fluorescence was measured as an index of advanced glycation on 360/450 nm excitation/emission. Antibodies against AGEs in the sera of investigated animals were assessed by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using glycated hemocyanin as antigen. The data were present as means  $\pm$  SE, compared with the method of least significant differences (LSD) and analyzed using multifactor analysis (MANOVA).*

*The absolute amount of elastin in the thoracic aorta of SHR at different ages did not differ from the elastin quantity of age- and sex-matched WKR. MANOVA analysis showed no significant correlation between the elastin content of thoracic aorta and the investigated factors "age", "hypertension" and "sex". The total collagen content was increased with the age of the investigated animals, but there was no difference between sex-matched SHR and WKR. MANOVA analysis showed that the collagen content of the thoracic aorta correlated strongly ( $p=0.0019$ ) with the factor "age" of the investigated rats, but did not with other two investigated factors "hypertension" and "sex".*

*The direct measurement of Maillard reaction related fluorescence of obtained aortic  $\alpha$ -elastin was generally found to increase with age in both strains and was significantly higher ( $p<0.001$ ) in SHR than in WKR. MANOVA analysis showed that the factors "age" and "hypertension" were significant for fluorescence of the purified elastin ( $p=0.001$  and  $p=0.0026$ ) but "sex" was not. The serum levels of anti-AGE antibodies (AGEAb) increased with age. The highest levels of AGEAb were found in 8-months-old SHR. We didn't found significant differences in AGEAb levels between SHR and WKY at 2 months of age, but they were significantly increased in 4- and 8-months-old SHR compared to the age-matched WKR.*

*It is known that hypertension and aging are related to the increase of oxidative stress and changes of vessel walls. The investigations of our study supported this fact. SHR and WKR at the three investigated ages didn't differ by the elastin quantity of the thoracic aortas, but there were significant differences in the formation of AGEs between age and strain groups. The obtained data showed increase of collagen content in the thoracic aorta and changed quality of elastin without significant changes of its quantity. The formation of AGEs and serum anti-AGE antibodies concentration strongly increased with age. Aging increased faster in SHR and correlated with hypertension.*

*These findings may give useful information about the most appropriate age to start treatment with antihypertensive and anti-oxidative drugs for improving the state of vessel walls.*

4. Kolev I, L. Ivanova, L. Markova, **A. Dimitrova**, C. Popov, M. Apostolova. Osteoporosis: A Look at the Future. In: **Osteoporosis** (Dr. Yannis Dionyssiotsis, MD, PhD, FEBPRM, ed), InTech, Croatia, 2012; p. 667-692.

### **Summary**

*Osteoporosis is a public health issue worldwide. During the last few years, progress has been made concerning the knowledge of the pathophysiological mechanism of the disease. Sophisticated technologies have added important information in bone mineral density measurements and, additionally, geometrical and mechanical properties of bone. New bone indices have been developed from biochemical and hormonal measurements in order to investigate bone metabolism. Although it is clear that drugs are an essential element of the therapy, beyond medication there are other interventions in the management of the disease. Prevention of osteoporosis starts in young ages and continues during aging in order to prevent fractures associated with impaired quality of life, physical decline, mortality, and high cost for the health system. A number of different specialties are holding the scientific knowledge in osteoporosis. For this reason, we have collected papers from scientific departments all over the world for this book. The book includes up-to-date information about basics of bones, epidemiological data, diagnosis and assessment of osteoporosis, secondary osteoporosis, pediatric issues, prevention and treatment strategies, and research papers from osteoporotic fields.*

5. Участие на матриксните металлопротеинази в патогенезата на артериалната хипертензия, атеросклерозата и остеопорозата. Под редакцията на Анелия Димитрова. ISBN 978-954-756-215-8 Издателство към МУ-Плевен, 2018.

### **Резюме**

*В представения монографичен труд е направено обобщение на най-новите данни от чуждата и българска литература за ролята на матриксните металлопротеинази (MMPs) в патогенетичните механизми на остеопорозата, артериалната хипертензия и атеросклерозата.*

MMPs са цинк-съдържащи ендопептидази, които се характеризират с широка субстратна специфичност. Тяхната първоначална роля се свързва основно с разграждане на екстрацелуларния матрикс (ЕСМ), но този възглед вероятно трябва да бъде преразгледан въз основа на новите проучвания, защото се установи, че MMPs разграждат протеолитично повече нематрични субстрати, отколкото матричните протеини. MMPs участват активно в структурното remodelиране на костта. Проучвания върху експериментални модели на остеопороза демонстрират важността им като ключови ензими в деградацията на ЕСМ и остеокластната костна резорбция при недостиг на естрогени. MMPs се включват в развитието на артериалната хипертензия чрез активиране на съдовото remodelиране. То е адаптивно явление на кръвоносната система към промените в налягането на стените на кръвоносните съдове, т.н. *shear stress*. MMPs и тъканните инхибитори на металопроотеиназите (TIMPs) вземат активно участие в тези промени не само с въздействието си върху екстрацелуларния матрикс, но и в медиране на клетъчната миграция, пролиферацията, стимулиране на производството и секрецията на растежни фактори, и цитокини. Ролята на MMPs в патогенезата на атеросклерозата е свързана основно с разграждане на протеините на *lamina elastica interna* на съда и по този начин улесняване процесите на миграция на гладкомускулните клетки от медията към интимата, където те пролиферират и участват във формирането на атеросклеротичните плаки. MMPs участват не само в ранните етапи на атеросклерозата, но и в прогресията и усложненията ѝ.

Монографията „Участие на матриксните металопроотеинази в патогенезата на остеопорозата, артериалната хипертензия и атеросклерозата” е предназначена както за специалисти от предклиничните дисциплини, като физиолози, патофизиолози и фармаколози, така и за всички студенти и лекари, които искат да придобият по-задълбочени знания за ролята на MMPs в развитието на някои социално-значими заболявания.

### **КНИГИ, УЧЕБНИЦИ, СТУДИИ**

6. **Easy Bulgarian through English** (Учебно помагало за чуждестранни студенти). Издателски център на МУ – Плевен – 2006. Участие: медицински редактор.

## **EASY BULGARIAN**

*The practice book Easy Bulgarian through English is the result of years of teaching experience and is addressed to medical students. The material included in the units is in concord with the program requirements for teaching Bulgarian language to international students.*

*The units in the practice book offer grammar items, defined in simple, working terms that introduce grammar categories.*

*The book is practice-oriented, with pragmatic approach to language learning. After unit 25, Bulgarian grammar terms are gradually introduced.*

*A great number of medical texts cover a variety of topics, and offer examples from scientific literature, fiction and doctor-patient communication. The latter are especially useful to students – language in real-life situations is always more dynamic and ahead of standard literary language and grammar.*

*Easy Bulgarian has proved useful in the process of language integration of international students. The practice book allows for step-by-step learning which can help reduce the tension between written and spoken language. Thus, bed-side communication with patients during the clinical stage of training is facilitated and gives a chance to international students to find their bearings in the complex relationships between theory and practice.*

### **Authors:**

**Mariana Naidova, MA**

**Yanka Tzvetanova, MA**

## **Easy Bulgarian through English A Practice Book for Students of Medical Schools and Colleges**

First edition 2006

Reviewer: Dr. Galina Molhova, MA, PhD

Medical editor: Dr. Anelia Dimitrova, MD

Preprinting: Publishing Center, Medical University - Pleven  
phone/fax: 359/64/804178

E-mail: print\_office@vmi-pl.bg

7. **Тестове по патологична физиология за студенти медици.** Издателски център на МУ – Плевен. 2008. Участие: Д. Страшимиров, А. Димитрова.

### **Резюме**

При съставяне на настоящия „Сборник с тестове по патологична физиология“ авторите са се ръководили от желанието да улеснят студентите в тяхната подготовка. Използването на тестове позволява и бързо получаване на обратна информация за качеството на учебния процес. Тестовите са предназначени за студенти медици и са съобразени с начина по който е представен материала в

последното издание на учебника по патологична физиология, под редакцията на проф. д-р Д. Митков и проф. д-р Р. Лолов през 2000 г.

## **8. Основи на патофизиологията. Учебник по патофизиология за медици.**

Под редакцията на Д. Илчев А. Стойнев. Участие: Патофизиология на кръвната система. Анемии. **Медицинско издателство „Райков”, Пловдив, 2010, стр. 313-323.**

### **Резюме**

*Патофизиологията, поради интердисциплинарния си характер, играе ролята на мост между фундаменталните дисциплини и клиниката. Настоящият учебник е предназначен за студенти от трети курс от специалността медицина. Подготвен е от авторски и редакторски колектив, сформирани с консенсус от преподавателите по патофизиология от медицинските университети в страната. При възлагане на разработката на отделните глави на съответните автори, редакторите на учебника са се ръководели от преподавателския им опит и от специалната им квалификация в различни области на патофизиологията. При редактирането на окончателния текст на учебника стремежът на редакторите е бил от една страна да се съобразяват със съвременните тенденции и постижения в проучването на механизмите на патологичните процеси и заболявания, а от друга – да съхранят индивидуалния подход и стил на изложение на авторите.*

## **9. Патологична физиология. Ръководство за студенти от факултетите по дентална медицина и фармация и от медицинските колежи. Под редакцията на Цв. Цеков. Участие в следните глави: Етиология и патогенеза на треската. Книгоиздателство ЗОГРАФ, Варна, 2011, стр. 215-222.**

### **Резюме**

*Винаги е налице необходимост авторът или редакторът да въведе читателя към основния текст, да насочи вниманието му към това, което би го заинтересувало и да създаде известна нагласа и очаквания към поднесената информация.*

*В своя творчески процес всички участници в написването на тази книга са се ръководили от мисълта, че учебник не се пише за пари, нито за слава, а трябва да бъде написан от душа и сърце, за да предадат в разбираема форма знанията си на тези, които идват след тях!*

*Ръководството е съставено от три части:*

- **Обща част** – съдържа информация за основните въпроси на болестта, както и анализ на взаимоотношенията между околната среда и човешкия организъм. Новото е, че след всеки вид причини от външната и вътрешната средана организма са представени патологични състояния или заболявания, характеризирайки действието им;
- **Типови (типични) патологични процеси** – те се срещат при различни заболявания;
- **Специална патофизиология** – в тази част за първи път са описани заболявания на почти всички органи и системи на човешкия организъм.

Несвързани с дисертацията

10. Dimitrova A, D. Strashimirov, T. Betova, A. Russeva, M. Alexandrova. Zinc content in the diet affects the activity of Cu/ZnSOD, lipid peroxidation and lipid profile of spontaneously hypertensive rats. *Acta Biol Hung* 2008;59(3):305-314. (IF = 0.619; 14 – цитирания)

*Acta Biologica Hungarica* 59 (3), pp. 305–314 (2008)  
DOI: 10.1556/ABiol.59.2008.3.4

ZINC CONTENT IN THE DIET AFFECTS  
THE ACTIVITY OF Cu/ZnSOD,  
LIPID PEROXIDATION AND LIPID PROFILE  
OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

ANELIA A. DIMITROVA,<sup>1\*</sup> D. STRASHIMIROV,<sup>1</sup> TATIANA BETOVA,<sup>2</sup>  
ADELAIDA RUSSEVA<sup>3</sup> and MARGARITA ALEXANDROVA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathophysiology, <sup>2</sup> Department of Pathoanatomy,  
<sup>3</sup> Department of Clinical Laboratory, <sup>4</sup> Department of Biophysics, Medical University, Plevan, Bulgaria

(Received: January 25, 2007; accepted: June 5, 2007)

The present study focused on the effect of Zn containing diets on the activity of superoxide dismutase (Cu/ZnSOD), systolic blood pressure (SBP), lipid peroxides (ROOH) and lipids (LDL, HDL, triglycerides and cholesterol) in male spontaneously hypertensive rats (SHR). Three experimental groups of animals were studied: a control (G1-40 mg), and two with zinc-supplemented diets (G2-100 and G3-160 mg Zn/kg lab chow). The diets were introduced at the beginning of the development of hypertension (2 months after birth) and the animals were fed for 8 weeks. The activity of Cu/ZnSOD in erythrocytes was determined by spectrophotometry with the use of RANSOD kit (RANDOX Laboratories Ltd., UK). Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn and Cu concentrations in the rat's sera. A significantly increased Cu/ZnSOD activity was found in G3 compared with rats fed with control diet G1 ( $p = 0.020$ ). SBP was significantly decreased in G3 in relation to G1 ( $p = 0.0048$ ). The lipid hydroperoxide concentration was significantly decreased in G3 compared with G1 ( $p = 0.016$ ) and G2 ( $p = 0.005$ ). Zinc supplement affected lipids profile by decreasing LDL and increasing HDL. The present data suggest that Zn concentration in the diet plays an important role in the regulation of SBP and can be a critical nutrient for maintenance of anti-oxidative events in SHR.

**Keywords:** Zinc diet – SHR – Cu/ZnSOD – lipid hydroperoxides – systolic blood pressure

INTRODUCTION

Hypertension is associated with greater than normal lipoperoxidation, suggesting that oxidative stress is important in the pathogenesis of this disease. Oxidative stress favours the development of endothelial dysfunction, which results in arterial hypertension and atherosclerosis [15].

\* Corresponding author; e-mail: anelija.dimitrova@gmail.com

0236-5383/8 20.00 © 2008 Akadémiai Kiadó, Budapest

11. Trajkovski B, J. Karadjov, B. Shivachev, **A. Dimitrova**, S. Stavrev, MD. Apostolova. Novel Nanostructured Materials Accelerating Osteogenesis. In: J.P. Reithmaier et al. (eds.), "Nanostructured Materials For Advanced Technological Applications", Springer Science + Business Media B.V. 2009; p.525-532.

## NOVEL NANOSTRUCTURED MATERIALS ACCELERATING OSTEOGENESIS

BRANKO TRAJKOVSKI<sup>1</sup>, JULIAN KARADJOV<sup>2</sup>, BORIS SHIVACHEV<sup>3</sup>, ANELIA DIMITROVA<sup>4</sup>, STAVRI STAVREV<sup>2</sup>, MARGARITA D. APOSTOLOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Medical and Biological Research Lab, Roumen Tzanev Institute of Molecular Biology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

<sup>2</sup>*Institute for Space Research, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

<sup>3</sup>*Central Laboratory of Mineralogy and Crystallography, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

<sup>4</sup>*Department of Biology and Pathophysiology, Medical University Pleven, Bulgaria*

**Abstract.** Osteoporosis is a disease in which the mineral density of bone is reduced, its microarchitecture disrupted, and the expression profile of non-collagenous proteins altered. Normal fracture treatment is a complicated, multistage process, involving different cellular events and regulated by local and systematic factors. The objective of this study was to develop bio-active nanostructured materials, in both acellular and autologous cell-seeded forms to enhance bone fracture fixation and healing through creating highly porous structures which will promote osteogenesis. The approach to develop highly effective hydrogels for counteracting the effects of osteoporosis followed different ways: (a) synthetic and biological polymer chemistry, by using a thermally gelling polymer and nanodiamonds (ultradisperse diamond UDD) (b) experiments with cell models (endothelial progenitor cells EPC). Our investigations demonstrated that *in vitro* EPC transformation to osteoblasts was enhanced in the presence of an osteoprogenitor medium and UDD. These results provided initial evidence that synthetic nanomaterials may exhibit certain properties that are comparable to natural ones, and nanomaterial architecture may serve as superior scaffolding for promoting EPC transformation and biomineralization.

12. Atanasova M, E. Konova, M. Georgieva, **A. Dimitrova**, M. Coccuand, G. Fauri, S. Baydanoff. Age-related changes in elastin turnover of senescence-accelerated mice. *Gerontology* 2010;56:310-318, DOI: 10.1159/000238304. (IF = 2.203; 7-цитирания)

## Age-Related Changes of Anti-Elastin Antibodies in Senescence-Accelerated Mice

Milena Atanasova<sup>a</sup> Emiliana Konova<sup>b</sup> Miglena Georgieva<sup>c</sup> Anelja Dimitrova<sup>d</sup>  
Marion Coquand-Gandit<sup>e</sup> Gilles Faury<sup>e</sup> Stephan Baydanoff<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Biology, <sup>b</sup>Center for Reproductive Health, Medical University of Pleven/University Hospital of Pleven, <sup>c</sup>Center for Clinical Immunology, University of Pleven, <sup>d</sup>Department of Pathophysiology, Medical University of Pleven, Pleven, Bulgaria; <sup>e</sup>Laboratoire de Physiopathologie Vasculaire: Interactions Cellulaires, Signalisation et Vieillesse, Université Joseph Fourier, INSERM EMI U882, CEA, Grenoble, France

### Key Words

Anti-elastin antibodies · Anti-tropoelastin antibodies · Elastin · Senescence-accelerated mice

### Abstract

**Background:** Antibodies recognizing the elastin precursor tropoelastin (ATEAb) or degradation products  $\alpha$ -elastin (AEAb) are found in the serum of healthy human subjects, as a part of a homeostatic mechanism which assembles new or clears altered elastin structures. Serum ATEAb (reflecting elastin synthesis) and AEAb (reflecting elastin destruction) appear to correlate with the production and breakdown of the elastic tissue, respectively. **Objective:** The aim of this study was to investigate plasma levels of AEAb and ATEAb in senescence-accelerated prone (SAMP8) and senescence-accelerated resistant (SAMR1) mice, compared with imprinting control region (ICR) mice in order to evaluate their age-related changes. **Methods:** The levels of AEAb and ATEAb were measured by home-made ELISA in plasma of SAMP8, SAMR1, and ICR mice, grouped according to their age (3 and 9 months) and sex. The specificity of AEAb and ATEAb activity in mouse plasma, and elastin-derived peptides (EDP) in sera

of ICR mice at 3 and 9 months of age were tested by competitive ELISA. **Results:** The specificity of AEAb and ATEAb in mouse plasma was confirmed by the competitive investigations. The levels of AEAb in the plasma of SAMR1 and SAMP8 were increased compared to the levels measured in ICR on the matched ages ( $p < 0.001$ ). Age-related increase of the levels of AEAb and ATEAb was established in the 3 strains ( $p < 0.001$ ). Significantly higher levels of AEAb were established in female 9-month-old mice compared to males in all strains. The ATEAb:AEAb ratio was significantly lower in the SAM compared to the ICR strain. Positive correlation was established between the levels of serum AEAb and EDP in mouse sera of ICR mice. **Conclusion:** Variations with age in the plasma levels of AEAb and ATEAb were established in SAM compared with ICR, and in SAMP8 compared with SAMR1. Our findings suggest that increased anti-elastin IgG autoantibodies could be used as a marker of aging in SAM and possibly contribute to the processes of aging. The absence of a difference between SAMP8 and SAMR1 regarding the ATEAb:AEAb ratio raises the question if SAMR1 are an appropriate control of SAMP8 in terms of the senescence of the elastic tissues.

Copyright © 2009 S. Karger AG, Basel

### KARGER

Fax +41 61 306 12 34  
E-Mail karger@karger.ch  
www.karger.com

© 2009 S. Karger AG, Basel  
0304-324X/10/0563-0310\$26.00/0

Accessible online at:  
www.karger.com/ger

Milena Atanasova  
Department of Biology, Medical University of Pleven/University Hospital of Pleven  
1 ul. Kliment Ohridski  
BG-5800 Pleven (Bulgaria)  
Tel. +359 878 811 063, Fax +359 64 801 603, E-Mail milenaar2001@yahoo.com

13. Terziev L, Shopova V, Dancheva V, Stavreva G, Atanasova M, Stoyanova A, Lukanov T, Dimitrova A. Influence of MnTE-2-PyP on Inflammation and Lipid

## Influence of MnTE-2-PyP on Inflammation and Lipid Peroxidation in Mouse Asthma Model

Lyudmil Terziev<sup>1</sup>, Veneta Shopova<sup>2</sup>, Violeta Dancheva<sup>2</sup>, Galya Stavreva<sup>3</sup>, Milena Atanasova<sup>4</sup>,  
Angelina Stoyanova<sup>5</sup>, Tzvetan Lukanov<sup>1</sup>, Anelia Dimitrova<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Sector of Clinical Immunology and Allergology, Medical University, Plevan, Bulgaria

<sup>2</sup>Sector of Disaster Medicine, Medical University, Plevan, Bulgaria

<sup>3</sup>Sector of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical University, Plevan, Bulgaria

<sup>4</sup>Sector of Biology, Medical University, Plevan, Bulgaria

<sup>5</sup>Sector of Chemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

<sup>6</sup>Sector of Pathophysiology, Medical University, Plevan, Bulgaria

Email: [luterzi@mail.bg](mailto:luterzi@mail.bg)

Received January 13, 2012; revised March 6, 2012; accepted March 15, 2012

### ABSTRACT

Our aim was to investigate the effects of MnTE-2-PyP on some markers of inflammation and lipid peroxidation in mouse asthma model. 24 female mice were divided into four groups: group 1, controls; group 2, injected with ovalbumin (OVA); group 3, treated with MnTE-2-PyP; and group 4, treated with ovalbumin and MnTE-2-PyP. The mice from groups 2 and 4 were injected with 10 µg OVA and 1 mg Imject Alum<sup>®</sup> in 100 µL phosphate buffered saline (PBS) on days 0 and 14. The animals from groups 1 and 3 were injected with 100 µL PBS + Imject Alum<sup>®</sup> (1:1). The animals from groups 2 and 4 were subjected to a 30 min aerosol challenge of 1% ovalbumin on days 24, 25 and 26 and those from groups 1 and 3 were subjected to aerosol challenge of PBS at the same time and duration. One hour before inhalation, and 12 hours later the animals from groups 3 and 4 were injected with 100 µL MnTE-2-PyP solution in PBS containing 5 mg/kg. The total cell number, total protein content and 8-isoprostane, IL-4 and IL-5 levels in the bronchial-veolar lavage fluid increased in group 2 as compared to the control group. Malonaldehyde content in the lung homogenate and IgE levels in the serum also increased in this group. The total cell number, total protein content, and levels of 8-isoprostane, IL-4, IL-5 and IgE decreased significantly in group 4 as compared to the OVA group. The parameters set out above in group 3 did not differ significantly from those of the control group. MnTE-2-PyP administered intraperitoneally, 48 hours after the last nebulization, reduced the inflammation and lipid peroxidation in mouse asthma model.

**Keywords:** Asthma; Inflammation; Interleukins; 8-Isoprostane; Lipid Peroxidation; MnTE-2-PyP

### 1. Introduction

Asthma is a lung disease characterized by airspace inflammation and oxidative stress [1-4]. Elevated levels of reactive oxygen species (ROS), released by inflammatory cells, either directly or through the formation of products of lipid peroxidation, play a role in enhancing the inflammatory response in these diseases. The presence of oxidative stress is important in the pathogenesis, severity and treatment of asthma [5]. Increasing evidence suggests that abnormalities in mitochondria are involved in several mitochondrial diseases, but also in the development of asthma [6,7]. Recently, antioxidants to prevent and to treat mitochondria in patients with mitochondrial diseases, including asthma, has received much attention, especially because antioxidant approaches seem to have few or no adverse effects [8]. Different classes of antioxidants are known. Among them, the group of catalytic

manganese metalloporphyrins takes center stage with their accumulation into mitochondria. They have at least four antioxidant properties, such as removal of superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>), and lipoperoxides [9,10]. Based on this information, we set the goal to investigate the effects of MnTE-2-PyP (Manganese(III) 5, 10, 15, 20-tetrakis (N-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin), a manganese-mesoporphyrin also known as AEOL-10113, on markers of inflammation and lipid peroxidation in a mouse ovalbumin (OVA) sensitization model of asthma [11].

### 2. Materials and Methods

#### 2.1. Chemicals

Ovalbumin, grade V, and phosphate buffered saline (PBS), were purchased from Sigma-Aldrich Company, Nitrocellulose filters with 5 µm pores were from Milli-

14. Ruseva B, R. Ivanova, A. Dimitrova, M. Mollova, K. Tzachev. Influence of varying selenium intake on the remodeling of the aortic wall in young spontaneously hypertensive rats, Official Journal of the Balkan Medical Union – Archives of Balkan Medical Union 2012;47(4):334-338. **SJR – 0.122**

## ORIGINAL PAPER

# INFLUENCE OF VARYING SELENIUM INTAKE ON THE REMODELING OF THE AORTIC WALL IN YOUNG SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

BORYANA RUSEVA<sup>1</sup>, RENI IVANOVA<sup>1</sup>, ANELIYA DIMITROVA<sup>1</sup>, MARGARITA MOLLOVA<sup>2</sup>, K. TZACHEV<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Medical University of Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Institute of Biology and Immunology of Reproduction, BAS, Sofia, Bulgaria

<sup>3</sup>Central Clinical Laboratory of University Hospital "Aleksandrovska", Sofia, Bulgaria

### SUMMARY

The enzyme Glutathione Peroxidase-1 (GPx-1) plays a major role in the control of reactive oxygen species (ROS), which participate in atherogenesis and in the pathogenesis of hypertension. Tissue expression of this enzyme depends on daily selenium (Se) intake. The aim of this study is to determine the influence of different Se intake on the state of aortic wall in young SHR. Twenty seven male SHR 16 weeks old, divided into 3 groups, depending on the selenium content diet received during 8 weeks, were tested: LSe (0,05 µg Se/g of food); NSe (0,11 µg Se/g) – control group, and HSe (0,25 µg Se/g). The significant differences in serum Se concentration, measured by flameless atomic absorption analysis, between groups were determined. Immunofluorescence expression of GPx-1 at aortic wall was influenced proportionally by the different Se intake. Histological examination described severe degenerative changes in aortic wall of rats from group LSe diet, leading to significant thickening of wall in comparison to the other groups. A moderately strong inverse relationship between the serum Se concentration and the thickness of aortic wall was obtained ( $r = -0,56$ ). Systolic blood pressure of rats from LSe group was significantly increased than those of the other groups. Our findings showed that different Se intake significantly affects the state of aortic wall in young SHR. Low GPx-1 expression in aortic wall due to inadequate Se intake caused early developed pathological changes of aortic wall in young SHR and accelerated hypertension.

**Abbreviations:** Se - Selenium, SHR - Spontaneously hypertensive rats, GPx-1 - Glutathione peroxidase 1, ROS - Reactive oxygen species, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Hydrogen peroxide, SBP - Systolic blood pressure

**Key words:** selenium, SHR, aortic wall, GPx-1 expression

### RÉSUMÉ

*L'influence de l'apport de sélénium différente sur l'état de la paroi aortique chez les jeunes rats spontanément hypertendus*

L'enzyme glutathion peroxydase-1 (GPx-1) joue un rôle majeur dans le contrôle des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui participent dans l'athérogenèse et dans la pathogenèse de l'hypertension. L'expression tissulaire de cette enzyme dépend de la diète quotidienne du sélénium (Se). Le but de cette étude est de déterminer l'influence de l'apport de Se différente sur l'état de la paroi aortique chez les jeunes SHR. Vingt-sept hommes SHR à l'âge de 16 semaines, divisés par 3 groupes, en fonction de l'alimentation de sélénium pendant 8 semaines, ont été testés: LSe (0,05 µg Se / g d'aliment); NSe (0,11 µg Se / g) groupe de contrôle, et HSe (0,25 µg Se / g). Les différences significatives dans la concentration sérique Se, mesurée par analyse par absorption atomique sans flamme, entre les groupes ont été déterminées. L'expression par immunofluorescence de la GPx-1 à la paroi aortique a été influencée par l'apport proportionnellement différent de Se. L'examen histologique décrit de graves changements dégénératifs dans la paroi aortique de rats du groupe LSe alimentation, conduisant à un épaississement important de la paroi en comparaison aux autres groupes. Une relation modérément forte inverse entre la concentration sérique de Se et de l'épaisseur de paroi aortique a été obtenue ( $r = -0,56$ ). La pression artérielle systolique des rats de LSe groupe a été significativement augmentée que ceux des autres groupes. Nos résultats ont montré que la différence consommation de Se affecte de manière significative l'état de la paroi aortique chez les jeunes SHR. Faible GPx-1 expression dans la paroi aortique due à un apport insuffisant de Se cause des changements pathologiques de la paroi aortique chez les jeunes SHR et une hypertension accélérée.

**Mots clés:** sélénium, SHR, paroi aortique, GPx-1 expression

Correspondence address:

Boryana Ruseva, MD, PhD, assistant professor  
Department of Physiology, Medical University of Pleven 1, "St. Kliment Ohridski" Street, 5800  
Pleven, Bulgaria  
E-mail: ruseva.bk@mail.bg, Tel.: +359 887364704

15. Valcheva-Kuzmanova S, G. Stavreva, V. Dancheva, L. Terziev, M. Atanasova, A. Stoyanova, A. Dimitrova, V. Shopova. Effect of Aronia melanocarpa Fruit Juice on Amiodarone-induced Pneumotoxicity in Rats. Pharmacognosy Magazine 2014;10(38):132-140. (IF=1,256; 2014 - 5 цитирания)

## Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on amiodarone-induced pneumotoxicity in rats

Stefka Valcheva-Kuzmanova, Galya Stavreva<sup>1</sup>, Violeta Dancheva<sup>2</sup>, Ljudmil Terziev<sup>3</sup>, Milena Atanasova<sup>4</sup>, Angelina Stoyanova<sup>5</sup>, Anelia Dimitrova<sup>6</sup>, Veneta Shopova<sup>2</sup>

Department of Preclinical and Clinical Pharmacology and Toxicology, Medical University, Varna, <sup>1</sup>Department of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical University, Pleven, <sup>2</sup>Department of Disaster Medicine, Medical University, Pleven, <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, Clinic of Allergology, University Hospital, Pleven, <sup>4</sup>Departments of Biology, <sup>5</sup>Chemistry, and <sup>6</sup>Physiology and Pathophysiology, Medical University, Pleven, Bulgaria

Submitted: 08-11-2012

Revised: 19-12-2012

Published: \*\*\*\*

### ABSTRACT

**Background:** The fruits of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot is extremely rich in biologically active polyphenols. **Objective:** We studied the protective effect of *A. melanocarpa* fruit juice (AMFJ) in a model of amiodarone (AD)-induced pneumotoxicity in rats. **Materials and Methods:** AD was instilled intratracheally on days 0 and 2 (6.25 mg/kg). AMFJ (5 mL/kg and 10 mL/kg) was given orally from day 1 to days 2, 4, 9, and 10 to rats, which were sacrificed respectively on days 3, 5, 10, and 28 when biochemical, cytological, and immunological assays were performed. **Results:** AMFJ antagonized AD-induced increase of the lung weight coefficient. In bronchoalveolar lavage fluid, AD increased significantly the protein content, total cell count, polymorphonuclear cells, lymphocytes and the activity of lactate dehydrogenase, acid phosphatase and alkaline phosphatase on days 3 and 5. In AMFJ-treated rats these indices of direct toxic damage did not differ significantly from the control values. In lung tissue, AD induced oxidative stress measured by malondialdehyde content and fibrosis assessed by the hydroxyproline level. AMFJ prevented these effects of AD. In rat serum, AD caused a significant elevation of interleukin IL-6 on days 3 and 5, and a decrease of IL-10 on day 3. In AMFJ-treated rats, these indices of inflammation had values that did not differ significantly from the control ones. **Conclusion:** AMFJ could have a protective effect against AD-induced pulmonary toxicity as evidenced by the reduced signs of AD-induced direct toxic damage, oxidative stress, inflammation, and fibrosis.

**Key words:** *Aronia melanocarpa*, amiodarone, pneumotoxicity, rats

### Access this article online

Website:  
www.phcog.com

DOI:  
10.4103/0973-1296.131024

Quick Response Code:



### INTRODUCTION

Amiodarone (AD), an iodine-containing highly lipophilic benzofuran derivative, is a very effective class III, long-acting antiarrhythmic drug. It causes acute pneumonitis resulting in fatal pulmonary fibrosis.<sup>[1]</sup> *In vivo* and *in vitro* studies have shown that AD is directly toxic to lung cells<sup>[2]</sup> such as alveolar macrophages,<sup>[3]</sup> alveolar epithelial cells<sup>[4]</sup> and pulmonary artery endothelial cells.<sup>[5]</sup> AD and its primary metabolite N-desethylamiodarone have been demonstrated to cause apoptosis and necrosis in cultured alveolar type II cells.<sup>[4]</sup> AD-induced pulmonary injury could include disruption of mitochondrial function and cellular adenosine triphosphate (ATP) levels,<sup>[6]</sup> enhanced oxidative stress and increased

production of reactive oxygen species,<sup>[7,8]</sup> activation of alveolar macrophages and cytokine release.<sup>[9-11]</sup>

*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot (black chokeberry) originates from the eastern parts of North America and East Canada. Its migration to Europe and the former Soviet Union occurred around 1900. *Aronia* is commonly used to produce fruit syrup, juice, jellies, tea, and wine. Chokeberry fruits are extremely rich in phenolic compounds: Procyanidins, flavonoids (mainly from the subclass of anthocyanins) and phenolic acids.<sup>[12]</sup> A series of studies has investigated the antioxidant properties of *Aronia* juice, *Aronia* extract or its phenolic constituents using different well-established assays.<sup>[12-18]</sup> Fresh *Aronia* berries possess the highest antioxidant capacity among berries and other fruits investigated so far as measured with oxygen radical absorbance capacity.<sup>[13,15]</sup> Studies have demonstrated that flavonoids including anthocyanins possess anti-inflammatory activity due to the suppression

### Address for correspondence:

Prof. Stefka Valcheva-Kuzmanova, Department of Preclinical and Clinical Pharmacology and Toxicology, Medical University, 55, Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria.  
E-mail: stefkavk@yahoo.com

16. Birdanova V, M. Stoyanova, P. Jordanova-Laleva, A. Dimitrova, V. Duleva, K. Lisaeva. Folate intake and folate serum levels in university female medical students. In: A current perspective on health sciences (Ed by prof Aysegul Y. Kartanoglu), 2014; p.672-682. Iași: Rotiro ISBN 978-606-8552-05-7.

## **FOLATE INTAKE AND FOLATE SERUM LEVELS IN UNIVERSITY FEMALE MEDICAL STUDENTS**

**V. Birdanova<sup>1</sup>, M. Stoynovska<sup>1</sup>, P. Jordanova-Laleva<sup>2</sup>, A. Dimitrova<sup>3</sup>,**

**V. Duleva<sup>4</sup>, K. Lisaeva<sup>5</sup>**

Corresponding author: d-r V. Birdanova, MD; 1, Sv. Kl. Ohridski Str.; Department of Hygiene, Medical Ecology, Occupational Diseases and Disaster Medicine, Medical University-Pleven, Bulgaria; e-mail: vania62gmail.com; tel. +359 64 884 192

The study was presented at the 1<sup>st</sup> International Balkan Congress on Health Sciences, 14-16 May 2014, Edime, Turkey.

