

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство
София, ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, Заседателна зала
2 октомври 2014 г.

НАУЧНА СЕСИЯ

за докторанти и млади учени
„Биомедицина и качество на живот“



145 ГОДИНИ
БЪЛГАРСКА
АКАДЕМИЯ
на НАУКИТЕ
— 1869-2014 —



145
ГОДИНИ

Б
А
Н

— РЕЗЮМЕТА —

Организационен комитет

Председател

Проф. д-р Мая Величкова

Членове

Доц. д-р Таня Пенчева

Гл. ас. д-р Вася Атанасова

Гл. ас. д-р Мариана Хаджилазова

Гл. ас. д-р Тоня Андреева

<http://biomed.bas.bg/bg/youth-session-145/>

Съдържание

Светозар Стойчев, Тоня Андреева, Йон Бусто, Светла Тодинова, Константин Балашев, Мира Бушева, Сашка Крумова, Стефка Танева Макроорганизация и температурна стабилност на фотосистема 2 суперкомплекси в протонирано и частично депротонирано състояние.....	1
Милена Герганова, Даниела Станоева, Антоанета Попова, Мая Величкова Ефект на температурата при адаптацията на фотосинтетичния апарат към високи светлинни интензитети.....	2
Айгюн Фаик, Димитър Василев, Мая Величкова Преразпределение на светлинната енергия и промени във фотохимичната активност на двете фотосистеми при комбиниран светлинен и температурен стрес	3
Константин Добрев, Даниела Станоева, Мая Величкова, Антоанета Попова Промени във фотосинтетичната активност на <i>Arabidopsis thaliana</i> при осветяване с висок светлинен интензитет.....	4
Мартин Стефанов, Анелия Добрикова, Екатерина Йоцова, Георги Рашков, Камелия Миладинова, Юлияна Марковска, Емилия Апостолова Чувствителност към засоляване на две линии <i>Paulownia</i>	5
Георги Рашков, Мартин Стефанов, Анелия Добрикова, Екатерина Йоцова, Ирина Пунева, Емилия Апостолова Оценка на чувствителността на <i>Chlorella vulgaris</i> и <i>Synechocystis salina</i> към влиянието на медни йони.....	6
Екатерина Йоцова, Анелия Добрикова, Мартин Стефанов, Георги Рашков, Радка Владкова, Ирина Пунева, Емилия Апостолова Сравнение на чувствителността на зелени водорасли и цианобактерии към кадмий	7
Северина Атанасова, Биляна Николова, Яна Цонева, Десислава Лазарова, Румяна Бакалова Влияние на електропорацията върху цитотоксичността и редокс-модулиращия ефект на конвенционални химиотерапевтици, приложени на изолирани ракови клетъчни линии	8
Светла Тодинова, Елена Стоянова, Иван Илиев, Ралица Радоева, Сашка Крумова, Стефка Танева Калориметрични маркери на туморни клетъчни линии.....	10
Русина Хазаросова, Албена Момчилова, Галя Станева Ефект на палмоитол-оксо-валироил фосфатидилхолин върху мембранната организация	11
Мариана Хаджилазова, Ивайло Младенов Сливане на плоски мембрани: Геометрични аспекти	12

Анелия Костадинова, Виктория Пехливанова Получаване чрез електроспининг на Poly (N-vinyl pyrrolidone-b-dimethylsiloxane) нанофибри: физико-химично характеризирани и биологични функции.....	13
Владимир Димитров Ефекти на промените в централните и в периферните фактори, предизвикани от мускулна умора, върху амплитудните и спектралните характеристики на електромиографските сигнали.....	14
Капка Манчева, Владимир Димитров, Лилия Христова, Андон Косев Ефект на ко-активността на мускулите антагонисти върху интракорткалната инхибиция.....	15
Силвия Ангелова Оценка на промените в двигателния контрол на горен крайник на пациенти след инсулт чрез повърхностни електромиографски отвеждания.....	16
Димитър Симов Периоперативни промени в автономната сърдечна регулация при болни с кардиохирургична реваскуларизация.....	17
Веселина Узунова, Сесил Мьоленберг, Мая Чемазар, Румяна Цонева Ефект на монофазни електрични импулси самостоятелно и в комбинация с блеомицин върху цитоскелетната организация на ендотелни клетки.....	19
Милена Керемидарска, Тодорка Владкова, Наталия Кръстева Биологичен отговор на човешки мезенхимни стволови клетки към биоматериали, получени чрез електроспининг.....	21
Десислава Жерева, Филип Фратев, Иванка Цаковска, Петко Алов, Таня Пенчева, Илза Пъжева Моделни изследвания на човешки ER α за виртуален скрининг на негови лиганди.....	23
Мерилин Ал Шариф, Иванка Цаковска, Петко Алов, Весела Вичева, Илза Пъжева От лиганд-зависима дисрегулация на PPAR γ до неалкохолна стеатозна болест на черния дроб.....	24
Мирослав Стоенчев Модулярни решетки над интуиционистки размити множества.....	25
Евгений Маринов Наредби и индикатори за включване между интуиционистки размити множества	26
Велин Андонов Обобщени мрежи с характеристики на позициите.....	27
Симеон Рибегин Обобщеномрежов модел на горен крайник.....	28
Нора Ангелова Симулатор за обобщени мрежи с описване на модели на JavaScript: алгоритъм и реализация	30

Макроорганизация и температурна стабилност на фотосистема 2 суперкомплекси в протонирано и частично депротонирано състояние

**Светозар Стойчев¹, Тоня Андреева¹, Йон Бусто², Светла Тодинова¹,
Константин Балашев³, Мира Бушева¹, Сашка Крумова¹, Стефка Танева¹**

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: svetlio85@abv.bg

² Unidad de Biofísica (CSIC/UPV-EHU), Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Адрес: Universidad del País Vasco, POB 644, 48080 Bilbao, Spain

³ Катедра „Физикохимия“, Факултет по химия и фармация
Софийски университет „Св. Климент Охридски“
Адрес: бул. „Джеймс Баучер“ № 1, София 1164, България

Ключови думи: Гранални мембрани, фотосистема 2, главен светосъбиращ комплекс на фотосистема 2, нискотемпературна (77 K) флуоресценция, атомно-силова микроскопия, кръгов дихроизъм, диференциална сканираща калориметрия.

Тилакоидните мембрани в хлоропластите на висши растения претърпяват множество структурни и морфологични промени в отговор на прекомерно осветяване. Известно е, че светосъбиращите и енерго-преобразуващи комплекси участват активно в защитните механизми на тилакоидни мембрани спрямо прекомерно осветяване. В частност фотосистема 2 (ФС2) суперкомплексите и основният светосъбиращ комплекс на ФС2 (ССК2) играят главна роля в процеса на нефотохимично гасене на флуоресценцията на хлорофил *a* (НФГ), основен механизъм за фотопротекция. Първата стъпка от НФГ настъпва с генерирането на светлинно-индуциран протонен градиент напречно на тилакоидната мембрана, който може да бъде имитиран чрез промяна на рН на средата.

С помощта на атомно-силова микроскопия са проследени структурните промени в макроорганизацията на ФС2 суперкомплексите в изолирани гранални мембранни фрагменти в две функционални състояния – частично депротонирано (рН 7.8) и протонирано (рН 5.2) – модели съответно за тъмнинно-адаптирано състояние на ФС2 суперкомплексите и за първия етап от НФГ. Установено е макромолекулно прегрупиране на комплексите в резултат от протонирането им – разпадане на фибриларно структурираните при рН 7.8 ФС2 суперкомплекси и формиране на клъстери от ССК2 тримери и от ФС2 суперкомплекси с редуцирана антена. Това е съпроводено с изтъняване на граналните мембрани и значително намаляване на диаметъра им при протониране. Посредством нискотемпературна (77 K) флуоресценция е показано, че протонирането на ФС2 комплексите води до 14% гасене в хлорофилната флуоресценция. Наблюдаваните събития са придружени от понижаване на температурната стабилност на пигмент-белтъчните комплекси с 2–5 °С, установено с помощта на кръгов дихроизъм и диференциална сканираща калориметрия. Получените резултати представят детайлна картина на структурните промени, съпътстващи първите стъпки на нефотохимичното гасене на флуоресценцията на хлорофил *a*.

Ефект на температурата при адаптацията на фотосинтетичния апарат към високи светлинни интензитети

Милена Герганова, Даниела Станоева,
Антоанета Попова, Мая Величкова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113

E-mail: milena@bio21.bas.bg

Ключови думи: Фотосистема 1, фотосистема 2, фотоинхибиране, ПАМ-флуоресценция.

Ефективността на фотосинтезата при висшите растения в голяма степен зависи от условията на околната среда. При висшите растения фотосинтезиращият апарат включва няколко макромолекулни пигмент-белтъчни комплекси, включително фотосистема 2 и фотосистема 1, които участват в първичните реакции на фотосинтезата. Светлината е условие за протичане на фотосинтетичния процес, но при всички кислородотделящи организми излагането на светлина с висок интензитет води до инактивиране на фотохимичната активност, като фотосистема 2 е изключително чувствителна към такова третиране. Степента на инхибиране в голяма степен зависи от температурата и е различна за различните растителни видове.