---

<sup>1</sup> Department of Hygiene, Medical Ecology, Occupational Diseases and Disaster Medicine, Medical University Pleven

<sup>2</sup> Department of Clinical Laboratory, University Hospital, Pleven

<sup>3</sup> Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University, Pleven

<sup>4</sup> Department of Public Health Nutrition, National Centre of Public Health Protection and Analyses, Sofia

<sup>5</sup> Medical college, Pleven

17. Ruseva B, M. Atanasova, R. Tsvetkova, T. Betova, M. Mollova, M. Alexandrova, P. Laleva, A. Dimitrova. Effect of Selenium Supplementation on Redox Status of the Aortic Wall in Young Spontaneously Hypertensive Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; Article ID 609053, 10 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/609053> (IF=4,492, 2015; 5 – цитирания)

Hindawi Publishing Corporation  
Oxidative Medicine and Cellular Longevity  
Article ID 609053



## Research Article

# Effect of Selenium Supplementation on Redox Status of the Aortic Wall in Young Spontaneously Hypertensive Rats

Boryana Ruseva,<sup>1</sup> Milena Atanasova,<sup>2</sup> Reni Tsvetkova,<sup>3</sup> Tatyana Betova,<sup>3</sup> Margarita Mollova,<sup>4</sup> Margarita Alexandrova,<sup>5</sup> Pavlina Laleva,<sup>6</sup> and Aneliya Dimitrova<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Medical University, 1 Kliment Ohridski, 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Biology, Medical University, 1 Kliment Ohridski, 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Common and Clinical Pathology, Medical University, 1 Kliment Ohridski, 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup>Institute of Biology and Immunology of Reproduction, Bulgarian Academy of Sciences, 73 Tsarigradsko Shose, 1113 Sofia, Bulgaria

<sup>5</sup>Department of Biophysics, Medical University, 1 Kliment Ohridski, 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>6</sup>Central Clinical Laboratory of University Hospital, 8 Georgi Kochev, 5800 Pleven, Bulgaria

<sup>7</sup>Department of Pathological Physiology, Medical University, 1 Kliment Ohridski, 5800 Pleven, Bulgaria

Correspondence should be addressed to Boryana Ruseva; ruseva.bk@mail.bg

Received 18 December 2014; Revised 23 February 2015; Accepted 10 March 2015

Academic Editor: Xinchun Pi

Copyright © 2015 Boryana Ruseva et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Selenium (Se) is an exogenous antioxidant that performs its function via the expression of selenoproteins. The aim of this study was to explore the effect of varying Se intake on the redox status of the aortic wall in young spontaneously hypertensive rats (SHR). Sixteen male Wistar Kyoto (WKY) rats and nineteen male SHR, 16-week-old, were tested after being given diets with different Se content for eight weeks. They were divided into 4 groups: control groups of WKY NSe and SHR NSe on an adequate Se diet and groups of WKY HSe and SHR HSe that received Se supplementation. The Se nutritional status was assessed by measuring whole blood glutathione peroxidase-1 (GPx-1) activity. Serum concentration of lipid hydroperoxides and serum level of antibodies against advanced glycation end products (anti-AGEs abs) were determined. Expression of GPx-1 and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) were examined in aortic wall. Se supplementation significantly increased GPx-1 activity of whole blood and in the aortas of WKY and SHR. Decreased lipid peroxidation level, eNOS-3 expression in the aortic wall, and serum level of anti-AGEs abs were found in SHR HSe compared with SHR NSe. In conclusion, Se supplementation improved the redox status of the aortic wall in young SHR.

## 1. Introduction

Recent years have witnessed an increased interest in the role of free radical processes in physiology and pathophysiology of the organism. A greater understanding of the mechanisms of production and elimination of reactive oxygen species (ROS) and identification of factors that control or modulate them may help develop relevant strategies for prevention and treatment of ROS-mediated disease states.

Many scientists have been considering the possibility of modulating the progression of hypertension by using antihypertensive drugs and diets within the specific life stages when the organism is most sensitive to endogenous and exogenous factors. Genetically determined hypertension

of spontaneously hypertensive rats (SHR) could be used as a model for investigations of the period of life when temporary treatment with adequate drugs or diets may prevent a cardiovascular system from developing pathological changes. Prepubertal and pubertal periods (the age between 4th and 10th weeks of life) are the appropriate periods for the short treatment of SHR by antihypertensive drugs and diets, because at this time intervention is able to have a long-term effect on the development of the cardiovascular system and on the reorganization of hemodynamics [1].

The endothelium is a dynamic structure that has a main importance for maintenance of normal function of cardiovascular system, because of release of vasoactive substances. It is evaluated that abnormal redox state of an arterial wall

18. Kostov K, A. Blazhev, M. Atanasova, A. Dimitrova. Serum Concentrations of Endothelin-1 and Matrix Metalloproteinases-2, -9 in Pre-Hypertensive and Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes. *International Journal of Molecular*

Article

## Serum Concentrations of Endothelin-1 and Matrix Metalloproteinases-2, -9 in Pre-Hypertensive and Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes

Krasimir Kostov <sup>1,\*</sup>, Alexander Blazhev <sup>2</sup>, Milena Atanasova <sup>2</sup> and Anelia Dimitrova <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University-Pleven, 1 Kliment Ohridski Str., 5800 Pleven, Bulgaria; anelija.dimitrova@gmail.com

<sup>2</sup> Division of Biology, Medical University-Pleven, 1 Kliment Ohridski Str., 5800 Pleven, Bulgaria; yalishanda9@gmail.com (A.B.); milenaar2001@yahoo.com (M.A.)

\* Correspondence: dr.krasi\_kostov@abv.bg; Tel.: +359-889-257-459

Academic Editor: William Chi-shing Cho

Received: 1 June 2016; Accepted: 13 July 2016; Published: 1 August 2016

**Abstract:** Endothelin-1 (ET-1) is one of the most potent vasoconstrictors known to date. While its plasma or serum concentrations are elevated in some forms of experimental and human hypertension, this is not a consistent finding in all forms of hypertension. Matrix metalloproteinases -2 and -9 (MMP-2 and MMP-9), which degrade collagen type IV of the vascular basement membrane, are responsible for vascular remodeling, inflammation, and atherosclerotic complications, including in type 2 diabetes (T2D). In our study, we compared concentrations of ET-1, MMP-2, and MMP-9 in pre-hypertensive (PHTN) and hypertensive (HTN) T2D patients with those of healthy normotensive controls (N). ET-1, MMP-2, and MMP-9 were measured by ELISA. Concentrations of ET-1 in PHTN and N were very similar, while those in HTN were significantly higher. Concentrations of MMP-2 and MMP-9 in PHTN and HTN were also significantly higher compared to N. An interesting result in our study is that concentrations of MMP-2 and MMP-9 in HTN were lower compared to PHTN. In conclusion, we showed that increased production of ET-1 in patients with T2D can lead to long-lasting increases in blood pressure (BP) and clinical manifestation of hypertension. We also demonstrated that increased levels of MMP-2 and MMP-9 in pre-hypertensive and hypertensive patients with T2D mainly reflect the early vascular changes in extracellular matrix (ECM) turnover.

**Keywords:** pre-hypertension; type 2 diabetes; endothelin-1; matrix metalloproteinases-2; matrix metalloproteinases-9; vascular remodeling

### 1. Introduction

Endothelin-1 is one of the most potent vasoconstrictors known in humans to date [1]. Although, different types of cells, including cardiac myocytes, vascular smooth muscle cells (VSMCs), fibroblasts, or epithelial cells are able to synthesize and release ET-1, the most important biological source is the vascular endothelium [2]. ET-1 is secreted primarily from the endothelial cells and influenced of the underlying VSMCs. Considering that approximately 80% of the total amount of ET-1 synthesized by endothelial cells is released toward the basolateral side of cells, tissue levels are higher than plasma levels. Thus, ET-1 acts primarily as a paracrine/autocrine peptide, and not as a circulating hormone [3]. Except through impact on vascular tone, ET-1 is involved in the complex regulation of BP through effects on renal hemodynamics and water-salt balance, influence on adrenal aldosterone, and catecholamine production, it also participates in the central and baroreceptor regulation and has positive inotropic effects on the heart [4]. In addition, ET-1 potentiates the action of other vasoconstrictors, such as angiotensin II (Ang II), phenylephrine, and serotonin [5].

19. Bekyarova G, M. Atanasova, M. Tzaneva, A. Dimitrova. Melatonin modulates inflammatory response and suppresses burn-induced apoptotic injury. Journal of Mind and Medical Sciences 2017; 4(1):59-66. 1 – цитиране

*Research Article*

## **Melatonin modulates inflammatory response and suppresses burn-induced apoptotic injury**

Ganka Bekyarova<sup>1</sup>, Milena Atanasova<sup>2</sup>, Maria Tzaneva<sup>3</sup>, Anelia Dimitrova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical University-Varna, Department of Pathophysiology, Bulgaria

<sup>2</sup>Medical University- Pleven, Department of Biology, Bulgaria

<sup>3</sup>Medical University-Varna, Department of General and Clinical Pathology, Bulgaria

### **Abstract**

**Introduction:** Melatonin, the principal secretory product of the pineal gland, has antioxidant functions as a potent antioxidant and free radical scavenger. **Objectives** of the present study were to investigate the effect of melatonin against inflammatory response, burn-induced oxidative damage and apoptotic changes of rat liver. **Methods:** Melatonin (10 mg /kg, i.p.) was applied immediately after 30% of total body surface area (TBSA) burns on male Wistar rats. The level of malondialdehyde (MDA) as a marker of an oxidative stress was quantified by thiobarbituric method. Hepatic TNF $\alpha$  and IL-10 as inflammatory markers were assayed by ELISA. Using light immunohistochemistry the expression Ki67 proliferative marker was investigated. **Results:** Hepatic MDA and TNF- $\alpha$  levels increased significantly following burns without any change in IL-10 level. Intracellular vacuolization, hepatic cell degeneration and apoptosis occurred in rats after burns. The number of apoptotic cells was increased whereas no significant increase in Ki67 proliferative marker. Melatonin decreased the MDA and TNF- $\alpha$  content and increased the IL-10 level. It also limited the degenerative changes and formation of apoptotic cells in rat liver but did not increase expression of the marker of proliferation. **In conclusion,** our data show that melatonin relieves burn-induced hepatic damage associated with modulation of the proinflammatory/anti-inflammatory balance, mitigation of lipid peroxidation and hepatic apoptosis.

**Keywords:** melatonin, cytokines, lipid peroxidation, apoptosis, liver, burn



Correspondence should be addressed to: Ganka Bekyarova; e-mail: [ganka.bekyarova@gmail.com](mailto:ganka.bekyarova@gmail.com)

20. Grigoryan A, **A. Dimitrova**, K. Kostov, A. Ruseva, M. Atanasova, A. Blazhev, T. Betova. Serum concentrations of metalloproteinases -9, -13 and TIMP-1 in an ovariectomized wistar rat model of osteoporosis. Archives of the Balkan Medical Union. 2017; 52(4): 391-396. (**SJR – 0.105, 2016**)

ORIGINAL STUDY

## SERUM CONCENTRATIONS OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9, -13 AND TIMP-1 IN AN OVARECTOMIZED WISTAR RAT MODEL OF OSTEOPOROSIS

Armine V. Grigoryan<sup>1</sup>, Anella A. Dimitrova<sup>1</sup>, Krasimir G. Kostov<sup>1</sup>, Adelaida L. Ruseva<sup>2</sup>, Milena A. Atanasova<sup>3</sup>, Alexander B. Blazhev<sup>3</sup>, Tatyana M. Betova<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University – Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup> Department of Clinical Laboratory, Medical University – Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup> Department of Biology, Medical University – Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup> Department of Pathoanatomy, Medical University – Pleven, Bulgaria

### ABSTRACT

**Introduction.** Osteoporosis is a disease characterized by decreased bone density and destruction of the microarchitectonics of the bone structure. This leads to increased bone fragility and risk of fracture particularly of the hip, spine, wrist and shoulder. Osteoporosis is known as „The Silent Epidemic of the Century” because bone loss occurs without symptoms. Altered ovarian function is one of the most common causes of osteoporosis. Indicators for altered bone homeostasis are the changes in serum levels of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs).

**Objective.** The aim of current study was to determine the activity of alkaline phosphatase (ALP) and serum concentrations of MMP-9, MMP-13 and TIMP-1 in the ovariectomized rats.

**Materials and Methods.** An experiment was performed on 35 female Wistar rats at reproductive age – 2 months divided into 2 groups: group 1 (G1)-20 animals were sham-operated (sham) and group 2 (G2)-15 were ovariectomized (ovx).

### RÉSUMÉ

Concentrations du sérum des métalloprotéinases matricielles-9, -13 et TIMP-1 dans un modèle d'ostéoporose à déficit ostrogénique d'un rat Wistar femelle

**Introduction.** L'ostéoporose est une maladie caractérisée par une diminution de la densité de la masse osseuse et la destruction de la micro-architecture de la structure osseuse. Cela conduit à une fragilité osseuse accrue et à un risque de fracture, en particulier de la hanche, de la colonne vertébrale, du poignet et de l'épaule. L'ostéoporose est connue comme «l'épidémie silencieuse du siècle» parce que la perte osseuse se produit sans symptômes. L'altération de la fonction ovarienne est l'une des causes les plus fréquentes de l'ostéoporose. Les indicateurs de l'altération de l'homéostasie osseuse sont les changements dans les taux sériques des métalloprotéinases matricielles (MMPs) et de leurs inhibiteurs tissulaires (TIMPs).

**Objectifs.** Le but de cette étude était de déterminer l'activité de la phosphatase alcaline (ALP) et

Corresponding author:

Armine Grigoryan  
Department of „Physiology and Pathophysiology”, Medical University-Pleven  
„Kliment Ohridski” Str., № 1, 5800 Pleven, Bulgaria  
e-mail: armine14@abv.bg; phone: 0886-31-90-33

## ПУБЛИКАЦИИ В БЪЛГАРСКИ ПЕРИОДИЧНИ СПИСАНИЯ

### Свързани с 1-та дисертация

21. **Димитрова А.** Участие на цинка в патогенезата на артериалната хипертензия. Сборник от научна конференция с международно участие. Ст. Загора 2004;(4):164-170.

## УЧАСТИЕТО НА ЦИНКА В ПАТОГЕНЕЗАТА НА АРТЕРИАЛНАТА ХИПЕРТЕНЗИЯ

Анелия Димитрова

Катедра "Обща биология и патофизиология"

Висш Медицински Институт, 5800 Плевен

## ZN CONTRIBUTION TO THE PATHOGENESIS OF ARTERIAL HYPERTENSION

Anelia Dimitrova

Higher Institute of Medicine - Pleven, Department of Biology and

Pathophysiology, 1 Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

### ABSTRACT:

The oxidative balance of organism is closely related to the nutritional uptake of trace elements. Zn plays an important role in prooxidant/antioxidant homeostasis as a cofactor of some enzymes of the antioxidant defence mechanism as well as a transition metal ion and free radical.

The change in Cu/ZnSOD activity is one of the possible pathogenetic mechanisms connecting Zn level with arterial hypertension. Zn-containing aminopeptidases in brain have an important role, since they regulate the activity of brain renine-angiotensin system and participate in the control of arterial hypertension.

Zn deficit of plasma has an effect on the Zn status of endothelium and may be considered as a risk factor for the development of hypertension and atherosclerosis.

**Key words:** zinc, arterial hypertension, Cu/ZnSOD, aminopeptidases, NOS

Цинкът е кофактор на много ензими (Cu/ZnSOD, eNOS, аминопептидаза А и аминопептидаза N), които активно участват в патогенезата на артериалната хипертензия. Дефицитът на Zn в плазмата влияе върху цинковия статус на ендотела и може да бъде рисков фактор в развитието на хипертензия и атеросклероза (Beattie J.H., 2004).

При артериална хипертензия е повишено образуването на реактивни форми на кислорода (ROS). С най-голямо значение за съдовата стена са следните източници на ROS: NADH/NADPH оксидаза, ксантиноксидаза и ендотелната азотнокисла синтаза (eNOS) (Hua Cai, 2000).

NADH/NADPH оксидаза

Счита се, че най-големият източник на супероксидния анион ( $O_2^-$ ) в ендотелните клетки и гладкомускулните клетки (ГМК) на съдовата стена е NADH/NADPH оксидазата (Hua Cai, 2000). Активността на този ензим се регулира от цитокини и хормони (Griendling K.K., 2000). NADH/NADPH оксидазата играе основна роля в хипертензията предизвикана от ангиотензин II. В култура от гладко мускулни клетки на съдовата стена при плъхове ангиотензин II увеличава продукцията на супероксиден анион чрез повишаване активността на NADH/NADPH оксидазата (Griendling K.K., 1994). NADH - стимулираната продукция на супероксиден анион е значително увеличена при спонтанно хипертензивни плъхове (SHR) (Zalba G., 2000).

22. **Димитрова А, Д. Страшимиров, А. Русева, Е. Лакова.** Липидни показатели при WKY плъхове на диета с различно съдържание на цинк. Известия на съюза на учените. Варна 2003/2004;(2/1):28-31.

## ЛИПИДНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ПЛЪХОВЕ WISTAR НА ДИЕТА С РАЗЛИЧНО СЪДЪРЖАНИЕ НА ЦИНК

Гл. ас. д-р Димитрова А., доц. д-р Д. Страшимиров дм,  
гл.ас. д-р А. Русева дм, гл.ас. д-р Е.Лакова дм

**Keywords:** zinc diet, Wistar rats, serum total cholesterol, HDL- cholesterol, LDL- cholesterol and triglyceride

Целта на настоящето проучване е да се проследи влиянието на цинка върху липидните показатели (LDL, HDL, триглицериди и холестерол) при мъжки плъхове порода Wistar.

### Материали и методи

Изследването е проведено на 53 мъжки плъха порода Wistar. Животните са разделени на три групи, които са на диета с различно съдържание на цинк. Първа група (Г1, n=18) е на диета с Zn (52 mg/kg диета), втора група - контролна (Г2, n=18) на диета с Zn (155 mg/kg диета) и трета група (Г3, n=17) с цинкова суплементация (236 mg/kg диета). HDL, триглицеридите и холестеролът са измервани в серум с китове на френската фирма ABX, а LDL са изчислени по формула.

### Резултати

Установи се статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) повишаване на LDL при Г3 ( $1,52 \pm 0,21$ ) спрямо Г1 ( $1,09 \pm 0,27$ ). Холестеролът има тенденция към повишаване в групата със цинкова суплементация (Г3) спрямо Г2 и Г1. Триглицеридите статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) се повишават в Г1 ( $1,19 \pm 0,22$ ) спрямо Г3 ( $0,75 \pm 0,17$ ). HDL са най-ниски в контролната група и имат тенденция към повишаване в Г1 и Г3.

### Изводи

Тези резултати показват, че различното съдържание на цинк в диетата повлиява липидните показатели, като

### Effects of zinc diet on lipids profile in male wistar rats

Dimitrova A., D. Strashimirov, A. Ruseva, E. Lakova

The aim of this study was to determine the effect of zinc on the lipids profile in serum (serum total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and triglyceride in 53 male Wistar rats. Three groups of male Wistar rats were treated for 8 weeks with Zn diet with different zinc content. Results: The concentration of LDL-cholesterol was significantly increased ( $p < 0,05$ ) in rats fed a zinc diet 3 ( $1,52 \pm 0,39$  mmol/l) compared to rats fed a zinc diet 1 ( $1,09 \pm 0,55$  mmol/l). The concentration of triglyceride was significantly decreased ( $p < 0,05$ ) in rats treated with Zn diet 3 ( $0,75 \pm 0,33$ ) compared to rats fed a zinc diet 1 ( $1,19 \pm 0,46$ ). The different zinc content in the diet affects lipids concentration because zinc supplementation leads to increased LDL cholesterol and decreased triglyceride in Wistar rats.

цинковата суплементация води до повишаване на LDL и намаляване на триглицеридите в серума на мъжки Wistar плъхове.

Цинкът като кофактор на много ензими има каталитична, структурна и регулаторна роля. Той влиза в състава на едни от най-важните антиоксидантни ензими (Cu/Zn SOD), които играят значителна роля в защитата от оксидативен стрес [1] [2] [5].

23. **Dimitrova A.**, D. Strashimirov, A. Russeva, P. Andreeva-Gateva, E. Lakova, K. Tzachev. Effect of zinc on the activity of Cu/Zn superoxide dismutase and lipid profile in Wistar rats. Folia medica 2005;(1):42-46. (**SJR – 0.119; 7 – цитирания**)

## Experimental Investigations

### EFFECT OF ZINC ON THE ACTIVITY OF CU/ZN SUPEROXIDE DISMUTASE AND LIPID PROFILE IN WISTAR RATS

Anelia A. Dimitrova, Denko S. Strashimirov, Adelaida L. Russeva<sup>1</sup>, Pavlina A. Andreeva-Gateva<sup>2</sup>, Emilia T. Lakova, Kamen N. Tzachev<sup>3</sup>

*Department of General Biology and Pathophysiology, Medical University-Pleven, <sup>1</sup>Central Clinical Laboratory, University Hospital-Pleven, <sup>2</sup>Department of Pharmacology, <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, Medical University-Sofia, Bulgaria*

#### ABSTRACT

**AIM:** The aim of the present study was to analyze the effect of zinc on the activity of Cu/ZnSOD, lipid profile and arterial blood pressure in male Wistar rats.

**MATERIAL AND METHODS:** The study included 53 male Wistar rats with basal weight 190-210 g. The animals were divided into three groups and put on diets with different zinc content. Group I animals (G1, n = 18) were on a diet with zinc content 52 mg/kg, group II animals (G2, n = 18) were on a diet with zinc content 155 mg/kg corresponding to standard food and group III animals (G3, n = 17) received zinc supplementation (236 mg/kg diet). The activity of Cu/ZnSOD was measured in erythrocytes with RANSOD reactive (RANDOX). Zinc content in the laboratory chow and serum concentration of zinc and copper were analyzed by direct flame atomic-absorption spectrophotometry. Lipid profile was determined with reactivities of ABX (France). Arterial blood pressure was measured on the rat's tail by an indirect method without anesthesia.

**RESULTS:** Statistically significant decrease ( $p < 0.05$ ) was found in the activity of Cu/ZnSOD in G1 animals ( $1993.51 \pm 303.01$ ) compared with G2 animals ( $2307.07 \pm 240.23$ ). There was a statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) of serum LDL in G3 ( $1.52 \pm 0.21$ ) compared with G1 animals ( $1.09 \pm 0.27$ ) and statistically significant increase in the serum triglycerides in G1 animals ( $1.19 \pm 0.22$ ) compared with G3 animals ( $0.75 \pm 0.17$ ).

**CONCLUSIONS:** The results indicate that the activity of Cu/ZnSOD changes in relation to zinc diet and this correlates with the change in the arterial blood pressure. Lipid variables also are influenced and zinc supplementation leads to increase in the serum LDL and decrease in the serum triglycerides in Wistar rats.

**Key words:** zinc, Wistar rats, Cu/ZnSOD, arterial blood pressure, lipid profile

#### INTRODUCTION

Zinc is a microelement with essential role in the regulation, structure and catalytic activity of more than 300 enzymes<sup>1</sup>. It has antioxidant properties associated with stabilization of biomembranes, which makes them resistant to oxidative stress<sup>2</sup>. Zinc participates in the structure of one of the most important antioxidant enzymes – copper-zinc superoxide dismutase (Cu/ZnSOD), which has an essential role in the defence against superoxide anions<sup>3-5</sup>. Superoxide anion plays a crucial role in the arterial hypertension as it increases oxidative stress. Oxidative

stress is conducive to development of endothelial dysfunction, which results in arterial hypertension and atherosclerosis<sup>6,7</sup>.

Zinc deficiency aggravates arterial blood pressure in SHR rats by decreasing Cu/ZnSOD activity and increases lipid peroxidase, which links hypercholesterolemia and atherosclerosis<sup>8,9</sup>.

Changes in serum zinc concentrations have been demonstrated to affect Cu/Zn SOD activity and level of cholesterol (Chol), triglycerides (Tg), HDL, LDL<sup>10,11</sup>. High serum level of cholesterol, triglycerides and LDL and dose-dependent low HDL level is established in zinc defi-

*Correspondence and reprint request to: A. Dimitrova, Department of general biology and pathophysiology, Medical University-Pleven, 1 Kl. Ohridski blvd. 5800 Pleven, Bulgaria  
Received 9 February 2005; Accepted for publication 13 April 2005*

24. **Димитрова А, Д. Страшимиров.** Ролята на ендотелините в патогенезата на артериалната хипертензия. Сборник от научна конференция с международно участие. Стара Загора 2005;(4):186-191.

РОЛЯТА НА ЕНДОТЕЛИНИТЕ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА  
АРТЕРИАЛНАТА ХИПЕРТЕНЗИЯ

Анелия Димитрова, Денко Страшимиров

Катедра "Обща биология и патофизиология"

Медицински Университет, 5800 Плевен, България

ROLE OF ENDOTHELINS IN THE PATHOGENESIS OF  
ARTERIAL HYPERTENSION

Anelia Dimitrova, Denko Strashimirov

Medical University - Plevan, Department of Biology and Pathophysiology/  
Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

ABSTRACT

The endothelin peptide family consists of the 21 amino acid isoforms endothelin-1, endothelin-2, endothelin-3. There are at least two types of ET receptor, designated ET-A and ET-B that mediate potent vasoconstrictive and mild vasodilative effects. Endothelins appear to be involved in pathogenesis of salt-dependent and renovascular animal models of experimental hypertension. Although endothelins appear to contribute to basal vascular tone, the role of endothelins in the pathophysiology of human hypertension remains unclear. Endothelins are positively inotropic peptides in cardiac myocyte. They have also been demonstrated to induce hypertrophy of cardiac myocyte and may play an important role in ventricular processes that lead to chronic cardiac failure.

*Key words:* endothelin-1, endothelin-2, endothelin-3, arterial hypertension, endothelin receptors

Ендотелините (ЕТ) са пептиди изградени от 21 аминокиселини. При бозайниците и човека са открити три техни форми: ендотелин-1 (ЕТ-1), ендотелин-2 (ЕТ-2) и ендотелин-3 (ЕТ-3). Всички ендотелини се образуват в клетките от прекурсор (препроендотелин), който съдържа 200 аминокиселини и който се разгражда под действието на карбоксипептидаза до т.н. голям ендотелин (39 аминокиселини). Последният под действието на ендотелин-конвертиращи ензими (ECEs) образува ЕТ-1 (1). Ендотелините се кодират от три независими гена, локализиращи в 6, 1 и 20 хромозома (2).

ЕТ-1 е най-мощния вазоконстриктор открит досега. Неговото действие е от 30 до 50 пъти по-силно от това на норадреналина и ангиотензин II.

ЕНДОТЕЛИН-КОНВЕРТИРАЩИ ЕНЗИМИ (ECEs)

Идентифицирани са седем изоформи на ECEs – ECE-1a, ECE-1b, ECE-1c, ECE-1d, ECE-2a, ECE-2b, ECE-3 (3). ECE-1, ECE-2 изоформите са цинкови металопротеази, които се инхибират както от фосфорамидон, така и от сулфхидрилни и карбоксилни групи. ECE-1 е локализиран в клетъчната мембрана, неговото оптимално рН е 7.0 и той освен ЕТ-1 хидролизира и брадикинин, субстанция Р и инсулин. ECE-2 е локализиран

186

Научна конференция с международно участие – Стара Загора – 2005

т. 4 Медицина, Клетъчна биология, биохимия, физиология, приложна фармакология, Вътрешни и професионални болести, хирургия, съдебна медицина, Психология, психиатрия, социална медицина

25. Димитрова А, Д. Страшимиров, А. Русева, Е. Лакова, П. Христова. Влияние на цинковата диета върху активността на Cu/ZnSOD и артериалното налягане при SHR плъхове. Trakia Journal of Sciences 2005;3(Suppl.1):42-45.



## ВЛИЯНИЕ НА ЦИНКОВА ДИЕТА ВЪРХУ АКТИВНОСТТА НА Cu/ZnСУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА И АРТЕРИАЛНО НАЛЯГАНЕ ПРИ ПЛЪХОВЕ SHR

А. Димитрова, Д. Страшимиров, А. Русева\*, Е. Лакова, П. Христова\*\*

Катедра „Обща биология и патофизиология“, МУ - Плевен

\*Централна клинична лаборатория, УМБАЛ - Плевен

\*\*Катедра „Социална медицина“, МУ – Плевен

e-mail: [anelija.dimitrova@gmail.com](mailto:anelija.dimitrova@gmail.com)

### ABSTRACT:

The aim of the present study was to examine the effect of zinc on Cu/ZnSOD activity and arterial blood pressure of male spontaneously hypertensive rats (SHR). SHR (n=27), (180-205 g) were used. They were divided in accordance to the amount of Zn in the diet as follows: Group 1 (G1), (n = 10, with 40 mg/kg diet Zn), Group 2 (G2), (n = 7, with 59 mg/kg diet Zn), Group 3 (G3), (n = 10, with 159 mg/kg diet Zn). It was found a significantly increased activity of Cu/ZnSOD in SHR fed a Zn diet 3 (G3), (3179,32±647,31) compared to SHR fed a Zn diet 2 (G2), (2177,13±824,62); p<0,05 and Zn diet 1 (G1), (2049,1±582,98); p<0,05. The arterial blood pressure was significantly increased (p< 0,001) in G1 (190,8 ±5,37) as compared to G3 (178,8 ±4,05). The results of this study show that Cu/ZnSOD activity changes depending on Zn diet and it correlates with arterial blood pressure alterations.

**Key words:** Cu/Zn SOD, spontaneously hypertensive rats (SHR), zinc diet, hypertension

### ВЪВЕДЕНИЕ

При много модели на експериментална хипертония при животни се установява повишаване на реактивните форми на кислорода (ROS). При спонтанно-хипертензивните плъхове (SHR) се увеличава супероксидният анион ( $O_2^{\cdot-}$ ), който играе ключова роля при артериална хипертония [3]. Супероксидният анион увеличава оксидативния стрес, който благоприятства възникването на ендотелна дисфункция. Ключовият механизъм за развитието на ендотелна дисфункция е взаимодействието на супероксида и азотния оксид ( $NO^{\cdot}$ ) до образуване на пероксинитрит ( $ONOO^{\cdot}$ ) [9].  $ONOO^{\cdot}$  е много силен окислител и може да увреди голям брой биомолекули. Супероксидният анион взаимодействайки с  $NO^{\cdot}$  елиминира неговите биологични ефекти от една страна, а от друга окислява тетрахидробиоптерина ( $BH_4$ ) на ендотелната азотноокисна синтаза (eNOS) и намалява активността ѝ, което също води до намаленото образуване на азотен оксид [12][13].

Супероксидният анион е и вазоконстриктор.

Цинкът има антиоксидантни свойства свързани със стабилизиране на мембраните на клетките, което ги прави устойчиви на оксидативен стрес и влиза в състава на Cu/ZnSOD, един от най-важните антиоксидантни ензими [4][7]. Супероксиддисмутазите (SOD) катализират дисмутацията на супероксидните аниони до водороден пероксид и молекулен триплетен кислород. Цинкът поддържа и тъканната концентрация на металотионеин, scavenger на свободните радикали и стимулира защитните клетъчни стрес-сигнални каскади като MAPK и PI3K/Akt [1].

Целта на настоящето проучване е да се проследи влиянието на цинка върху активността на Cu/Zn SOD и артериалното налягане при мъжки плъхове порода SHR.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследването се проведе на 27 мъжки плъха порода SHR (180-205 g). Животните бяха разделени на три групи на диета с различно съдържание на цинк. Първа група (Г1, n=10) на

26. **Димитрова А.**, Д. Страшимиров, А. Русева, М. Александрова. Ролята на цинковата диета върху процесите на липидна пероксидация в серума при SHR. Известия на съюза на учените Варна 2004/2005;(2/1):51-53.

## РОЛЯТА НА ЦИНКОВАТА ДИЕТА ВЪРХУ ПРОЦЕСИТЕ НА ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЯ В СЕРУМА ПРИ SHR

Димитрова А., Д. Страшимиров, А. Русева, М. Александрова

**Keywords:** zinc diet, SHR, lipid hydroperoxides, Cu/ZnSOD, arterial pressure

### Въведение

Липидната пероксидация е добре познат механизъм на оксидативно увреждане на клетъчните мембрани и е главният механизъм, чрез който се осъществява свободно-радикалната токсичност [1,2]. Увеличената серумна концентрация на липидни хидропероксиди (ROOH) е индикатор за оксидативен стрес, който води до мембранни увреждания. Цинкът е много важен компонент на биомембраните и е незаменим за тяхната структура и функция. Той влиза в състава на медно-цинковата супероксиддизмутаза (Cu/ZnSOD), един от най-важните антиоксидантни ензими [3][4]. Супероксиддизмутаза (SOD) катализира дисмутацията на супероксидните аниони до водороден пероксид и молекулен триплетен кислород. Цинкът поддържа и тъканната концентрация на металотионеин, scavenger на свободните радикали [5].

Целта на настоящето проучване е да се проследи влиянието на цинка върху нивото на липидна пероксидация, оценено чрез концентрацията на липидни хидропероксиди в серума на SHR.

### Материали и методи

Изследването се проведе на 27 мъжки плъха порода SHR (180-205 g). Животните бяха разделени на три групи на диета с различно съдържание на цинк. Първа група (Г1, n=10) на диета с Zn (40 mg/kg диета), втора група (Г2, n=7) на диета с Zn (59 mg/kg диета) и трета група (Г3, n=10) с цинкова суплементация (159 mg/kg диета). Диетата започна в края на втория месец и продължи осем седмици.

Кръвта за изследване беше взета сутрин на гладно, под лека етерна наркоза,

### Summary

The aim of the study was to evaluate the effect of zinc diet on the level of lipid peroxidation determined by serum lipid hydroperoxide concentration in SHR.

Three groups of male SHR rats were put on a diet of different zinc content for 8 weeks. The lipid hydroperoxide concentration was significantly decreased in rats on Zn diet 3 ( $3,48 \pm 0,20$ ) as compared to rats fed a zinc diet 1 ( $4,99 \pm 0,47$ ), ( $p=0,0064$ ) and zinc diet 2 ( $4,85 \pm 0,71$ ), ( $p=0,004$ ). It was found a significantly increased Cu/ZnSOD activity in SHR fed a Zn diet 3 (G3), ( $3179,32 \pm 647,31$ ) compared to SHR fed a Zn diet 2 (G2), ( $2177,13 \pm 824,62$ ), ( $p=0,019$ ) and Zn diet 1 (G1), ( $2049,1 \pm 582,98$ ), ( $p=0,0044$ ). The arterial blood pressure was significantly decreased in G3 ( $178,8 \pm 4,05$ ) as compared to G1 ( $190,8 \pm 5,37$ ), ( $p=0,0048$ ). We conclude that zinc supplementation affects the serum oxidative status and decreases the lipid hydroperoxide concentration, which correlates with the arterial blood pressure alterations.

чрез пунктиране на абдоминалната аорта. Кръвта беше събрана във вакутейнери (Beckton Dickinson) за биохимични изследвания. Серумите се отделиха по стандартния начин и се съхраняваха при -200С. Нивото на липидните хидропероксиди бе определено в серума по метода Yagi [6]. Съдържанието на цинк във фуражите и серумната концентрация на цинк бяха изследвани чрез директна пламъкова атомно-абсорбционна спектрометрия (AAS) с апарат тип "Perkin - Elmer, Model-Analyst 300". Артериалното налягане се

27. **Dimitrova A, D. Strashimirov, A. Russeva, T. Betova, K. Tzachev.** Changes in the activity of Cu/Zn superoxide dismutase, lipid profile and aorta morphology of spontaneously hypertensive rats on zinc diet. *Folia medica* 2007;(3/4):52-57. **SJR – 0.133**

## Experimental Investigations

### CHANGES IN THE ACTIVITY OF Cu/Zn SUPEROXIDE DISMUTASE, LIPID PROFILE AND AORTA MORPHOLOGY OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS ON ZINC DIET

Anelia A. Dimitrova, Denko S. Strashimirov, Adelaida L. Russeva<sup>1</sup>, Tatyana M. Betova<sup>2</sup>, Kamen N. Tzachev<sup>3</sup>

*Department of General Biology and Pathophysiology, Medical University, Pleven, <sup>1</sup>Central Clinical Laboratory, University Hospital, Medical University, Pleven, <sup>2</sup>Department of General and Clinical Pathology, Medical University, Pleven, <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, Medical University, Sofia, Bulgaria*

#### ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the effect of zinc on the activity of copper-zinc superoxide dismutase (Cu/Zn SOD), the lipid profile, the arterial blood pressure and the morphological changes of the aorta in male spontaneously hypertensive rats (SHR).