В настоящата работа са изследвани *in vivo* промените, настъпващи в доматени растения (*Solanum lycopersicum* cv. M82), отглеждани в продължение на 6 дни при висок светлинен интензитет, комбиниран с нормална или ниска температура. С метода на ПАМ флуометрия са оценени промените в активността на двете фотосистеми, нефотохимичното гасене, квантовата ефективност на фотосистема 2. За определяне на настъпили промени в интегритета на мембраните е използван тест с малондиалдехид, а активирането на синтез на защитни вещества е определено по количеството антоциани. Високият интензитет на светлината оказва значителен инхибиращ ефект върху максималния квантов добив на фотосистема 2 в комбинация с ниска температура, докато при оптимална температура инактивирането е по-слабо изразено.

Процесът на възстановяване е проследен след връщането на третираните растения към нормални условия за пет дни. Получените резултати при въздействие на висок светлинен интензитет при оптимална и при ниска температура позволява да се направи сравнение на различната свето- и температуро-чувствителност на двете фотосистеми и тяхната роля за способността на растенията да се адаптират към промени в околната среда.

Благодарности

Настоящото изследване е финансирано от Българо-швейцарската програма за научни изследвания, проект IZEBZO-143169/1.

Преразпределение на светлинната енергия и промени във фотохимичната активност на двете фотосистеми при комбиниран светлинен и температурен стрес

Айгюн Фаик, Димитър Василев, Мая Величкова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113

E-mail: aygyun@bio21.bas.bg

Ключови думи: 77К флуоресценция, тилакоидни мембрани, фотоинхибиране, фотосистема 1, фотосистема 2.

Температурната и светлинната зависимост на фотосинтезата за всеки фотосинтезиращ организъм се характеризира с оптимум, при който фотосинтетичната ефективност е максимална. Няколко градуса под или над оптималната температура могат силно да намалят скоростта на фотосинтезата. Когато падащата светлина чувствително надвишава капацитета на фотосинтетичния апарат за нейното усвояване, се създават условия за фотоинхибиране. Растенията в своята еволюция са развили защитни механизми, позволяваващи им да се адаптират към стресови условия от околната среда. Механизмите на тази адаптация са комплексни и включват промени в структурата на тилакоидните мембрани и взаимодействието на пигмент-белтъчните комплекси.

В настоящата работа са проследени промените в активността на двете фотосистеми и промените в разпределението на възбуждащата енергия между тях в тилакоидни мембрани, изолирани от доматени растения (*Solanum lycopersicum* cv. M82), подложени на третиране с висок светлинен интензитет при оптимална и висока температура. Проследени са параметрите скорост на електронния транспорт през фотосистема 1 и фотосистема 2 и светкавични кислородни добиви в мембрани от растения, третирани 2, 4 и 6 дни и след възстановяване за 5 дни при оптимални условия. 77К флуоресценция е използвана за определяне на разпределението на енергията между двете фотосистеми и участието на хлорофил *a* и хлорофил *b* в енергетичното им снабдяване. Резултатите са дискутирани в светлината на реорганизация на пигмент-белтъчните комплекси и промени в големината на антените на двете фотосистеми в отговор на променените светлинни и температурни условия.

Благодарности

Настоящото изследване е финансирано от Българо-швейцарската програма за научни изследвания, проект IZEBZO-143169/1.

Промени във фотосинтетичната активност на *Arabidopsis thaliana* при осветяване с висок светлинен интензитет

Константин Добрев, Даниела Станоева,
Мая Величкова, Антоанета Попова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113

E-mail: kostja2@yahoo.co.uk

Ключови думи: Абиотичен стрес, *Arabidopsis thaliana*, тилакоидни мембрани, каротиноиди, фотоинхибиране.

Фотосинтезата е сложен многостепенен процес, който протича в тилакоидните мембрани на хлоропластите на висшите растения, при който светлинната енергия се улавя от пигментите на светосъбиращите комплекси, предава се на реакционните центрове и се трансформира в енергия на макроергичните химични връзки, като се отделя кислород. Ефективността на фотосинтетичните процеси силно се влияе от външни стресови въздействия като ниска и висока температура, висок светлинен интензитет и други. Каротиноидите изпълняват важни функции в процеса на фотосинтезата: играят ролята на спомагателни пигменти при поглъщане на светлината, осъществяват фотопротективен ефект чрез дисипация на погълнатата излишна светлинна енергия, обезвреждат образуваните активни кислородни форми в резултат на стресови въздействия, дезактивират триплетните състояния на хлорофила и изпълняват структурна роля.

За изясняване на промените, настъпващи в структурната организация и функционална активност на фотосинтетичния апарат при осветяване с висок светлинен интензитет при ниска и висока температура, е използвано висшето моделно растение *Arabidopsis thaliana*. Анализирани са измененията във фотохимичната активност на фотосистема 1 и фотосистема 2 с помощта на екзогенни електронни донори и акцептори, светкавични кислородни добиви и първоначалното кислородно избухване при постоянно осветяване, както и енергетичния пренос между основните пигмент-белтъчни комплекси в изолирани тилакоидни мембрани от контролни и третирани с висок светлинен интензитет листа. Проследени са промените в пигментния състав и интегритета на мембраните чрез степента на липидно окисление в листа от контролни и фотоинхибирани листа. С помощта на ПАМ флуоресценция *in vivo* са определени фотохимичната активност на фотосистема 1 и фотосистема 2, фотохимичното и нефотохимично гасене на флуоресценцията на листа, третирани при нормални и фотоинхибиращи условия.

Получените резултати са интерпретирани от гледна точка на ролята на каротиноидите за протекцията на фотосинтетичния апарат при стресови въздействия.

Благодарности

Работата е финансово подкрепена от Българо-швейцарската научна програма, проект IZEBZO-143169/1.

Чувствителност към засоляване на две линии *Paulownia*

Мартин Стефанов¹, Анелия Добрикова¹, Екатерина Йоцова¹, Георги Рашков¹,
Камелия Миладинова², Юлияна Марковска², Емилия Апостолова¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: martin@bio21.bas.bg

² Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“
Адрес: бул. „Драган Цанков“ № 8, София 1164, България

Ключови думи: *Paulownia*, засоляване, фиторемедиация, фотосинтетичен апарат.

В световен мащаб повече от половината население живее в условия на замърсена околна среда в резултат от бурното развитие на научно-техническия прогрес, неадекватно управление или престъпна небрежност. Замърсяването на почвите с вредни вещества и тяхното засоляване ограничава растежа и развитието на растенията, което води до намаляване на добивите от селскостопанските култури. Натрупаните в растенията вредни вещества действат също така негативно на животните и хората.

Един икономически достъпен, екологично съобразен и лесно приложим метод за отстраняване на замърсителите и намаляване на засоляването на почвите е фиторемедиацията. В последните години изследванията на няколко групи показаха, че дървесният вид *Paulownia* е подходящ за фиторемедиация на почви, в които се съдържат освен токсични вещества и много други хлоридни, сулфатни и карбонатни съединения. Целта на настоящото изследване бе да се установи как засоляването влияе върху функционалната активност на фотосинтетичния апарат на две линии от този растителен вид.

Обект на изследването бяха изолирани тилакоидни мембрани от *Paulownia tomentosa* x *fortunei* и *Paulownia elongata* x *elongate*, отглеждани върху почви с различна степен на засоленост. Оценено беше влиянието на солевия фактор върху преноса на енергия между пигмент-белтъчните комплекси и функционалната активност на двете фотосистеми. Получените експериментални резултати показаха, че:

(1) засоляването слабо повлиява преразпределението на възбуждащата енергия между двете фотосистеми;

(2) първичната фотохимия на фотосистема 2 и при двете изследвани линии *Paulownia* не се повлиява при високо съдържание на соли в почвата;

(3) засоляването повлиява фотосистема 1 зависимия електронен транспорт, като ефектът е различен при изследваните линии;

(4) прараметрите на кислородно отделяне са променени в зависимост от степента на засоленост, като по-силно е влиянието при *Paulownia tomentosa* x *fortunei*.

Анализът на получените резултати показват устойчивост на изследваните линии *Paulownia* към този фактор.

Благодарности

Изследването е по съвместен проект между ИБФБМИ-БАН и БФ на СУ „Св. Кл. Охридски“.

Оценка на чувствителността на *Chlorella vulgaris* и *Synechocystis salina* към влиянието на медни йони

Георги Рашков¹, Мартин Стефанов¹, Анелия Добрикова¹,
Екатерина Йоцова¹, Ирина Пунева², Емилия Апостолова¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: grashkov@bio21.bas.bg

² Институт по физиология на растенията и генетика – БАН
Адрес: ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 21, София 1113, България

Ключови думи: *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, хлорофилна флуоресценция, медни йони, кислородно отделяне.

Тежките метали са едни от основните замърсители на околната среда, като тяхното въздействие се определя от токсичността им, натрупването и времето за разграждане. Фотосинтетичният апарат на цианобактериите и зелените водорасли се явява особено чувствителен към токсичността на тежките метали, които взаимодействат с различни компоненти на фотосинтетичната електронно-транспортна верига. Медните йони са едни от често срещаните замърсители, като високи концентрации от тези йони са силно токсични за фотосинтезиращите организми в резултат на повреди в донорната и акцепторната страна на фотосистема 2 (ФС2).

Ние изследвахме чувствителността на фотосинтетичния апарат на зеленото водорасло *Chlorella vulgaris* и цианобактерията *Synechocystis salina* към CuSO₄. Сравнено беше влиянието на CuSO₄ върху параметрите на кислородното отделяне, определено с концентрационен (за характеризиране на фотохимичната активност на ФС2) електрод и скоростен полярографски електрод (за характеризиране на светкавичния кислороден добив и кислородното отделяне при непрекъснатото осветяване), с много често използваните параметри на импулсно-модулираната хлорофилна флуоресценция (Fv/Fm, характеризиращ първичната фотохимия на ФС2 и Fv/Fo, характеризиращ отношението на фотохимичните към нефотохимичните процеси) за оценка влиянието на тежките метали върху функционалната активност на ФС2. Ефектът на медните йони върху различните параметри беше сравнен по RS50 (концентрация на метала, която води до 50% намаление на съответния параметър).

Резултатите от нашите измервания показаха, че: (1) параметрите от кислородното отделяне са по-чувствителни от тези на хлорофилната флуоресценция, (2) най-чувствителни са параметрите на светкавичните кислородни добиви, (3) *Synechocystis salina* е по-чувствителен в сравнение с *Chlorella vulgaris*.

Въз основа на получените резултати става ясно, че параметрите на кислородното отделяне могат да бъдат използвани като чувствителен индикатор за оценка замърсяването с медни йони.

Благодарности

Изследването е по проект към БАН „Възможности за приложението на зелените водорасли при разработването на биосензори за регистрация на хербициди и тежки метали“.

Сравнение на чувствителността на зелени водорасли и цианобактерии към кадмий

**Екатерина Йоцова¹, Анелия Добрикова¹, Мартин Стефанов¹,
Георги Рашков¹, Радка Владкова¹, Ирина Пунева², Емилия Апостолова¹**

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: katya@bio21.bas.bg, ekaterina_yotsova@abv.bg

² Институт по физиология на растенията и генетика – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България

Ключови думи: Зелени водорасли, цианобактерии, кадмий, фотохимия на фотосистема 2, фотосинтетично кислородно отделяне.

Тежките метали са един от най-честите замърсители на водите. Взаимодействието им с фотосинтезиращите организми влияе върху техния растеж и развитие в резултат на значителни промени в много метаболитни пътища. Тези метали най-силно влияят върху процеса фотосинтеза, като техният ефект е директен или индиректен.

Един от силно токсичните елементи за растенията, животните и хората е кадмий. Целта на настоящото изследване бе да се сравни чувствителността на зелени водорасли и цианобактерии към този метал. Оценено беше влиянието на кадмия върху растежа на клетките и функционалната активност на фотосинтетичния апарат на зеленото водорасло *Chlorella vulgaris* и цианобактерията *Synechocystis salina*. При изследването бяха използвани следните методи: абсорбция за определяне на хлорофилното съдържание и оптичната плътност на суспензията от клетки, концентрационен и скоростен полярографски електроди за проследяване промените във фотосинтетичното кислородно отделяне и импулсно-модулирана хлорофилната флуоресценция, за да се оцени първичната фотохимия на фотосистема 2. Изследвано беше влиянието на кадмия върху следните параметри: амплитудата на кислородното отделяне от светкавицата с максимален добив (Y), амплитудата на кислородното избухване при непрекъснато осветяване (A), скоростта на фотосистема 2 зависимия електронен транспорт ($H_2O \rightarrow BQ$), първичната фотохимия на фотосистема 2 (F_v/F_m) и отношението на фотохимичните към нефотохимичните процеси (F_v/F_o). За сравняване относителната чувствителност на използваните параметри към тежкия метал беше използван коефициентът RS_{50} , като стойността му показва концентрацията на кадмий, която води до 50% намаление на съответния параметър след въздействие с метала. Получените резултати показаха, че параметрите на РАМ хлорофилната флуоресценция (F_v/F_m и F_v/F_o) са по-слабо чувствителни към действието на кадмия в сравнение с кислородното отделяне (Y и A). Сравнението на резултатите показва по-висока чувствителност на *S. salina* в сравнение с *C. vulgaris*. Въз основа на получените резултати може да се направи извод, че параметрите на фотосинтетичното кислородно отделяне на *S. salina* са подходящи за оценка на биологичното въздействие на кадмия върху водните екосистеми.

Благодарности

Изследването е по проект към БАН „Възможности за приложението на зелените водорасли при разработването на биосензори за регистрация на хербициди и тежки метали“.

Влияние на електропорацията върху цитотоксичността и редокс-модулиращия ефект на конвенционални химиотерапевтици, приложени на изолирани ракови клетъчни линии

**Северина Атанасова¹, Биляна Николова¹, Яна Цонева¹,
Десислава Лазарова², Румяна Бакалова²**

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113
E-mail: severina@bio21.bas.bg

² Медицински факултет, СУ „Свети Климент Охридски“
Адрес: ул. „Козяк“ № 1, София 1407

Ключови думи: Електропорация, електрохимиотерапия, гливек, нитроксидни радикали, редокс статус, ЕПР спектроскопия.

През последните години силно развитие получи едно ново направление в биомедицинската наука – електрохимиотерапията [1]. В основата на метода лежи комбинираното прилагане на високоволтови електрични импулси и противотуморни лекарствени средства (блеомицин, гливек, нетропсин, мелфалан, циклофосамид и др.) или гени, навлизащи през електропорираната мембрана на клетките. Електрохимиотерапията се характеризира с висока антитуморна успеваемост, както *in vitro*, така и *in vivo*. Основни предимства на метода са ниската доза на използваните лекарства, повишената цитотоксичност и минимизиране на страничните ефекти на цитостатиците [2].

Основен механизъм на противотуморното действие на конвенционалните химиотерапевтици е влиянието им върху редокс-сигнализацията на раковите клетки, от там индукция на оксидативен стрес, което от своя страна води до апоптоза и некроза. Съотношението на активните форми на кислорода (ROS) и редуциращите еквиваленти (RE) в клетките, респективно в тъканите, е определящо за отчитане на техния редокс-статус [3, 4]. Известно е, че раковите клетки се характеризират с различен редокс-статус от клетките на здравия организъм [5].

Целта на настоящата работа е да се изследва влиянието на електропорацията върху цитотоксичното действие на конвенционалния лекарствен препарат Гливек, нитроксидния радикал Темпол и тяхната комбинация по отношение на лимфоцитни клетъчни линии: K562 (BCR-ABL позитивна) и Jurkat (BCR-ABL отрицателна), както и да се проследи по какъв начин посочените субстанции повлияват редокс статуса на клетъчните линии.

В проучването са използвани следните материали и методи:

- **Материали:** Клетъчни култури: K 562 и Jurkat; Лекарствен препарат: Гливек (Imatinib); Нитроксиден радикал: Темпол; Контрастна проба за ЕПР спектроскопия: DPPH.
- **Методи:** Електропорация; МТТ–тест; ЕПР спектроскопия; статистическа обработка и сравнителен анализ на получените резултати.

В резултат на проведените експерименти направихме следните заключения и изводи: Гливекът потиска пролиферацията на двете лимфоцитни клетъчни линии (K562 и Jurkat), като ефектът е значително по-силен при BCR-ABL позитивните клетки, а електропорацията не оказва видим ефект върху цитотоксичността на Гливек. По отношение на нитроксидният радикал Темпол бе доказано, че той потенциира цитотоксичното действие на Гливек 24 часа след комбинираното прилагане на двете субстанции, докато на 48-я и 72-я час, се установява обратна тенденция. Третирането на раковите клетки с комбинацията (Гливек + Темпол) повлиява редокс-статуса им. При краткотрайна инкубация (24 часа) се повишава оксидативна им активност, докато при дълготрайна инкубация (48–72 часа) този ефект намалява. Показано е, че редокс-статусът на клетките корелира с тяхната преживяемост.

Литература

1. Николова, Б., Я. Цонева, Н. Мудров, Е. Пейчева. Клинично приложение на електрохимиотерапията: лесен, високо ефективен и безопасен метод за третиране на кожни тумори. *Онкология*, 39, 2011, 3, 31–35.
2. Dotsinsky, I., B. Nikolova, E. Peycheva, I. Tsoneva. New modality for electrochemotherapy of surface tumors. *Biotechnolog. Eq.*, Vol. 26, 2012, No. 6, 3402–3406.
3. Bakalova, R., H. Ohba, Zh. Zhelev, M. Ishikawa, Y. Shinohara, Y. Baba. Cross-talk between Bcr-Abl tyrosine kinase, protein kinase C and telomerase— a potential reason for resistance to Glivec in chronic myelogenous leukaemia. *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 66, 2003, No. 10, 1879–1884.
4. Bakalova, R., H. Ohba, Zh. Zhelev, T. Kubo, M. Fujii, M. Ishikawa, Y. Shiohara, Y. Baba. Antisense inhibition of Bcr-Abl/c-Abl synthesis promotes telomerase activity and upregulates tankyrase in human leukemia cells. *FEBS Letter*, Vol. 564, 2004, No. 1–2, 73–84.
5. Bakalova, R., Zh. Zhelev, I. Aoki, T. Saga, Tissue redox activity as a hallmark of carcinogenesis: From early to terminal stages of cancer. *Clin. Cancer Res*, Vol. 19, 2013, No. 9, 2503–2517.