**MATERIALS AND METHODS:** The study included 52 male SHR animals. The animals were randomly assigned into three groups to be fed one of three zinc diets – in group one animals (G1, control group) the zinc content was 50 mg/kg, in group two (G2) – 155 mg/kg and in group three (G3) 250 mg/kg. The laboratory chow zinc content and the zinc and copper serum levels were measured by a direct flame atomic-absorption spectrophotometry. The Cu/Zn SOD activity was measured in the erythrocytes using a reagent from RANSOD (RANDOX Laboratories). Systolic arterial blood pressure was measured on the rat's tail (tail cuff) by an indirect method without anesthesia (Ugo Basile). The lipid profile was determined with ABX reagents (France). Histological investigations of the aortas were performed using histochemical and electron microscopic methods.

**RESULTS:** Statistically significant increase of Cu/Zn SOD activity ( $p < 0.05$ ) was found in G2 ( $2276.88 \pm 145.53$ ) and G3 ( $2337.31 \pm 146.25$ ) in comparison with the control group of animals ( $2099.46 \pm 111.73$ ). There was significant decrease of serum LDL levels ( $p < 0.05$ ) in G3 ( $1.09 \pm 0.32$ ) compared with G2 ( $1.19 \pm 0.42$ ) and G1 ( $1.62 \pm 0.28$ ). Increased number of migrated smooth muscle cells was found in G1 animals. Lipid drops were increased in the aortic wall of SHR animals and then decreased after zinc diet was applied.

**CONCLUSIONS:** The results indicate that high zinc content in the diet has a protective effect as it increases Cu/Zn SOD activity, decreases the LDL serum levels and the lipid infiltration of the aorta in male SHR animals.

**Key words:** zinc, spontaneously hypertensive rats (SHR), Cu/Zn SOD, arterial blood pressure, lipid profile, aorta

#### INTRODUCTION

Zinc is an essential component of biomembranes and is absolutely necessary for maintenance of membrane structure and function.<sup>1</sup> It is an essential microelement and plays an important role in the pathogenesis of atherosclerosis.<sup>2</sup> Zinc deficiency in plasma affects endothelial zinc status and can be considered a risk factor because it increases oxidative stress. The latter

is a precondition for the development of endothelial dysfunction which results in arterial hypertension and atherosclerosis.<sup>3-5</sup> When oxidative stress is increased endothelial cells lose their protective phenotype and express some adhesive molecules such as intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) which facilitate the

*Correspondence and reprint request to: A. Dimitrova, Department of General Biology and Pathophysiology, Medical University, Pleven*

*1 "St. Kliment Ohridski" blv., 5800 Pleven, Bulgaria*

*Received 26 July 2006; Accepted for publication 27 June 2007*

## Несвързани с дисертацията

## Публикации в научни списания в България с импакт фактор

28. Ruseva B, M. Atanasova, M. Alexandrova, P. Laleva, A. Dimitrova. Effects of selenium supplementation on antibodies against advanced glycation end products and lipid peroxidation in young normotensive and spontaneously hypertensive

rats. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences 2012;65(6):779-784.  
(IF = 0.211, 2012)

Доклади на Българската академия на науките  
Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences

Tome 65, No 6, 2012

BIOLOGIE  
Physiologie

EFFECTS OF SELENIUM SUPPLEMENTATION  
ON ANTIBODIES AGAINST ADVANCED GLYCATION END  
PRODUCTS AND LIPID PEROXIDATION IN YOUNG  
NORMOTENSIVE AND SPONTANEOUSLY  
HYPERTENSIVE RATS

Boryana Ruseva, Milena Atanasova\*, Margarita Alexandrova\*\*,  
Pavlina Laleva\*\*\*, Anelia Dimitrova\*\*\*\*

(Submitted by Corresponding Member R. Radomirov on December 20, 2011)

Abstract

Advanced glycation end products (AGEs) have been implicated in the pathogenesis of many disorders. Excessive accumulation of AGEs has been shown to lead to tissue damage through a variety of mechanisms including alteration of tissue protein structure and function, or increased generation of reactive oxygen species. On the other hand, oxidative stress accelerates AGEs formation. Selenium (Se) is an exogenous antioxidant which performs its biological role via selenoprotein expression.

The aim of this study was to investigate the effect of selenium (Se) on the serum level of antibodies against AGEs (anti-AGEs abs) and lipid peroxidation in young normotensive Wistar (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats.

Fifteen male WKY and twenty male SHR, 16 weeks old, divided into 4 groups, were tested after being on a Se-adequate diet (NSe) or a Se-supplemented diet (HSe) for eight weeks. The Se nutritional status was assessed by measuring Glutathione peroxidase (GPx-1) activity in whole blood, using "Ransel" kit of Randox Laboratories LTD. The serum anti-AGEs abs level was determined by the method of indirect ELISA. The serum lipid hydroperoxide concentration (ROOH) was evaluated by the method of Yagi.

The results showed that Se supplementation increased GPx-1 activity of whole blood of the rats ( $p < 0.05$ ). The serum anti-AGEs abs and ROOH levels of SHR NSe were higher than those detected in WKY NSe, and they were significantly reduced in the SHR HSe ( $p < 0.05$ ).

In conclusion, selenium supplementation reduces oxidative stress and serum anti-AGEs abs level in SHR.

**Key words:** selenium, rats, anti-AGEs antibodies, lipid peroxidation products

779

29. Atanasova M, A. Dimitrova, D. Pechlivanova, J. Tchekalarova. Strain-dependent responses to brain oxidative stress and arterial blood pressure in normotensive and spontaneously hypertensive rats: effects of Losartan. Comptes Rendus de

l'Academie Bulgare des Sciences 2012;65(4):549-554. ISSN: 1310-1331 (IF = 0.211, 2012; 1 цитиране)

Доклади на Българската академия на науките

Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences

Tome 65, No 4, 2012

MEDECINE

Médecine expérimentale

**STRAIN-DEPENDENT RESPONSES TO BRAIN OXIDATIVE STRESS AND ARTERIAL BLOOD PRESSURE IN NORMOTENSIVE AND SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS. EFFECTS OF LOSARTAN**

Milena Atanasova, Anelia Dimitrova\*, Daniela Pechlivanova\*\*, Jana Tchekalarova\*\*

(Submitted by Corresponding Member R. Radomirov on November 11, 2010)

**Abstract**

Experimental data suggest that oxidative stress is involved in hypertension. The aim of this study was to evaluate and compare the effect of chronic systematic treatment with AT1 receptor antagonist losartan on arterial blood pressure and the production of oxidative damage in the brain of normotensive Wistar and spontaneously hypertensive rats (SHRs). Drug administration was conducted via subcutaneous osmotic minipumps for 14 days (10 mg/kg per day). Spontaneously hypertensive rats showed an increase in the arterial blood pressure compared to normotensive Wistar rats. Long-term losartan exposure attenuated hypertension in SHRs. The level of lipid peroxidation was higher in both the frontal cortex and the hippocampus of SHRs compared to Wistar rats. However, chronic block of AT1 receptors decreased the level of lipid peroxidation of the above mentioned brain structures in Wistar and SHRs. Losartan influenced positively the cytosolic superoxide dismutase (SOD/CuZn) activity in both the frontal cortex and the hippocampus of SHRs while it enhanced the activity of this antioxidant enzyme only in the hippocampus of Wistar rats. No changes in the mitochondrial SOD/Mn activity in both the frontal cortex and the hippocampus were detected after losartan treatment in Wistar and SHRs. These data suggest that the strain differences of the level of oxidative stress in the frontal cortex and the hippocampus as well as arterial blood pressure determine different responses after long-term infusion with AT1 receptor antagonist.

**Key words:** losartan, Wistar, spontaneously hypertensive rat, arterial blood pressure, oxidative stress

**Introduction.** In the recent years the crucial role of oxidative stress in the occurrence and the development of hypertension has received an increasing attention. The brain is particularly sensitive to attacks of reactive oxygen

This work was supported by the Medical Science Council, Medical University of Pleven, contract No. 3/2011 and National Science Fund contract No DTK 02/56, 2009–2012.

549

30. Kostov K, A. Dimitrova, A. Grigoryan, S. Tisheva, A. Ruseva, M. Atanasova, C. Gospodinov, A. Blazhev. Changes in the serum levels of endothelin-1, matrix metalloproteinases- 2, - 9 and C- reactive protein in patients with mild and severe degree of arterial hypertension. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences 2014; 67(3):427-434. (IF = 0.284, 2014)

CHANGES IN THE SERUM LEVELS OF ENDOTHELIN-1,  
MATRIX METALLOPROTEINASES-2, -9 AND C-REACTIVE  
PROTEIN IN PATIENTS WITH MILD AND SEVERE  
DEGREE OF ARTERIAL HYPERTENSION

Krasimir Kostov, Anelia Dimitrova, Armine Grigoryan,  
Snejana Tisheva\*, Adelaida Ruseva\*\*, Milena Atanasova\*\*\*,  
Constantin Gospodinov\*, Alexander Blazhev\*\*\*

(Submitted by Corresponding Member R. Radomirov on October 21, 2013)

Abstract

Haemodynamic stress in arterial hypertension leads to increased production of endothelin-1 (ET-1). Changes in the extracellular matrix are controlled largely by methalloproteinase-2 (MMP-2) and methalloproteinase-9 (MMP-9) which play an important role in vascular remodelling of hypertension. C-reactive protein (CRP) is an acute phase protein which is synthesized by hepatocytes under the effect of interleukin-6 (IL-6) in inflammation.

The purpose of the study was to investigate the relationship of ET-1, MMP-2, MMP-9 and CRP with the degree of arterial hypertension and the systemic and vascular inflammatory response.

Three groups were formed: group I – 31 patients with mild hypertension (MH); group II – 29 patients with severe hypertension (SH); group III – 15 persons in a control group (CG). ET-1 was determined by ELISA kit of "Biomedika", MMP-2 and MMP-9 by ELISA kit of the "R&D Systems", and the CRP – through immunoturbidimetric method with monoclonal anti-CRP antibodies. The analysis used the statistical program STATGRAPHICS.

This study was supported by Grant No 1/2012 of the Medical University of Pleven.

31. Ruseva A., Dimitrova A. Biomarkers for liver disease. General medicine. 2015;4:40-43. (SJR = 0.100, 2014)

## БИОМАРКЕРИ ЗА ЧЕРНОДРОБНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

А. Русева<sup>1</sup> и А. Димитрова<sup>2</sup><sup>1</sup>Клинична лаборатория, УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен<sup>2</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“, МУ – Плевен

## BIOMARKERS FOR LIVER DISEASE

A. Ruseva<sup>1</sup> and A. Dimitrova<sup>2</sup><sup>1</sup>Clinical Laboratory, University Hospital „Dr Georgi Stranski“ – Pleven<sup>2</sup>Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University – Pleven

**Резюме.** Основни мотиви за интензивното проучване на биомаркерите в хепатологията са растящият брой заболявания на черния дроб, отсъствието на симптоми до късно в хода на болестта, наличието на инвазивен референтен тест за оценка тежестта на заболяването, както и липсата на достатъчно подходящи методи за оценка ефективността на терапевтичните действия. Използването на биомаркери прави възможно доказването на общи за голям брой чернодробни заболявания патологични процеси. Взаимозависимостта между тези процеси обуславя определени трудности във връзка с разграничаването на биомаркерите, специфични за определен начин на чернодробно увреждане. Възможността на биомаркерите да предскажат развитие на патологичния процес създава потенциал за подобряване на прогнозата и за осигуряване оценка на клиничната ефективност.

**Ключови думи:** хепатология, биомаркери, начин на чернодробно увреждане, ефективност/терапевтични действия

**Summary.** The major reasons for the intensive study of biomarkers in hepatology are an increasing number of liver diseases, the absence of symptoms until late in the course of the disease, the presence of invasive reference test for the evaluation of the severity of the disease and the lack of sufficient suitable means for assessing the effectiveness of therapeutic actions. The use of biomarkers enables proving the common to a large number of liver diseases pathological processes. The interdependence between these processes determines certain difficulties in distinguishing biomarkers specific to a particular way of hepatic impairment. The ability of biomarkers to predict the development of the pathological process creates the potential for improving the prognosis and provision of an assessment of clinical efficacy.

**Key words:** hepatology, biomarkers, liver disease pathological processes, effectiveness/therapeutic actions

Биомаркерът е обективно измервана характеристика, оценена като индикатор на нормален биологичен или патологичен процес или фармакологичен отговор към терапевтична интервенция [4].

Биомаркерите могат да бъдат класифицирани като:

- Биомаркери за оценка естествения ход на заболяването (тип 0: прогноза)

- Биомаркери за оценка на биологична активност (тип 1: отговор на терапия)

- Биомаркери за оценка на терапевтична ефективност (тип 2: сурогат за клинична ефективност) [8].

Проучването на биомаркери е развиваща се област в хепатологията. Основни мотиви за това са растящият брой заболявания на черния дроб, отсъствието на симптоми до късно в естествения

32. Sandeva R, A. Dimitrova, T. Tacheva, S. Mihajlova, G. Sandeva, T. Vlaykova. Unacylated ghrelin in plasma of Wistar rats after consumption of fructose, sucrose and aspartame. Bulg Chem Commun, 2017; Special Issue E:140-145. (IF=0.238, 2016-17)

## Unacylated ghrelin in plasma of Wistar rats after consumption of fructose, sucrose and aspartame

R.V. Sandeva<sup>1\*</sup>, A.A. Dimitrova<sup>2</sup>, T.T. Tacheva<sup>1</sup>, S.M. Mihajlova<sup>1</sup>, G.N. Sandeva<sup>1</sup>, T.I. Vlaykova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

<sup>2</sup>Medical University, Pleven, Bulgaria

Received September 17, 2016; Revised February 20, 2017

Unacylated ghrelin (UAG) amounts to 80-90% of the circulating orexigenic hormone ghrelin. Studies suggest that both acyl ghrelin (AG) and UAG may mediate peripheral biological actions and UAG can act as a potent functional inhibitor of ghrelin. The aim of this study was to track changes in unacylated ghrelin in plasma in a control and three experimental (fructose, sucrose and aspartame) groups of rats and to compare them with some morphological and metabolic parameters. An 8-week burdening of 28 male Wistar rats with 15% fructose (Group F, n = 7), 10% sucrose (Group S, n = 7) and 0.3% aspartame solutions (Group A, n = 7) was carried out. An increase in average body weight was found in the following order: sucrose group > fructose group > aspartame group > controls. Significant difference was found in the mesenteric fat depot weight of Group F vs. Group C. An increase in unacylated ghrelin levels and in general metabolic parameters (glucose, triglycerides, total and LDL-cholesterol, AST, ALT) of the fructose and sucrose groups compared to controls was registered. Moreover, changes in some metabolic markers in the aspartame group were also seen. In conclusion, the results of the current study suggest that elevated unacylated ghrelin might trigger changes in the regulation of food intake and further development of obesity, metabolic disorders and chronic noninfectious diseases.

**Keywords:** unacylated ghrelin, metabolic syndrome, fructose, sucrose, aspartame, Wistar rats

### INTRODUCTION

Excessive consumption of sucrose and fructose (in the form of high fructose corn syrup) is one of the most serious causes of obesity and comorbidities, such as hypertension, diabetes, nonalcoholic fatty liver disease and coronary heart diseases, which are associated with a significant increase in morbidity and mortality rates [1,2,3,4]. In order to reduce sucrose and fructose consumption they are replaced with artificial sweeteners like aspartame. Sweeteners are widely used in many products, such as desserts and diet beverages, as a mean to prevent body mass gain, metabolic syndrome, diabetes, and several risk factors for heart disease. In 2012, the American Heart Association and American Diabetes Association concluded that there are still insufficient data to determine the role played by artificial sweeteners in the regulation of energy balance, body weight, and influence on cardiometabolic risk factors [5]. There is evidence that non-caloric sweeteners increase appetite, promote overeating, and lead to body mass gain [6, 7, 8]. The mechanisms by which this occurs remain unknown. It is probable that a significant role in this mechanism is played by the sweet taste

receptors T1R2 and T1R3 (G-coupled receptor proteins), which have also been found in the duodenum, small intestine and pancreas. Stimulation of this taste receptors by sugars or artificial sweeteners activates intracellular signaling elements, which stimulate peripheral gustatory nerves and, in turn, brain gustatory pathways [9, 10]. The artificial sweeteners weaken a natural predictive relationship between sweet taste and the calorie intake during eating.

One of the main factors for the regulation of the energy homeostasis is ghrelin. It can be found as two isoforms in the circulation: acylated ghrelin (AG) and unacylated ghrelin (UAG). Acylation is catalyzed by the enzyme ghrelin O-acyl transferase. The appetite-stimulating function of AG was identified secondary to its effect on the growth hormone release from somatotroph cells of the anterior pituitary [11]; however, AG is the first known peripheral hormone to display orexigenic effects through its action on the hypothalamic appetite-regulating pathways [12]. AG activates NPY/AgRP neurons [13] of the hypothalamic arcuate nucleus through its receptor, GHS-R1a, promoting production and secretion of their orexigenic neuropeptides to suppress pro-opiomelanocortin neuronal activity while stimulating food intake. There is evidence to show that ghrelin is important in the short-term regulation of appetite and energy balance. The pre-prandial

\* To whom all correspondence should be sent.  
E-mail: rossisandeva@yahoo.com

33. Mihajlova S, **A. Dimitrova**, T. Vlaykova, T. Tacheva, V. Tsoneva, K. Nancheva-Koleva, R. Sandeva. Effect of high - fructose diet on plasma leptin levels, morphological and biochemical parameters in ovariectomized rats. Bulg Chem Commun, 2017, Special Issue E: 134-139. **(IF=0.238, 2016-17)**

## Effect of high- fructose diet on plasma leptin levels, morphological and biochemical parameters in ovariectomized rats

S.M. Mihajlova<sup>1</sup>, A.A. Dimitrova<sup>3</sup>, T.I. Vlaykova<sup>1</sup>, T.T. Tacheva<sup>1</sup>, V. Tsoneva<sup>2</sup>,  
K. Nancheva-Koleva<sup>2</sup>, R. V. Sandeva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria

<sup>2</sup>University Hospital – Stara Zagora, Bulgaria

<sup>3</sup>Medical University, Pleven, Bulgaria

Received October 17, 2016; February 23, 2017

Leptin, the obese gene product, is an adipocyte-derived hormone that regulates body weight and metabolism by influencing food intake and energy expenditure. Postmenopausal status and high consumption of fructose are associated with increased incidence of visceral obesity and risk of metabolic syndrome, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. The main objective of this study was to determine alterations in body weight, abdominal fat mass, plasma leptin levels, serum glucose and lipid profile (total cholesterol, triacylglycerol, high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol) in ovariectomized rats subjected to a fructose rich diet. Twenty-four adult female Wistar rats were divided into four groups: control sham-operated (SHAM, n = 6), ovariectomized (OVX, n = 6), sham-operated plus fructose (SHAM-F, n = 6) and ovariectomized plus fructose (OVX-F, n = 6). Fructose was given to the rats as 10% solution in drinking water for 8 weeks. The results indicated that plasma leptin levels were increased significantly in OVX and OVX-F groups compared with SHAM and SHAM-F groups ( $4466.66 \pm 179.23$  pg/ml and  $2758.33 \pm 682.47$  pg/ml vs.  $1965.33 \pm 179.23$  pg/ml and  $1706.50 \pm 232.15$  pg/ml, respectively). Although leptin levels were not significantly different in the sham-operated and sham-operated plus fructose groups, there is a tendency for lower leptin levels in the sham-operated plus fructose group. The body weight was significantly increased in the OVX, OVX-F and SHAM-F groups compared with the SHAM group. Abdominal adipose tissue and biochemical parameters were significantly higher in OVX and OVX-F compared to those of control animals. In conclusion, excessive consumption of fructose may contribute to metabolic disorders and expressed predisposition to chronic non-infectious diseases observed in the postmenopausal condition. Furthermore, the results showed that a high-fructose diet and ovariectomy affect leptin levels in different directions, which may be due to interference on the various signal-transduction mechanisms in leptin synthesis and secretion.

**Key words:** leptin, ovariectomy, obesity, metabolic syndrome, high-fructose diet

### INTRODUCTION

The lack of ovarian function in the postmenopausal period is associated with a high incidence of visceral type obesity and several metabolic disorders [1]. Estrogen deficiency has been proposed as an important obesity-triggering factor [2]. Experimental studies in rodents and humans support the involvement of estrogen in the control of energy balance [3], food intake [4], and body fat distribution [5]. In ovariectomized rodents – an animal model used to study human menopause – higher body weight and visceral adipose tissue have been observed than in sham-operated rodents. These ovariectomy disorders have been reversed by estradiol administration [6]. Postmenopausal women who have low levels of estrogen showed a significant increase in waist-to-hip ratio compared

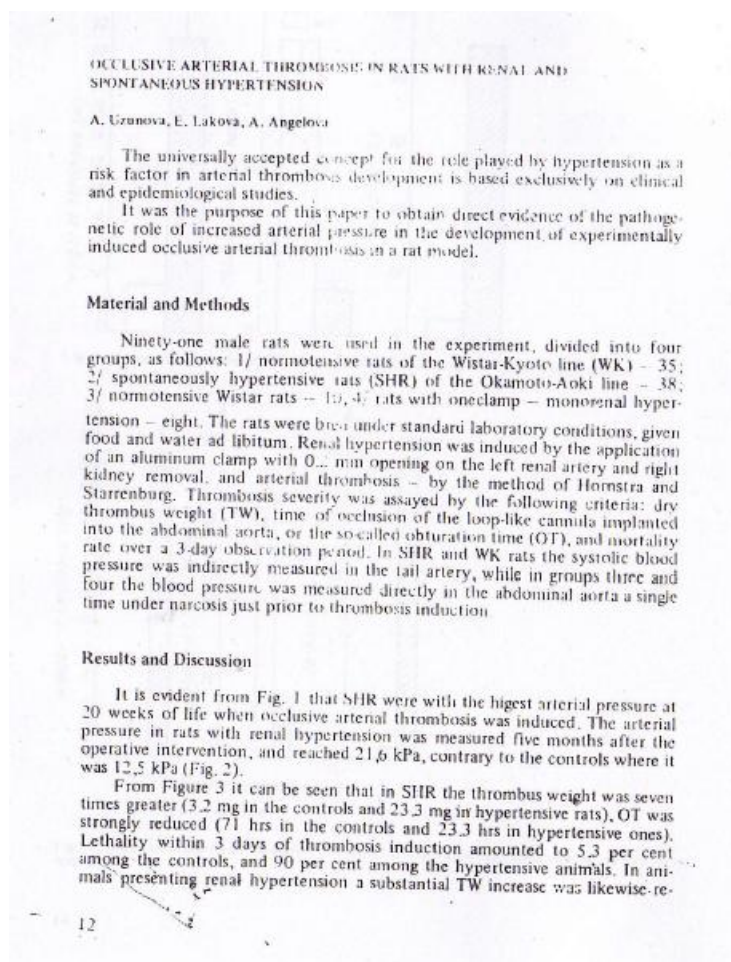
with postmenopausal women receiving hormone replacement therapy [7].

Together with changes in fat distribution and metabolic disorders, the lack of estrogen is accompanied by abnormalities in the synthesis and signaling pathways of a number of peripheral peptides which participate in the regulation of energy homeostasis, such as leptin. Leptin is a 16-kDa peptide hormone that is secreted mainly by adipose cells [8]. It reduces feeding and increases energy expenditure by acting at sites primarily within the central nervous system [9], where it binds to leptin receptors (OB-Rs). There are multiple OB-Rs isoforms, all of which are products of a single OB-Rs gene, and it is thought that a long form of leptin receptor (OB-RL) is mainly responsible for regulating energy balance [10]. An intimate relationship between leptin and estrogen was described in many in vitro and in vivo studies, demonstrating a direct effect of estrogen on leptin expression [11] and leptin signaling in the brain [12].

\* To whom all correspondence should be sent:  
E-mail: rossisandeva@yahoo.com

## Публикации в научни списания в България без импакт фактор

34. Uzunova A, E. Lakova, **A. Angelova**\*. Occlusive arterial thrombosis in rats with renal and spontaneous hypertension. Scientific works of the higher medical institute - Pleven 1988;X(1):12-15.



35. Лакова Е, А. Узунова, Т. Балабанов, **А. Ангелова**. Артериално тромбообразуване и серумни липиди при плъхове с ренална хипертония. Експериментална медицина и морфология 1988;(4):13-17.

АРТЕРИАЛНО ТРОМБООБРАЗУВАНЕ И СЕРУМНИ ЛИПИДИ  
ПРИ ПЛЪХОВЕ С РЕНАЛНА ХИПЕРТОНИЯ

Е. Лакова, А. Узунова, Т. Балабанов, А. Ангелова

МА, ВМИ — Плевен, Катедра по патофизиология,  
ръководител доц. А. Узунова

Въпреки общоприетото схващане за ролята на хипертонията като рисков фактор в развитието на артериалната тромбоза, информацията по този въпрос е непълна, тъй като се основава изключително на клинични и епидемиологични проучвания (1). Не съществуват директни експериментални доказателства за ролята на повишеното артериално налягане при артериалната тромбогенеза. Почестите тромботични усложнения при хипертоничните се отдават на атеросклерозата, която в тези случаи се развива по-рано и протича по-тежко. Би могло да се потърсят и други механизми, които обясняват засилената тромбогенеза у болни с хипертония и у животни с експериментална хипертония.

Целта на настоящото изследване е да се проследи влиянието на повишеното артериално налягане върху протичането на експериментално индуцирана артериална тромбоза у плъхове с ренална хипертония, като се потърсят промени в липидния профил на тези животни, които биха могли да обяснят промените в тромбообразуването.

Материал и методи

Експериментите са проведени върху мъжки плъхове от порода Wistar с телесна маса 250—300 g, отглеждани при стандартни лабораторни условия и разпределени в две групи: I група — интактни (нормотензивни) — 26 бр., и II група — хипертензивни — 16 бр. На животните от II група е моделирана едноклампна-еднобъбречна хипертония по Goldblatt (2). Операцията за предизвикване на този вид хипертония е извършена в два етапа. На първия етап е стенозирана лявата бъбречна артерия чрез налягане на алуминиева клипса с отвор 0,2 mm, а на втория след две седмици с предизвикана десностранна нефректомия. Животните са изследвани пет месеца след операцията. На една част от тях — 10 нормотензивни и 8 хипертензивни, е индуцирана артериална тромбоза по метода на B. Hornstra — Starrenburg (3). Под наркоза с пентобарбитал (40 mg/kg i. p.) в абдоминалната аорта е поставена бримкоподобно извита полиетиленова канюла с вътрешен диаметър 1,8 и външен — 2 mm. Част от канюлата се поставя извън тялото, при което е възможно наблюдаването на цвета на протичащата кръв. Заострените краища на канюлата увреждат ендотела и предизвикват образуването на тромб, които облитерират нейния лумен за около 5 дена. Критерии за оценка на тежестта на тромбозата са: времето за запушване на канюлата — т. нар. обтурационно време (ОВ), сухата маса на тромба (MT) и смъртността в проценти (С%). Артериалното налягане е измервано директно под наркоза с пентобарбитал (40 mg/kg i. p.) в абдоминалната аорта, непосредствено преди предизвикването на тромбозата.

На друга част от животните — 16 нормотензивни и 8 хипертензивни, след 12-часово гладуване под наркоза с пентобарбитал е измерено директно артериалното налягане и е взета кръв за изследване на липидните показатели. Определяна е концентрацията на общите липиди (ОЛ), общия холестерол (ОХ) и триглицеридите (ТГ) в серума по неензимен метод с набор реактиви на Лахема (ЧССР) и НЕМК по метода на Dinscombe.

Резултатите са обработени статистически по метода на вариационния анализ, приложен е Т-тестът на Student — Fischer.

36. Uzunova A, E. Lakova, A. Angelova, T. Balabanov. Thymus participation in rat arterial thrombus formation. Scientific works of the higher medical institute - Plevan 1988;X(1):8-11.

#### THYMUS PARTICIPATION IN RAT ARTERIAL THROMBUS FORMATION

A. Uzunova, E. Lakova, A. Angelova, T. Balabanov

In the past few years, a number of Soviet authors published data concerning the effect of age related thymectomy on hemostasis. Tzibikov et al were the first to demonstrate hypercoagulation following age related thymectomy in rats /7/. This type of thymectomy inhibits fibrinolysis /4/, and accounts for augmentation of the platelet count and platelet aggregation /5/. There were also reports concerning the effect of the thymus humoral factor, Soviet production (thymalin), on hemostasis and fibrinolysis in rats /3/ and in humans /6/.

We undertook the task to assay the influence of neonatal thymectomy, and more particularly, the effect of the Bulgarian thymosin (fraction 5) on arterial thrombus-formation induction in rats.

#### Materials and Methods

The experiment was conducted in two series. In the first experimental setup 112 male rats of the Wistar line were used, distributed in the following groups: 1/ neonatally thymectomized — 57 animals, 2/ subjected to sham thymectomy — 55, 3/ of the total number (112) 52 rats were subjected to neonatal thymectomy plus thymus transplantation. In the second experimental setup 48 rats were used, distributed in the following way: 1/ intact animals given saline injections — 25; 2/ intact animals treated with thymosin — 23.

Neonatal and sham thymectomy were done within the first 16 hours after birth according to the method of Defendi, as modified by Uzunova /8/. Thymus transplantation was performed after the method of Leuchars /11/ — below the renal capsule of 4-week-old neonatally thymectomized rats, using syngeneic thymuses obtained from newborn animals. Thymosin (fraction 5) was produced in the Chair of Pathologic Physiology, Higher Medical Institute — Pleven, and was kindly supplied by prof. Z. Kemileva. The lyophilized preparation was dissolved before use in sterile saline solution, and then injected at a dose of 2 mg/kg i.p., three times weekly over a 3-week period. The control animals were given 2 ml injections with saline solution.

In all animals experimented upon occlusive arterial thrombosis was produced by the method of G. Homstra, A.V. Starrenburg /9/. Under phenobarbital narcosis (40 mg/kg i.p.) a loop-like polyethylene cannula with 1.8 mm inner diameter and 2 mm outer diameter was inserted into the abdominal portion of the aorta. Part of the cannula was left outside the body of the animal and thus made possible to observe the color of the blood flowing through it. The sharpened ends of the cannula damaged the endothelium with ensuing exposure of subendothelial connective tissue structures which led to the formation of thrombi occluding the lumen within the aorta for about five days. The time of

37. Strashimirov D, K. Yablansky, **A. Dimitrova**, E. Lakova, A. Uzunova. ECG changes in neonatally thymectomized rats. Scientific works of the higher medical institute Pleven 1991;XIII (1):27-29.

#### ECG CHANGES IN NEONATALLY THYMECTOMIZED WISTAR RATS

D. Strashimirov, K. Yablansky, A. Dimitrova, E. Lakova, A. Uzunova

As shown by studies carried out by Z. Kemileva, M. Baloutzov /6/, neonatal thymectomy in male rats gives rise to an increase in arterial pressure level. Changes have been likewise demonstrated in the parameters of lipid and lipoprotein (LP) metabolism following neonatal thymectomy in rats /1, 4/, as well as lowering of the thymus humoral factor (THF) blood level among patients with atherosclerosis /2/. Based on literature reports, claiming that hemodynamic factors (hypertension), coronary ischemia and hormonal factors are implicated in the etiology of rhythm and conduction disorders of the heart function, we made it our aim to assay the electrocardiographic changes in male Wistar rats at various post-neonatal-thymectomy terms.

#### Material and Methods

The experiment was conducted on 271 neonatally thymectomized male rats of the Wistar line, with mean body mass ranging from  $45 \pm 8.5$  to  $210 \pm 6.3$  grams. One-hundred forty-three sham thymectomized male rats with mean body mass  $50 \pm 9.1$  to  $230 \pm 8.3$  g served as controls. The animals from the two basic experimental groups were distributed into subgroups as follows: 30, 45, 60, 75, 90, 120 and 150 days after thymectomy.

Neonatal thymectomy was performed in the first sixteen hours of life under ether narcosis by means of aspiration, according to the method of A. Uzunova, P. Kokosharov /5/. Animals with residual thymus and those developing wasting syndrome were discarded from the present study. Electrocardiography was performed in the three standard leads using electrocardiograph RFT at speed 100 mm/second.

#### Results and Discussion

In the group of neonatally thymectomized animals rhythm disorders (as a whole) predominated by comparison with the control group – accordingly in 28 animals (10.3 per cent) against one animal in the controls (0.6 per cent).

Of all extrasystole arrhythmias, those presenting grouped, frequent and polytopic patterns prevailed.

Next ranked volley extrasystoles, paroxysmal supraventricular arrhythmias and polytopic supraventricular tachycardia (Figs. 1, 2).

In two instances, instead of the sinus rhythm, an upper nodal rhythm was observed, becoming manifest electrocardiographically with negative P-waves situated in front of the QST complex, considered as characteristic of sclerotic changes in the myocardium. ECG changes in conduction were also noted; im-

38. Игнатов К, Георгиев А, Алексиев М, Миховски А, Стоянова Д, Страшимиров Е, Лакова Е, **Димитрова А**. Първоначални резултати от ултразвукова система за хемостаза върху животински модели на кръвотечение. Медицина и фармация 2003;VII- VIII: 29-30.

# ПЪРВОНАЧАЛНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ УЛТРАЗВУКОВА СИСТЕМА ЗА ХЕМОСТАЗА ВЪРХУ ЖИВОТИНСКИ МОДЕЛИ НА КРЪВОТЕЧЕНИЕ

**У**лтразвуковите системи в медицината представят едно от най-модерните и същевременно все още не добре проучени направления в съвременната приложна физика.

Високочестотните трептения оказват разностранно и често трудно за оценка въздействие върху биологичните обекти, поради наеманата на множеството съпътстващи ултразвука явления - топлинен ефект, кавитация, стоящи вълни и др. Осъществяване на промените в тъкани с разнороден строеж и при промяна в първоначалните характеристики на трептенията, такива като честота, интензитет, посока и др. Последните години бележат рязък скок в предлаганите на пазара високочестотни уреди с разностранно действие, особено в областта на физиотерапията и така наречената "безкръвна" хирургия. В порядък на експеримент се изучават въздействията чрез термичния ефект на ултразвук в дълбочина при интензитет 1,4-1,9 W/cm<sup>2</sup> и време за облъчване 20-50 секунди (2); контрола на кръвенето в съдове, като механизмите на хемостазата са термично индуцирана коагулационна некроза на съдовете и механична компресия от хомогенизиран при облъчването паренхим (3,4); микроциркулационната динамика (5); влиянието на ултразвуковата вълна върху облъчената стена на плазмения мембрана (1).

Понякога в България във водещи хирургични клиники се апробират ултразвукови апарати от типа LigaSure. Технически обаче те не могат да извършат ендоскопски хемостаз в стомашна лигавица поради размерите на работния накрайник, невъзможност за фронтална компресия върху третиращия обект и неподходящо звуково съпротивление на лигавичните тъкани.

В достъпната ни литература липсват публикации, които разглеждат възможността да бъде осъществена хемостаз върху лигавични структури с помощта на ултразвук. Поради технически трудности не са сравнявани резултати, получени при промяна на интензитета, амплитудата, честотата и вида на въздействието (импулсни и непрекъснати) върху един и същ обект.

Цел на настоящата разработка е да се проучат възможностите за хемостаз върху животински модели на кръвотечение посредством експериментално конструирани ултразвукови излъчватели в обхвата 60 и 140 kHz. Като първи етап в изследването си поставихме задачата да установим най-подходящите параметри на ултразвуково въздействие с преобразовател, чиито размери, начин на работа и ефект позволяват по-нататъшно усъвършенстване на крайната цел - конструиране на оптимално устройство за ендоскопска хемостаз на лигавични структури.

**Материал и методи.** Като модели са използвани кавитетски нативни препарати от жабешки език и мезентериум, приготвени от 12 лабораторни жабки

жаби, като общо са подсигурени 21 броя експерименти. Като критерий за въздействие на препаратите в проучването се прие наличието на работещо микроциркулаторно русло в език или мезентериум от жаба и наличието поне на един добре видим артериален спйдох на зрително поле. Постигна се обездвижване на обектите чрез разрушаването на гръбначния мост, след което езикът бе закрепен върху специално изготвена коркова плоскост, прикрепена към предметна маса на микроскоп ММИ - 2 с увеличение на обектива 5 X, окуляра - 45 X и зрително поле при това увеличение 21 мм. Грешката на прибора е от порядъка на 3 mm.

На фиг. 1, 2, 3 е представена опитната установка и изпробваните ултразвукови преобразователи. За реализиране на експеримента се използва генератор ГЗ 56/1. Преобразоването на електрически синусоидален сигнал в акустични трептения се осъществява посредством използването на пиезопластина от пиезокерамика тип ЦТС-23, представляваща диск с диаметър 31,2 mm. За да се увеличи амплитудата на ултразвуковото трептене в работната част на преобразователя и локализацията на въздействието, в кръгово петно с диаметър 3 mm са разработени и конструирани конични полувълнови концентратори на ултразвуковите трептения от дуралуминий марка D16 с коефициент на усилване 4,8 и работни честоти 60,120 и 140 kHz.

След определяне на подходящия артериален спйдох, в зрителното поле на микроскопа в съответния участък се прилага каленно азарозен гел М3 при 10 препарата и М4 - при 11 препарата. Предприе се последователно въздействие с 2 ултразвукови излъчвателите. Визуално опитане на резултата под микроскоп и дигитална фотодокументация с апарат HP Photosmart 612. Експериментите са проведени на честоти 60, 120 и 140 kHz при различна продължителност на въздействие. За контрол са приети облъчени обекти без артифициално разкъсване на съда. За модели на хеморагия са приети облъчени обекти, при които кръвоносният съд бе разкъсан под микроскоп в участъка на ултразвуковото въздействие за оценка на степента на кръвене. Вариантият с предварителна увреда на съда се оказа неудачен, поради бързото повреждане на препаратите и невъзможността за оценка на ефекта в изобилните с кръв препарати. За акустична контактна среда са използвани серия азарозни гелове (табл. 1). Неизползването на подобна среда при емпирични експерименти показва влошено въздействие върху тъканите с малък или напълно липсващ ефект.

Табл. 1. Основни свойства и състав на работните гелове

| № гел | Формула           | Консистенция | pH | Работна температура (°C) |
|-------|-------------------|--------------|----|--------------------------|
| 1     | Нача              | 0,4%         | 8  | Желира под 32°C          |
| 2     | Детергент Brij 35 | 0,4%         | 8  | Желира под 32°C          |
| 3     | Нача              | 0,2%         | 8  | Желира под 25°C          |
| 4     | Детергент SDS     | 0,4%         | 8  | Желира под 25°C          |
| 5     | Етареол бромид    | 0,8%         | 8  | Желира под 25°C          |

Доц. д-р Кунчо  
Игнатов,

д-р Георги  
Георгиев,  
докторант

Катедра Хирургични  
болести, ВМИ,  
Плевен

А. Алексиев

М. Миховски

Институт по  
механика, БАН,  
София

А. Стоянова

Катедра Химия и  
биохимия

Д. Страшимиров

Е. Лакова

А. Димитрова

Катедра Физиология  
и патофизиология,

ВМИ, Плевен

39. Лакова Е, Г. Георгиев, М. Николова, Р. Начев, А. Стоянова, А. Димитрова, Д. Страшимиров, А. Алексиев, М. Миховски. Тромбообразуване в мезентериум и ерозирана стомашна лигавица на плъх порода Wistar след въздействие с катеноидален ултразвуков преобразувател. Хирургия 2004; LX(6):44-48.

| Е | К | С | П | Е | Р | И | М | Е | Н | Т | А | Л | Н | А | Х | И | Р | У | Р | Г | И | Я |

| E | X | P | E | R | I | M | E | N | T | A | L | S | U | R | G | E | R | Y |

## Тромбообразуване в мезентериум и ерозирана стомашна лигавица на плъх порода *Wistar* след въздействие с катеноиден ултразвуков преобразувател

Е. Лакова<sup>1</sup>, Г. Георгиев<sup>1</sup>, М. Николова<sup>1</sup>, Р. Начев<sup>1</sup>, А. Стоянова<sup>1</sup>,  
А. Димитрова<sup>1</sup>, Д. Страшимиров<sup>1</sup>, А. Алексиев<sup>2</sup>, М. Миховски<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ВМИ – Плевен, <sup>2</sup>БАН – София

## Clotting Induction in the Mesenterium and Erosive Stomach Mucosa of a „Wistar“ Breed Rat Follows the Operation of a Catenoidal Ultrasonic Transducer

E. Lakova<sup>1</sup>, G. Georgiev<sup>1</sup>, M. Nikolova<sup>1</sup>, R. Nachev<sup>1</sup>, A. Stoyanova<sup>1</sup>,  
A. Dimitrova<sup>1</sup>, D. Strashimirov<sup>1</sup>, A. Alexiev<sup>2</sup>, M. Mihovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Higher Med. Inst. – Pleven, <sup>2</sup>Bulg. Acad. Sci. – Sofia

| Р | е | з | ю | м | е |

| A | b | s | t | r | a | c | t |

Трансдусерите и свързаните с тях инструменти, използвани в хирургията, работят в диапазона от 1 до 10 MHz и отделят значителна топлина в околните тъкани. Те се нуждаят от допълнителна система за охлаждане, което сериозно усложнява и затруднява работата с оборудването. Ефект на кръвоспиране би могъл успешно да се достигне и от ултразвуков преобразувател, работещ в килохерцовия честотен диапазон, без да се стига до недопустимо прегряване на тъканите извън зоната на действие. Представени са резултати от изследването на периодичен акустичен сигнал с честота 60 kHz върху стомашна лигавица и мезентериум от 28 плъха порода *Wistar* при експозиция върху тъканите между 1–10 минути. Чрез използване на катеноиден полуълнов концентратор се достига максимална излъчена мощност на ултразвуковата вълна, както и избягване на топлинните ефекти. Доказва се, че употребата на мощен и локализиран ултразвук довежда до пердиapedезни микрохеморагии с извънсъдово коагулообразуване в ерозирана стомашна лигавица от плъх. Промените са строго ограничени в мястото на контакт на излъчвателя и подлежат на контрол в хода на въздействието.

Ключови думи: ултразвук, тромбообразуване, гастроинтестинални ерозии

The ultrasonic transducers and instruments used in surgery operate in the range of 1–10 MHz and release significant heat in the surroundings. They need additional cooling system which significantly raises the cost and impedes the equipment operation. Hemostasis can be successfully achieved by employing ultrasonic transducers that operate in the kilohertz range, avoiding the occurrence of inadmissible tissue overheat outside the area of the transducer performance. The paper presents results of the approbation of the effect of a periodical acoustic signal with frequency of 60 kHz over the erosive stomach mucosa and mesenterium of 28 rats, „Wistar“ breed, and the period of tissue exposure is 1–10 min. A transducer-catenoidal semi-wave concentrator that provides maximum emitted power of the ultrasonic wave is used and thermal effects are avoided. It is proved that the use of a powerful and localized ultrasonic signal results in erythrocyte diapedesis and forms microhaemorrhages together with an out-vessel coagulation in the rat stomach mucosa. The tissue damages are strictly limited within the area of the emitter contact and they are subject to control during the ultrasonic performance.

Key words: ultrasound, thrombosis, gastro-intestinal erosions

### Увод

При хистологично изследване на тъкани от бозайници след облъчване на честота 1 MHz се наблюдават увреди на стените на кръвоносните съдове. Предполага се, че този ефект се дължи на значителните механични напрежения, свързани с акустични потоци в кръвната плазма, близо до съдовата стена [1, 2]. Изследването на ултразвуковото въздействие върху кръвта показва, че най-малко чувствителни са облъчване са еритроцитите. Счита се, че наблюдаваната хемолiza се дължи на кавитацията или високо хидродинамично налягане [3, 4]. Хе-

молiza би могла да възникне и в условия на терапевтични интензивности при колапсираща кавитация в зона на турбулентни потоци [5]. Клетъчната лиза, ако се получи, е мигновена – след ултразвуково облъчване почувствителни са клетки в стадий на митоза [6].

Не са ясни механизмите на лиза при отсъствие на кавитационни ефекти. *In vitro* е доказано, че тромбоцитите се увреждат при стойности на интензитета на ултразвуковите трептения в обкръжаващата течност, съществено по-ниски от тези, които увреждат други кръвни компоненти – под 0.8 W/cm<sup>2</sup> [5].

40. Страшимиров Д, Е. Лакова, К. Мутафчиев, А. Димитрова, П. Йорданова-Лалева, Д. Деков. Ефект на неонаталната тимектомия върху серумните концентрации на мед, желязо и манган при Wistar плъхове. Известия на съюза на учените. Варна 2004/2005;(2/1):45-47.

## ЕФЕКТ НА НЕОНАТАЛНАТА ТИМЕКТОМИЯ ВЪРХУ СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА МЕД, ЖЕЛЯЗО И МАНГАН ПРИ WISTAR ПЛЪХОВЕ

Доц. д-р Денко Страшимиров, д-р Емилия Лакова,  
доц. Константин Мутафчиев, д-р Анелия Димитрова,  
д-р Павлина Йорданова-Лалева, д-р Данчо Деков

**Keywords:** copper, iron, manganese, neonatal thymectomy, rats

### Увод

Тимусът функционира и като ендокринна жлеза, която сенамира в двустранни взаимовръзки с останалите органи от ендокринната система. Така той регулира различни функции и обменни процеси, включително обмяната на микроелементи в организма на бозайниците.

В настоящата работа е изследвано влиянието на тимуса върху нивото на медта, желязото и мангана при полово зрели женски и мъжки плъхове.

### Материал и методи

Експериментите са проведени на 51 плъха порода Wistar. На 30 плъха е направена неонатална тимектомия по метода на Узунова [3], в първите 24 ч след раждането. Тимектомираните животни са разпределени по пол - мъжки (ТМ),  $n = 14$  и женски (ТЖ),  $n = 16$ . В експеримент са използвани на възраст 4-6 мес. Като контроли служат лъжливо-тимектомирани плъхове от двата пола - мъжки (ЛТМ),  $n = 12$  и женски (ЛТЖ),  $n = 9$  на възраст 4 мес. Кръвта за изследване е взета сутрин на гладно, под лека етерна наркоза, след обезкървяване чрез пунктиране на абдоминалната аорта и е събирана във вакутейнери (Beckton Dickinson) за микроелементи. Серумите са приготвени по стандартен начин и са съхранявани при температура  $-20^{\circ}\text{C}$ . Съдържанието на мед е определяно по спектро-

### Summary

The present study was designed to determine whether the thymus gland alters serum levels of copper, iron and manganese. Above mentioned trace elements were measured in neonatally thymectomised 4-6-month-old female and male rats and their age- and sex-matched controls. The results indicate that there is an increase in serum levels of manganese after neonatal thymectomy in rats of both sexes and trends to elevation of serum copper and decrease of serum iron in the same animals.

тометричен метод с реактиви на фирмата Randox и се измерва в  $\mu\text{mol} / \text{l}$ . Съдържанието на желязото е определяно по спектрофотометричен метод с реактиви на фирмата Biolabo и се измерва в  $\mu\text{mol} / \text{l}$ . Съдържанието на манган в серума е определяно с каталитичен спектрофотометричен метод [6] и се измерва в  $\text{ng} / \text{ml}$ .

Всички данни са представени като  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . Разликите между групите са анализирани с помощта на  $t$ -теста на Стюдент и  $p < 0,05$  се приема за статистически значима разлика.

### Резултати и обсъждане

От резултатите представени на табл. I се вижда, че няма полови различия при контролните и тимектомираните плъхове по отношение на медта. Неонаталната тимектомия не води до съществени различия в серумните нива на медта спрямо

41. Русева Б, П. Лалева, Д. Страшимиров, В. Петкова, А. Димитрова, К. Мутафчиев. Влияние на диетата с различно селеново съдържание върху артериалното налягане и ензимната активност на глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа при спонтанно-хипертензивни плъхове. Известия на съюза на учените. Варна 2005/2006; (2/1):41-44.

# ВЛИЯНИЕ НА ДИЕТАТА С РАЗЛИЧНО СЕЛЕНОВО СЪДЪРЖАНИЕ ВЪРХУ АРТЕРИАЛНОТО НАЛЯГАНЕ И ЕНЗИМНАТА АКТИВНОСТ НА ГЛУТАТИОН ПЕРОКСИДАЗА, ГЛУТАТИОН РЕДУКТАЗА И ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА ПРИ СПОНТАННО-ХИПЕРТЕНЗИВНИ ПЛЪХОВЕ

Б. Русева, П. Лалева, Д. Страшимиров, В. Петкова,  
А. Димитрова, К. Мутафчиев

**Keywords:** selenium, blood pressure, anti-oxidant enzymes, SHR

## Введение

Глутатион пероксидазата (GPX), глутатион редуктазата (GRD) и глюкозо-6-фосфат дехидрогеназата (G-6-PDH), са част от ендогенната антиоксидантна защитна система на организма, чиято активност има значение за превенцията и лечението на заболявания, дължащи се на оксидативния стрес. Активността на селенопротеина GPX, зависи от серумната концентрация на селен (Se), която е функция от дневния му прием. Понижената активност на този ензим, поради недостатъчен внос на кофактора, може да бъде причина за дисбаланс в антиоксидантната защита срещу реактивните форми на кислорода и да доведе до дисфункция и морфологични промени в съдова стена, миокард и бъбрек. Експериментално е установено, че диета със съдържание 0,1 µg Se / g храна е достатъчна за нормален растеж и репродукция на всички видове бозайници. Биологичната роля на селенопротеините при бозайниците е свързана с оптималната ендокринна и имунна функция, превенция от сърдечно-съдови и ракови заболявания [1,2,3,13].

Целта на настоящето изследване е да установи има ли промени в артериалното налягане (АН); активността на селензависимата GPX, GRD и G-6-PDH при спонтанно-хипертензивни плъхове (SHR) на диета с различно селеново съдържание.

## Summary

The aim of our investigation is to determine influence of the diet with different selenium (Se) content on the blood pressure (BP) and enzyme activity of glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GRD) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) in spontaneously hypertensive rats (SHR). 43 male SHR are used, separated into 3 groups: low Se, supplementation with Se and adequate Se diet. No changes of BP were observed in the rats with Se supplementation, while BP in the other 2 groups is significantly increased, after 8 weeks long diet. No significant difference of GPX and GRD activity between groups, but G-6-PDH activity of the rats with Se supplementation is significantly lower, compared to rats of low Se diet. There is moderately strong relationship between GPX and G-6-PDH activity in the group with Se supplementation ( $r=0.68$ ).

## Материал и методи

В експеримента бяха използвани 43 мъжки плъха SHR. След навършване на едномесечна възраст, животните бяха разделени в 3 работни групи и подложени на 8 седмична диета с различно селеново съдържание, както следва: 1ва група SHR – 0.05 µg Se /g храна (156p.); 2ра група SHR – 0.25 µg/g (156p.); 3та група

42. **Dimitrova A**, D. Strashimirov, T. Betova, A. Russeva, M. Alexandrova, M. Apostolova. Zinc content in the diet affects the expressional changes of Cu/ZnSOD in aorta of spontaneously hypertensive rats. Scripta scientifica Medica 2007;39(2):137-141.

## ZINC CONTENT IN THE DIET AFFECTS THE EXPRESSIONAL CHANGES OF CU/ZNSOD IN AORTA OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

*A. Dimitrova<sup>1</sup>, D. Strashimirov<sup>1</sup>, T. Betova<sup>2</sup>, A. Russeva<sup>3</sup>, M. Alexandrova<sup>4</sup>, M.  
Apostolova<sup>5</sup>*

<sup>1</sup>Medical University, Dept. of Pathophysiology, Pleven, Bulgaria, <sup>2</sup>Medical University, Dept. of Pathoanatomy, Pleven, Bulgaria, <sup>3</sup>Medical University, Dept. of Clinical Laboratory, Pleven, Bulgaria, <sup>4</sup>Medical University, Dept. of Biophysics, Pleven, Bulgaria, <sup>5</sup>Institute of Molecular Biology, Lab Med & Biol Res, Sofia, Bulgaria

Reviewed by: Assoc. Prof. N. Negrev, MD, PhD

### SUMMARY

Oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) plays an important role in development of hypertension. Vascular cells have a complex antioxidant system for protection against increased oxidative stress. Zinc is a cofactor of one of the most important antioxidant enzyme – copper-zinc superoxide dismutase (Cu/ZnSOD). The aim of the present study was to examine the effects of feeding different Zn containing diets (40, 60, 160 mg Zn/kg lab chow) on the activity and expression of Cu/ZnSOD in aorta of male (n=27) spontaneously hypertensive rats (SHR). The diets were introduced at the beginning of the development of hypertension (2 months after birth) and the animals were fed for 8 weeks. Cu/ZnSOD expression was analyzed by immunohistochemistry and the activity was measured by RANSOD kit (RANDOX). Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn and Cu concentrations in the rat's sera. Cu/ZnSOD was mainly expressed in medial smooth muscle cells and it had a weak immunoreactivity in the endothelium. In the group with Zn supplementation diet (160 mg Zn/kg lab chow), Cu/ZnSOD staining was more enhanced in the smooth muscle cells and endothelium, and the systolic blood pressure was significantly decreased ( $P<0.05$ ) in comparison with the groups fed with other Zn diets (40 or 60 mg/kg lab chow). The change in Cu/ZnSOD activity correlates well with the protein expression and with the arterial blood pressure alterations. The present data suggest that Zn concentration in the diet may play an important role in the regulation of the blood pressure and may in part be a critical nutrient for maintenance of anti-oxidative events in the endothelial cells in SHR.

### INTRODUCTION

Zinc is a critical component of biomembranes and is essential for proper membrane structure and function and the activity of numerous enzymes (Oteiza PL, 1996). It could conceivably limit oxidant-induced damage. Some possible antioxidant actions of zinc include: a) Stabilization of membrane structure (Di Silvestro R., 2000); b) Restriction of endogenous free radical production (Sakanashi TM, 1993); c) Contribution to the structure of the antioxidant enzyme extracellular superoxide dismutase (Miller AF., 2004); d) Maintenance of tissue concentrations of

metallothionein, a possible scavenger of free radicals (Cousins RJ., 1995).

It has been shown that Zn deficiency aggravates arterial blood pressure in SHR rats by decreasing Cu/ZnSOD activity and increases lipid peroxidase, which is a binding segment between hypercholesterolemia and atherosclerosis (Khoja SM, 2002; Mertens A, 2001). There are also data indicating that changes in the serum zinc concentrations can alter Cu/ZnSOD activity, cholesterol (Chol), and triglycerides (Tg) concentrations, and the level of mmLDL in rats (Yousef MI, 2002).

The present study focused on the effect of Zn containing diets on the activity and expression of Cu/ZnSOD, arterial blood pressure, lipid peroxides (ROOH), lipid variables (LDL, HDL, triglycerides and cholesterol) in male SHR rats.

#### Address for correspondence:

A. Dimitrova, Dept of Pathophysiology, Medical University – Pleven,  
Medical University, 1 St. Kl. Ohridski Str., 5800 Plevan, BULGARIA  
E-mail: nelly\_pleven@abv.bg

43. **Димитрова А, Д. Страшимиров, Т. Бетова, А. Русева, М. Атанасова, М. Апостолова.** Експресия на медно-цинковата супероксиддисмутаза в бъбрек и черен дроб на спонтанно хипертензивни плъхове, подложени на цинкови диети. Известия на съюза на учените Варна 2007;(1):12-14.

## ЕКСПРЕСИЯ НА МЕДНО-ЦИНКОВАТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА В БЪБРЕК И ЧЕРЕН ДРОБ НА СПОНТАННО ХИПЕРТЕНЗИВНИ ПЛЪХОВЕ, ПОДЛОЖЕНИ НА ЦИНКОВИ ДИЕТИ

А. Димитрова<sup>1</sup>, Д. Страшимиров<sup>1</sup>, Т. Бетова<sup>2</sup>, А. Русева<sup>3</sup>,  
М. Атанасова<sup>1</sup>, М. Апостолова<sup>4</sup>

**Keywords:** zinc, SHR, Cu/ZnSOD, kidney, liver, immunohistochemistry

### ВЪВЕДЕНИЕ

Цинкът има антиоксидантни свойства, свързани със стабилизиране на мембраните на клетките, което ги прави устойчиви на оксидативен стрес, намалява продукцията на ендогенни свободни радикали и е кофактор на медно-цинковата супероксиддисмутаза (Cu/ZnSOD) – един от най-важните антиоксидантни ензими [1, 2].

Cu/ZnSOD е ензим, който се открива във всички клетки на организма, но неговото просъствие е особено изразено в черния дроб и бъбреците. Протективната роля на супероксиддисмутазите в оксидативния стрес се доказва от много изследователи, тъй като добавянето на SOD към култури от ендотелни клетки намалява оксидацията на LDL [3], намалява експресията на ICAM-1 [4], предотвратява апоптозата на ендотелните клетки в присъствието на свободни радикали [5] и намалява oxLDL-индуцираната апоптоза в гладкомускулните клетки [6].

Целта на настоящето проучване е да се изследва чрез имунохистохимичен метод промените в експресията на Cu/ZnSOD в бъбрек и черен дроб при плъхове SHR, подложени на различни цинкови диети.

### DIETARY ZINC AFFECTS THE EXPRESSIONAL CHANGES OF COPPER/ZINC SUPEROXIDE DISMUTASE IN KIDNEY AND LIVER OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

*The aim of the present study was to examine the effects of feeding different Zn containing diets (50, 155, 250 mg Zn/kg lab chow) on the expression of Cu/ZnSOD in kidney and liver of spontaneously hypertensive rats (SHR). Male SHR (n=35) were studied. Cu/ZnSOD expression was analyzed by immunohistochemistry. Cu/ZnSOD was mainly expressed in the tubular epithelial cells in the kidney. In the liver Cu/ZnSOD was expressed in the hepatocytes and it had an intense immunoreactivity in endothelial cells of interstitial arterial vessels. In the groups with Zn supplementation diet (250 mg Zn/kg diet), Cu/ZnSOD staining was more enhanced in the hepatocytes and interstitial arterial vessels in comparison with the groups fed with Zn diet (50 mg/kg lab chow), (p=0.0078). The present data suggest that Zn concentration in the diet may play an important role in the expression of Cu/ZnSOD and may in part be a critical nutrient for maintenance of anti-oxidative events in kidney and liver in SHR.*

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследването се проведе на 35 мъжки плъха порода SHR. Животните са разделени на три групи на диета с различно съдържание на цинк. Първа група (Г1, n=12) на диета с Zn (50 mg/kg диета), вто-

1. Катедра "Биология и патофизиология" на МУ – Плевен  
2. Медицински университет – Катедра "Обща и клинична анатомия" Плевен  
3. "Централна клинична лаборатория" на УМБАЛ – Плевен ЕАД  
4. Институт по молекулярна биология Лаборатория по медико-биологични изследвания БАН-София

44. **Димитрова А**, Д. Страшимиров, Т. Бетова, Б. Маринов, Г. Иванов, Д. Стайков, М. Апостолова. Промени в експресията на Cu/ZnSOD и eNOS в абдоминалната аорта на пациенти с атеросклероза. *Trakia Journal of Sciences* 2008;6(Suppl 2):40-44.



Trakia Journal of Sciences, Vol. 6, No. 2, pp 40-44, 2008  
Copyright © 2008 Trakia University  
Available online at:  
<http://www.uni-sz.bg>

ISSN 1312-1723

*Original Contribution*

**ПРОМЕНИ В ЕКСПРЕСИЯТА НА Cu/ZnSOD И eNOS В АБДОМИНАЛНАТА  
АОРТА НА ПАЦИЕНТИ С АТЕРОСКЛЕРОЗА**

**А. Димитрова<sup>1</sup>, Д. Страшимиров<sup>1</sup>, Т. Бетова<sup>2</sup>, Б. Маринов<sup>3</sup>, Г. Иванов<sup>4</sup>,  
Д. Стайков<sup>4</sup>, М. Апостолова<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Катедра "Биология и патофизиология", Медицински университет –Плевен

<sup>2</sup> Катедра "Обща и клинична патология" Медицински университет –Плевен

<sup>3</sup> Катедра "Патофизиология" Медицински университет- Пловдив

<sup>4</sup> Катедра "Обща и клинична патология" Медицински университет- Пловдив

<sup>5</sup> Институт по молекулярна биология, Лаборатория по МБИ, БАН-София

**EXPRESSSIONAL CHANGES OF Cu/ZnSOD AND eNOS IN ABDOMINAL  
AORTA IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS**

**A. Dimitrova<sup>1</sup>, D.Strashimirov<sup>1</sup>, T.Betova<sup>2</sup>, B. Marinov<sup>3</sup>, G. Ivanov<sup>4</sup>,  
D. Staikov<sup>4</sup>, M. Apostolova<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Medical University, Department of Biology and Pathophysiology, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Medical University, Department of Pathoanatomy, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Medical University, Department of Pathophysiology, Plovdiv, Bulgaria

<sup>4</sup>Medical University, Department of Pathoanatomy, Plovdiv, Bulgaria

<sup>5</sup>Institute of Molecular Biology, Lab Med & Biol Res, Sofia, Bulgaria

**ABSTRACT**

Oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) play an important pole in atherogenesis. The aim of present study was to examine the role of copper/zinc superoxide dismutase (Cu/ZnSOD) and endothelial nitric oxide (eNOS) in the development of atherosclerosis. We have investigated the expressional changes of Cu/ZnSOD and eNOS in human abdominal aorta by immunohistochemistry. In nonatherosclerotic aorta Cu/ZnSOD was expressed in medial smooth muscle cells (SMC) and weakly in endothelium, whereas eNOS was expressed mainly in endothelium. The expression of Cu/ZnSOD increased in atheromatous plaques, while the expression of eNOS decreased. In response to oxidative stress, the antioxidant enzyme Cu/ZnSOD was upregulated in atherosclerotic lesions and eNOS was downregulated.

**Key words:** atherosclerosis, Cu/ZnSOD, eNOS, abdominal aorta, immunohistochemistry

45. Betova T, S. Popovska, T. Veselinova, D. Dardanov, **A. Dimitrova**, D. Strashimirov, I. Ivanov. C-KIT Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors –

### **C-KIT MUTATIONS IN GASTROINTESTINAL STROMAL TUMORS – MORPHOLOGICAL, BIOLOGICAL AND GENETICAL ASPECTS**

Betova T., Popovska S., Veselinova T., Dardanov D.\*, Dimitrova A.\*\*\*, Strashimirov D.\*\*\*, Ivanov I.  
Department of General and Clinical Pathology MU-Pleven, Georgi Kochev 8A, Pleven 5800, Bulgaria  
e-mail: betova @abv.bg

\*Department of Surgical Oncology MU-Pleven

\*\*\*Department of General Biology and Pathophysiology MU-Pleven

**Abstract.** Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs) are defined as mesenchymal tumors and 95% of them showed mutation in KIT gene. Our aim is to investigate the significance of C-KIT mutation for GISTs, biological mechanism and detected by immunohistochemistry. Three cases were observed in the stomach, per one of the small bowel, rectum, colon and the rest were extragastrointestinal. Of these tumors five were classified as benign, three as malignant and one was diagnosed as borderline tumor. Immunohistochemical analysis showed C-KIT (CD117) positivity in all cases. Identification and expression of C-KIT mutation with immunohistochemical method is the gold standard for diagnosing GISTs.

**Key words:** Gastrointestinal Stromal Tumors, C-KIT, Immunohistochemical analysis

### **INTRODUCTION**

Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs) are the most common mesenchymal tumors previously uniformly smooth muscle of the human gastrointestinal tract (GIT) [7]. From all tumors in GIT the GISTs are 0,1-3% [4]. A big contribution are the investigations about C-KIT protooncogene to the differentiation between these tumors, to understanding their biology, as well as to the following treatment.

**AIM** of the our study was to investigate the significance of C-KIT mutation for GISTs, biological mechanism and Immunohistochemical expression of this mutation.

### **MATERIALS AND METHODS**

Retrospectively for the period 2003-2006 in the Department of General and Clinical Pathology - MU-Pleven were examined 9 GISTs. Basically the materials were obtained by Department of Surgical Oncology and Second Surgical Clinic-UMBAL-Pleven, with clinical diagnoses leiomyoma, leiomyosarcoma and tumor abdominis.

For this purpose were used routine histological methods (hematoxylin&eosin-HE, Van Gieson) and Immunohistochemical with polyclonal antibodies from DAKO corp. for C-KIT (CD117), CD34, LSMA, Desmin, S100 protein. Histologic evaluation – 1 to 4 HE slides were reviewed for each case. Per every case was made a morphological mark including: type of the majority cells (spindle vs. epithelioid), skeinoid fibres, mucosal ulceration, mitoses (counted from 50/HPF), coagulation necrosis, infiltrative growth pattern, lymph node involvement, distant metastasis and size of tumor.

### **RESULTS**

Three of the nine cases are women and the rest six are men. The age range is from 40-71 years. The sizes of the tumors varies between 2-15cm. Three cases were observed in the stomach, one in the small bowel, one in rectum-sigma, one colon, one omentum, and two mesentery. Of these tumors five were classified as benign (fig. 1), three as malignant based on size more than 10cm and metastases in liver,

46. **Dimitrova A**, D. Strashimirov, T. Betova, A. Russeva, M. Apostolova. Zinc content in the diet affects the expressional changes of copper/zinc superoxide dismutase in pancreas of spontaneously hypertensive rats. Scientific research journal of south-west university 2008;1(1):17-21.

## ARTICLE

### Zinc content in the diet affects the expressional changes of copper/zinc superoxide dismutase in pancreas of spontaneously hypertensive rats

ANELIA DIMITROVA<sup>1</sup>, DENKO STRASHIMIROV<sup>1</sup>, TATIANA BETOVA<sup>2</sup>, ADELAIDA RUSSEVA<sup>3</sup>, & MARGARITA APOSTOLOVA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Medical University, Department of Pathophysiology, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup> Medical University, Department of Pathoanatomy, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup> Medical University, Department of Clinical Laboratory, Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup> Institute of Molecular Biology, Laboratory for Med & Biol. Research, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

#### Abstract

The present study was undertaken to determine the interactions between dietary supplements of zinc (Zn) containing diet (50 or 155 or 250 mg Zn/kg lab chow) on the activity and expression of copper/zinc superoxide dismutase (SOD-1) in the pancreas of spontaneously hypertensive rats (SHR). The activity of SOD-1 was significantly increased in SHR fed on a Zn diet (250 mg/kg) in comparison with SHR fed on a Zn diet (50 mg/kg), ( $p=0.015$ ). Expression of SOD-1 was present in Langerhans island and ductal epithelial cells of the pancreas and increased according to the Zn diet, reaching the highest level in diet with Zn diet (250 mg/kg). Our results suggest that Zn concentration in the diet plays an important role in the expression of SOD-1 and can be a critical nutrient for the maintenance of anti-oxidative events in the pancreas of SHR.

**Keywords:** Zn; SOD-1; immunohistochemistry; spontaneously hypertensive rats

#### Introduction

Zinc (Zn) is an essential micronutrient directly involved in insulin physiology. It plays a fundamental role in the storage and regulation of in vivo insulin action; however, the interrelationship between Zn,  $\beta$ -cells and diabetes seems to be complex (Ho et al., 2001). There are several mechanisms by which Zn supplementation may prevent islet cell death. Firstly, Zn is known to have several unique antioxidant properties. It acts to stabilize membrane structure (Di Silvestro, 2000) and protects sulfhydryl groups from oxidation. Zn also may compete with iron (Fe), a potent inducer of toxic Fenton reactions, which result in the production of hydroxyl radicals. Zn is also an essential cofactor in antioxidant enzyme copper/zinc superoxide dismutase (SOD-1), one of the first-line defence enzymes in scavenging reactive oxygen species (Miller, 2004). Transgenic animals that over-

express SOD-1 are also protected against developing alloxan and STZ-induced diabetes (Kubisch et al., 1997).

The present study was undertaken to determine the interactions between dietary supplements of Zn containing diet (50 or 155 or 250 mg Zn/kg lab chow) on the activity and expression of SOD in pancreas of spontaneously hypertensive rats (SHR).

#### Materials and methods

Male SHR ( $n=35$ ) were used. Animals were housed in groups of 5 per cage and kept under a normal 12 h light/dark cycle at  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Rats were allowed access to food and water *ad libitum*. They were randomly divided into 3 groups:

1. Group 1 (G1,  $n = 12$ ) - 50 mg Zn /kg diet;
2. Group 2 (G2,  $n = 13$ ) - 150 mg Zn /kg diet;

Correspondence: A. Dimitrova, Medical University, Department of Pathophysiology, Pleven, Bulgaria. E-mail: nelly\_pleven@abv.bg

ISSN 1313-4558

47. **Димитрова А, И. Стоилова, М. Атанасова, М. Георгиева, Д. Страшимиров.** Еластинов метаболизъм при пациенти с професионално обусловена вегетативна полиневропатия на горните крайници. Международна научна конференция. Ст. Загора 2008; оптичен носител с ISBN 978-954-93-2944-5.