Калориметрични маркери на туморни клетъчни линии

Светла Тодинова¹, Елена Стоянова², Иван Илиев³, Ралица Радоева¹,
Сашка Крумова¹, Стефка Г. Танева¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство
Българска академия на науките
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113
E-mail: todinova@abv.bg

² Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“
Българска академия на науките
Адрес: бул. „Цариградско шосе“ № 73, София 1113

³ Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей
Българска академия на науките
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 25, София 1113

Ключови думи: Диференциална сканираща калориметрия, туморни клетъчни линии, калориметрични биомаркери, 5-флуороурацил, оксалиплатин.

Диференциална сканираща калориметрия (ДСК) бе приложена за сравнително изследване на термодинамичния профил на клетъчни линии (модел за различни онкологични заболявания), както и реакцията им към антитуморни агенти.

В ДСК профилите на нормални и туморни човешки клетъчни линии ясно се различават две области на температурно-индуцирани конформационни преходи – температурния интервал 30–78 °С, където денатурират основно цитоплазмените белтъци и интервалът 78–120 °С, в който наблюдаваните преходи се дължат на денатурирането на хистони, ДНК и нуклеозоми. Съществени разлики в термодинамичното поведение, както между нормалните и туморните клетки, така и между различните туморни клетъчни линии, се наблюдават и в двете температурни области.

Общи характеристики на туморните клетки са: (1) дестабилизиране на първия преход, което се дължи на модификация в баланса на цитоплазмените белтъци и (2) редуцирано в различна степен отношение на енталпията на ниско- към високо-температурната област в сравнение с нормалните фибробластни клетки, което корелира с повишените нива на ДНК при раковите клетки. Третирането на клетки HT-29 (колоректален карцином) с антитуморни агенти (5-флуороурацил и комбинацията му с оксалиплатин) показва дестабилизиране на първия преход и съществено намаляване на специфичната топлемост за всички наблюдавани преходи, което корелира с анти-метаболитния ефект на използваните лекарства и с понижаване на синтеза на ДНК и РНК в третираните клетки.

ДСК подходът разкрива нови калориметрични маркери на раковите клетки и позволява оценка на действието на лекарствени агенти върху развитието на туморите.

Ефект на палмитоил-оксо-валероил фосфатидилхолин върху мембранната организация

Русина Хазаросова, Албена Момчилова, Галя Станева

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: rhazarosova@abv.bg

Ключови думи: Окислени липиди, диференциална сканираща калориметрия, полиненаситени мастни киселини, мононенаситени мастни киселини.

Въздействието на окисления липид палмитоил-оксо-валероил фосфатидилхолин (palmitoyl-oxo-valeroyl-phosphatidylcholine, POVPC) върху мембранната латерална организация е изследвано чрез диференциална сканираща калориметрия (differential scanning calorimetry, DSC). Две молекули глицерофосфохолин, които се различават по броя на двойните връзки, мононенаситения палмитоил-олеоил фосфатидилхолин (palmitoyl-oleoyl phosphatidylcholine, POPC) и полиненаситения палмитоил-докозахексаноил фосфатидилхолин (palmitoyl-docosahexaenoyl phosphatidylcholine, PDPC), са използвани за установяване ефекта на степента на ненасытеност и дължината на мастно-киселинната верига в молекулата на фосфатидилхолина (phosphatidylcholine, PC) в четирикомпонентните POVPC-съдържащи смеси (80/10/5/5 яйчен сфингомиелин (eggSM)/холестерол (CHOL)/POPC/POVPC и eggSM/CHOL/PDPC/POVPC). В трикомпонентната контролна смес 85/10/5 EggSM/CHOL/PC по време на фазов преход са идентифицирани две фази: нискотемпературна, обогатена на PC (фаза I) и високотемпературна – обогатена на CHOL (фаза II). Присъствието на POVPC в POPC сместа повлиява в по-голяма степен структурата на фаза I, отколкото тази на фаза II. Температурата на фазов преход на фаза I се отмества към по-ниски температурни стойности, а на фаза II – към по-високите такива, в сравнение с контролата. В четирикомпонентната смес на PDPC, обаче, температурата на фазов преход на двете ко-съществуващи фази намалява. Тези резултати предполагат различен механизъм на действие на окисления липид в мононенаситените и полиненаситените трикомпонентни смеси по отношение на холестерола. Би могло да се предположи, че POVPC намалява смесваемостта на CHOL в мононенаситените PC-съдържащи трикомпонентни смеси, докато в полиненаситените такива – я увеличава.

Благодарности

Научният труд е финансиран от Фонд „Научни изследвания“ (DFNI-B01-5/2012).

Литература

1. Vladykovskaya E., E. Ozhegov, J. Hoetker, Zh. Xie, Y. Ahmed, J. Suttles, S. Srivastava, A. Bhatnagar, O. Barski. *J. Lipid Res.*, Vol. 52, 2011, 2209–2225.
2. Qin J., R. Goswami, R. Balabanov, G. J. Dawson. *J. Neurosci. Res.*, Vol. 85, 2007, No. 5, 977–984.
3. Beranova, L., L. Cwiklik, P. Jungwirth. *Langmuir*, Vol. 26, 2010, 6140–6144.
4. <http://www.jpbonline.org/article.asp?issn=0975-7406;year=2011;volume=3;issue=1;spage=39;epage=59;auiast=Chiu>

Сливане на плоски мембрани: геометрични аспекти

Мариана Хаджилазова, Ивайло Младенов

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл.21, София 1113, България
E-mail: murryh@bio21.bas.bg

Ключови думи: Липидни мембрани, стеблов модел, нодоиди, сливане на мембрани, затворени решения, вътрешни напрежения.

Всеобщо приетото мнение е, че сливането на мембраните при контакт между два моно-слоя, стоящи един срещу друг, включва форма на пясъчен часовник, като междинната структура се нарича стебло. Счита се, че формата на стеблото е аксиално симетрична повърхнина в тримерното пространство, изградена от два листа, чиято първоначална геометрия е равнинна (вж. Фигура 1).



Фигура 1. Схематично описание на процеса на сливане чрез формиране на стебло.

Пресметната е пълната енергия на стеблото, като е взето предвид условието, че стеблото има постоянна средна кривина. Неговата отрицателна стойност, която се дължи на наличието на спонтанна кривина, инициира полусливането. Представено е и обобщение на оригиналния модел на Маркин и Албанези [1], в който всяка геометрична характеристика на стеблото може да бъде изразена в явна форма, когато стеблото се разглежда като повърхнина с форма на нодоид (Младенов и Хаджилазова [2]). Локалното напрежение и индуцираните вътрешни моменти, които се дължат на огъването на мембраната, са пресметнати също аналитично въз основа на възприетата параметризация.

Литература

1. Markin, V., J. Albanesi. Membrane Fusion: Stalk Model Revisited. *Biophys. J.*, Vol. 82, 2002, 693-712.
2. Младенов, И., М. Хаджилазова. *Многоликата еластика*. Авангард Прима, София, 2013.

Получаване чрез електроспининг на Poly (*N*-vinyl pyrrolidone-*b*-dimethylsiloxane) нанофибри: физико-химично характеризиране и биологични функции

Анелия Костадинова, Виктория Пехливанова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: anik@bio21.bas.bg

Ключови думи: *Paulownia*, засоляване, фиторемедиация, фотосинтетичен апарат.

В тази разработка ние докладваме за електроспининг на Poly (dimethylsiloxane-*b*-vinyl pyrrolidone) (PDMS-*b*-PVP), при което се получават влакнести биоматериали. Получените 3D влакнести структури максимално наподобяват условията за клетъчната адхезия и развитие *in vivo*. Морфологията, термичните свойства, съставът на повърхността, хидрофилността на образуваните влакна с различни дължини на PDMS и PVP вериги се определиха, като се използва сканираща електронна микроскопия (SEM), диференциална сканираща калориметрия (DSC), рентгенова фотоелектронна микроскопия (XPS) и рентгенова дифракция (RXD). Определен беше и контактният воден ъгъл (WCA).

Провери се и приложимостта на получените полимерни влакна за използване в тъканното инженерство чрез изследване на тяхната способност за подпомагане на клетъчната адхезия, растеж и пролиферация при фибробласти.

Благодарности

Изследването е по съвместен проект между ИБФБМИ–БАН и Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

Ефекти на промените в централните и в периферните фактори, предизвикани от мускулна умора, върху амплитудните и спектралните характеристики на електромиографските сигнали

Владимир Димитров

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: vgdi@abv.bg

Ключови думи: ЕМГ, амплитудни характеристики, спектрални характеристики, умора.

Електромиографските (ЕМГ) сигнали се използват в медицината и спорта за оценка на физиологичните промени в нервно-мускулната система. При умора се променят редица фактори, повлияващи амплитудните и спектралните ЕМГ характеристики. Целите на представените изследвания са да се изследват ефектите на промените в централните и в периферните фактори, и евентуално да се предложат начини за коректно интерпретиране на промените в ЕМГ сигнали.

Бяха симулирани интерферентни ЕМГ сигнали и М-отговори, генерирани от мускул с диаметър 20 мм в нормално и уморено състояние, регистрирани на различни разстояния от мускула с различни електроди. Мускулът се състоеше от 125 двигателни единици от 4 типа, разпределени равномерно по мускулното сечение. Промените в централните фактори се представяха с промени в честотата на импулсиране и в синхронизацията на активирането на двигателните единици. Разгледаните периферни промени бяха намаляване на амплитудата и увеличаване продължителността на спайка на трансмембрания акционен потенциал (АП), нарастване на амплитудата и продължителността на негативния следови потенциал и намаляване скоростта на провеждане по мускулните влакна. Бяха изследвани промените в амплитудните характеристики интеграл, средно-квадратично отклонение и амплитуда от пик до пик. От спектралните характеристики изследвахме промените в средната честота, медианата и в наш спектрален индекс. Резултатите на изследванията показаха, че при умора, ефектите от промените в трансмембрания АП и в скоростта на неговото разпространение върху амплитудните характеристики на ЕМГ сигнали, могат да бъдат съизмерими с ефектите, предизвикани от ЦНС. Затова, ако ни интересуват невроналните промени, ефектът от периферните фактори може да се намали, ако изследваните амплитудни характеристики се нормират със съответните амплитудни характеристики на М-отговора. При това, в случая на повърхностно отвеждане от дълбоки мускули, влиянието на периферните фактори се премахва по-добре при разглеждане на съотношението на средно-квадратичните отклонения, а в случая на повърхностно отвеждане от плитки мускули, е най-благоприятно да се използва съотношението на амплитудите от пик до пик. При значителни промени в трансмембрания АП, спектралните характеристики на повърхностно отведените ЕМГ сигнали са чувствителни не само към промените в скоростта на разпространение на АП, но и към промените в трансмембрания АП. Когато има значителни промени в трансмембрания АП промените в спектралните характеристики на ЕМГ сигналите също са съизмерими с промените, предизвикани от централните фактори. В този случай оценката на невроналните промени по измененията в спектралните характеристики на ЕМГ сигнали може да бъде заблуждаваща.

Ефект на ко-активността на мускулите антагонисти върху интракортикалната инхибиция

Капка Манчева, Владимир Димитров, Лилия Христова, Андон Косев

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България

E-mail: kapka_mancheva@abv.bg

Ключови думи: Транскраниална магнитна стимулация (ТМС), интракортикална инхибиция (ИКИ), моторни евокирани потенциали (МЕП), мускулна активност.

В две отделни експериментални серии беше изследван ефектът от нивото на волевата активност на мускулите антагонисти върху интракортикалната инхибиция (ИКИ). В изследванията участваха 7 здрави десноръки лица. Моторни евокирани потенциали (МЕП) в отговор на контралатерална транскраниална магнитна стимулация (ТМС) бяха записани от десния *m. interosseus dorsalis I* при три състояния: в покой, при изометрична абдукция и при ко-активност на мускулите антагонисти, като мускулната активност съответстваше на 20% от максимална волева контракция. По време на задачата с ко-активност лицата бяха инструктирани да активират едновременно мускулите антагонисти чрез увеличаване твърдостта на ставата и нулев резултатен въртящ момент.

В първия експериментален протокол след определяне на индивидуалния моторен праг при покой прилагаме ТМС с интензитет 100%, 110%, 120%, 130% и 140% от него. Резултатите показаха, че кортикалният период на мълчание е статистически по-дълъг при изометрична абдукция на мускула и по-къс при поддържана волева ко-активност на мускулите антагонисти.

Във втората серия експерименти изследвахме интракортикалната инхибиция с дълъг латентен период. Прилагаме двойка стимули с междустимулни интервали от 50, 100 и 150 ms, като и двата стимула бяха с интензитет 130% от прага. В тази серия опити се използват същите три режима на мускулна активност, както в първата серия. Резултатите ни показаха, че в този случай при изометрична абдукция ИКИ е по-силно изразена. Установихме, че независимо от нивото на ко-активност, когато мускулът е активиран, потенциацията на МЕП е една и съща.

Получените резултати показват, че ко-активността на мускулите антагонисти е съпроводена с намаляване на ИКИ с дълга латентност, както и със значително намаляване на ИКИ, на която се дължи кортикалният период на мълчание.

Оценка на промените в двигателния контрол на горен крайник на пациенти след инсулт чрез повърхностни електромиографски отвеждания

Силвия Ангелова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: sis21@abv.bg

Ключови думи: Инсулт, мускули, горен крайник, електромиография.

След прекаран инсулт увредите в мозъка (в зависимост от засегнатата зона) причиняват нарушения във функционирането на различни структури на човешкото тяло, но почти винаги клиничната картина включва абнормни активация и ко-контракция на мускулите на засегнатите крайници. Количествена оценка на моторния дефицит на ръката може да се направи чрез използване на повърхностни електромиографски сигнали.

Разработена е експериментална постановка за изследване на различни двигателни задачи, изпълнявани от горния крайник, с цел да се установят промените в мускулно-ставния апарат, дължащи се на прекарания инсулт. Избрани са шест мускула (мускулни части) на горния крайник, върху които се поставят повърхностни електроди. Електромиографските сигнали (ЕМГс) се предават телеметрично и се записват на лаптоп чрез системата TELEMYO (Noraxon Inc.). Към раменната става се прикрепя 2D гониометър, измерващ две ъглови премествания в направлението флексия-екстензия и абдукция-аддукция. Изследвани са 4 пациенти, прекарвали инсулт, и 4 здрави доброволци. Подопитните лица изпълняват десет двигателни задачи първо със здравата (доминантната), а после и със засегнатата (недоминантната) ръка.

Записаните експериментални данни се обработват в среда на MATLAB, като за целта са създадени специални програми. За статичните двигателни задачи (референтна позиция и тест за умора) се прави честотен анализ, като се пресмятат средна стойност и медиана на филтрираните и изгладените ЕМГс. Сравняват се честотните характеристики на ЕМГс на всички мускули между доминантна (здрава) и недоминантна (засегната) ръка. За изследваните движения (флексия-екстензия в сагитална и хоризонтална равнина, поставяне на топка, докосване на носа) се прави анализ на различните мускулни стратегии, като се сравняват записаните ъглови премествания за едни и същи двигателни задачи за двете ръце и се сравняват активностите на мускулите.

За пациенти без изявиени парези на изследваните мускули нарушената двигателна активност се дължи по-скоро на променен стереотип в мускулното включване и координация, отколкото на намалена проводимост на нервни импулси по кортико-мускулния път.

Периоперативни промени в автономната сърдечна регулация при болни с кардиохирургична реваскуларизация

Димитър Симов

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113

E-mail: dr.simov@gmail.com

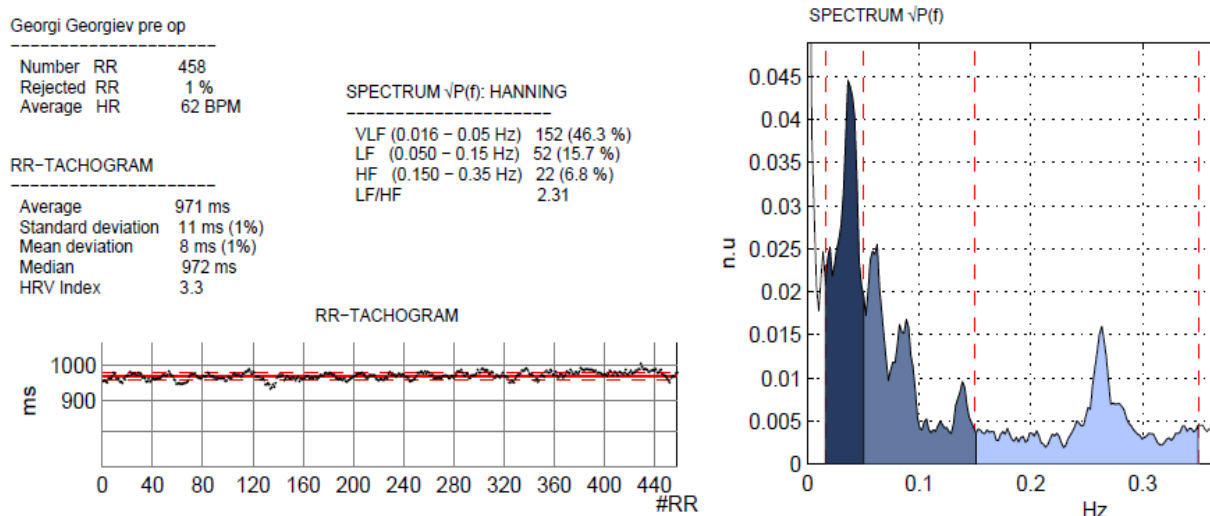
Цел: Кардиохирургичната реваскуларизация при болни с исхемична болест на сърцето (ИБС) изисква независими маркери за проследяване състоянието на болните в периоперативния период. Аорто-коронарното шънтиране поставя редица иновационни задачи, свързани:

- с получаване на допълнителни симптоми, сочещи необходимост от интервенцията;
- с обособяване на предиктори за висока вероятност от животозастрашаващи усложнения след интервенцията;
- с проследяване на динамиката на състоянието на болните в следоперативния период и за планиране на целесъобразна лечебна тактика след интервенцията;
- със сравняване на резултатите от прилагане на хирургичната реваскуларизация с резултатите от прилагане на по-малко травматични технологии.