## ЕЛАСТИНОВ МЕТАБОЛИЗЪМ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ПРОФЕСИОНАЛНО ОБУСЛОВЕНА ВЕГЕТАТИВНА ПОЛИНЕВРОПАТИЯ НА ГОРНИТЕ КРАЙНИЦИ

<sup>1</sup>Анелия Димитрова, <sup>2</sup>Ирена Стоилова, <sup>1</sup>Милена Атанасова, <sup>3</sup>Миглена Георгиева,  
<sup>1</sup>Денко Страшимиров

<sup>1</sup>Катедра „Биология и патологична физиология“, Медицински факултет, Медицински  
Университет, ул. „Кл. Охридски“ 1, 5800 Плевен, България  
e-mail: anelija.dimitrova@gmail.com

<sup>2</sup>Катедра „Хигиена, медицинска екология, професионални заболявания и медицина на  
бедствените ситуации“ Медицински факултет, Медицински Университет, ул. „Кл.  
Охридски“ 1, 5800 Плевен, България

<sup>3</sup>Център по клинична имунология, УМБАЛ, ул. „Г. Кочев“ 8А, 5800 Плевен, България

## ELASTIN TURNOVER IN PATIENTS WITH OCCUPATIONAL VEGETATIVE POLYNEUROPATHY OF UPPER LIMBS

<sup>1</sup>Anelia Dimitrova, <sup>2</sup>Irena Stoilova, <sup>1</sup>Milena Atanasova, <sup>3</sup>Miglena Georgieva, <sup>1</sup>Denko  
Strashimirov

<sup>1</sup>Department of Biology and Pathophysiology, Medical University - Pleven,  
1 Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Hygiene, Medical ecology and Occupational diseases, Medical University -Pleven,  
1 Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

<sup>3</sup>Center of Clinical Immunology, University Hospital, 8A G. Kochev str., 5800 Plevan, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine antibodies (Abs) to tropoelastin (elastin precursor) and alpha-elastin (elastin breakdown product) in patients with occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs (OVPUL). Serum samples from 9 female patients with OVPUL were compared with samples from 7 age-matched healthy normal control subjects for the level anti- $\alpha$ -elastin Abs and anti-tropoelastin using enzyme-linked immunosorbent assays. Anti- $\alpha$ -elastin Abs in the sera of patient with OVPUL were increased relative to the levels measured in healthy subjects ( $p < 0.05$ ). The ratio of anti-tropoelastin to anti- $\alpha$ -elastin Abs were 1.73 versus 1.13 for control and OVPUL subjects, respectively. This suggests an altered elastin metabolism in terms of increased elastin degradation in patients with OVPUL.

**Key words:** occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs, anti-elastin antibodies, anti-tropoelastin antibodies, elastin metabolism

### УВОД

Професионално обусловената вегетативна полиневропатия (ВПНП) на горните крайници е заболяване, което се предизвиква от системно динамично пренапрежение, микротравматизация или натиск на структурите на ръцете, от студово въздействие, особено съчетано с повишена влажност в условията на труд. Проявява се с регионален болков синдром в дисталните части на горните крайници, терморегулаторни, съдовомоторни, невроваскуларни и невродистрофични нарушения [1].

Най-честата причина за ВПНП на горните крайници от рискови фактори в условията на труда е физическото претоварване на мускулите и ставите и системното увреждане на съдовете и периферните нерви (крайните сетивни и вегетативни разклонения и рецептори) на ръцете при продължително извършване на повтарящи се бързи, чести, стереотипни, малко по обем движения на пръстите и ръцете, ежедневно, в продължение на години.

Намаленият кръвоток в периферните съдове, водещ до хипоксия и болка е един от важните фактори в патогенезата на ВПНП на горните крайници [16].

48. Русева Б, А. Димитрова, П. Лалева, К. Цачев, В. Петкова, М. Александрова.

Влияние на различния селенов прием върху глутатионпероксидазна активност и липиден профил при спонтанно-хипертензивни плъхове. Международна научна конференция. Ст. Загора 2008; оптичен носител с ISBN 978-954-93-2944-5.

**ВЛИЯНИЕ НА РАЗЛИЧНИЯ СЕЛЕНОВ ПРИЕМ ВЪРХУ  
ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗНА АКТИВНОСТ И ЛИПИДЕН ПРОФИЛ НА  
СПОНТАННО-ХИПЕРТЕНЗИВНИ ПЛЪХОВЕ**

**Боряна Русева, Анелия Димитрова, Павлина Лалева\*, Камен Цачев\*\*, Валентина  
Петкова\*, Маргарита Александрова**

*М У - Плевен, Факултет по медицина, 5800 гр. Плевен, Р България*

*\* М У – Плевен, УМБАЛ, 5800 гр. Плевен, Р България*

*\*\* М У - София, УМБАЛ „Александровска“, 1431 гр. София, Р България*

*e-mail: [ruseva.bk@mail.bg](mailto:ruseva.bk@mail.bg)*

**INFLUENCE OF DIFFERENT SELENIUM INTAKE ON GLUTATHIONE  
PEROXIDASE ACTIVITY AND LIPID PROFILE OF SPONTANEOUSLY  
HYPERTENSIVE RATS**

**Boryana Ruseva, Anelia Dimitrova, Pavlina Laleva\*, Kamen Tzatchev\*\*, Valentina  
Petkova\*, Margarita Aleksandrova**

*Medical University – Pleven, Faculty of Medicine, 5800 Plevan, Bulgaria*

*\* Medical University – Plevan, University Hospital, 5800 Plevan, Bulgaria*

*\*\* Medical University – Sofia, University Hospital “Aleksandrovska”, 1431 Sofia, Bulgaria*

*e-mail: [ruseva.bk@mail.bg](mailto:ruseva.bk@mail.bg)*

**Abstract**

Selenium (Se) is an essential trace element. The physiological effects of selenium occur mainly through the function of selenoproteins (glutathione peroxidases, thioredoxin reductases, iodothyronine deiodinases). Their tissue expression depends on daily Se intake.

The aim of this study is to investigate the changes of glutathione peroxidase activity and indicators of lipid profile in spontaneously hypertensive rats (SHR) under diet with different content of selenium. 24 male SHR are used, separated into 3 groups: diet with Se supplementation, adequate Se diet, low Se diet. The results of serum Se concentration, glutathione peroxidase activity and HDL-cholesterol fraction of high Se diet SHR are significantly higher than those of the other groups ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** selenium, SHR, glutathione peroxidase activity, lipid profile

Селенът (Se) е есенциален микроелемент за всички познати форми на живот. Той е кофактор на селенопротеините. Известни са над 30 селенопротеина разпределени в 3 фамилии: глутатион пероксидази (GPx); тиоредуксин редуктази; йодтиронин дейодинази. При физиологични условия тези ензими изпълняват метаболитни и физиологични функции като: антиоксидантна защита, фертилитет, развитие и функциониране на мускулите, метаболизъм на тиреоидните хормони и имунитет. Експресията на селенопротеините при човека е кодирана в 25 селенопротеинови гена. Доминиращ контрол над нея има селеновият прием. Селенът постъпва в организма основно с храната. Експериментално е установено, че диета със съдържание 0,1 µg Se /g храна е достатъчна за нормален растеж и репродукция на всички видове бозайници (3,4,7).

Целта на настоящето изследване е да установи как различният селенов прием повлиява активността на ензима GPx-I и липидния профил при спонтанно-хипертензивни плъхове.

49. **Димитрова А, С. Тишева, А. Русева, И. Генчева, Д. Страшимиров, К. Цачев**  
Антиоксидантен кръвен статус и основни микроелементи (Cu, Zn, Se) при  
пациенти с артериална хипертензия. *Българска кардиология* 2007;13:211-  
217.



ДРУЖЕСТВО НА  
КАРДИОЛОЗИТЕ В  
БЪЛГАРИЯ



## АНТИОКСИДАНТЕН КРЪВЕН СТАТУС И ОСНОВНИ МИКРОЕЛЕМЕНТИ (Cu, Zn, Se) ПРИ ПАЦИЕНТИ С АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТОНИЯ

А. Димитрова,<sup>1</sup> С. Тишева,<sup>2</sup> А. Русева,<sup>3</sup> И. Генчева,<sup>3</sup> Д. Страшимиров,<sup>1</sup> К. Цачев<sup>4</sup>

Катедра "Биология и патологична физиология", МУ, Плевен<sup>1</sup>

Катедра по вътрешни болести-Клиника по кардиология и ревматология, МУ, Плевен<sup>2</sup>

Централна клинична лаборатория, УМБАЛ, Плевен<sup>3</sup>

Катедра "Клинична лаборатория", МУ, София<sup>4</sup>

### Резюме

Оксидативният стрес увеличава реактивните форми на кислорода (ROS) и играе важна роля в патогенезата на артериалната хипертония (АХ).

Цел: Да се потвърдят промени в активността на медно-цинковата супероксиддисмутаза (Cu/ZnSOD), глутатион-пероксидаза (GPx-I), тоталния антиоксидантен статус (ТАОС) и серумната концентрация на Zn, Cu и Se при пациенти с АХ.

Материал и методи: Изследването е проведено на 42 пациенти, разделени на три групи: Г1 - с АХ II ст. (n=15, средна възраст 61,0±3,57 г.), Г2 - с АХ I ст. (n=16, 55,7±5,1 г.) и Г3 - контрола (n=11, 56,6±2,87 г.). Серумните нива на Zn, Cu и Se са изследвани с атомно-абсорбционен спектро-фотометричен метод. Активността на Cu/ZnSOD е измерена в еритроцити с тест RANSOD, а активността на GPx-I - с тест RANSEL (RANDOX). ТАОС е определен с кит на същата фирма.

Резултати: Установи се статистически достоверно увеличение (P<0,05) както на ТАОС в група Г3 (1,62±0,11) спрямо Г1 (0,91±0,07), така и на активността на Cu/ZnSOD в еритроцитите при Г3 (1512,09±93,7) спрямо Г2 (1303,18±42,1) и Г1 (1305,2±48,4), (P<0,05). Активността на GPx-I е повишена статистически достоверно при Г3 (13841,6±1994,11) спрямо Г1 (7361,36±487,7), (P<0,05). Серумната концентрация на Zn и Se е намалена при Г1 спрямо Г3, (P<0,05). Няма статистически достоверна разлика в серумната концентрация на Cu. HDL се повишават при Г3 (1,59±0,10) спрямо Г1 (1,26±0,06), (P<0,05), а LDL намаляват в контролната група.

Заклучение: Проучването показва, че съществува връзка между антиоксидантния статус и серумната концентрация на микроелементи (Zn, Cu, Se), които могат да играят важна роля в патогенезата на АХ.

**Ключови думи:** оксидативен стрес, артериална хипертония, микроелементи, медно-цинкова супероксиддисмутаза (Cu/ZnSOD)

Българска кардиология 2007; 13: 211-217



ксидативният стрес, т.е. дисбалансът между прооксидантите и антиоксидантите, е краен патогенетичен механизъм при много заболявания. Небалансираната продукция

на реактивни форми на кислорода (ROS) и увредената антиоксидантна защита могат да доведат до развитието на възпалителни процеси, автоимунни заболявания, реакции на свръхчувствителност, канцерогенеза, сърдечно-съдови заболявания.

Последица от оксидативния стрес е възникването на ендотелна дисфункция, която се наблюдава в началните стадии на артериалната хипертония (АХ) и атеросклерозата. През последните години се натрупаха доказателства, че увеличавеният оксидативен стрес в ендотела на съдовата стена е важен рисков фактор (РФ) за развитието на сърдечно-съдовите заболявания. Оксидативният стрес играе важна роля в патогенезата на АХ, тъй като води до много клетъчни събития като:

- инактивация на азотния оксид (NO<sup>•</sup>);
- оксидативна модификация на ДНК, протеини и LDL;
- увеличена апоптоза на съдовите клетки;
- увеличена експресия и активация на чувствителни на оксидативен стрес гени.

Клетките на съдовата стена имат собствена антиоксидантна защитна система, изградена от различни ензими - GPx-I, каталаза, супероксиддисмутази (SOD), eNOS, затова редукцията на антиоксидантния потенциал на съдовата стена е друг важен фактор в патогенезата на сърдечно-съдовите заболявания.

50. Бетова Т, С. Поповска, А. Димитрова, Д. Дарданов. Гастроинтестинални стромални тумори. Medinfo 2009;11(IX):1-2.

# Гастроинтестинални стромални тумори

Д-р Татяна Бетова, гл. ас.<sup>1</sup>, доц. д-р Савелина Поповска<sup>1</sup>, д-р Анелия Димитрова, гл. ас.<sup>2</sup>,  
д-р Драгомир Дарданов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Катедра "Обща и Клинична патология", <sup>2</sup>Катедра "Патологична физиология", <sup>3</sup>Катедра "Хирургични болести", Медицински Университет - гр. Плевен

Гастроинтестиналните стромални тумори (ГИСТ) са рядка, но важна група мезенхимни тумори, възникващи по цялата дължина на храносмилателната система. На тях се падат 0,1-3% от всички тумори на гастроинтестиналния тракт. В изясняването на хисто- и патогенезата им голямо значение има установяването на генната мутация в c-kit протоонкогена, чийто лиганд е необходим за развитието на интерстициалните клетки на Cajal. Те са регулатори на перисталтиката и са позитивни за c-kit анти тялото. Детекцията на тази мутация става възможна чрез имунохистохимичния метод.

За имунохистохимична верификация и диференциална диагноза се използва панел от маркери, включващи c-kit, CD34, Vimentin, Desmin, LSMA, S100p, Synaptophysin. Ключът към диагнозата ГИСТ е експресията на c-kit анти тялото, което се наблюдава в 94% от случаите и CD34, който е позитивен маркер в 70-80%.

C-kit е рядък пример за протоонкоген, който е не само специфичен маркер за диагностиката, но е и субстрат за таргетна терапия на тумори с такава мутация. Клинично е установено, че STI-571 (Gleevec) има значение за последваща терапия на този вид тумори.

Гастроинтестиналните стромални тумори са рядка, но важна група мезенхимни неоплазми, възникващи по цялата дължина на храносмилателната система - от хранопровода до ректума. На тях се падат 0,1-3% от всички тумори на гастроинтестиналния тракт (ГИТ)<sup>[1]</sup>. За първи път през 1983 г. Mazur и Clark въвеждат термина стромален тумор. Преди това те са били определяни като гладкомускулни тумори, саркоми или тумори с неясна хистогенеза<sup>[2]</sup>.

В изясняването на хисто- и патогенезата им голямо значение има установяването на генната мутация в c-kit протоонкогена. Той е трансмембранен-тирозин-киназен рецептор, чийто лиганд е stem cell factor (SCF), който е

необходим за развитието на мастоцити, еритроцити, стволови клетки, меланоцити и интерстициалните клетки на Cajal. Последните се считат за пейсмейкъри в стената на ГИТ, които регулират перисталтиката му и са позитивни за c-kit анти тялото.

Активирането на c-kit-a от мутация е причина за пролиферацията на тези клетки и образуването на стромалните тумори. С помощта на имунохистохимичния метод (ИХХ) и използването на анти тялото c-kit или CD117 стана възможна детекцията на тази мутация. Иммунната експресия за c-kit на туморните клетки в 94% потвърждава произхода им и ги отдиференцира от групата на класическите гладкомускулни тумори<sup>[3]</sup>.

Според диференциацията на стромалните клетки някои автори ги разделят на 4 групи:

1. С гладкомускулна диференциация.
2. С неврална диференциация.
3. Комбинирана - гладкомускулна и неврална диференциация.
4. Без определена диференциация.

Според преобладаващия клетъчен тип ги разделят на 3 групи - източноклетъчни, епителоидни и смесени<sup>[4,5]</sup> (Фиг. 1, 2 и 3).

Възрастта, в която се срещат тези тумори е петата и шестата декада от живота. Рядко има диагностицирани

случаи преди 40 години и изключително рядко в детската възраст<sup>[6]</sup>.

Около 60-80% от ГИСТ се срещат в стомаха, 20-30% в тънките черва и по-малко от 10% в хранопровода, колона, ректума, апендикса и жлъчния мехур. Тумори с подобна картина са наблюдавани в оментума, мезентериума и ретроперитонеума, които са известни като екстрагастроинтестинални<sup>[6,7,8]</sup>.

Клиничната изява на тези тумори зависи от големината и разположението им. Малките тумори с размери до 2 см са обикновено безсимптомни и се диагностицират случайно при ендоскопско или лапароскопско изследване<sup>[9]</sup>.

Големите тумори се изявяват с дискомфорт, остри или хронични кръвоизливи, дисфагия, интестинална обструкция или перфорация<sup>[10]</sup>. Тумори над 10 см могат да се палпират през коремната стена и са suspectни за злокачествен растеж. При тях се откриват хематогенни разсейки, най-често в черния дроб и метастази в регионални лимфни възли<sup>[8,9]</sup>. Макроскопски ГИСТ са сиворозови възли, разположени сублигавично или с разязвяване, както и с кистична дегенерация и некроза при по-големите формации. Поставянето на диагноза ГИСТ изисква хистологично изследване и задължителна имунохистохимична верификация за уточняване на хистогенетичния произход. 70-80% от туморите са източноклетъчни с най-

51. Бетова Т, И. Маринова, П. Петков, И.Иванов, **А. Димитрова**, С. Поповска.  
Irritable bowel syndrome – имунохистохимична диагноза и мениджмънт. Trakia  
Journal of Sciences 2009;7(Suppl.1):28-32.

## IRRITABLE BOWEL SYNDROME-ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ИМУНОХИСТОХИМИЧНА ДИАГНОЗА И МЕНИДЖМЪНТ

Т.Бетова, И.Маринова\*,С.Поповска, И.Иванов, А.Димитрова,\*\*П.Петков\*,

Т.Делийски\*\*\*

Отделение по „Клинична патология“-УМБАЛ,бул."Г.Кочев"№8А,Плевен-5800,България  
e-mail: betova @abv.bg

\*Гастроентерологична клиника-УМБАЛ,бул."Г.Кочев"№8А,Плевен-5800,България

\*\*Катедра „ Патологична физиология"-МУ-Плевен,ул"Климент Охридски"№1 България

\*\*\*Онкологичен център-УМБАЛ,бул."Г.Кочев"№8А,Плевен-5800,България

### Резюме:

Irritable bowel syndrome (IBS) е функционално-чревна заболяване в чиято основа лежи хроничното възпаление.Поставихме си за цел да проучим хистологичната алтерация на дебелочревната мукоза при пациенти с IBS чрез прилагането на ИХХ метод за верифициране на мастоцити, хроничен възпалителен инфилтрат,ентерохромафинни клетки, ендерични нервни окончания и техните патофизиологични корелации.

**Материал и методи:** Извършено е ретроспективно проучване на 30 бр.пациенти разделени в две групи както следва - 20 пациента с диагноза IBS и контролна група от 10 аутопсирани пациента. Групите са изследвани имунохистохимично, с антитела насочени срещу CD 117 антигена за верификация на мастоцити, CD 3 за лимфоцити, синаптофизин за ендерохромафинни клетки и неврон-специфична енолаза за окончания на ендеричните нерви по протокол на фирмата DAKO.

**Резултати:** От имунохистохимичното изследване се установи - увеличен брой CD3 позитивни лимфоцити и CD117 позитивни мастоцити.Констатираните промени са предимно при пациенти с диаричен синдром и абдоминална болка, а при пациенти със запек е установено по-малък брой инфламаторни клетки и мастоцити. Позитивно оцветяване на ганглийни клетки за неврон-специфична енолаза, както и увеличеният брой ендерохромафинни клетки е установено в малък брой пациенти от двете групи.

**Извод:** Прилагането на ИХХ метод дава възможност за точна верификация на хроничния възпалителен инфилтрат и хвърля яснота върху патофизиологичните механизми на IBS.

**Ключови думи:** Irritable bowel syndrome,Имунохистохимия, патофизиология, мениджмънт

## IRRITABLE BOWEL SYNDROME-PATHOPHYSIOLOGY, IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS AND MANAGEMENT

T.Betova, I. Marinova\*, S.Popovska, I.Ivanov, A.Dimitrova\*\*, P.Petokov\*, T.Deliyski\*\*\*

Clinical Pathology Department, \*Gastrointestinal Clinic, \*\*Pathologic Physiology Department, \*\*\*Oncology Center, UMBAL-Pleven

### Abstract:

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional-gut disease which has a chronic inflammation in its basis. We aimed at studying the histologic alteration of the large intestinal mucosa in patients with IBS by means of IHC for verification with mast cells, chronic inflammation infiltrate, enterochromaffin cells, enteric nerve endings and their pathophysiologic correlations.

**Materials and methods:** A retrospective study of 30 patients divided into two groups has been done. The first group is comprised of 20 patients with an IBS diagnosis, and the second one, the control group, consists of 10 autopsied patients. The groups have been examined immunohistochemically, with antibodies directed against CD 117 antigens for verification with mast cells, CD 3 for lymphocytes, synaptophysin for enterochromaffin cells and neuron-specific enolase for ending of the enteric nerves according to the protocol of DAKO Company.

**Results:** From the IHC study an increased number of CD3 positive lymphocytes and CD117 positive mast cells have been found. The observed changes are mainly among patients with diarrhea and abdominal pain, whereas among patients with constipation - a smaller number of inflammation cells and mast cells are present.

**Conclusion:** The use of the IHC method gives the opportunity for exact verification of the chronic inflammation infiltrate and also provides clarity about the pathophysiologic mechanism of IBS.

**Key words:** Irritable bowel syndrome, Immunohistochemistry, pathophysiology, management.

28

52.Бетова Т, И. Маринова, П. Петков, И.Иванов, А. Димитрова, С. Поповска.  
Клинико-морфологично проучване на промените при irritable bowel syndrome  
Trakia Journal of Sciences 2009;7(Suppl.1):33-37.

## КЛИНИЧНО И МОРФОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА ПРОМЕНИТЕ ПРИ IRRITABLE BOWEL SYNDROME

Т.Бетова, И.Маринова\*, С.Поповска, И.Иванов, А.Димитрова,\*\*

П.Петков\*, Т.Делийски\*\*\*

Отделение по „Клинична патология“ - УМБАЛ,

бул. "Г.Кочев" №8А, Плевен-5800, България

e-mail: betova @abv.bg

\*Гастроентерологична клиника-УМБАЛ, бул. "Г.Кочев" №8А, Плевен-5800, България

\*\*Катедра „Патологична физиология“ - МУ-Плевен, ул. "Климент Охридски" №1 България

\*\*\*Онкологичен център-УМБАЛ, бул. "Г.Кочев" №8А, Плевен-5800, България

### Резюме:

Irritable Bowel Syndrome (IBS), е заболяване, характеризиращо се със спазъм, коремна болка, подуване и метеоризъм, запек или диария.

**Цел.** Клинично и морфологично проучване на промените в дебелото черво при пациенти с irritable bowel syndrome и сравняването им с произволна група за контрол.

**Материал и методи:** Извършено е ретроспективно проучване на две групи пациенти от Отделенията по Гастроентерология и Клинична патология на УМБАЛ-Плевен. Първата група са 20 пациента с диагноза IBS, отговаряща на Римските критерии II, и са подразделени в субгрупи съобразно водещия симптом - с диария, със запек, с болки, подуване и метеоризъм. Втората група е контролната група включваща 10 аутопсирани пациенти. Групите са изследвани рутинно хистологично и хистохимично. Извържвана е оценка на хроничния възпалителния инфилтрат, който е оценяван полуколичествено на степени от 0-4ст, а мастоцитите са оценявани количествено, като за увеличен брой клетки се счита над 20/HPF.

**Резултати:** При морфологичното изследване се отчита увеличен брой лимфоцити, плазматични клетки, мастоцити и единични еозинофилни левкоцити, предимно при пациенти с диаричен синдром и абдоминална болка, а при субгрупата със водещ симптом запек е установено по-малък брой инфламаторни клетки и мастоцити. В контролната група само у един пациент е установена втора степен на възпалителния инфилтрат, а мастоцитите са в норма.

**Извод:** Клинично диагнозата е подчинена на Римските критерии, а морфологичния субстрат е хроничното неспецифично възпаление.

**Ключови думи:** Irritable bowel syndrome, Римски критерии, хистология, мастоцити

## CLINICAL AND MORPHOLOGICAL STUDY OF THE CHANGES IN IRRITABLE BOWEL SYNDROME

T.Betova, I.Marinova\*, S.Popovska, I.Ivanov, A.Dimitrova\*\*, P.Petkov\*, T.Deliyski\*\*\*

Clinical Pathology Department, \*Gastrointestinal Clinic, \*\*Pathologic Physiology Department,

\*\*\*Oncology Center, UMBAL-Pleven

### Abstract:

Irritable Bowel Syndrome (IBS) is a disease usually characterized by abdominal pain, spasms, bloating, meteorism, constipation or diarrhea.

**Aim:** A clinical and morphological study of the changes in the large intestine among people with IBS and their comparison with a group for control.

**Materials and methods:** A retrospective study of two groups of patients from the Gastrointestinal Department and Clinical Pathology in UMBAL-Pleven has been done. In the first group there are 20 patients with an IBS diagnosis, matching with the Rome criteria II. They are divided into subgroups according to the main syndromes – diarrhea, constipation, abdominal pain, bloating and meteorism. The second group is comprised of 10 autopsied patients. The groups have been examined histologically and histochemically. An evaluation of the chronic inflammation infiltrate has been done as it has been evaluated semiquantitatively at degrees of 0-4st, whereas the mast cells have been evaluated quantitatively as a value of 20/HPF is considered an increased number of cells.

53. Dimitrova A, I. Stoilova, M. Atanasova, M. Georgieva, A. Russeva, D. Strashimirov, K. Tzachev. Anti-AGE Antibodies and serum concentration of zinc, copper and selenium in patients with occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs. Journal of Biomedical and Clinical Research (JBCCR) 2009;2(1):31-35.

## ANTI-AGE ANTIBODIES AND SERUM CONCENTRATION OF ZINC, COPPER AND SELENIUM IN PATIENTS WITH OCCUPATIONAL VEGETATIVE POLYNEUROPATHY OF UPPER LIMBS

Anelia A. Dimitrova,  
Irena I. Stoilova<sup>1</sup>,  
Milena A. Atanasova<sup>2</sup>,  
Miglena N. Georgieva<sup>3</sup>,  
Adelaida L. Russeva<sup>4</sup>,  
Denko S. Strashimirov,  
Kamen N. Tzachev<sup>5</sup>

*Department of Physiology and  
Pathophysiology,  
Medical University - Pleven*

*<sup>1</sup>Department of Hygiene, Medical  
ecology and Occupational diseases,  
Medical University-Pleven*

*<sup>2</sup>Department of Foreign Languages  
and Specialized Training/Biology  
Medical University - Pleven*

*<sup>3</sup>Medical Center "Clinical Institute  
for Reproductive Medicine"*

*<sup>4</sup>Central Clinical Laboratory,  
University Hospital - Pleven*

*<sup>5</sup>Department of Clinical Laboratory,  
Medical University - Sofia*

### Summary

The aim of this study was to investigate the level of anti-AGE antibodies (AGE Abs) and serum concentration of zinc (Zn), copper (Cu) and selenium (Se) in the blood of 11 patients (group 1-G1, mean age  $52.45 \pm 3.59$  years), with occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs (OVPUL) and 9 control patients (control group-G2, mean age  $51.5 \pm 2.18$  years). AGE Abs were assessed with direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn, Cu and Se concentrations in the human's sera. The level of AGE Abs in the patients with OVPUL was significantly higher than in controls ( $p = 0.008$ ). The patients with OVPUL had a significantly decreased concentration of serum Se, as compared to control group ( $p = 0.001$ ). There were no differences in serum concentration of Zn and Cu in all groups. Our data shows a negative correlation between increased levels of AGE Abs and the serum levels of Se in patients with OVPUL ( $r = -0.365$ ,  $p = 0.047$ ). Our study confirms that serum level of Zn, Cu and Se can be critical for maintenance of anti-oxidative events and propose that these trace elements may be important physiopathologically in occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs.

**Key words:** anti-AGE antibodies, occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs, zinc, copper, selenium

### Introduction

Occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs (OVPUL) results from systematic overstrain, microtraumas or pressure exerted on the structures of the hands. The disease is characterized by local pain in the distal part of the upper extremities and thermoregulatory, vasomotor and neurodystrophical disturbances [1]. Vascular microtraumas that result from repeated monotonous movements of the upper limbs lead to structural alteration in the vascular wall and decreased blood flow in the peripheral vessels, which causes hypoxia and pain.

Advanced glycation end-products (AGEs) form as a result of non-enzymatic reactions, in which glucose forms adducts with proteins, lipids and nucleic acids. AGEs accumulate naturally as a result of chronological ageing, but this process is greatly accelerated under conditions of hyperglycemia and oxidative stress [2].

### Corresponding Author:

Anelia A. Dimitrova  
Department of Physiology and  
Pathophysiology  
Medical University  
1, Kliment Ohridski str.  
Pleven, 5800  
Bulgaria  
email: [anelija.dimitrova@gmail.com](mailto:anelija.dimitrova@gmail.com)

**Received:** February 12, 2009

**Revision received:** March 06, 2009

**Accepted:** July 06, 2009

54. **Dimitrova A, A. Ruseva, M. Atanasova, D. Strashimirov.** Effects of zinc supplementation on some hematological parameters of spontaneously hypertensive rats. *Trakia Journal of Sciences* 2010;8(2):61-65.



## EFFECTS OF ZINC SUPPLEMENTATION ON SOME HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

A. Dimitrova<sup>1\*</sup>, A. Russeva<sup>2</sup>, M. Atanasova<sup>3</sup>, D. Strashimirov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathophysiology, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup> University Hospital, Medical Diagnostic Clinical Laboratory, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup> Department of Biology, Medical University, Pleven, Bulgaria

### ABSTRACT

The present study was undertaken to determine influence of dietary supplements of Zn containing diet (50 or 155 or 250 mg Zn/kg lab chow) on the hematological parameters of spontaneously hypertensive rats (SHR). Male SHR (n=92) and their normotensive ancestors, Wistar-Kyoto rats (WKY, n=89), were divided into 6 groups on different diet: WKY – G1-50 mg Zn/kg laboratory chow (control), G2-155 mg Zn/kg, G3-250 mg Zn/kg and SHR – G4-50 mg Zn/kg (control), G5-155 mg Zn/kg, G6-250 mg Zn/kg. The diets started at the beginning of the development of hypertension (2 months after birth) and the animals were fed for 8 weeks. At the end of the study, blood sample was taken from each animal in all groups and a complete blood count was performed. There are no statistically significant differences in the studied parameters between rats of the WKY and SHR lines. RBC and Hb were lower ( $p<0.05$ ) in groups with zinc supplementation – G3 and G6, however, MCV, MCH and MCHC were higher ( $p<0.05$ ) in this groups. A decreased hematocrit was found in supplemented groups ( $p<0.05$ ) and the platelets count increased significantly ( $p=0.001$ ). Our findings suggest that zinc supplementation is a factor, decreasing erythrocytes and hematocrit, and increasing the platelets count in the both rat's strains.

**Key words:** WKY, zinc diets, hypertension, blood count

### INTRODUCTION

The blood is one of the major homeostatic systems of the body in humans and animals, supporting normal viability, integrity, and adaptive responses. The functional state of the blood systems changes dynamically according to the nature, strength, and duration of exposure to external factors.

The use of megadoses of vitamin and mineral supplements has become common. Zinc is a often used supplement and is widely available as a standard component of many over-the-counter products but excessive zinc intake, can have toxic effects. A number of reports have identified an association between increased zinc intake and severe cytopenia (1). High intakes of zinc relative to copper can lead to

copper deficiency (2, 3, 4). When a zinc-induced hypocupremia developed, the result is anemia, leukopenia, and neutropenia (5). The serum zinc levels of zinc have a negative effect on anemia by blocking the utilization of iron in the iron reserves of anemic subjects (6). Limited data suggest that sustained hyperzincemia predisposes individuals to thrombogenesis (7).

The purpose of our study was to determine influence of dietary supplements of Zn containing diet (50 or 155 or 250 mg Zn/kg lab chow) on the hematological parameters of spontaneously hypertensive rats (SHR) and their normotensive ancestors Wistar-Kyoto rats.

### MATERIALS AND METHODS

Male Wistar-Kyoto rats (WKY, n=89), (190-210 g) and male spontaneously hypertensive rats (SHR, n=92), (180-205 g) were used. The animals were housed in groups of 5 per cage and kept under a normal 12 h light/dark cycle

\*Correspondence to: Dr. Aneliya A. Dimitrova  
Department of Pathophysiology, Medical  
University 1 St. Kliment Ohridski Str., 5800 Pleven,  
Bulgaria, Tel: +359 64 884 273  
E-mail: [aneliya.dimitrova@gmail.com](mailto:aneliya.dimitrova@gmail.com)

55. **Dimitrova A**, M. Atanasova, M. Georgieva, A. Ruseva, D. Strashimirov, S. Baydanoff. Anti-AGE antibodies and markers of oxidative stress in spontaneously hipertensive rats at different ages. Journal of Biomedical and Clinical Research (JBCR) 2010;3(1):33-39.

## ANTI-AGE ANTIBODIES AND MARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS AT DIFFERENT AGES

Anelia A. Dimitrova,  
Milena A. Atanasova<sup>1</sup>,  
Miglena N. Georgieva<sup>2</sup>,  
Adelaida L. Russeva<sup>3</sup>,  
Denko S. Strashimirov,  
Stefan I. Baydanoff

Department of Physiology and  
Pathophysiology,  
Faculty of Medicine,  
Medical University-Pleven

<sup>1</sup>Department of Biology,  
Faculty of Medicine,  
Medical University-Pleven,,

<sup>2</sup>Medical Center "Clinical Institute  
for Reproductive Medicine", Pleven

<sup>3</sup>Medical Diagnostic Clinical  
Laboratory,  
University Hospital-Pleven,  
Bulgaria

### Summary

The aim of this study was to investigate anti-AGE antibodies (AGE Abs) and two markers of oxidative stress, copper (Cu) and iron (Fe) in sera of spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY) at 2, 4 and 8 months. AGE Abs were assessed with direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Significant differences were observed between AGE Abs in 4 and 2 month old SHR ( $p < 0.001$ ) and between 8 and 4 month old SHR ( $p < 0.001$ ). There was a positive correlation between the levels of AGE Abs in SHR and WKY and age ( $r = 0.636$ ;  $p = 0.005$ ), ( $r = 0.420$ ;  $p = 0.015$ ). The same relation was observed for the serum content of iron and copper in both SHR and WKY. The increase in levels of AGE Abs is directly connected with the increase of advanced glycated end-products with age and their relation with oxidative stress. The evidence for activated processes of oxidative stress is confirmed from the elevation of the serum concentrations of the iron and copper. Iron and copper take part in maintaining the oxidative balance in the organism, and the elevation of their serum concentrations is significant in pathogenicity of hypertension and aging.

**Key words:** advanced glycation end products, anti-AGE antibodies, copper, iron, spontaneously hypertensive rats

### Introduction

Advanced glycation end-products (AGEs) form as a result of non-enzymatic reactions, in which glucose forms adducts with proteins, lipids and nucleic acids. AGEs accumulate naturally as a result of chronological ageing but this process is greatly accelerated under conditions of hyperglycemia and oxidative stress [1]. AGEs act directly, as well as via specific receptors, to alter the function of many intra- and extracellular proteins, including antioxidant and metabolic enzymes, calcium channels, lipoproteins, transcription and structural proteins. The accumulation of endstage products of the Maillard reaction alters the structural properties of tissue proteins and reduces their susceptibility to catabolism [2]. AGEs accumulate progressively in the vasculature with ageing, thus reducing the elasticity of myocardium and large arteries. The aorta stiffens and the result is systolic hypertension

### Corresponding Author:

Anelia A. Dimitrova  
Department of Physiology and  
Pathophysiology,  
Medical University  
1 Kliment Ohridski str.  
Pleven, 5800  
Bulgaria  
e-mail: [anelija.dimitrova@gmail.com](mailto:anelija.dimitrova@gmail.com)

**Received:** March 11, 2010

**Revision received:** June 05, 2010

**Accepted:** July 29, 2010

56. Ruseva B, M. Atanasova, R. Ivanova, M. Mollova, K. Tzachev, A. Dimitrova. Effect of inadequate selenium intake on the changes of aortic wall in young normotensive rats. *Trakia Journal of Sciences* 2012;10(1):182-189.