Цел на това изследване е чрез анализ на вариабилитета на сърдечния ритъм (BCR), определен от високочестотна електрокардиограма и с висока резолюция, да се оцени сърдечната автономна реинервация след аорто-коронарен байпас (АКБ) при болни с многоклонова коронарна болест (МКБ).

Материал: За 21 пациенти с АКБ на 2-4 коронарни артерии са регистрирани ЕКГ в покой с честота на семплиране 1000 Hz преди интервенцията и на 2-ия до 7-ия ден след нея. При всички пациенти е налице синусов ритъм преди и след интервенцията.

Метод: Чрез изработен от нас програмен пакет за изчисляване на времеви и спектрални показатели за BCR оценихме средноквадратичната дисперсия на всички флукуации (SDNN) и процентното участие в общата спектрална мощност на честотните диапазони за 3-те регулиращи фактори на синоатриалния възел: на метаболитно-хуморалните (VLF%), предимно симпатиковите (LF%) и предимно парасимпатиковите (HF%) вълни. За честотния анализ използвахме бързо преобразуване на Фурие и спектрален прозорец на Ханнинг. На Фигура 1 е показан резултат от анализа на BCR за пациент от изследваната група.



Фигура 1. Резултат от анализ на ВС

HRV indices	Преди АКБ	2-7 дни след АКБ
RRA (ms)	903±93	651±111 $p < 0.001$
SDNN (ms)	39±18	24±23 $p < 0.05$
VLF (%)	34.9±8.5	24.7±7.4 $p < 0.005$
LF (%)	13.8±5.1	10.9±4.9 $p < 0.001$
HF (%)	7.7±3.1	8.6±5.7 $p = 0.263; n.s.$

Резултати: Таблицата съдържа средните стойности на показателите за ВСР преди и след АКБ. Постооперативно достоверно намалява общият вариабилитет (SDNN: от 903 до 651 ms; $p < 0.05$) с все още доминиращо влияние на хуморалната регулация (VLF = 24.7%) върху ритъма. Налице е тенденция към нарастване на протективното вагусово въздействие върху сърдечните пейсмейкъри (HF%: от 7.7 до 8.6).

Ефект на монофазни електрични импулси самостоятелно и в комбинация с блеомицин върху цитоскелетната организация на ендотелни клетки

Веселина Узунова¹, Сесил Мьоленберг², Мая Чемазар^{2,3}, Румяна Цонева¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България
E-mail: vesi.uzunova@abv.bg

² Факултет по здравни науки, Университет на Приморска
Изола, Словения

³ Катедра по експериментална онкология, Институт по онкология
Любляна, Словения

Ключови думи: Електропорация, клетъчна адхезия, цитоскелет, ендотелни клетки.

Електропорацията (ЕП) е универсален метод, използван в медицината за електрохимиотерапия (ЕСТ) [1]. Комбинацията на ЕП с химиотерапевтични лекарства днес успешно се прилага в клиничната практика за лечение на тумори с различна хистология [2]. В настоящата работа е изучено влиянието на ЕСТ върху цитоскелета и морфологията на ендотелни клетки. Получените данни могат да бъдат от голямо значение за контролиране на ЕСТ-индуцирания съдов ефект в *in vivo* условия [3].

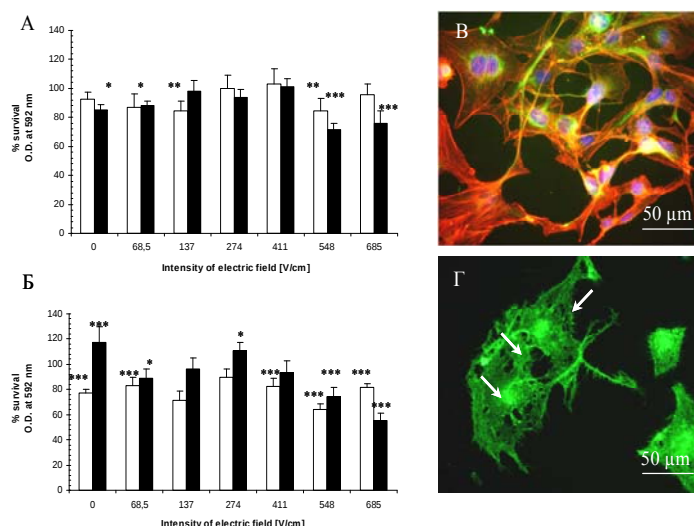
Материали и методи: Ендотелни клетки – HMEC-1 и HUVEC. Електропоратор на монофазни импулси (8 импулса, 100 μ s, честота 1 Hz, интензитет на полето ($\bar{E}$) 0–700 V/cm), произведен в университета в Любляна, с паралелни плоски електроди.

Клетките са инкубирани за период от 10 минути до 24 часа след третирането. Проведени са оцветяване с пропидиев йодид (PI), за определяне пропускливостта на клетъчната мембрана след електротретиране. Флуоресцентно маркиране за цитоскелетни протеини, анализирано с микроскоп NIKON Eclipse 80i оборудван с B2A и G2A филтри и софтуер ACT-1. Нивото на токсичност на проведеното третиране е отчетено с MTS тест и Tecan Infinite F200 PRO, а клетъчната жизнеспособност е изчислена като процент от абсорбцията (при 592 nm) на нетретираната контрола.

Резултати: При прилагане на електрично поле с $\bar{E} > 300$ V/cm, PI прониква в по-голям брой клетки, като степента на флуоресценция постепенно се увеличава с нарастване на $\bar{E}$. Промени в актиновия цитоскелет се наблюдават само при клетки третирани с $\bar{E}$ над 400 V/cm. При нетретираните HMEC-1 клетки се наблюдават типичните F-актинови филаменти, обхващащи по-голяма част от клетъчната цитоплазма. Те остават незасегнати при $\bar{E}$ по-малък от 300 V/cm, 10 минути след третирането.

Прилагането на по-висок $\bar{E}$ (над 400 V/cm) води до изтъняване на актиновите филаменти, разположени по клетъчната мембрана (Фигура 1Г). 20–30 минути след електротретирането ефектът отшумява. ЕП с висок интензитет (над 300 V/cm), при-

чинява структурни промени в β -тубулиновата и виментинова мрежи, които се характеризират с изтъняване на структурите. Клетъчната преживяемост намалява при третиране с E над 400V/cm, (Фигура 1А), като ефектът се усилва в присъствието на блеомицин. След 24 часа на комбинирано действие (300nM блеомицин и 400V/cm) целостта на клетъчния монослой се нарушава значително в сравнение с клетки, третирани само с електрично поле (Фигура 1Б).



Фигура 1. Клетъчна преживяемост на HUVEC третирани с електричното поле (бели колони) и блеомицин (черни колони) А) 0 часа след третирането и Б) 24 часа след третирането. В) Тройна имунофлуоресценция на монослой от HUVEC. Актин – оцветен в червено, виментин – зелен и клетъчни ядра оцветени с DAPI (синьо). Г) Оцветяване за актин на HMEC-1, 10 минути пост-ЕП.

От проведените експерименти може да се обобщи, че високото електрично поле (над 400V/cm) предизвиква бързо разрушаване на цитоскелета, като процесът е зависим от интензитета на полето и отзвучава с времето. Комбинираното прилагане на електрични импулси и блеомицин води до по-значително намаляване на клетъчната преживяемост.

Благодарности

Проучването е осъществено с подкрепата на COST TD 1104 Action – EP4Bio²Med.

Литература

1. Kanduser, M., D. Miklavcic, Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview, Electrotech for Extraction from Food Plants and Biomaterials, *Springer Science Business Media*, 2008.
2. Sersa, G., D. Miklavcic, M. Cemazar, Z. Rudolf, G. Pucihar. Electrochemotherapy in treatment of tumours, *Eur J Surg Oncol*, Vol. 34, 2008, 232–240.
3. Meulenberg, C. J. W., V. Todorovic, M. Cemazar. Differential Cellular Effects of Electroporation and Electrochemotherapy in Monolayers of Human Microvascular Endothelial Cells, *PLoS ONE*, 2012, 7(12).

Биологичен отговор на човешки мезенхимни стволови клетки към биоматериали, получени чрез електроспининг

Милена Керемидарска¹, Тодорка Владкова², Наталия Кръстева¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 21, София 1113, България

E-mail: m_keremidarska@abv.bg

² Химикотехнологичен и металургичен университет

Адрес: бул. „Климент Охридски“ №8, София 1756, България

Ключови думи: Цитотоксичност, колагенови нановлакна, клетъчна адхезия.