## EFFECT OF INADEQUATE SELENIUM INTAKE ON THE CHANGES OF AORTIC WALL IN YOUNG NORMOTENSIVE RATS

B. Ruseva<sup>1\*</sup>, M. Atanasova<sup>2</sup>, R. Ivanova<sup>3</sup>, M. Mollova<sup>4</sup>, K. Tzachev<sup>5</sup>, A. Dimitrova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Anatomy and Biology, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Common and Clinical Pathology - Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup>Institute of Biology and Immunology of Reproduction, BAS, Sofia, Bulgaria

<sup>5</sup>Central Clinical Laboratory of University Hospital "Alexandrovska", Sofia, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the influence of inadequate selenium (Se) intake on the changes of aortic wall in young normotensive rats. Twenty male Wistar rats, 8 weeks old, separated into 2 groups, were used. During 8 weeks one group had low Se diet (LSe) and the second - adequate Se diet (NSe). The serum concentration of Se, and serum level of anti-elastin and anti-tropoelastin antibodies were measured. Immunofluorescence expression of glutathione peroxidase-1 (GPx-1) at aortic wall was influenced proportionally by the different Se intake. The histological examination revealed that rats with low Se intake had alterations of aortic walls. Morphometry of aortic walls evaluated higher thickness of thoracic and abdominal aorta in rats from LSe group than the NSe group ( $p = 0.0001$ ). A relatively weak inverse relationship between the serum Se concentration and the thickness of aortic wall was obtained ( $r = -0.42$ ;  $p = 0.04$ ). The serum level of anti-elastin antibodies increased under inadequate Se intake ( $p = 0.03$ ).

Low GPx-1 expression in aortic wall due to inadequate Se intake caused pathological changes of aortic wall and elastin turnover of young normotensive rats that may cause hemodynamic disturbances in the future.

**Key words:** selenium, aortic wall, elastin turnover, Wistar rats

### BACKGROUND

It is described that the physiological effects of selenium (Se) occur mainly through the functions of selenoproteins. Glutathione peroxidases (GPx) and thioredoxin reductases are the main selenoproteins expressed in endothelial cells. GPx-1 is the most abundant intracellular isoform of the GPx antioxidant enzyme family that catalyzes reduction of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and organic peroxides and plays the most important role for their elimination from the cells (1, 2).  $H_2O_2$  modulates the different aspects of the function of endothelial cells: their growth and proliferation; apoptosis; endothelium-

dependent vasodilatation; barrier function; endothelial inflammatory answer; endothelial control on vessel's remodeling (3, 4). Endothelial cells are continuously exposed to a blood flow and are the primary target of an oxidant-induced injury. Tissue expression of selenoproteins depends on daily Se intake. It has been established that a diet containing 0.1  $\mu g$  Se/g of food is enough for normal growth and reproduction in mammals (5, 6).

Elastin is the main component of the vessel wall. Pathological changes of an elastin turnover and production of a collagen may lead to a disturbance of the vessels, increase a stiffness of the vessel walls and decrease a blood supply to the organs. Serum level of antibodies to tropoelastin (ATEABs) and to  $\alpha$ -elastin (AEABs) correlated with the production and breakdown respectively of the elastic tissue. The ratio between ATEABs and AEABs may give information for the elastin

*\*Correspondence to: Boryana Ruseva, MD, PhD, Bulgaria, 5800 Pleven, 1 "St. Kliment Ohridski" Str., Medical University- Pleven, Department of Physiology and Pathophysiology, E-mail: ruseva.bk@mail.bg*



## METALLOPROTEINASES AND ANTIBODIES AGAINST THEIR SUBSTRATES IN CHRONIC ISCHEMIC STROKE

A. Dimitrova<sup>1\*</sup>, M. Atanasova<sup>2</sup>, P. Tsvetanov<sup>3</sup>, A. Russeva<sup>4</sup>, P. Christova<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Biology, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Neurology and Neurosurgery, University Hospital, Medical University, Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory, University Hospital Georgi Stranski, Pleven, Bulgaria

<sup>5</sup>Department of Public Health, Medical University, Pleven, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the serum levels of matrix metalloproteinases (MMP-9 and MMP-2), anti- $\alpha$ -elastin (AEAb) and anti-collagen type IV antibodies (AC4Ab) – class IgG and IgM, in circulation of patients with stroke in chronic phase, compared to healthy control subjects. The levels of anti-elastin and collagen type IV antibodies (IgG, IgM) were measured by home-made indirect ELISA and the levels of MMP-9 and MMP-2 quantity and activity by gelatin zymography. Thirty-one patients with stroke (mean age  $63.4 \pm 11.9$ ; age range 39-84 years; 18 women) were studied in chronic phase (3-12 months after the onset) with clinical evaluation, MRI, CT of the brain, Duplex/Doppler sonography of extracranial vessels. To obtain sera from healthy controls, 37 age-matched ( $58.4 \pm 14.8$ ) subjects were enrolled. Analysis of variance (ANOVA), LSD test and two tailed correlation of Pierson were used for statistical analysis. The levels of AEAb and MMP-2 were not changed in the sera of investigated patients compared to healthy controls. The levels of AC4Ab (IgG) were significantly elevated in stroke patients compared to controls. We found significantly increased MMP-9 activity ( $p=0.036$ ) compared with controls. Despite the unchanged AC4Ab (IgM) levels a correlation with MMP-9 serum level was observed ( $r = 0.416$ ,  $p < 0.05$ ). Our results demonstrate that higher serum levels of MMP-9 in patients with stroke in chronic phase are associated with elevated AC4Ab (IgG) and correlate with AC4Ab (IgM).

**Key words:** anti-elastin antibodies, anti-collagen type IV antibodies, MMP-9, MMP-2, stroke

### INTRODUCTION

Matrix metalloproteinases (MMPs) are a major group of enzymes that regulate cell-matrix composition by using zinc for their proteolytic activities (1). Increased matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity is associated with destruction of the elastic laminae of arteries, because of their ability to degrade almost all components of extracellular matrix and basal lamina such as elastin, fibrillins, laminin, or collagen type IV (2).

Abnormal expression and increased activity of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) play an important role in the pathogenesis of stroke. More recently, plasma MMP-9 levels have been identified as a novel predictor of cardiovascular risk in patients with coronary artery disease and stroke (3).

Elastin and collagen type IV are the major extracellular matrix proteins and essential mechanical component. Elastin, the main provider of tissue elasticity, is long-lived connective tissue protein as with a very slow turnover (4). Degradation of elastic fibers is mediated by elastolytic enzymes, liberated from different types of cells including granulocytes, monocytes, fibroblasts, cancer

\*Correspondence to: Assis. Prof. Aneliya Dimitrova, Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University, 1 St. Kliment Ohridski Street, 5800 Pleven, Bulgaria, tel: +359 64 884 243, e-mail: [anelija.dimitrova@gmail.com](mailto:anelija.dimitrova@gmail.com)

## РЕБАЛАНСЪТ В ХЕМОСТАЗАТА ПРИ БОЛНИ С ХРОНИЧНО ЧЕРНОДРОБНО ЗАБОЛЯВАНЕ

А. Русева<sup>1</sup> и А. Димитрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Клинична лаборатория, УМБАЛ – Плевен

<sup>2</sup> Катедра "Физиология и патофизиология", Медицински университет – Плевен

## THE HEMOSTATIC REBALANCE IN PATIENTS WITH CHRONIC LIVER DISEASE

A. Ruseva<sup>1</sup> and A. Dimitrova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Clinical Laboratory, University Hospital – Pleven

<sup>2</sup> Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University – Pleven

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Резюме:</b>                     | Нарушенията в хемостазата при пациенти с хронично чернодробно заболяване (ХЧЗ) по принцип се асоциират със случаите на кървене при тези пациенти. Рутинните лабораторни тестове, като протромбиново време и тромбоцитен брой, често са абнормни и насочват към състояние на хипокоагулабилитет. Обаче относително лошата корелация между кървене и резултатите от лабораторните тестове, както и установените наскоро факти, че генерирането на тромбин и тромбоцитната адхезия са нормални при тези пациенти, подкрепят схващането, че пациентите с ХЧЗ могат да са в хемостатичен баланс като резултат от едновременни промени както по отношение на про- така и на антикоагулантната активност.       |
| <b>Ключови думи:</b>               | хемостаза, ребаланс, протромбиново време, хронично чернодробно заболяване                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Адрес за кореспонденция:</b>    | Доц. д-р Аделаида Л. Русева, Клинична лаборатория, УМБАЛ, ул. „Г. Кочев“ № 8, 5800 Плевен, тел. 064 886 169, e-mail: adi-ruseva@dir.bg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Summary:</b>                    | Disarrangement of hemostasis in patients with chronic liver disease (CLD) has been associated for a long time with bleeding events in these patients. Routine laboratory tests, such as determination of prothrombin time and platelet count, are frequently abnormal and point to a state which is hypocoagulable. However, the relatively poor correlation between bleeding and results from the laboratory tests, as well as the recent findings, that the thrombin generation and the platelet adhesion are normal in these patients, support the concept that the patients with CLD possibly maintain their hemostatic balance via concomitant changes in both pro- and anticoagulation activities. |
| <b>Key words:</b>                  | hemostasis, rebalance, prothrombin time, chronic liver disease                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Address for correspondence:</b> | Assoc. Prof. Adelaida L. Ruseva, M. D., Ph.D., Clinical Laboratory, University Hospital, 8a, G. Kochev Str., Bg – 5800 Pleven, tel. +359 64 886 169, e-mail: adi-ruseva@dir.bg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

Черният дроб играе централна роля в процесите на хемостаза, тъй като тук се синтезират повечето от коагулационните фактори и протеини, участващи във фибринолизата. Освен това черният дроб продуцира тромбопоетин, отговорен за продукцията на тромбоцитите от мегакариоцитите. Това обяснява същественото влияние, което хроничните чернодробни заболявания оказват върху хемостазните процеси [8].

Протромбиново време (РТ), активирано парциално тромбопластиново време (АРТТ) и тромбоцитен брой често са извън референтни граници при пациенти с ХЧЗ. Обичайната комбинация от тромбоцитопения и удължени РТ и АРТТ се асоциира с хеморагична диатеза и традиционно се приема, че пациентите с чернодробна недостатъчност имат риск от кървене. Тази концепция е широко разпространена сред

59. Русева А, А. Димитрова. Новата представа за коагулационния процес. Medinfo 2014;XIV(1):5-8.

# Новата представа за коагулационния процес

Доц. д-р Аделаида Русева<sup>1</sup>, доц. д-р Анелия Димитрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клинична лаборатория, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, гр. Плевен

<sup>2</sup>Катедра по Физиология и патофизиология, Медицински университет, гр. Плевен

В последните години клетъчно-базираният коагулационен модел измества хипотезата за каскадно протичане на процесите на кръвосъсирване. Възприемането на специалната роля на клетките в този процес допринася за разбирането на коагулационния механизъм като възникващ *in vivo* в динамично променящата се съдова система. Според новия модел, коагулационният процес се извършва върху различни клетъчни повърхности в три застъпващи се етапа: инициране, усилване и разпространение.

**Х**емостазата представлява защитен механизъм, отговорен за предотвратяване на кръвозагуба от мястото на увреда на кръвоносната система. Същевременно този процес трябва да бъде контролиран, така че да не се получат интраваскуларни коагулumi, които да възпрепятстват нормалния кръвоток. С оглед изучаване механизмите на хемостазата са извършвани много изследвания, като болшинството от тях са провеждани *in vitro*, в статична безклетъчна среда<sup>[1]</sup>.

## ■ Предишни модели на коагулация

През 1905 г. П. Моравиц създава коагулационна теория, включваща в схемата четири „коагулационни фактора“. Според тази теория, в присъствие на калций и тромбопластин, протромбинът се превръща в тромбин, който от своя страна превръща фибриногена във фибрин и се формира фибриновият съсирек. Според Моравиц всички компоненти на съсирващата система се намират в циркулиращата кръв, а фактът, че тя нормално не се съсирва се дължи на отсъствието на мокреши повърхности в кръвоносните съдове. Тази теория господства около 40 год.

П. Оурен (1947) счита, че склонността към кървене не може да се обясни със съществуващата концепция за 4-те фактора, а проблемът е в отсъствието на пети плазмен фактор. През 40-те и 50-те години на XX-ти век се откриват още нови коагулационни фактори, обозначавани с римски цифри в зависимост от последователността на откриване<sup>[2]</sup>.

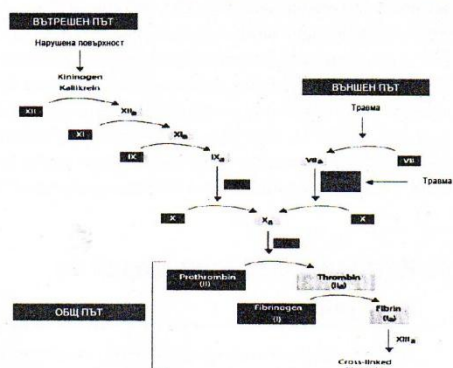
## ■ Каскаден модел на коагулацията

През 60-те год. на миналия век два независими колектива от биохимици предлагат коагулационен модел, в който активирането на един фактор води до активирането на следващия с резултат – генериране на тромбин. (Фиг. 1). Каскадният модел е описан за пръв път в публикация на Macfarlane (1964) в списание Nature и по-късно същата година от Davie и Ratnoff в списание Science. По-късно оригиналният каскаден модел е бил модифициран с разбирането, че не всички

ФИГУРА 1

### Каскаден модел за образуване на тромбин

Модифициран по: [www.fcra.co.uk/article.aspx?articleid=100805](http://www.fcra.co.uk/article.aspx?articleid=100805)[21]



ПРОДЪЛЖАВА НА СТР. 6

60. Григорян А, К. Костов, А. Димитрова. Роля на матриксните металлопротеинази в процеса на костното ремоделиране при естрогенен дефицит. Science & Technologies 2014; IV(1):171-175.

**РОЛЯТА НА МАТРИКСНИТЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИ В ПРОЦЕСА НА  
КОСТНОТО РЕМОДЕЛИРАНЕ ПРИ ЕСТРОГЕНЕН ДЕФИЦИТ**

**Армине Григорян, Красимир Костов, Анелия Димитрова**  
*Катедра „Физиология и патофизиология“*  
*МУ-Плевен, ул. „Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, България*  
*e-mail: armine14@abv.bg*

**THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN BONE REMODELING  
PROCESS WITH ESTROGEN DEFICIENCY**

**Armine Grigoryan, Krasimir Kostov, Anelia Dimitrova**  
*Department of „Physiology and Pathophysiology“*  
*Medical University-Pleven, 1 „Kliment Ohridski“ Str., 5800 Pleven, Bulgaria*  
*e-mail: armine14@abv.bg*

**ABSTRACT**

Osteoporosis is a multifactorial disease which affects the skeleton and is characterized by loss of bone mass, alterations of bone micro-architecture and increased fracture risk. The disease is prevalent among the adult population and in postmenopausal women. The causes of the development of osteoporosis are different. Overall estrogen deficiency is a major factor for the development of osteoporosis. Bone loss after ovariectomy or postmenopausal is associated with increased bone metabolism and rapid degradation of the bone matrix.

In the pathogenesis of osteoporosis participate mainly 2 type proteolytic enzymes-cathepsin K and matrix metalloproteinases (MMPs). MMPs are a growing family of endopeptidases with similar functional domains and mechanism of action related to the degradation of extracellular matrix components (ECM). MMPs are key mediators in the extracellular matrix remodeling, bone growth and osteoclastic bone resorption. Estrogen deficiency contributes to the imbalance in the action of MMPs and their tissue inhibitors directly affects the regulation of osteoclast activity, thus playing a leading role in the pathogenesis of osteoporosis.

*Key words: Osteoporosis; Estrogen deficiency; Matrix metalloproteinases(MMPs).*

**Въведение**

Остеопорозата е най-често срещаното, свързано с възрастта, скелетно нарушение, характеризиращо със загуба на костна маса, промени в костната микроархитектура водещи до лесна чупливост и чести фрактури. Годишната честота на възникване на счупвания на бедрените кости в света вследствие на остеопороза е 1,5 милиона и се очаква тя да бъде 2,6 милиона през 2025 г и 4,5 милиона през 2050 г. (12). Общият размер на разходите за грижи и лечение на остеопороза вследствие фрактури на бедрените кости и таза в Европа се оценява на приблизително € 55 милиарда. Общата стойност, въпреки всичко е трудно да се изчисли, защото тя включва лечението на пациента заедно с извънболничната медицинска помощ, загуба на работни дни, както и заплащане на асистиенти за помощ в домашни условия и др. Особено сериозен е проблемът в България. Изследвания извършени в периода 2005-2011 г. са показали, че около 400 000 жени и 160 000 мъже над 50-годишна възраст са застрашени от развитие на остеопороза. У нас всяка година се регистрират над 90 хил. счупвания в резултат на остеопороза. Също е установено, че средно 4000 жени годишно чупят шийката на бедрена кост, като 800 от тях умират до една година след фрактурата (13).

Костната резорбция и формирането на костта са два взаимно балансиращи се процеса при здрави хора. Резорбцията от остеокластите (OCs) е последвана от активиране на остеобластите (OBs) и образуване на остеоид, който запълва кухините за период от около три

61. Костов К, **А. Димитрова**, А. Григорян, А. Блажев, М. Атанасова, С. Тишева, А. Русева, И. Цинликов. Ендотелин-1 при пациенти с артериална хипертензия и захарен диабет тип 2. Science & Technologies 2014; IV(1): 420-424.

## ЕНДОТЕЛИН-1 ПРИ ПАЦИЕНТИ С АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ И ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП 2

Красимир Костов<sup>1</sup>, Анелия Димитрова<sup>1</sup>, Снежана Тишева<sup>2</sup>, Александър Блажев<sup>3</sup>,  
Милена Атанасова<sup>3</sup>, Аделаида Русева<sup>4</sup>, Иван Цинликов<sup>5</sup>, Армине Григорян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“,

<sup>2</sup>Катедра „Кардиология, пулмология и ендокринология“,

<sup>3</sup>Катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“,

<sup>4</sup>Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“,

<sup>5</sup>Катедра „Пропедевтика на вътрешните болести“

МУ-Плевен, ул. „Климент Охридски“ №1, 5800 Плевен, България

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

## ENDOTHELIN-1 IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Krasimir Kostov<sup>1</sup>, Anelia Dimitrova<sup>1</sup>, Snejana Tisheva<sup>2</sup>, Aleksander Blazhev,  
Milena Atanasova<sup>3</sup>, Adelaida Ruseva<sup>4</sup>, Ivan Tsinlikov<sup>5</sup>, Armine Grigoryan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of "Physiology and Pathophysiology",

<sup>2</sup>Department of "Cardiology, Pulmonology and Endocrinology",

<sup>3</sup>Department of "Anatomy, Histology, Cytology and Biology",

<sup>4</sup>Department of "Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology",

<sup>5</sup>Department of "Propaedeutics of Internal diseases"

Medical University of Pleven, 1 "Kliment Ohridski" Str., 5800 Pleven, Bulgaria

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

### ABSTRACT

The role of endothelin-1 (ET-1) in arterial hypertension has been established through measurement of its serum levels. Although some studies have demonstrated an increase of ET-1 in hypertensive patients, others show normal or lightly elevated levels. In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), the disease is often combined with arterial hypertension, which leads to a more severe complications of diabetes. ET-1, which is a powerful vasoconstrictor with proliferative, profibrotic and proinflammatory properties, may contribute through various mechanisms to the development of diabetic vascular diseases and hypertension. Furthermore ET-1 causes a reduction in insulin sensitivity and may so participate in the development of the metabolic syndrome. The objective of the study was to compare the serum concentrations of ET-1 in patients with mild and severe degree of arterial hypertension with and without T2DM with those of normotensive individuals without DM. The survey results show that in patients with arterial hypertension with and without T2DM, the levels of ET-1 are higher than those of the control group. The average levels of ET-1 in patients with arterial hypertension with T2DM are significantly increased compared with those in patients with arterial hypertension without DM.

**Key words:** endothelin-1, arterial hypertension, type 2 diabetes mellitus

### ВЪВЕДЕНИЕ

Хемодинамичният стрес при артериална хипертензия води до повишена продукция на ET-1, който е един от най-силните открити до момента вазоконстриктори [4]. Неговото действие е от 30 до 50 пъти по-силно от това на норадреналина и ангиотензин II (AT II) [1] и между 8-110 пъти по-слабо от това на уротензин II (U-II) [8,9]. Генерира се основно от ендотелните клетки. Концентрациите на ET-1 в съдовата стена са над 100 пъти по-високи от циркулиращите му плазмени нива. Така ET-1 действа основно като автокринен/паракринен

62. Костов К, Т. Рашев, **А. Димитрова**, С. Тишева, А. Блажев, М. Атанасова, К. Господинов. Ендотелин-1, кардиотрофин-1, галектин-3, матриксна металопротеиназа-1 и тъканния инхибитор на металопротеиназите-1, като биомаркери за сърдечно-съдовия риск при пациенти с артериална хипертензия. Science & Technologies. 2015;5(1):178-183.

**ЕНДОТЕЛИН-1, КАРДИОТРОФИН-1, ГАЛЕКТИН-3, МАТРИКСНА  
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА-1 И ТЪКАНИНА ИНХИБИТОР НА  
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИТЕ-1, КАТО БИОМАРКЕРИ ЗА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИЯ  
РИСК ПРИ ПАЦИЕНТИ С АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ**

Красимир Костов<sup>1</sup>, Тихомир Рашев<sup>2</sup>, Анелия Димитрова<sup>1</sup>, Снежана Тишева<sup>3</sup>,  
Александър Блажев<sup>4</sup>, Милена Атанасова<sup>4</sup>, Константин Господинов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“,

<sup>2</sup>Сектор „Молекулярна биология“ - лаборатория за научни изследвания,

<sup>3</sup>Катедра „Кардиология, пулмология и ендокринология“,

<sup>4</sup>Катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“,

МУ-Плевен, ул. „Климент Охридски“ №1, 5800 Плевен, България

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

**ENDOTHELIN-1, CARDIOTROPHIN-1, GALECTIN-3, MATRIX  
METALLOPROTEINASE-1 AND TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES-1  
AS BIOMARKERS OF CARDIOVASCULAR RISK IN PATIENTS WITH ARTERIAL  
HYPERTENSION**

Krasimir Kostov<sup>1</sup>, Tihomir Rashev<sup>2</sup>, Anelia Dimitrova<sup>1</sup>, Snejana Tisheva<sup>3</sup>, Aleksander  
Blazhev<sup>4</sup>, Milena Atanasova<sup>4</sup>, Konstantin Gospodinov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of "Physiology and Pathophysiology",

<sup>2</sup>Sector "Molecular Biology" - Laboratory for research,

<sup>3</sup>Department of "Cardiology, Pulmonology and Endocrinology",

<sup>4</sup>Department of "Anatomy, Histology, Cytology and Biology",

Medical University of Pleven, 1 "Kliment Ohridski" Str., 5800 Plevna, Bulgaria

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

**ABSTRACT**

The prevalence of hypertension is increasing worldwide and heart failure as a result of hypertensive heart disease, would soon be become the most common cause of heart failure. Search for suitable biomarkers of inflammation and fibrosis, can identify these patients who are with higher risk for progression from latent to symptomatic heart failure. Timely detection and treatment of these patients would reduce the future cardiovascular risk, earlier debilitating condition, and the costs of hospitalization, medical cares and expensive therapy. Such biomarkers in patients with arterial hypertension may be: ET-1, CT-1, Gal-3, MMP-1 and TIMP-1.

**Key words:** arterial hypertension, endothelin-1, cardiotrophin-1, galectin-3, MMP-1, TIMP-1

**УВОД**

Разпространението на артериалната хипертензия се увеличава в световен мащаб и сърдечната недостатъчност вследствие на хипертензивните сърдечни заболявания (hypertensive heart disease- HHD), скоро ще се превърне в най-честата причина за сърдечна недостатъчност (CH). Търсенето на подходящи биомаркери на възпалителния процес и последващата фиброза в съдовете и сърцето, може да идентифицира тези пациенти, които са с най-висок риск за прогресия от латентна към симптомна CH. Своевременното откриване и лечение на тези пациенти би намалило бъдещия сърдечно-съдов риск, ранното им инвалидизиране, както и разходите за хоспитализация, медицински грижи и скъпо струваща терапия. Въпреки важноста на проблема, търсенето на специфични биомаркери при артериална хипертензия изостава в сравнение с други заболявания. Определението на

Volume V, Number 1, 2015

Medicine

178

63. Kostov K, A. Dimitrova, S. Tisheva, A. Ruseva, A. Blazhev, M. Atanasova, K. Gospodinov. C-reactive protein as a marker for low-grade inflammation in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. Science and Youth. 2015; 106-109.

## C-reactive Protein as a Marker for Low-grade Inflammation in Hypertensive Patients with and without Type 2 Diabetes Mellitus

Krasimir Kostov<sup>1</sup>, Anelia Dimitrova<sup>1</sup>, Snejana Tisheva<sup>2</sup>, Adelaida Ruseva<sup>3</sup>,  
Milena Atanasova<sup>4</sup>, Aleksander Blazhev<sup>4</sup>, Konstantin Gospodinov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, Medical University – Pleven, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Cardiology and Rheumatology, Medical University – Pleven, Bulgaria

<sup>3</sup>Central Clinical Laboratory of University Hospital, Pleven, Bulgaria

<sup>4</sup>Department of Biology, Medical University – Pleven, Bulgaria

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

### Introduction

Inflammation is recognized as a central mechanism contributing to progression of cardiovascular diseases (1). Recently, chronic low-grade inflammation has been identified as an integral part in the pathogenesis of vascular disease. Prospective clinical studies have shown that systemic chronic low-grade inflammation is associated with an increased risk of cardiovascular events and mortality (2). Low-grade inflammation localized in vascular tissue is recognized as an important contributor to the pathophysiology of hypertension (3).

C-reactive protein (CRP), among other systemic inflammatory mediators, has been widely accepted as a potent risk indicator, independently predicting future cardiovascular events. The impact of CRP on cardiovascular outcome has been corroborated by a large number of observational studies and meta-analyses. These studies show, that an elevated CRP has a clear prognostic value for major cardiovascular events and mortality, whereas the lowering of CRP is associated with a reduction in cardiovascular risk (4,5). For example, plasma CRP levels are a powerful predictor of ischemic

cardiovascular events (stroke, peripheral vascular disease, sudden cardiac death and myocardial infarction) in patients with stable or unstable angina, and even among apparently healthy subjects. Elevated CRP levels appear to correlate with softer plaques that are more prone to rupture (1). Combining these findings with experimental observations has lead to a paradigm shift in which CRP is no longer merely a marker, but is increasingly considered as a mediator of cardiovascular disease (4). CRP is a 115-kDa pentamer expressed almost exclusively by hepatocytes as part of the non-specific acute-phase response to tissue damage, infection and inflammation (1). The main inducer of the response, however, is another important pro-inflammatory cytokine, interleukin 6 (IL-6). Interleukin 1 (IL-1) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), also stimulate CRP releasing (6).

The idea that hypertension and inflammation are somehow linked emerges from the recent crosssectional and prospective studies, showing that circulating inflammatory molecules are increased in hypertensive patients, and their levels predict the onset of hypertension (7). There is evidence in both human and

64. Grigoryan A, **A. Dimitrova**, K. Kostov, A. Ruseva, M. Atanasova, A. Blazhev, T. Betova, R. Trifonov. Changes of serum concentrations of alkaline phosphatase and metalloproteinase-9 in an ovariectomized wistar rat model of osteoporosis. *Journal of Biomedical and Clinical Research*. 2017; 10(1): 32-35.

## CHANGES OF SERUM CONCENTRATIONS OF ALKALINE PHOSPHATASE AND METALLOPROTEINASE-9 IN AN OVARECTOMIZED WISTAR RAT MODEL OF OSTEOPOROSIS

Armine V. Grigoryan,  
Aneliya A. Dimitrova,  
Krasimir G. Kostov,  
Adelaida L. Russeva<sup>1</sup>,  
Milena A. Atanasova<sup>2</sup>,  
Alexander B. Blagev<sup>3</sup>,  
Tatyana M. Betova<sup>3</sup>,  
Radoslav G. Trifonov<sup>4</sup>

Department of Pathological  
Physiology,  
Medical University – Pleven,  
Bulgaria

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory,  
Medical University – Pleven,  
Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Biology,  
Medical University – Pleven,  
Bulgaria

<sup>3</sup>Department of Pathoanatomy,  
Medical University – Pleven,  
Bulgaria

<sup>4</sup>Student of Medical University –  
Pleven,  
Bulgaria

### Corresponding Author:

Armine V. Grigoryan  
Department of Pathological Physiology,  
Medical University – Pleven  
1, St. Kliment Ohridski Str.  
Pleven, 5800  
Bulgaria  
e-mail: armine14@abv.bg

Received: May 29, 2017

Revision received: July 07, 2017

Accepted: November 02, 2017

### Summary

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by decreased bone mass, destruction of the microarchitectonics of bone structure and a high risk for fracture. One of the criteria for altered bone homeostasis includes the changes in serum levels of alkaline phosphatase (ALP) and the activity of matrix metalloproteinases (MMPs). The purpose of this study was to determine the serum concentrations of calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), phosphorus (P), magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), alkaline phosphatase (ALP) and MMP-9 in ovariectomized rats. We used 35 female Wistar rats at reproductive age (2 months) divided into 2 groups: a control group (G1-SHAM) – 20 animals subjected to “false” ovariectomy and placebo-operation, and an ovariectomized group (G2-OVX) – 15 animals subjected to bilateral ovariectomy. Blood was collected from the abdominal aorta for testing levels of  $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{Mg}^{2+}$ , ALP and MMP-9. No statistically significant differences in serum concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$ , P and  $\text{Mg}^{2+}$  were found between G2 and G1 ( $p > 0.05$ ). The values of ALP and MMP-9 in rats of G2 were statistically significantly increased, as compared to G1 ( $p < 0.05$ ). The serum activity of ALP, which is a marker for bone formation, was increased in OVX-induced osteoporosis. Elevated serum MMP-9 levels in G2 confirmed the hypothesis that it is a marker for osteoclast activity.

**Key words:** osteoporosis, MMP-9, ALP

### Introduction

According to the WHO, osteoporosis is a progressive systemic disease of the bone tissue, characterized by decreased mass and deteriorated microarchitectonics of the bone, leading to increased bone fragility and risk of fractures [1].

There is a variety of causes of osteoporosis. It is estimated that 10% of the human skeleton is annually updated due to the controlled and regulated activity of osteoclasts (Oc) and osteoblasts (Ob) [2]. The pathological processes that disrupt the balance between the activity of these two cell groups lead to increased bone fragility and brittleness. During menopause or after ovariectomy the level of estrogens falls and this hormone deficiency contributes to the destruction of the bones by activating osteoclasts [3, 4] and increased expression of matrix metalloproteinases (MMPs) [5,

**ПУБЛИКАЦИИ (ПЪЛНОТЕКСТОВИ) В СБОРНИЦИ ОТ НАУЧНИ ФОРУМИ  
В БЪЛГАРИЯ И ЧУЖБИНА**

65. Страшимиров Д, Е. Лакова, А. Димитрова. Влияние на неонаталната тимектомия на плъхове върху серумната концентрация на манган. Сборник от научна конференция с международно участие. Стара Загора 2002;1:129-

**ВЛИЯНИЕ НА НЕОНАТАЛНАТА ТИМЕКТОМИЯ  
НА ПЛЪХОВЕ ВЪРХУ СЕРУМНАТА  
КОНЦЕНТРАЦИЯ НА МАНГАН**

Д. Страшимиров, Е. Лакова, А. Димитрова  
Катедра "Обща биология и патофизиология", ВМИ-Плевен, Климент  
Охридски 1, 5800 Плевен, България,  
E-mail: vmipl@el-soft.com

**NEONATAL THYMECTOMY EFFECT ON THE SERUM  
CONCENTRATION LEVEL OF MANGANESE IN RATS**

D. Strashimirov, E. Lakova, A. Dimitrova  
Department of Biology and Pathophysiology, Higher Medical Institute,  
1 Kliment Ohridski Street, Plevan 5800, Bulgaria,  
E-mail: vmipl@el-soft.com

**ABSTRACT** This is a study on the effect of neonatal thymectomy on the serum concentration of manganese in rats of Wistar line (57 males and 51 females), aged one and two months. A significant increase in manganese is noted in the animals aged two months; in other age group only a tendency towards increase is observed. There is no gender difference in the two age groups. The change in serum concentration of manganese may be attributed to the absence of thymus gland and the hormonal imbalance developing after neonatal thymectomy.  
**Key words:** neonatal thymectomy, rats, manganese, serum

Тимусът е "главна жлеза на имунитета" [6]. Освен това, като ендокринен орган, той участва в регулацията на различни физиологични функции и някои патологични процеси [8]. Наши предишни проучвания показват, че след неонатална тимектомия на плъхове се наблюдават хиперхолестеролемия, статистически значимо понижение на концентрацията на серумния цинк и понижение на серумното желязо [9, 12]. Добре известно е, че метаболизмът на тези елементи е свързан с метаболизма на микроелементите манган, кобалт и молибден. За определяне съдържанието на манган в биологични течности се използват различни методи [2], сред които с достъпността си и сравнително лесното си техническо изпълнение се открояват каталитичните методи [1, 3-5, 10, 11].

66. Страшимиров Д, Е. Лакова, А. Димитрова, К. Мутафчиев. Влияние на неонаталната тимектомия върху серумната концентрация на мед, манган и желязо при мъжки Вистар плъхове. Годишен сборник ИМАБ 2003;9(1):115-117.

## ВЛИЯНИЕ НА НЕОНАТАЛНАТА ТИМЕКТОМИЯ ВЪРХУ СЕРУМНАТА КОНЦЕНТРАЦИЯ НА МЕД, МАНГАН И ЖЕЛЯЗО ПРИ МЪЖКИ WISTAR ПЛЪХОВЕ

Страшимиров Д., Е. Лакова, А. Димитрова, К. Мутафчиев\*

Катедра по патологична физиология и биология

\*Катедра по химия и биохимия

Висш Медицински Институт - Плевен

### EFFECTS OF NEONATAL THYMECTOMY ON MANGANESE, IRON AND COPPER SERUM LEVELS IN MALE WISTAR RATS

Strashimirov D., E. Lakova, A. Dimitrova, K. Mutaftchiev

Department of Pathophysiology and Biology

Department of Chemistry and Biochemistry

Higher Medical Institute - Pleven

#### ABSTRACT

Previous studies have demonstrated that thymus gland is not only central organ of immune system but also contributes to homeostatic regulation.

The present study was designed to determine thymus gland influence on some trace elements. We investigated the serum levels of manganese, iron and copper by catalytic spectrophotometric method (ng/ml) in 1 and 2-month-old neonatally thymectomized (NT) male Wistar rats (n = 27). The control group consisted of 22 age and sex-matched Wistar rats.

Serum copper levels was insignificantly higher in NT rats than in control rats aged 1 month ( $24, 2 \pm 0,7$  vs  $23, 6 \pm 0,6$ ) and 2 months ( $26, 4 \pm 0,9$  vs  $25, 2 \pm 0,8$ ). Serum manganese levels was insignificantly higher in NT rats than in control rats aged 1 month ( $1,8 \pm 0,06$  vs  $1,7 \pm 0,06$ ) and 2 months ( $2,0 \pm 0,07$  vs  $1,7 \pm 0,05$ ). Neonatal thymectomy decreased insignificantly serum levels of iron in both 1-month-old ( $31,6 \pm 0,9$  vs  $33,2 \pm 0,8$ ) and 2-month-old rats ( $30,1 \pm 0,9$  vs  $31,8 \pm 0,7$ ). A trend of increase of serum levels of manganese and copper and of decrease of serum levels of iron is aged-dependent in controls and thymectomized rats.

These results suggest thymus gland involvement in trace elements metabolism.

**Key words:** neonatal thymectomy, manganese, iron, copper, Wistar rats

Множество изследвания върху влиянието на диети с дефицит на микроелементи върху експеримен-

тални животни и хора показват, че функциите на имунната система зависят от тези важни съставки (Erickson et al, 2000). Известно е, че медният дефицит предизвиква структурни промени в мембраните на лимфоцитите, намалява митогенната активност на тези клетки и потиска имунния отговор (Johnson et Dufault, 1991). Железният дефицит намалява бактерицидната способност на неутрофилите (Erickson et al, 2000), а недостигът на манган води до потискане на антиоксидантната защита в някои имунни клетки (Davis et Greger, 1992).

В настоящето проучване връзката между микроелементите и имунната система се разглежда в друг аспект - тимусът е не само централен орган на имунитета, но и ендокринна жлеза, която участва в хомеостазната регулация. Влиянието на тимуса върху нивото на някои микроелементи се проследява в различни срокове след неонатална тимектомия.

#### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Експериментите са проведени върху 49 плъха мъжки порода Вистар. На 27 плъха е направена неонатална тимектомия по метода на Узунова (1968) в първите 24 часа след раждането. Тимектомираните животните (ТМ) са разпределени в две възрастови групи, които са изследвани както следва - на 1 месец (n=13), на 2 месеца (n=14). Като контроли са използвани лъжливо тимектомирани плъхове (ЛТМ) от същия пол; на 1 месец (n=12), на 2 месеца - (n=10).

Кръвта за изследване е взета сутрин на гладно, под лека етерна наркоза, след обезкървяване чрез пунктиране на абдоминалната аорта. Серумите са приготвени чрез центрофугиране на съсирена кръв и са съхранявани при  $-12^{\circ}\text{C}$ . Съдържанието на мед, желязо и манган е определяно с каталитични спектрофотометрични методи (Алексиев, Мутафчиев, 1986; Мутафчиев, Алексиев, 1984; Mutaftchiev, Alexiev, 1997).

Всички данни са представени като  $\bar{x} \pm \text{SD}$ .

67. Страшимиров Д., К. Цачев, **А. Димитрова**. Съдържание на манган в някои лечебни растения и в получени от тях водни извлекци (I част). Сборник от научна конференция с международно участие. Стара Загора 2004;4:161-164.

## СЪДЪРЖАНИЕ НА МАНГАН В НЯКОИ ЛЕЧЕБНИ РАСТЕНИЯ И В ПОЛУЧЕНИ ОТ ТЯХ ВОДНИ ИЗВЛЕЦИ

Денко Страшимиров, Камен Цачев\*, Анелия Димитрова  
Висш Медицински Институт, 5800 Плевен, България  
\*Медицински Университет, Клинична лаборатория, 1431  
София, България

## CONTENT OF MANGANESE IN SOME MEDICINAL PLANTS AND THEIR WATER EXTRACTS

Denko Strashimirov, Kamen Tzachev\*, Anelia Dimitrova  
Higher Institute of Medicine, 5800 Pleven, Bulgaria  
\*Medical University, 1431 Sofia, Bulgaria

The aim of this investigation was to determine the contents of manganese in some medicinal plants and their water extracts, for which there is no data in literature. The determination was performed by a catalytic spectrophotometric method. The results for manganese contents in medicinal plants ( $\text{mg g}^{-1}$ ) and their water extracts ( $\text{mg ml}^{-1}$ ) were as follows: leaves of ivy  $45.0 \pm 1.1$ ,  $0.120 \pm 0.002$ ; leaves of crane's bill  $62.0 \pm 1.6$ ,  $0.140 \pm 0.004$ ; stalks of marjoram  $84.0 \pm 2.1$ ,  $0.190 \pm 0.005$ ; stalks of dill  $71.0 \pm 1.8$ ,  $0.180 \pm 0.005$ . The results showed very good agreement with those obtained by atomic absorption spectrophotometry.

**Key words:** manganese, medicinal plants, water extracts.

### УВОД

В последно време се наблюдава засилен интерес към лечебните растения, които все повече намират място в профилактиката и лечението на редица заболявания, било самостоятелно, било като допълнение към конвенционалната терапия. Най-често лечебните растения се използват под формата на приготвени от тях водни извлеци при стайна температура или при висока температура (отвари и запарки) [1,3]. Тяхното действие е причинено не само от едно индивидуално вещество, а от комплекс съединения, всяко от които със специфична химична природа и отнасяния [5,7]. Напоследък бе изказано предположението, че при редица лечебни растения и техни водни извлеци, важна роля в проявеното терапевтично действие играят определени микроелементи [13]. По принцип микроелементите могат да се намират в свързано състояние (комплексно свързани или органично свързани) или в състояние на свободни метални йони (аквойони) [8,9]. Манганът е един от есенциалните микроелементи, който се набавя от организма чрез храната, водата и напитките, включително и от водните извлеци, приготвени от лечебни растения. Счита се, че дневната нужда за организма от него е от 2 до 5 mg [2,6]. В България се използват около 800 вида лечебни растения, като 250 от тях могат да се намерят в билковите аптеки и магазини. За някои от тях има данни за съдържанието на манган [10, 11, 12]. За по-голямата част от тези растения в литературата липсват данни за съдържанието на манган, което е пречка, ако е необходимо да бъде изчислен точен дневен прием от този елемент. Това се отнася и за растенията, които бяха

186 Научна конференция с международно участие - Стара Загора 2004  
т.4 ч.1 Клетъчна и молекулярна биология и микробиология. Физиология и фармакология.

68. Страшимиров Д, Б. Русева, А. Димитрова. Съдържание на манган в някои хранителни продукти от растителен произход. Сборник с материали от V Международен симпозиум "Екология – устойчиво развитие" Враца 2004;147-151.

## СЪДЪРЖАНИЕ НА МАНГАН В НЯКОИ ХРАНИТЕЛНИ ПРОДУКТИ ОТ РАСТИТЕЛЕН ПРОИЗХОД

Денко Страшимиров, Боряна Русева, Анелия Димитрова

**РЕЗЮМЕ** Целта на настоящото проучване е да се определи съдържанието на манган в някои хранителни продукти от растителен произход широко консумирани у нас, за които липсват данни в литературата от последните години. Определянето бе извършено с каталитичен спектрофотометричен метод. Получените резултати за съдържание на манган ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) са както следва: червени домати –  $2.00 \pm 0.05$ ; вишни –  $4.50 \pm 0.12$ ; пъпеши и дюли –  $0.60 \pm 0.02$ ; дини, лимони, мандарини и портокали –  $0.50 \pm 0.01$ . Те не се различават значително от стойностите, представени в таблиците за състава на българските хранителни продукти.

*Ключови думи: манган, хранителни продукти, растителен произход*

Храненето има определящо влияние върху здравето, нормалното физическо и психическо развитие на човека, работоспособността и продължителността на живота му. Освен основните хранителни вещества (белтъци, масти, въглехидрати), витамини и минерални соли, храните съдържат и някои токсични вещества (пестициди, тежки метали, токсини от различно естество), които са вредни за организма. Обикновено в състава на хранителните продукти присъствуват следи от тежки метали, но при съвременния начин на живот и производство, в резултат на допълнително замърсяване от промишлеността и транспорта, тяхното количество се увеличава и това може да окаже неблагоприятно въздействие върху здравето [7,8,15].

Манганът е есенциален микроелемент, който има значение за нормалното протичане на някои биохимични реакции. Мангановите металоензими са аргиназа, пируваткарбоксилазата, глутаминсинтетаза и манганова супероксиддисмутаза, която участва в антиоксидантната защита от реактивните форми на кислорода. Организмът си набавя манган чрез храната, водата и напитките. Въпреки че, сигурна норма за безопасен дневен прием на манган все още не е приета от СЗО, счита се, че дневните нужди на организма от този микроелемент са от 2 до 5 mg [2, 15].

При манганов дефицит се наблюдават смущения в процесите на растеж, формиране на скелета и репродуктивната функция, а при повишен

147

69. Страшимиров Д, К. Цачев, **А. Димитрова**. Съдържание на манган в някои лечебни растения и в получени от тях водни извлеци (II част). Сборник с материали от V Международен симпозиум “Екология – устойчиво развитие” Враца. 2004;152-156.

## СЪДЪРЖАНИЕ НА МАНГАН В НЯКОИ ЛЕЧЕБНИ РАСТЕНИЯ И В ПОЛУЧЕНИ ОТ ТЯХ ВОДНИ ИЗВЛЕЦИ

Денко Страшимиров, Камен Цачев, Анелия Димитрова

The aim of this investigation was to determine the contents of manganese in some medicinal plants and their water extracts which are consumed by many people. The determination was performed by a catalytic spectrophotometric method. The results for manganese contents in medicinal plants ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) and their water extracts ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) were as follows: seeds of horse chestnut  $81.0 \pm 1.8$ ,  $0.210 \pm 0.006$ ; fruits of cornel  $47.0 \pm 1.3$ ,  $0.270 \pm 0.007$ ;

seeds of quince  $32.0 \pm 0.8$ ,  $0.080 \pm 0.001$ ; blossom of elder  $38.2 \pm 0.9$ ,  $0.150 \pm 0.004$ .

Key words; *manganese, medicinal plants, water extracts.*

### УВОД

В последно време се наблюдава засилен интерес към лечебните растения, които все повече намират място в профилактиката и лечението на редица заболявания, било самостоятелно, било като допълнение към конвенционалната терапия. Най-често лечебните растения се използват под формата на приготвени от тях водни извлеци при стайна температура или при висока температура (отвари и запарки) [1,3]. Тяхното действие е причинено не само от едно индивидуално вещество, а от комплекс съединения, всяко от които със специфична химична природа и отнасяния [5,7]. Напоследък бе изказано предположението, че при редица лечебни растения и техни водни извлеци, важна роля в проявеното терапевтично действие играят определени микроелементи [13]. По принцип микроелементите могат да се намират в свързано състояние (комплексно свързани или органично свързани) или в състояние на свободни метални йони (аквойони) [8,9]. Манганът е един от есенциалните микроелементи, който се набавя от организма чрез храната, водата и напитките, включително и от водните извлеци, приготвени от лечебни растения. Счита се, че дневната нужда за организма от него е от 2 до 5 mg [2,6]. В България се използват около 800 вида лечебни растения, като 250 от тях могат да се намерят в билковите аптеки и магазини. За някои от тях има данни за съдържанието на манган [10, 11, 12]. За по-голямата част от тези растения в литературата липсват данни за съдържанието на манган, което е пречка, когато е необходимо да бъде изчислен точно дневния прием от този елемент. Това се отнася и за растенията, които бяха избрани за обекти на настоящото проучване. Неговата цел бе да се определи

152

70. Пандурска А, Д. Пендичева, Г. Ставрева, М. Михайлова, **А. Димитрова**, П. Христова. Нашият опит от въведеното факултативно обучение по хомеопатия на студенти-медици. Сборник от доклади от Юбилейна научна сесия "130 години от Априлското въстание" 2006;378-381.

## НАШИЯТ ОПИТ ОТ ВЪВЕДЕНОТО ФАКУЛТАТИВНО ОБУЧЕНИЕ ПО ХОМЕОПАТИЯ НА СТУДЕНТИ-МЕДИЦИ

А. М. Пандурска, П. А. Христова, Д. И. Пендичева, Г. Ц. Ставрева, М. П.  
Михайлова, А. А. Димитрова  
Медицински факултет, Медицински университет-Плевен

Хомеопатията е терапевтичен метод, базиран на индивидуалния подход, принципа на подобие и безкрайно малките разреждания. Името ѝ произхожда от гръцки език: homeos – подобен и pathos – болест. Това е терапия, при която на болния се назначават малки, или безкрайно малки дози от вещество, което прието при здрав човек в измерими количества би предизвикало симптоми, подобни на тези, у болния [1,7,9,10,11,12].

В много страни по света (Франция, Великобритания, Белгия, Германия и др.) тя навлиза като терапевтичен метод и медицинска концепция в клиничната практика [2,3,4,5], като хомеопатичните лекарства се реимбурсират от здравноосигурителните каси и фондове.

През 1994 год. на Петия Международен конгрес на Световната Медицинска Хомеопатична Организация, състоял се в Париж, официален представител на СЗО, определи хомеопатията, като призвана да даде своя дял за постигане на инициативата на СЗО «Здраве за всички». СЗО препоръчва на всички страни в света да усвоят и използват този терапевтичен метод, който има и икономически предимства [6].

Днес преподаването по хомеопатия е включено в програмите за следдипломна квалификация на лекари, фармацевти и стоматолози, както и като факултативна дисциплина в редица престижни университети и медицински образователни центрове [8].

В България от 1995 г. се осъществява следдипломно медицинско обучение на медици чрез курсове, организирани от Център за обучение и развитие на хомеопатията (ЦОРХ) в София, Пловдив и Варна.

Хомеопатичните лекарства са разрешени за употреба и регистрирани от ИАЛ през януари 1996 год [1].

Нарастващият интерес към хомеопатията в страната и конкретно сред студентите от Плевен е една от причините в програмата на Медицински Университет да бъде включен факултативен лекционен курс по хомеопатия.

ЦЕЛИТЕ на проучването са:

1. Оценка на резултатите от първия в страната факултативен курс по хомеопатия, проведен в Медицински университет - гр. Плевен през зимния семестър на 2004-2005 учебна година.

71. Русева Б, К. Цачев, П. Лалева, Д. Страшимиров, В. Петкова, К. Мутафчиев, **А. Димитрова**. Глутатионпероксидазна активност при спонтанно-хипертензивни плъхове (SHR) на диета с различно съдържание на селен. Сборник от научна конференция с международно участие. Стара Загора 2006;4:95-98.

## ГЛУТАТИОН ПЕРОКСИДАЗНА АКТИВНОСТ ПРИ СПОНТАННО-ХИПЕРТЕНЗИВНИ ПЛЪХОВЕ НА ДИЕТА С РАЗЛИЧНО СЪДЪРЖАНИЕ НА СЕЛЕН

Боряна Русева, Камен Цачев\*, Павлина Лалева,  
Денко Страшимиров, Валентина Петкова,  
Константин Мутафчиев, Анелия Димитрова  
Медицински Университет-Плевен, Медицински факултет, 5  
800 гр. Плевен, Р България  
\* Медицински Университет-София, Медицински факултет,  
1431 гр. София, Р България

## GLUTATHIONE PEROXIDASE ACTIVITY IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS, UNDER DIET OF DIFFERENT CONTENT OF SELENIUM

Boryana Ruseva, Kamen Tzatchev\*, Pavlina Laleva,  
Denko Strashimirov, Valentina Petkova, Konstantin Mutaftchiev,  
Anelya Dimitrova  
Medical University - Pleven, Medical Faculty, 5800 Pleven, Bulgaria  
\*Medical University - Sofia, Medical Faculty, 1431 Sofia, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the glutathione peroxidase (GPx) activity of whole blood in spontaneously hypertensive rats (SHR) under diet with different content of selenium (Se). 43 male SHR are used, separated into 3 groups: low Se diet, diet with selenium supplementation, normal Se diet. 9 male normotensive Wistar are used as control group.

The results of serum Se concentration of low Se diet SHR are significantly lower than those of the other groups. We establish lower GPx activity of SHR ( $725 \pm 200 \text{ U/g Hb}$ ), compared to Wistar rats ( $1028 \pm 341 \text{ U/g Hb}$ ), under same diet ( $p=0.02$ ).

**Key words:** selenium, glutathione peroxidase activity, SHR

Селенът е есенциален микроелемент. Известни са над 30 селенопротеина, разпределени в 3 фамилии: глутатионпероксидази, тиоредуксин редуктази и йодтиронин 5' дейодинази. Експресията на селенопротеините при човека е кодирана в 25 селенопротеинови гена. Доминиращ контрол над селенопротеиновата експресия има селеновият прием. Селенът постъпва в организма основно с храната. Богати на селен са: морската риба, месо, черен дроб, ядки и чесън. Съдържанието му в растенията зависи от състава на почвата, върху която са отглеждани. Количеството селен, на разположение за асимилация от тъканите зависи от формата и концентрацията му в храната. Абсорбцията на селена като селенит е над 80%, а като селенометионин или селенат над 90%. Експериментално е установено, че диета със съдържание 0,1  $\mu\text{g}$  селен / g храна е достатъчна за нормален растеж и репродукция на всички видове бозайници/1,13/.

Открити са 6 изоензима на глутатионпероксидазата, участващи в антиоксидантната защита на организма. /1/. Биологичната роля на селенопротеините при бозайниците е свързана с оптималната ендокринна и имунна функция, превенция от сърдечно-съдови и ракови заболявания /1,2,3/.

Целта на настоящето изследване е да установи има ли промени в актив-

72. Русева Б, Д. Страшимиров, П. Лалева, К. Цачев, В. Петкова, К. Мутафчиев, А. Димитрова. Липиден профил при плъхове Wistar на диета с различно съдържание на селен. Сборник от научна конференция с международно участие. Стара Загора 2006;4:90-94.

## ЛИПИДЕН ПРОФИЛ ПРИ ПЛЪХОВЕ WISTAR НА ДИЕТА С РАЗЛИЧНО СЪДЪРЖАНИЕ НА СЕЛЕН

Боряна Русева, Денко Страшимиров, Павлина Лалева,  
Камен Цачев\*, Валентина Петкова, Константин Мутафчиев,  
Анелия Димитрова  
Медицински Университет-Плевен, Медицински факултет, 5800 гр. Плевен, Р България  
\* Медицински Университет-София, Медицински факултет, 1431 гр. София, Р България

## LIPID PROFILE OF WISTAR RATS, UNDER DIET OF DIFFERENT CONTENT OF SELENIUM

Boryana Ruseva, Denko Strashimirov, Pavlina Laleva, Kamen Tzatchev\*,  
Valentina Petkova, Konstantin Mutaftchiev, Anelya Dimitrova  
Medical University - Pleven, Medical Faculty, 5800 Pleven, Bulgaria  
\*Medical University - Sofia, Medical Faculty, 1431 Sofia, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the influence of selenium (Se) uptake on the indicators of lipid profile in Wistar rats. 36 male Wistar rats, separated into 3 groups, were used: 1- low Se diet, 2- supplementation with Se, 3- normal Se diet.

Serum Se concentration is the lowest in Wistar with low Se uptake. The rats with low Se uptake have significantly higher LDL- cholesterol concentration. Serum triglycerids and HDL-cholesterol concentrations are higher in Wistar rats with Se supplementation, than those of the other groups ( $p=0.001$ ).

Different selenium uptake changes the lipid profile indicators.

**Key words:** selenium, Wistar, lipid profile

Кислородът е бирадикал и има тенденция да образува токсични реактивни кислородни видове като: хидроксилен радикал, супероксид и водороден пероксид, които увреждат протеините, ДНК, полиненаситените липиди на клетъчната мембрана и други клетъчни компоненти. Когато продукцията на тези реактивни форми на кислорода е по-бърза от тяхното отстраняване се получава оксидативен стрес. Клетките имат защитни механизми, които ги предпазват от увреждащото действие на реактивните форми на кислорода. Супероксиддисмутазата обезврежда супероксида, а каталазата и глутатионпероксидазата – водородния пероксид и липидните пероксиди. При намалена активност на тези ензимни системи се получава дисбаланс на антиоксидантния статус, което е причина за някои заболявания. Обикновено това се наблюдава при недостатъчен внос на цинк и селен, които влизат в състава на антиоксидантните металоензими (6,11).

Селенът е есенциален микроелемент. Той влиза в състава на ензима глутатионпероксидаза, който заедно с vit E, каталазата и супероксиддисмутазата са компоненти на антиоксидантната защитна система на организма. Селенът постъпва в организма основно с храната. Количеството селен, на разположение за асимилация от тъканите зависи от формата и концентрацията му в храната. Абсорбцията на селена като селенит е над 80%, а като селенометионин или селенат над 90%. Резорбцията му в гастроинтестиналния тракт не е подложена

73. **Димитрова А, Д.** Страшимиров, М. Атанасова, М. Георгиева, Ст. Байданов. Анти AGE,S антитела при SHR подложени на цинкови диети. Сборник от доклади от VIII Национален конгрес по хранене с международно участие, 17-19 Май 2007 МДУ "Фр.Ж. Кюри". Науката за хранене пред нови възможности и предизвикателства. 2007;14-15.

А. Димитрова\*, Д. Страшимиров\*, М. Атанасова\*,  
М.Георгиева\*\*, Ст.Баиданов\*\*

\*Катедра „Биология и патологична физиология“ – МУ, Плевен

\*\*Център по клинична имунология Проект "Elastage"- УМБАЛ "Д-р Странски", Плевен

**Резюме:** Една от съвременните теории за стареенето постулира, че възрастово-зависимите промени се индуцират от съвместното действие на реактивните форми на кислорода и не-ензимното гликиране на протеините.

**Цел:** Изясняване ролята на цинковата добавка за неензимното гликиране на протеините.

**Материали и методи:** Изследвани са серуми на двумесечни спонтанно-хипертензивни плъхове (SHR) и четиримесечни SHR, разделени на две групи: първа група (Г1, Zn 40 mg/kg диета-контролна) и втора група (Г2, с Zn 160 mg/kg диета-суплементация). На базата на основните принципи на ELISA е разработен метод за определяне на анти AGE,S антитела в серуми на плъхове.

**Резултати:** Установени са следните екстинкции: за двумесечните  $-0.160 \pm 0.48$ , за Г1  $-0.624 \pm 0.64$  и Г2  $-0.350 \pm 0.80$ . На този етап от проучването се наблюдава сигнификантно ( $p < 0.05$ ) намаляване на титъра на анти AGE,S антитела при цинкова суплементация. Предстои количествено определяне на променените гликирани дълго живеещите съединително-тъканни протеини на изследваните животни.

**Изводи:** Сигнификантното намаление на титъра на анти AGE,S антитела при цинкова суплементация до известна степен изяснява ролята на цинка като фактор за намаляване на оксидативния стрес при SHR.

#### THE EFFECT OF ZINC DIETS ON ANTI AGE,S ANTIBODIES OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

A. Dimitrova\*, D. Strashimirov\*, M. Atanasova\*,  
M. Georgieva\*\*, St. Baydanoff\*\*

\*Department of Biology and Pathophysiology – MU Pleven \*\*University Hospital, Project "Elastage"- Pleven

**Abstract:** Oxidative stress and non-enzymatic glycation of proteins are one of the most important pathogenetic factors in the development of aging. Object: Investigation of the role of Zn supplementation in process non-enzymatic glycation of proteins in SHR.

**Methods:** We examined the sera of SHR (2 months after birth) and sera of SHR (4 months after birth) feeding with different Zn containing diets (diet 1, G1-40 Zn/kg lab chow and diet 2, G2-160 Zn/kg lab chow). The diets were introduced at the beginning of the development of hypertension and the animals were fed for 8 weeks. Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn and Cu concentrations in the rat sera. Anti-AGE,s antibodies were investigated via method based on the main principles of direct ELISA.

**Results:** We found the results of extinctions: 2 months after birth  $-0.160 \pm 0.48$ , G1 –  $0.624 \pm 0.64$ , G2–  $0.350 \pm 0.80$ . At this stage of investigation it was established significant decrease of anti-AGE's antibodies in SHR with Zn supplementation.

**Conclusions:** We conclude that zinc supplementation affects the serum oxidative status and decreases significantly anti-AGE,s antibodies is SHR.

Една от съвременните теории за стареенето постулира, че възрастово-зависимите промени се индуцират от съвместното действие на реактивните форми на кислорода и неензимното гликиране на протеините (5). При формиране на AGE's протеините променят антигенната си структура, т.е. формират се нови епитопи, които се разчитат от имунната система като не свои (non-self).

#### Патогенетична роля на неензимното гликиране

Неензимното свързване на глюкозата към лизиновите остатъци на белтъците води до формиране на schiff-бази и amadori-продукти. Късните продукти на гликиране се образуват чрез по-нататъшна трансформация на amadori-продуктите. Тези промени са необратими поради образуване на вътре- и междумолекулни кръс-

#### 74. Димитрова А, Д. Страшимиров, Т. Бетова, А. Русева, М. Апостолова.

Промени в експресията на Cu/ZnSOD в аортата и миокарда на SHR плъхове при цинкови диети. Сборник от доклади от VIII Национален конгрес по хранене с международно участие, 17-19 Май 2007 МДУ "Фр. Ж. Кюри". Науката за хранене пред нови възможности и предизвикателства. 2007;16-17.

**ПРОМЕНИ В ЕКСПРЕСИЯ НА МЕДНО-ЦИНКОВАТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА  
В АОРТАТА И МИОКАРДА НА SHR ПЛЪХОВЕ ПРИ ЦИНКОВИ ДИЕТИ**

А. Димитрова<sup>1</sup>, Д. Страшимиров<sup>1</sup>, Т. Бетова<sup>2</sup>, А. Русева<sup>3</sup>, М. Апостолова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Категра „Биология и патологична физиология – МУ Плевен, България; <sup>2</sup>Категра „Обща и клинична патология“ – МУ Плевен, България; <sup>3</sup>„Централна клинична лаборатория“ на УМБАЛ – Плевен ЕАД, България; <sup>4</sup>Институт по молекулярна биология – БАН София, България

**Резюме:** Целта на настоящето изследване е да се проследи влиянието на цинка върху експресията на медно-цинковата супероксиддисмутаза (Cu/ZnSOD) в аортата и миокарда на спонтанно хипертензивни плъхове (SHR). Животните са разделени на три групи на диети с различно съдържание на цинк: (40 mg/kg диета – контролна, 100 mg/kg и 160 mg/kg). Експресията на Cu/ZnSOD в аортата и миокарда е определена имунохистохимично с реактиви на DAKO и Santa Cruz. Съдържанието на цинк във фуражите и серумното ниво на цинка е определено с атомноабсорбиционен спектрофотометричен метод.

Установи се, че Cu/ZnSOD се експресира основно в гладкомускулните клетки на съдовата стена, а в ендотела експресията е по-слабо изявена. В миокарда ензимът се експресира в кардиомиоцитите и интерстициалните съдове. При SHR, подложени на диети с цинкова суплементация се установи сигнификантно увеличаване експресията на Cu/ZnSOD в аортата и миокарда и по-ниски стойности на артериалното налягане спрямо контролната група ( $p < 0.05$ ). Резултатите показват, че експресията на Cu/ZnSOD се променя в зависимост от цинковата диета като цинковата суплементация повишава достоверно експресията на ензима в аортата и миокарда на SHR.

**ZINC DIETS AND EXPRESSIONAL CHANGES OF COPPER/ZINC SUPEROXIDE DISMUTASE  
IN AORTA AND MYOCARD OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS**

A. Dimitrova<sup>1</sup>, D. Strashimirov<sup>1</sup>, T. Betova<sup>2</sup>, A. Russeva<sup>3</sup>, M. Apostolova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Pathophysiology, MU, Plevan, Bulgaria; <sup>2</sup>Dept. of Pathoanatomy, MU, Plevan, Bulgaria;

<sup>3</sup>Dept. of Clinical Lab., MU, Plevan, Bulgaria; <sup>4</sup>Lab Med & Biol Res, BAS, Sofia, Bulgaria.

**Abstract:** The aim of the present study was to examine the effects of feeding different Zn containing diets (40, 100, 160 mg Zn/kg lab chow) on the expression of Cu/ZnSOD in aorta and myocard of spontaneously hypertensive rats (SHR). Cu/ZnSOD expression was analyzed by immunohistochemistry (Santa Cruz Biotechnology and DAKO reactive). Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn and Cu in the rat sera. Cu/ZnSOD was expressed mainly in medial smooth muscle cells in aorta. Cu/ZnSOD had only weak immunoreactivity in the endothelium. In the group with zinc supplementation (160 mg Zn/kg lab chow) Cu/ZnSOD staining was more enhanced than on the control group with Zn diet (40 mg/kg lab chow). In the myocard Cu/ZnSOD was expressed in the cardiomyocytes and it had a weak immunoreactivity in interstitial arterial vessels. The expression of Cu/ZnSOD is changed depending on Zn content in the diet. Zinc supplementation significantly increased the expression of Cu/ZnSOD in aorta and myocard of SHR.

Регулацията на антиоксидантния потенциал на съдовата стена е важен фактор в патогенезата на сърдечно-съдовите заболявания и промяната в активността на антиоксидантните ензими може да влияе върху развитието на артериалната хипертония и атеросклерозата. Експресията на адхезионни молекули като съдовата адхезионна молекула (VCAM-1) и вътреклетъчната адхезионна молекула-1 (ICAM-1) в ендотелните клетки е една от най-ранните патологични промени при атеросклерозата (6), която може да доведе до увеличаване адхезията на левкоцити към ендотела на съдовата

стена. Повишената експресия на цитозолната медно-цинкова супероксиддисмутаза (Cu/ZnSOD) намалява TNF-индуцираната експресия на VCAM-1 and ICAM-1 и намалява TNF-индуцираната адхезия на левкоцити в човешки ендотелни клетки (8). Тъй като левкоцитната адхезия е ключов момент в патогенезата на атеросклерозата, супероксиддисмутазите имат неизследван потенциал в лечението на сърдечно-съдовите заболявания, а цинкът като кофактор на Cu/ZnSOD играе значителна роля в защитата от оксидативен стрес (5). Целта на настоящето изследване е да се проследи

75. Лакова Е, Г. Кръстева, А. Димитрова, Б. Русева, Д. Страшимиров, К. Мутафчиев. Гравиметрични промени в мъжките репродуктивни органи на спонтанно хипертензивни плъхове – влияние на цинк и селен. Сборник от Международна научна конференция. Ст. Загора 2007;7:251-255.

**ГРАВИМЕТРИЧНИ ПРОМЕНИ В МЪЖКИТЕ  
РЕПРОДУКТИВНИ ОРГАНИ НА СПОНТАННО-  
ХИПЕРТЕНЗИВНИ ПЛЪХОВЕ – ВЛИЯНИЕ НА ЦИНК И  
СЕЛЕН**

Емилия Лакова, Генка Кръстева\*, Анелия Димитрова,  
Боряна Русева\*, Денко Страшимиров, Константин Мутафчиев  
Катедра по Биология и Патофизиология, Катедра по Фармако-  
логия и Физиология\*  
Медицински Университет, ул. "Св. Кл. Охридски" №1, 5800 Пле-  
вен, България  
E-mail: elakova@yahoo.co.uk

**GRAVIMETRIC CHANGES IN MALE REPRODUCTIVE  
ORGANS OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS –  
EFFECTS OF ZINC AND SELENIUM**

Emilia Lakova, Genka Krasteva\*, Anelia Dimitrova, Boryana  
Ruseva\*, Denko Strashimirov, Konstantin Mutaftchiev  
Department of Biology and Pathophysiology, Department of Pharma-  
cology and Physiology\*  
Medical University, 1 St. Kl. Ohridski Str., 5800 Pleven, Bulgaria  
E-mail: elakova@yahoo.co.uk

**ABSTRACT**

Male spontaneously hypertensive rats fed a standart diet containing zinc 138 mg/kg diet and selenium 0,6 mg/kg diet exhibited gain in weight for 8 weeks significantly less than pair-fed normotensive, age- and sex-matched Wistar rats.

The weights of testis and epididymis (in g/100g body weight) in SHR were higher than in controls. Neither selenium deficiency (0,05 mg/kg diet), nor zinc deficiency (50 mg/kg) or zinc supplementation (255 mg/kg diet) affect the weights of both male reproductive organs. Our results suggest changes in male reproductive system of SHR unchangeable by zinc and selenium.

**Key words:** *spontaneously hypertensive rats, male sex, reproductive organs, zinc, selenium.*

Многобройни епидемиологични, клинични и експериментални проучвания доказват предразположението на мъжкия пол към заболяване от артериална хипертония. При мъжете честотата и тежестта на хипертонията е по-силно изразена в сравнение с жените в пременопауза. Влиянието на мъжкия пол върху хипертонията е установено и при животински модели на заболяването [9]. Спонтанно-хипертензивните плъхове (СХП) от линията Окамото-Аоки са най-адекватния модел на есенциална хипертония при човека. При тях повишаването на артериалното налягане е андроген-зависимо. Фактът, че кастрацията на мъжките СХП в

76. **Димитрова А, Д. Страшимиров.** Оксидантни и антиоксидантни ензими в съдовата стена и фактори влияещи върху експресията и активността им - Сборник от Международна научна конференция Ст. Загора 2007;7:283-288.

## ОКСИДАНТНИ И АНТИОКСИДАНТНИ ЕНЗИМИ В СЪДОВАТА СТЕНА И ФАКТОРИ ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ ЕКСПРЕСИЯТА И АКТИВНОСТТА ИМ

Анелия Димитрова, Денко Страшимиров

Катедра „Биология и патологична физиология“, Медицински фа-  
култет, Медицински Университет, ул. „Кл. Охридски“ 1, 5800 гр.  
Плевен, България, anelija.dimitrova@gmail.com

### OXIDANT AND ANTIOXIDANT ENZYMES IN VESSEL WALL

Anelia Dimitrova, Denko Strashimirov

Department of Biology and Pathophysiology, Medical University - Pleven,  
1 Kliment Ohridski str., 5800 Pleven, Bulgaria

#### ABSTRACT

Oxidative stress is involved in the pathogenesis of endothelial dysfunction and atherosclerosis. Several enzymes expressed in vascular tissue contribute to production and efficient degradation of reactive oxygen species and enhanced activity of oxidant enzymes and/or reduced activity of antioxidant enzymes may cause oxidative stress. Various agonists, pathological conditions and therapeutic interventions lead to modulated expression and function of oxidant and antioxidant enzymes, including NAD(P)H oxidase, endothelial nitric oxide synthase, xanthine oxidase, superoxide dismutases, catalase, thioredoxin reductase, and glutathione peroxidase. Data from numerous studies underline the importance of dysregulated oxidant and antioxidant enzymes for the development and progression of hypertension and atherosclerotic disease.