Костно-тъканното инженерство е бързоразвиваща се област, предлагаща обещаващи нови подходи за костна регенерация. Необходими компоненти на костния конструкт, за да се формира функционален тъкан, са остеобластни или стволови клетки, и биоматериал. Напоследък на мезенхимните стволови клетки се гледа все повече като на потенциални участници в регенерацията на различни тъкани. Това се дължи на способността им за мултипотентна диференциация в редица мезенхимни тъкани (костна, хрущялна, мускулна). Затова на тези клетки се залагат големи надежди за отстраняването на костни дефекти [1]. Сред основните изисквания, на които трябва да отговаря добрият костен имплант, са висока порьозност, добра механична стабилност и подходящи физико-химични повърхностни свойства. Не на последно място е необходимостта биоматериалът да благоприятства взаимодействието с клетките [2]. В последно време засилен интерес се наблюдава към биомиметичните материали, т.е. материали, наподобяващи по химичен състав и топография екстрацелуларния матрикс (ЕЦМ).

С цел да наподобим костния матрикс, в настоящата работа ние използвахме метода на електроовлажняването, за да създадем различни видове колагенови нановлакна и изследвахме поведението на човешки мезенхимни стволови клетки върху тях. Електроовлажняването е метод, при който се получават влакна с наноразмери, подобни на белтъците от ЕЦМ [3]. За направата на нановлакната използвахме в различна комбинация колаген тип I, който е най-разпространеният белтък в костния матрикс, както и хондроитин сулфат и хиалуронова киселина – други важни компоненти на костния матрикс.

Първото задължително условие, на което трябва да отговаря всеки потенциален биоматериал, е да не е токсичен за клетките. Ето защо ние изследвахме нановлакната за цитотоксичност, като използвахме индиректен метод за оценка на клетъчната токсичност. За целта към монослой от адхезирали клетки добавихме хранителна среда, в която нановлакната са инкубирани в продължение на 72 часа. След 24 часа оцветихме с флуоресцеин диацетат – багрило, което се задържа в цитозола само на живи клетки, и установихме, че клетките са витални, т.е. нановлакната не са цитотоксични.

Друга важна характеристика на биоматериалите е да подпомагат прикрепването на клетките. За да изследваме клетъчната адхезия, ние определихме броя на прикрепените клетки след двучасово култивиране върху нановлакната, както и площта на клетъчното разстилане. Най-голям брой мезенхимни стволови клетки бяха прикрепени върху нановлакната само от колаген. Това е и материалът, предизвикал най-силна адхезия в клетките за 2 часа инкубация, следван от пробите с хондроитин сулфат и хиалуронова киселина със съвсем малка разлика в площта на клетките.

Всички изследвани материали взаимодействат успешно с клетките, предразполагайки ги към здраво прикрепване и разстлана морфология, която е много важна за последваща диференциация.

Благодарности

Настоящото изследване е финансирано от ФНИ по проект № ДВУ-10-0024.

Литература

1. Yoshimoto H., Y. M. Shin, H. Terai, J. P. Vacanti. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, Vol. 24, 2003, 2077–2082.
2. Liu X., P. X. Ma. Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 32, 2004, No. 3, 477–486.
3. Pham Q. P., U. Sharma, A. G. Mikos. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Application: A Review. *Tissue Engineering*, Vol.12, 2006, No. 5, 1197–1212.

Моделни изследвания на човешки ER α за виртуален скрининг на негови лиганди

Десислава Жерева, Филип Фратев, Иванка Цаковска,
Петко Алов, Таня Пенчева, Илза Пъжева

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 105, София 1113
E-mail: dessislava.jereva@biomed.bas.bg

Ключови думи: Естрогенов рецептор, фармакофор, виртуален скрининг, молекулна динамика.

През последните две десетилетия нарастват опасенията относно потенциалните вредни ефекти на различни биоактивни субстанции върху хормоналната регулация на ендокринната система. Механизмът, по който те могат да осъществят вредното си въздействие, често включва директно свързване с човешкия естрогенов рецептор алфа (ER α). По тази причина ER α се явява важен обект при виртуален скрининг на биоактивни съединения с потенциална про- или антиестрогенова активност [1].

Цел: Моделни изследвания на човешки ER α за нуждите на виртуалния скрининг на негови потенциални лиганди.

Данни и методи: Използвани са данни от Protein Data Bank (PDB, <http://www.rcsb.org>) и специализиран софтуер за молекулно моделиране – MOE, Amber и AMMOS_ProtLig [2].

Резултати и изводи: Извършен е анализ на PDB структурни комплекси с ER α по отношение на: охарактеризиране на джобове на свързване (обем, геометрия); идентификация на ключови лиганд-рецепторни взаимодействия; оценка на гъвкавост на протеина. Предложен е разширен фармакофорен модел на агонисти на ER α , базиран на комплекси на силни агонисти и валидиран с молекулно-динамични (МД) симулации на комплекс, съдържащ агонист с активност в пикомоларни концентрации (PDB ID 2P15). Установено е, че фармакофорът на съединения с агонистична активност спрямо ER α може да се разшири с допълнителен елемент, който заема свободна хидрофобна област във вътрешната част на джоба на свързване. Получените модели могат да бъдат използвани за ефективен виртуален скрининг на съединения с потенциална про- или антиестрогенова активност. Резултатите също така показват, че МД симулациите са мощно *in silico* средство за изследване на белтъчни структури и комплекси, особено при наличие на мутации, които потенциално биха могли да повлияят на структурата и функциите на белтъка.

Благодарности: Изследването е подкрепено от ФНИ (договор ДТК 02/58).

Литература

1. Tsakovska, I., I. Pajeva, P. Alov, A. Worth. Recent advances in the molecular modelling of estrogen receptor-mediated toxicity. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2011; 85, 217–251.
2. Pencheva, T., D. Jereva, M. Miteva, I. Pajeva. Post-Docking Optimization and Analysis of Protein-Ligand Interactions of Estrogen Receptor Alpha using AMMOS Software. *Curr Comput Aided Drug Des.* Vol. 9, 2013, 83–94.

От лиганд-зависима дисрегулация на PPAR γ до неалкохолна стеатозна болест на черния дроб

Мерилин Ал Шариф¹, Иванка Цаковска¹, Петко Алов¹,
Весела Вичева², Илза Пъжева¹

¹ Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113

E-mail: merilin.al@biomed.bas.bg

² Фармацевтичен факултет, Медицински университет

Адрес: ул. „Дунав“ № 2, София 1000

Ключови думи: PPAR γ , НАСБ, начин на действие, молекулно моделиране

Неалкохолната стеатозна болест на черния дроб (НАСБ) е патологично състояние, свързано с метаболитния синдром, което започва със стеатоза и може да прогресира до стеатохепатит, фиброза и цироза на черния дроб. В качеството си на транскрипционен регулатор с централно място в липидната хомеостаза и като важна прицелна биомолекула, пероксизомният пролифератор активиран рецептор гама (PPAR γ) има подчертана роля за тази патология [1]. Съгласно съвременните концепции в изчислителната токсикология, в това изследване е описан начин на действие на лиганди от дисрегулация на PPAR γ (молекулното инициращо събитие, МИС) до НАСБ [2].

Цели: (1) Количествено охарактеризиране на описаните пътища на токсичност; (2) Анализ и подбор на данни за простеатогенни лиганди; (3) *In silico* моделиране на МИС.

Методи: Приложени са методи за описване и анализ на пътища на токсичност (съгласно принципите на Организацията за икономическо сътрудничество и развитие [3]) и за молекулно моделиране (софтуер МОЕ 2013.08).

Резултати: (1) Определени са ключови събития (според приноса им за начина на действие) за развитие на изучаваното патологично състояние; (2) Създадена е база данни от лиганди на PPAR γ ; (3) Изведени са *in silico* модели на МИС, приложими както за предсказване на простеатогенен профил на биоактивни съединения, така и за целите на рационалния лекарствен дизайн.

Благодарности: Изследването е подкрепено от проект COSMOS (No. 266835) по 7-ма рамкова програма на ЕК.

Литература

1. Al Sharif, M., P. Alov, V. Vitcheva, I. Pajeva, I. Tsakovska. *PPAR Research*, Vol. 2014, Article ID 432647, 13 pages.
2. Tsakovska, I., M. Al Sharif, P. Alov, A. Diukendjieva, E. Fioravanzo, M. T. Cronin, I. Pajeva. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 15, 2014, No. 5, 7651-66.
3. OECD, Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways, Series on Testing and Assessment No. 184, OECD, Paris, France, 2013.

Модулярни решетки над интуиционистки размити множества

Мирослав Стоенчев

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: miro_ost@mail.bg

Ключови думи: Интуиционистки размити множества, операции над интуиционистки размити множества, модулярни решетки.

Съгласно [1], множеството от обекти M е *решетка*, ако е частично наредено и всеки два негови елемента имат точна долна граница (сечение) и точна горна граница (обединение). Решетката M с дефинирани над нея две операции ($\cup$, $\cap$) се нарича *модулярна*, ако за всеки три нейни елемента x, y, z за които $x \subseteq y$:

$$x \cup (y \cap z) = (x \cup y) \cap z.$$

В доклада са посочени операциите, дефинирани над интуиционистки размити множества (вж. [2, 3]), за които е в сила, че множеството $IFS(U)$ на интуиционистки размитите множества над даден универсум U е модулярна решетка. Изследвана е дистрибутивността на модулярните решетки, генерирани над $IFS(U)$ от различни двойки операции, и са посочени двойките операции, които удовлетворяват условията за лява и дясна дистрибутивност.