**Key words:** free radicals, oxidative stress, atherosclerosis, oxidant and antioxidant enzymes

В съдовата стена се експресират различни ензими, които както образуват, така и ефикасно отстраняват реактивните форми на кислорода (ROS) и увеличената активност на оксидантните и/или намалената активност на антиоксидантните ензими могат да предизвикат оксидативен стрес. Оксидативният стрес води до много клетъчни събития като инактивация на азотния оксид (NO), оксидативна модификация на ДНК и протеини, липидна оксидация, увеличена апоптоза на съдовите клетки, увеличена експресия и активация на редокс-чувствителните гени, като напр. рецептора за oxLDL, адхезионни молекули, хемотаксични фактори, възпалителни цитокини и матриксни металопроотеинази.

#### ОКСИДАНТНА ЕНЗИМНА СИСТЕМА В СЪДОВАТА СТЕНА

##### NAD(P)H оксидаза

Най-големият източник на ROS в съдовата стена е NAD(P)H оксидазата, която се състои от мембранните субединици gp91phox и p22phox и цитозолните p67phox, p47phox и GTPase rac1 (6). Тези субединици

77. Найдова М, **А. Димитрова**, М.Тодорова. Между абсолютното ограничение и абсолютната свобода (някои нормативни забрани в българския език). Сборник от Международна научна конференция. Ст. Загора 2007;7:195-201.

**МЕЖДУ АБСОЛЮТНОТО ОГРАНИЧЕНИЕ И  
АБСОЛЮТНАТА СВОБОДА  
(НЯКОИ НОРМАТИВНИ ЗАБРАНИ В БЪЛГАРСКИ)**

Мариана Найдова, Анелия Димитрова\*, Мая Тодорова  
Департамент по чуждоезиково и специализирано обучение  
Катедра Биология и патологична физиология\*  
Медицински Университет, ул. „Кл. Охридски“ 1, 5800, гр. Плевен,  
България

**BETWEEN THE ABSOLUTE RESTRICTION AND  
THE ABSOLUTE FREEDOM  
(SOME NORMAL PROHIBITION IN BULGARIAN)**

M. Naidova, A. Dimitrova\*, M. Todorova  
Department of foreign language and specialized education  
Department of Biology and pathological physiology\*  
Medical University, "Kl. Ohridski" str. 1, 5800, Pleven, Bulgaria

**ABSTRACT**

The absolute word order prohibitions are not commented upon in the grammatical textbooks; these prohibitions are comprehensible for the native speakers. In definite verbal lexemes in the third person (ме, ми, ми се), functioning as a lexico-morphological whole with the meaning of psychic and physical experience in their deep structure preserve elements from their meaning for person.

We find an explanation to the word order prohibition for the absolute initial position of these pronominal enclitics as by making an association with the explication of the idea for the verbal action.

We describe some absolute prohibitions and the advantage use of their application in the teaching of Bulgarian as a foreign language.

**Key words:** word order, normative prohibitions, pronominal enclitics

Какво значи да се говори свободно един език? Да не се замисляме над правилата, или да сме свободни да ги нарушаваме? Ако в писмена работа на българин срещнем форма "четеме" и същата грешка намерим в текст на чужденец, санкцията трябва ли да бъде една и съща? Грешката от един и същ порядък ли е? Чужденецът по-близо ли е до свободното владение на езика, ако възпроизвежда масовата езикова практика, или е в плен на грешни стереотипи. Факт е, че подобен тип употреби се наблюдават и на много ранен етап от обучението, без това да означава непременно бърз напредък. Тук могат да се изброят много примери: "здрасти" и "чао" към преподавател още през първата или втората седмица от курса за начинаещи, например.

Има, разбира се, безспорно утвърдени системи за оценка на ези-

78. **Димитрова А.**, И. Стоилова, А. Русева, Д. Страшимиров, К. Цачев. Серумна концентрация на цинк, мед и селен при пациенти с професионално обусловена вегетативна полиневропатия на горните крайници. Научни трудове на Съюза на учените. Серия Б. Естествени и хуманитарни науки Пловдив 2008;XI:362-366.

**СЕРУМНА КОНЦЕНТРАЦИЯ НА ЦИНК, МЕД И СЕЛЕН ПРИ  
ПАЦИЕНТИ С ПРОФЕСИОНАЛНО ОБУСЛОВЕНА ВЕГЕТАТИВНА  
ПОЛИНЕВРОПАТИЯ НА ГОРНИТЕ КРАЙНИЦИ**

**Анелия Димитрова<sup>1</sup>, Ирена Стоилова<sup>2</sup>, Аделаида Русева<sup>3</sup>,  
Денко Страшимиров<sup>1</sup>, Камен Цачев<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Катедра „Физиология, патофизиология, експериментална и  
клинична фармакология“ МУ, Плевен

<sup>2</sup>Катедра “Хигиена, медицинска екология, професионални  
заболявания и медицина на бедствените ситуации” МУ, Плевен

<sup>3</sup>Централна клинична лаборатория, УМБАЛ, Плевен

<sup>4</sup>Катедра “Клинична лаборатория”, МУ, София

**SERUM CONCENTRATION OF ZINC, COPPER AND SELEN IN PATIENTS  
WITH OCCUPATIONAL VEGETATIVE POLYNEUROPATHY  
OF UPPER LIMBS**

**Anelia Dimitrova<sup>1</sup>, Irena Stoilova<sup>2</sup>, A.Russeva<sup>3</sup>,  
Denko Strashimirov<sup>1</sup>, Kamen Tzachev<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Department of Physiology, Pathophysiology and Experimental  
and Clinical Pharmacology, Medical University, Plevan

<sup>2</sup>Department of Hygiene, Medical ecology and Occupational  
diseases, Medical University, Plevan

<sup>3</sup>Central Clinical Laboratory, University Hospital, Plevan

<sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory, Medical University, Sofia

**Abstract** Objectives: The aim of the present study was to estimate serum concentration of zinc (Zn), copper (Cu) and selenium (Se) in the blood of 11 patients (group 1-G1, mean age 52.45±3.59 years), with occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs (OVPUL) and 9 control patients (control group-G2, mean age 51.5±2.18 years).

Methods: Atomic-absorption spectrometry was used to determine Zn, Cu and Se concentrations in the rat's sera.

Results: Our examinations showed that serum concentrations of Se were lower in patients of G1 than control group (p<0.001). There weren't any differences in serum concentration of Zn and Cu in all groups.

Conclusions: Our study confirms that serum level of Zn, Cu and Se can be critical nutrients for maintenance of anti-oxidative events and propose that these trace elements may be important physiopathologically in occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs.

**Увод** Професионално обусловената вегетативна полиневропатия (ВПНП) на горните крайници се проявява с регионален болков синдром в дисталните части на горните крайници, терморегулаторни, съдомоторни, невровакулаторни и невродистрофични нарушения (1). ВПНП е заболяване, което се предизвиква от системно динамично пренапрежение и микротравматизация на структурите на ръцете. Студовото влияние, съчетано с повишена влажност в условията на труд оказват особено неблагоприятно въздействие и усложняват клиничната картина на заболяването.

79. Костов К, А. Григорян, А. Димитрова. Ендотелини и артериална хипертензия. Сборник от конкурс на МНД „Асклепий“ за научно творчество на студенти, докторанти и млади учени Пловдив 2012;223-231.

## ЕНДОТЕЛИНИ И АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ

Красимир Костов, Армине Григорян, Анелия Димитрова

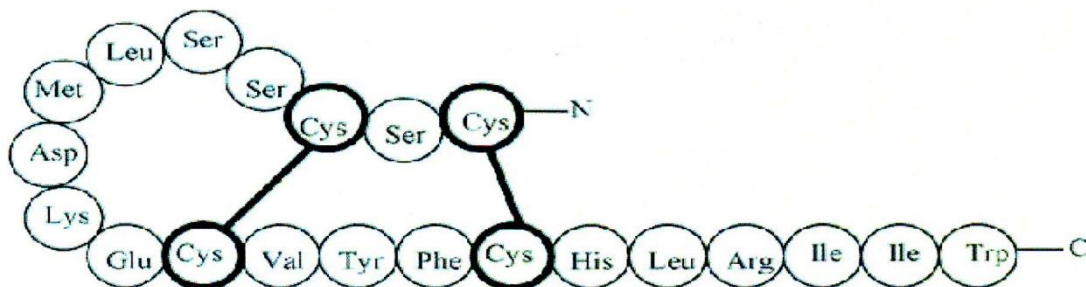
Катедра „Физиология и патофизиология“,

Факултет по медицина, Медицински университет - Плевен

### I. Ендотелини и техните патофизиологични ефекти върху различните органи и системи.

#### 1. Ендотелини.

През 1985 г. Hikey и сътр. публикуват доклад, който описва съществуването на ендотелен контрактилен фактор. Впоследствие Masashi Yanagisawa и Hiroki Kurihara, заедно със Sadao Kimura и Katsutoshi Goto, започват работа по изолирането на това вещество. През 1988 г. този фактор е успешно пречистен и идентифициран, като нов пептид означен с наименованието - ЕНДОТЕЛИН, поради ендотелния си произход. (1, 2)



**Фиг. 1. Структура на ET-1**

ET-1 съдържа 21 АК и 2 дисулфидни връзки Cys1-Cys15 и Cys3-Cys11, както и хидрофобен С-терминал Trp 21.

Семейството на ендотелините включва три изоформи, които се означават като ET-1, ET-2, ET-3, състоят се от 21 аминокиселини и съдържат по две дисулфидни връзки в молекулата си. (фиг. 1) ET-1 е с молекулно тегло 2492 D и се кодира от ген, който се намира в хромозома 6. Кодираният ген на ET-2 се намира в хромозома 1. ET-2 съдържа две замествания на АК и има 90% хомоложни последователности с ET-1. Кодираният ген на ET-3 се намира в хромозома 20. ET-3 съдържа шест замествания на АК и има 71% хомоложни последователности с ET-1 и ET-2.

#### Най-важно значение от трите ендотелни пептида има ET-1. (3, 4)

Ендотелин-1 е най-мощният вазоконстриктор открит досега. Неговото действие е от 30 до 50 пъти по-силно от това на норадреналина и ангиотензин II (АТII) (5). Генерира се

80. Григорян А, К. Костов, А. Димитрова. Влияние на MMP<sub>s</sub> върху съдовата стена. Сборник от конкурс на МНД „Асклепий“ за научно творчество на студенти, докторанти и млади учени Пловдив 2012;232-239.

## ВЛИЯНИЕ НА MMPs ВЪРХУ СЪДОВАТА СТЕНА

*Армине Григорян, Красимир Костов, Анелия Димитрова*  
**Катедра „Физиология и патофизиология“, Факултет по медицина,  
Медицински университет - Плевен**

Матриксните металлопротеинази (MMPs) са увеличаваща се фамилия от Zn- и Ca-съдържащи ендопептидази със сходни функционални домейни и механизъм на действие свързан с разграждане компонентите на екстрацелуларния матрикс (ЕЦМ).

Свърхекспресията и повишената активност на MMPs, както и дисбаланса между MMPs и тъканните им инхибитори (TIMPs) се наблюдава при много физиологични и патологични промени, като органно развитие, зарастване на рани, възпаление, онкологични заболявания и атеросклероза (1).

Понастоящем са известни около 28 различни вида MMPs, класифицирани в групи според вида на протеолитичния субстрат, който те разграждат. Семейството на MMPs включва: колагенази (MMP-1,-8 и -13), желатинази (MMP-2 и -9), стромелизини (MMP-3,-10,-11), матрилизини (MMP-7 и -26), тип-мембранни MMPs (MMP-14,-15,-16,-17 и MMP-23,-24,-25), енамелизини (MMP-20), металоеластази (MMP-12) и други MMPs (MMP-19,-21,-27,-28) (2).

Всички MMPs имат сходна структура: про-пептид, каталитичен домейн и haemorexin като C-терминален домейн, който от своя страна е свързан с каталитичния домейн чрез гъвкава връзка. MMPs се секретират в латентни проформи, изискващи активация за превръщането им в активни ензими (3).

Регулацията на MMPs е изключително важна в здравата тъкан, тъй като след активирането им, могат напълно да разградят всички екстрацелуларни компоненти. Поради тази причина, дейността на тези ензими се намира под строг контрол, който се осъществява на три нива: транскрипция, активация и секреция на латентни проензими, и протеолитично инхибиране.

### **Транскрипция**

Инициращи стимули за транскрипция се явяват различни цитокини и растежни фактори като: IL-1, PDGF (тромбоцитен растежен фактор) и TNF- $\alpha$ , докато други, като напр. TGF- $\beta$  (трансформиращ растежен фактор- $\beta$ ), хепарин и кортикостероиди имат инхибиторен ефект. Много от тези цитокини и растежни фактори са важни медиатори,

81. Костов К, А. Григорян, **А. Димитрова**, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, К. Господинов, А. Блажев. Ендотелин-1 и матриксни металлопротеинази-2 и 9 при пациенти с различна степен на артериална хипертензия. Сборник с научни съобщения от конкурсна сесия „Наука и Младост“ Пловдив 2013;85-90.

# Ендотелин-1 и матриксни металопротеинази-2 и 9 при пациенти с различна степен на артериална хипертензия

К. Костов<sup>1</sup>, А. Григорян<sup>1</sup>, А. Димитрова<sup>1</sup>, С. Тишева<sup>2</sup>, А. Русева<sup>3</sup>, М. Атанасова<sup>4</sup>,  
К. Господинов<sup>2</sup>, А. Блажев<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“, Сектор „Патофизиология“

<sup>2</sup>Катедра „Кардиология, пулмология и ендокринология“, Клиника по „Кардиология“

<sup>3</sup>Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“, ЦКЛ

<sup>4</sup>Катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“, Сектор „Биология“

Медицински университет – Плевен

e-mail: dr.krasi\_kostov@abv.bg

## Въведение

Хипертонията е многофакторно заболяване, което е свързано с патологични промени в нервните, бъбречните, хормоналните и съдовите механизми за контрол на кръвното налягане. Най-важната регулация се осъществява на нивото на ендотела чрез отделяне на вазодилаторни (азотен оксид – NO, простаглицин – PGI<sub>2</sub>, endothelium-derived hyperpolarizing factor – EDHF) и вазоконстрикторни вещества, като: ендотелин-1 (ЕТ-1), тромбоксан А<sub>2</sub> (ТхА<sub>2</sub>), ангиотензин II (АТ II). Нарушеният баланс между тях, води до трайно повишаване на съдовия тонус и структурни промени в съдовата стена (1).

Хемодинамичният стрес води до повишена продукция на ЕТ-1, който е един от най-силните открити до момента вазоконстриктори. Неговото действие е от 30 до 50 пъти по-силно от това на норадреналина и АТ II (2) и между 8-110 пъти по-слабо от това на уротензин II (U-II) (3, 4). Генерира се основно от ендотелните клетки. Концентрациите на ЕТ-1 в съдовата стена са над 100 пъти по-високи от циркулиращите му плазмени нива. Така ЕТ-1 действа основно като автокринен / паракринен пептид, а не

като циркулиращ хормон (5). Освен в ендотела, ЕТ-1 се произвежда в сърцето, бъбреците, надбъбречната жлеза, задния дял на хипофизата и ЦНС, макар и в изключително ниски концентрации (6).

ЕТ-1 взаимодейства с два типа ендотелинови рецептори: ЕТА и ЕТВ. Те представляват G-protein свързани трансмембранни белтъци. Въз основа на своите in vivo фармакологични ефекти, ЕТВ-рецепторите се класифицират в два подтипа – ЕТВ1 и ЕТВ2. ЕТА-рецепторите се експресират предимно в съдовите гладкомускулни клетки и кардиомиоцитите. Ефектите свързани с ЕТА-рецептора водят до засилена Ca<sup>2+</sup> мобилизация в гладкомускулните клетки на съдовете и вазоконстрикция. ЕТВ-рецепторите се експресират предимно върху съдовите ендотелни клетки. ЕТВ-рецепторната стимулация и по-специално тази на ЕТВ1 – рецептора, активира сигнални пътища, които водят до освобождаване на релаксиращи фактори като NO, PGI<sub>2</sub> и EDHF (1,2). ЕТВ2 – свързаният отговор е вазоконстрикция, подобно на действието на ЕТА рецептора. През последните години се натрупаха и неопровержими доказателс-

82. Григорян А, К. Костов, А. Димитрова, Т. Бетова, М. Апостолова. Имунохистохимично изследване на експресията на ендотелин-1 в абдоминалната аорта при пациенти с атеросклероза. Сборник с научни съобщения от конкурсна сесия „Наука и Младост“ Пловдив 2013;41-45.

# Имунохистохимично изследване на експресията на ендотелин-1 в абдоминалната аорта при пациенти с атеросклероза

Армине Григорян<sup>1</sup>, Красимир Костов<sup>1</sup>, Анелия Димитрова<sup>1</sup>, Татяна Бетова<sup>2</sup>,  
Маргарита Апостолова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“ – МУ Плевен

<sup>2</sup>Катедра „Обща и клинична патология“ – МУ Плевен

<sup>3</sup>Институт по молекулярна биология, Лаборатория по медико-биологични изследвания  
БАН – София

Сектор „Патофизиология“

Катедра „Физиология и патофизиология“ – МУ Плевен

e-mail: armine14@abv.bg

## Въведение

Атеросклерозата е мултифакторно заболяване засягащо големите и средни по размер артерии, което се изразява в локално отлагане на липиди в артериалната стена и формиране на плаки, прояви на исхемия и/или тъканна некроза в областта на засегнатите участъци (1). Най-различни етиологични фактори въздействат и увреждат интимата на съда, което става предпоставка за развитието на атеросклерозата. Съществена роля за атерогенезата се отдава на дислипидемията (2) и ендотелната дисфункция (3), като от значение е и оксидативния стрес на съдовата стена (4) и възпалението (5).

Ендотелин-1 (ЕТ-1) е съдов пептид с мощно вазоконстрикторно действие, който се продуцира основно от ендотелните, но също така и от гладкомускулните клетки (ГМК) на съдовата стена. Той се образува от неактивен предшественик означен като Big-ЕТ-1. Благодарение на специфична ендопептидаза препро-ЕТ-1 се превръща Big-ЕТ-1, а чрез ендотелин-конвертиращия ензим-1 (ECE-1), неактивния Big-ЕТ-1 се превръща в ЕТ-1 (6). Основни активатори за синтеза на ЕТ-1 в

организма се явяват хипоксията, хемодинамичния съдов стрес, ангиотензин II, катехоламини, тромбин, тромбоксан А<sub>2</sub>, окислените липопротеини (Ox-LDL) и др. фактори (7). Всички те водят до ендотелна дисфункция и възпалителен отговор на съдовата стена, които се явяват основни причини за секрецията на ЕТ-1 (3).

## Цел и задачи

Целта на нашето изследване е да се определи степента на имунохистохимичната експресия на ЕТ-1 в абдоминалната аорта при пациенти с и без атеросклероза и да се сравни експресията на ЕТ-1 при различните етапи на атеросклеротичното развитие.

## Материали и методи

За едногодишен период са изследвани сегменти от 26 броя човешки абдоминални аорти на пациенти с различни заболявания взети при аутопсия до петия час след смъртта в Катедра „Обща и клинична патология“ – Медицински университет, Плевен. Приложени са рутинни хистологични методи (хематокси-

83. Костов К, А. Григорян, **А. Димитрова**, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, К. Господинов, А. Блажев. Серумен магнезий (Mg<sup>2+</sup>) и матриксни металопроотеинази-2 и -9 (MMP-2 и MMP-9) при пациенти с лека и тежка степен на артериална хипертензия. Сборник от XII-та национална научна сесия за студенти и преподаватели, октомври - МУ- Плевен 2013; 269-276.

## Резюме

**Въведение:** Магнезият е естествен антагонист на йоните на калция. Той модулира съдовия тонус и реактивност чрез промяна на отговорите към редица

вазоконстрикторни и вазодилаторни агенти. В сърдечно-съдовата система промените на екстрацелуларния матрикс се контролират от MMPs и техните тъканни инхибитори- TIMPs. MMP-2, MMP-9 и TIMP-1 играят важна роля за съдовото remodelиране при хипертензия.

**Цел:** Настоящото изследване има за цел да проучи серумните концентрации на  $Mg^{2+}$ , MMP-2 и MMP-9 при пациенти с различна степен на артериална хипертензия.

**Методи:** Сформирани бяха три групи: I група- 31 пациента с лека хипертензия (ЛХ); II група- 29 пациента с тежка хипертензия (ТХ); III група- 15 здрави лица, контролна група (КГ). MMP-2 и MMP-9 са определени чрез ELISA kit на „R&D Systems“, а серумният  $Mg^{2+}$  - чрез количествен колориметричен метод. За анализите е използвана статистическа програма STATGRAPHICS.

**Резултати:** Установи се, че съществуват статистически значими разлики в серумните концентрации на  $Mg^{2+}$  (mmol/l), между ЛХ спрямо КГ ( $p=0,0145$ ) и между ЛХ спрямо ТХ ( $p=0,0187$ ). Има също статистически значими разлики между концентрациите на MMP-9 (ng/ml) при ТХ спрямо КГ ( $p=0,0010$ ), както и между ЛХ спрямо ТХ ( $p=0,0006$ ). Съществува обратна корелационна зависимост между нивата на серумния  $Mg^{2+}$  и MMP-2 в групата с ТХ ( $p=0,0340$ ).

**Обсъждане:** Серумните концентрации на  $Mg^{2+}$  са по-високи при пациентите с ЛХ и ТХ в сравнение с КГ. Нивата на MMP-9 намаляват с нарастване степенята на хипертензията в следния порядък: КГ>ЛХ>ТХ, като при ТХ те са понижени почти двойно в сравнение с КГ. MMP-2 не показва специфични промени при различните степени на хипертензия.

**Ключови думи:** артериална хипертензия, магнезий, металопроотеинази -2 и -9

84. Костов К, **А. Димитрова**, А. Григорян, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, К. Господинов, А. Блажев. Промени в серумните концентрации на ендотелин-1 (ЕТ-1) и С-реактивния протеин (CRP) при пациенти с лека и тежка степен на артериална хипертензия. Сборник от XII-та национална научна сесия за студенти и преподаватели, октомври МУ- Плевен 2013; 264-268.

### Резюме

**Въведение:** Хемодинамичният стрес при артериална хипертензия води до повишена продукция на ендотелин-1, който е един от най-силните открити до момента вазоконстриктори. С-реактивният протеин е острофазов белтък, който се синтезира от хепатоцитите под въздействието на интерлевкин-6 (IL-6), интерлевкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и тумор некротизиращ фактор- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) при възпаление.

**Цел:** Настоящото изследване има за цел да проучи връзката на ЕТ-1 и CRP със степенята на артериалната хипертензия и възпалителния системен и съдов отговор.

**Методи:** Сформирани бяха три групи: I група- 31 пациента с лека хипертензия- ЛХ (АН  $\geq 140/90$  и  $\leq 160/100$ ); II група- 29 пациента с тежка хипертензия- ТХ (АН  $\geq 160/100$ ); III група- 15 лица, контролна група- КГ (АН  $\geq 120/80$  и  $\leq 130/85$ ). ЕТ-1 е определен чрез ELISA kit на „Biomedika“, а CRP- чрез имунотурбидиметричен метод с латексови частици покрити с моноклонални анти-CRP антитела. За анализите е използвана статистическа програма STATGRAPHICS.

**Резултати и обсъждане:** Експерименталните данни от изследването показват, че серумните нива на ET-1 са повишени при артериалната хипертензия ( $p < 0,05$ ), което доказва ролята му в патогенезата на заболяването. Стойностите на ET-1 в групата с ЛХ са по-високи от тези при ТХ, което показва, че ET-1 играе основна роля за хипертензивното състояние още в началните етапи, преди да са настъпили процесите на стабилно съдово ремоделиране. Средните концентрации на CRP при ЛХ и ТХ са значително повишени, което потвърждава патогенетичната връзка на артериалната хипертензия със системното и съдово възпаление. Те са по-високи при пациентите с ЛХ в сравнение с КГ ( $p < 0,05$ ) и тези с ТХ, което показва, че възпалителният процес е доминиращ в ранните стадии на хипертоничната болест.

**Ключови думи:** артериална хипертензия, ендотелин-1, С-реактивен протеин

85. Костов К, **А. Димитрова**, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, А. Блажев, А. Григорян, К. Господинов. Роля на магнезия в патогенезата на артериалната хипертензия. Сборник с научни съобщения от конкурсна сесия „Наука и Младост“ 2014, МУ- Пловдив, стр. 114-120.

## Роля на магнезия в патогенезата на артериалната хипертензия

Красимир Костов<sup>1</sup>, Анелия Димитрова<sup>1</sup>, Снежана Тишева<sup>2</sup>, Аделаида Русева<sup>3</sup>,  
Милена Атанасова<sup>4</sup>, Александър Блажев<sup>4</sup>, Армине Григорян<sup>1</sup>, Константин Господинов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“, Сектор „Патофизиология“

<sup>2</sup>Катедра „Кардиология, пулмология и ендокринология“, Клиника по кардиология

<sup>3</sup>Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“, ЦКЛ

<sup>4</sup>Катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология“, Сектор „Биология“

Медицински университет – Плевен

e-mail: д-р Красимир Костов – dr.krasi\_kostov@abv.bg

### Въведение

Магнезият ( $Mg^{2+}$ ) е вторият най-разпространен вътреклетъчен катион и е кофактор в над 300 ензимни реакции. Участва в множество процеси регулиращи сърдечно-съдовата функция (1,2). При нормални физиологични условия нивата на  $Mg^{2+}$  в серума се поддържат в границите на тесен референтен диапазон – 0,7 до 1,1 mmol/l, което се осъществява чрез строг контрол върху стомашно-чревната абсорбция и бъбречната му секреция (1). Малки промени в екстрацелуларната и интрацелуларната  $Mg^{2+}$  концентрация може да имат значителен ефект върху съдовия тонус, еластичност и растеж (3). Магнезиевият транспорт се осъществява чрез два основни механизма – трансцелуларен и парацелуларен (4). Трансцелуларният транспорт включва инфлуксни и ефлуксни транспортни системи.  $Mg^{2+}$  инфлукс се контролира от редица транспортери, като Mrs2p, SLC41A1, ACDP2, Mag T1, както и от специализирани катионни канали – TRPM6 и TRPM7 (transient receptor potential melastatin -6 и -7 cation channels) (5). TRPM6 се експресира главно в бъбреците и цекума, където регулира  $Mg^{2+}$  реабсорбция. TRPM7 се ек-

спресира повсеместно и неговата липса е летална (1).  $Mg^{2+}$  ефлукс се осъществява чрез  $Na^{+}$ -зависими и  $Na^{+}$ -независими пътища (5). В  $Mg^{2+}$  транспорт участват и  $Na^{+}/Mg^{2+}$  и  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$  помпа (1). Парацелуларният транспорт на  $Mg^{2+}$  е пасивен процес, който се осъществява през плътните междуклетъчни контакти на епителните клетки в интестиналният тракт и бъбреците. Той зависи от специални структурни белтъци – клаудини. Чревното усвояване на  $Mg^{2+}$  е свързано с относително ниската експресия на „затягащи“ клаудини 1, 3, 4, 5 и 8. В бъбреците парацелуларния  $Mg^{2+}$  транспорт зависи основно от клаудини 16 (paracellin-1) и 19 (4).

Промените в нивата на  $Mg^{2+}$  могат да допринесат за патофизиологията на хипертензията (3).  $Mg^{2+}$  играе важна роля в регулацията на артериалното налягане, като модулира съдовия тонус и реактивност (6) чрез различни механизми:

1) Нарушенията на  $Mg^{2+}$  транспорт могат да предразположат към развитие на хипертензия и последващи сърдечно-съдови заболявания (5). Макар и оскъдни, данните докладвани до момента показват потенциалната регулаторна роля

86. Григорян А, К. Костов, В. Дишева, **А. Димитрова**. Участие на матриксните металлопротеинази в патогенезата на остеопорозата. Сборник с научни съобщения от конкурсна сесия „Наука и Младост“ 2014, МУ- Пловдив, стр. 51-56.

## Участие на матриксните металлопротеинази в патогенезата на остеопорозата

А. Григорян<sup>1</sup>, К. Костов<sup>1</sup>, В. Дишьева<sup>2</sup>, А. Димитрова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Катедра „Физиология и патофизиология“, Факултет по медицина, Медицински университет – Плевен

<sup>2</sup>Студент 4 курс, Факултет по медицина, Медицински университет – Плевен

e-mail: д-р Армине Григорян – [artine14@abv.bg](mailto:artine14@abv.bg)

Остеопорозата е многофакторно заболяване, което засяга скелета и се характеризира с намаляване на костната маса, разрушаване на микроархитектониката на костната структура и повишен риск от фрактури (1). По данни на Световната здравна организация, около 70 милиона души по света имат остеопороза (1). Подобни данни за Европа сочат, че до 2040 година броят на пациентите ще се удвои (2). Едно от най-тежките усложнения на заболяването са фрактурите на бедренната кост и гръбначния стълб (3). Остеопорозата се нарежда на трето място сред неинфекциозните заболявания, след сърдечно-съдови заболявания и онкологични проблеми (4). Особено сериозен е проблемът в България. У нас всяка година се регистрират над 90 хил. стъпвания в резултат на остеопороза.

Основните хормони, които регулират костния метаболизъм са: паратхормон, калцитонин, витамин D<sub>3</sub>, стероидни хормони, като естроген и тестостерон, растежен хормон, тироксин, кортизол, инсулин, инсулиноподобния растежен фактор (IGF-I) и др. Вродената липса или придобитият дефицит на всеки един от тези хормони може да доведе до загубата на костна структура, водеща до развитието на остеопороза (5).

Ключът към разбирането на патогенезата на остеопорозата е анализът на про-

цеса на костно ремоделиране. Във връзка с това са натрупани достатъчно данни за развитието на процесите на клетъчно и молекулярно ниво, но все още липсва цялостна информация за факторите, които регулират костно ремоделиране при хора (6).

Костната резорбция и формирането на костта са два взаимно балансиращи се процеса при здрави хора. Резорбцията от остеокластите е последвана от активиране на остеобластите и образуване на остеоид, който запълва кухините за период от около три месеца. Когато синтезът на матрицата е завършен, остеобластите се вграждат в нея и започват да функционират като остеоцити. Последните продължават да играят основна роля в иницирането на костното ремоделиране чрез предаване на сигнали към остеобластите и остеокластите върху костната повърхност (7). След 30-годишна възраст костната маса намалява, а след менопаузата загубата достига до 15%. В началото тя се дължи на повишена костна резорбция, а по-късно на потисната остеобластна активност. Като цяло естрогенният дефицит е един от основните фактори за развитието на остеопорозата (8), включително и при млади жени след овариетомия (9).

Последни проучвания показват, че в процесите на костното ремоделиране

## ОСТЕОПОРОЗА И ХРАНИТЕЛЕН РЕЖИМ

А. Григорян, А. Димитрова, К. Костов  
 Катедра „Физиология и патофизиология“, Медицински университет – Плевен

## OSTEOPOROSIS AND NUTRITION

A. Grigoryan, A. Dimitrova, K. Kostov  
 Department of „Physiology and Pathophysiology“, Medical University – Pleven

**Резюме:** Остеопорозата е прогресиращо метаболитно заболяване на скелета, което се характеризира с намаляване на костната маса, разрушаване на микроархитектониката на костната структура и повишен риск от фрактури. Заболяването е широко разпространено сред възрастното население, особено при жени в менопауза, но има и много случаи на по-ранни форми на остеопороза. Удължаването на средната продължителност на живота и застаряването на населението увеличава значимостта на това заболяване и броя на пострадали от остеопороза. Болестта заема трето място сред сърдечно-съдовите и онкологични заболявания. В началните етапи протичането на болестта е безсимптомно и поради тази причина остеопорозата е наречена „тихата епидемия на века“. Причините за развитието на остеопорозата са различни. Една от тях е неправилното хранене, което е коригируем рисков фактор в развитието на остеопорозата. Небалансираното и нездравословно хранене в детска и юношеска възраст е предпоставка за развитието на болестта в по-напреднал етап от живота. Включването в дневния порцион на фитоестрогени (съдържащи се в соята, редица зеленчуци, зърнени и бобови храни), калций съдържащи продукти и храни, богати на микроелементи и витамини (цинк, манган, магнезий, витамин D) при жени с естрогенен дефицит би намалило или отложило изявата на заболяването.

**Abstract:** Osteoporosis is a progressive metabolic disease of the skeleton that is characterized by loss of bone mass, destruction of bone micro-architecture and increased risk of fracture. The disease is a widespread among the adult population, especially in postmenopausal women, but there are many cases of earlier forms of osteoporosis. The extension of the average life expectancy and an aging population are increasing the importance of this disease and the number of affected by osteoporosis. Disease ranks third among cardiovascular and oncological diseases. In the initial stages course of the disease is asymptomatic and because of this reason osteoporosis is called "the silent epidemic of the century." The causes of the development of osteoporosis are different. One of them is malnutrition, which is a changeable risk factor in the development of osteoporosis. The unbalanced and unhealthy diets in childhood and adolescence is a prerequisite for the development of the disease in an advanced stage of life. Inclusion in the daily ration of phytoestrogens (contained in soybeans, some vegetables, grains and legumes), calcium-containing products and foods rich in vitamins and microelements (zinc, manganese, magnesium, vitamin D) in women with estrogen deficiency would reduce or postpone the manifestation of the disease.

Остеопорозата е прогресиращо метаболитно заболяване на скелета, което се характеризира с намаляване на костната маса, разрушаване на микроархитектониката на костната структура и води до повишен риск от фрактури (17).

В костната тъкан се извършва непрекъснат процес на ремоделиране при различни физиологични и патологични състояния. Нарушената регулацията на този процес води до развитието на остеопороза. Заболяването намалява силата на костите и едновременно с това те губят мине-

ралното си съдържание, което променя скелетната структура. В резултат на това костите стават лесно чупливи, гръбначният стълб се превишава и се нарушава правилната стойка (21).

Съществуват три основни нефармакологични начини за превенция на остеопорозата: физически упражнения, подходящ хранителен режим и прием на хранителни добавки. Най-разумният подход е тези методи да се съчетават (1). При нужда може да се приложи и фармакологично лечение.

Много важно е редовното провеждане на опре-

**\*А. Ангелова и А. Димитрова са имена на едно и също лице.**

**Общ брой за научните публикации: - 87**

- 1. Автореферат за получаване на образователна и научна степен „доктор” - 1;**
- 2. Публикации в специализирани научни издания и монографии - 86**
  - Публикации във връзка присъждане на образователна и научна степен „доктор” - 7
  - Публикациите в чуждестранни списания - 11
  - Публикациите в български списания с импакт фактор - 6
  - Публикациите в български списания без импакт фактор - 31
  - Публикации в научни сборници - 23
  - Участие в написване на монографии - 4
- 3. Участие в написването на учебници и учебни помагала - 4**

**Общ брой за научните резюмета: 119**

- 1. Участия в научни форуми в чужбина - 37**
- 2. Участия в научни форуми в България - 82**

**Първи автор на публикации – 25**

**Първи автор на резюмета – 44**

**Импакт фактор и SJR на научните трудове:**

**Общ импакт фактор от публикации в списания, съобразно  
импакт фактора на списанията за съответната година – 12,978  
SJR от публикации = 0.579**

**Общ импакт фактор от публикации на резюмета в списания, съобразно  
импакт фактора на списанията за съответната година = 71,624  
SJR от публикации на резюмета = 2, 567**

**Сумиран импакт фактор от публикации и резюмета - 84,602  
Сумиран SJR от публикации и резюмета – 3,146**