Литература

1. Маклейн, С., Г. Биркхоф. *Съвременна алгебра*, София, Наука и изкуство, 1974.
2. Atanassov, K. *Intuitionistic Fuzzy Sets: Theory and Applications*. Springer, Heidelberg, 1999.
3. Atanassov, K. *On Intuitionistic Fuzzy Sets Theory*, Springer, Berlin, 2012.

Наредби и индикатори за включване между интуиционистки размити множества

Евгений Маринов

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: evgeniy@biomed.bas.bg

Ключови думи: Интуиционистки размити множества, индикатор на включване, наредби.

Понятието интуиционистки размито множество (ИРМ, *intuitionistic fuzzy sets*), предложено от К. Atanassov [1, 2], е разширение на класическите размити множества (РМ, *fuzzy sets*), въведени от L. Zadeh [5]. Интуиционистки размитите множества намират широко приложение в изкуствения интелект, както и в биоинформатиката, в частност. В теорията на ИРМ, функцията π_A , която задава *степената на неопределеност* на принадлежността на елемента $x \in E$ към множеството A , се определя от формулата: $\pi_A(x) = 1 - \mu_A(x) - \nu_A(x)$.

В [3] въведохме понятието π -наредба и съпътстващия го *индекс на неопределеност*, докато в [4] разгледахме и дискутирахме по-подробно частичните наредби за ИРМ. В текущия доклад ще бъде направен обзор на тези понятия, като освен това ще бъде дискутирано и понятието ИР-индикатор на включване между ИРМ. Ще бъде показано, че ИР-индикаторът дава интуиционистки размита оценка на включване (строго и не-строго) на две ИРМ относно двете основни наредби, като същевременно той самият се явява интуиционистки размито множество над подходящ универсум, съответстващ на наредбите.

Литература

1. Atanassov, K. *Intuitionistic Fuzzy Sets: Theory and Applications*. Springer–Verlag, Heidelberg, 1999.
2. Atanassov, K. *On Intuitionistic Fuzzy Sets Theory*. Springer–Verlag, Berlin, 2012.
3. Marinov E. π -ordering and index of indeterminacy for intuitionistic fuzzy sets. *Modern Approaches in Fuzzy Sets, Intuitionistic Fuzzy Sets, Generalized Nets and Related Topics. Volume II: Applications*, SRI, Warsaw, 2014 (to appear).
4. Marinov E. On the operators and partial orderings of intuitionistic fuzzy sets. *Notes on Intuitionistic Fuzzy Sets*, Vol. 19, 2013, No. 3, 25–33.
5. Zadeh, L. Fuzzy sets. *Information and Control*, Vol. 8, 338–353, 1965.

Обобщени мрежи с характеристики на позициите

Велин Андонов

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: velin_andonov@yahoo.com

Ключови думи: Обобщени мрежи, разширения на обобщени мрежи, алгоритми за движение на ядра.

Разгледано е ново разширение на класа на стандартните обобщени мрежи (ОМ) – *обобщени мрежи с характеристики на позициите* (ОМХП). Във формалната дефиниция на ОМХП присъстват всички компоненти на стандартните ОМ, но също така и две нови характеристични функции. Първата от тях задава начални характеристики на някои от позициите на мрежата, а втората дава характеристики на някои от позициите по време на работата на мрежата, ако в текущия такт в тях са постъпили ядра. Представен е алгоритъм за функциониране на преход в ОМХП. Доказва се, че Σ_{CP} – класът на ОМХП – е консервативно разширение на Σ [1].

Описан е алгоритъм на функциониране на преход в ОМХП. Дефинират се класове на редуцирани ОМХП, както и минимална редуцирана ОМХП. Посочено е, че съществуват два минимални класа на редуцирани ОМХП – един с характеристики на ядрата (Σ^*), и един, в който само позициите получават характеристики (Σ^*_{CP}). Доказва се, че $\Sigma^* \equiv \Sigma^*_{CP}$ [2].

Обсъждат се приложения на ОМХП, сред които възможността за оценка на работата на позициите на мрежата и опростяването на графичното представяне на мрежата с цел по-лесното проследяване на движението на ядрата в нея [4]. Като пример за обобщеномрежовия модел на горен крайник, представен в [3], е конструирана ОМХП.

Литература

1. Andonov, V., K. Atanassov. Generalized nets with characteristics of the places. *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, Vol. 66, 2013, No. 12, 1673–1680.
2. Andonov, V. Reduced generalized nets with characteristics of the places. *International Journal Information Models and Analyses*. Vol. 3, 2014, No. 2, 113–125.
3. Ribagin, S., V. Chakarov, K. Atanassov. Generalized net model of the upper limb vascular system. *Proc. of IEEE 6th Conference on Intelligent Systems*, Sofia, 6–8 September 2012, Vol. 2, 229–233.
4. Ribagin, S., V. Andonov, V. Chakarov. Possible applications of generalized nets with characteristics of the places. A medical example. *Proc. of the 14th Int. Workshop on Generalized Nets*, Burgas, 29–30 November, 2013, 56–64.

Симеон Рибегин

Благодарности

Изследването е подкрепено от проект „Модели на стареене и технологични решения за подобряване на качеството на живота“ (MATSIQEL), Marie Curie International Research Staff Exchange Scheme, № GA–2009–247541.

Литература

1. Andonov, V., K. Atanassov. Generalized nets with characteristics of the places. *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, Vol. 66, 2013, No. 12, 1673–1680.
2. Ribagin, S., V. Andonov, V. Chakarov. Possible applications of generalized nets with characteristics of the places. A medical example. *Proc. of the 14th Int. Workshop on Generalized Nets*, Burgas, 29–30 November, 2013, 56–64.
3. Ribagin, S., V. Chakarov, K. Atanassov. Generalized net model of the upper limb in relaxed position. *New Developments in Fuzzy Sets, Intuitionistic Fuzzy Sets, Generalized Nets and Related Topics, Vol. 2: Applications*, SRI, Polish Academy of Sciences, 2012, 201-210
4. Ribagin, S., V. Chakarov, K. Atanassov. Generalized net model of the upper limb vascular system. *Proc. of IEEE 6th Conference on Intelligent Systems*, Sofia, 6–8 September 2012, Vol. 2, 229–233.

Симулатор за обобщени мрежи с описване на модели на JavaScript: алгоритъм и реализация

Нора Ангелова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН
Адрес: ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 105, София 1113, България
E-mail: nora.angelova@biomed.bas.bg

Ключови думи: Симулатор, обобщени мрежи, програмиране, алгоритъм, езици

Обобщените мрежи представляват разширение на мрежите на Петри, чрез които е възможно моделиране и оптимизация на паралелни и конкурентни процеси в сложни системи. В [1] се решава въпросът с проектирането и разработката на интегрирана среда за моделиране с обобщени мрежи. Средата предлага възможност за оптимизация и трансформиране с цел ефективно изпълнение на разработените модели.

Проблемите, които следва да бъдат решени към настоящия момент, са: (1) Изграждане на парсър за JavaScript код, който ще позволи по-лесното и достъпно изграждане на модели. Софтурният продукт поддържа изцяло алгоритъм за работа с обобщени мрежи за модели, които са описани с помощта на GNTCFL. Този програмен език е LISP-базиран, непознат и труден за използване. (2) Оптимизация на алгоритъма за работа с обобщени мрежи, позволяващ сливане на ядрата. (3) Изграждане на възможности за сливане и разцепване на ядрата и прилагане на постигнатите оптимизации на алгоритъма за обобщени мрежи [2] в симулатора.

За решаването на тези проблеми се използват методи от области като проектиране, синтез и анализ на алгоритми, обектно-ориентирано програмиране и други. Като следствие на премахването на усложнения, породени от (1), се променя цялостната идея за създаване на модели чрез средствата на симулатора за обобщени мрежи. В това число се включва решаването на проблемите, асоциирани с недостатъчното познаване на езика GNTCFL и бъговете произхождащи от използването му, както и необходимостта от дълго време за създаването на модели. За разлика от GNTCFL, езикът JavaScript е широко използван и предоставя възможности за използване на ламбда изрази, JSON обекти, парсване на съдържание от различни типове файлове. Освен възможностите на езика, за него има и много вече разработени библиотеки, които могат да се използват при проектирането на различни модели.

От своя страна прилагането на постигнатите оптимизации в някои от стъпките на алгоритъма, като увеличаване на капацитета на позициите, от които на предишната итерация са напуснали ядра, водят до подобряване на скоростта на работа и по-коректно изпълнение на разработените модели. Реализацията на пълния алгоритъм за обобщени мрежи, позволяващ разделянето на ядра, както и тяхното сливане, в комбинация с новия парсър дават възможност за създаване на модели, обхващащи повече от функционалността на обобщените мрежи. Решаването на тези проблеми позволява по-добра симулация на процеси в информатиката, изкуствения интелект и други, и дава възможност за проектиране на по-нови идеи като връзка с бази данни и самообучаващи се модели и др.

Литература

1. Димитров, Д. *Програмен аспект на теорията на обобщените мрежи – оптимизация на алгоритми за изпълнение, оператори за модификация на модели и приложения*. Дисертационен труд за придобиване на ОНС „Доктор“, ФМИ–СУ, 2013.