

Резюмета на публикациите на доц. Биляна Николова за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „Професор“ (на български език)

1. **Christova, N., Tuleva, B., Kril, A., Georgieva, M., Konstantinov, S., Terziyski, I., Nikolova B., Stoineva I., 2013, Chemical structure and in vitro antitumor activity of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* BN10. Appl. Biochem. Biotechnol. 170, 3, 676-689. IF 1.687, Q2**

Резюме Установено е, че новоизолиран местен шам BN10, идентифициран като *Pseudomonas aeruginosa*, произвежда гликолипидни (т.е. рамнолипиден тип) биоповърхностно активни вещества. Две представителни рамнолипидни фракции, RL-1 и RL-2, бяха разделени на колонии със силикагел и тяхната химична структура беше изяснена чрез комбинация от ядрено-магнитен резонанс и маспектроскопия. В последствие беше изследван техният цитотоксичен ефект върху раковите клетъчни линии HL-60, BV-173, SKW-3 и JMSU-1. RL-1 е по-добър по отношение на потентността, причинявайки 50% инхибиране на клетъчната жизнеспособност при пониски концентрации, в сравнение с RL-2. Освен това, резултатите от анализа на флуоресцентно оцветяване показват, че RL-1 инхибира пролиферацията на BV-173 пре-В човешки левкемични клетки чрез индукция на апоптотична клетъчна смърт. Тези открития предполагат, че RL-1 може да има потенциал за приложение в биомедицината като нов и обещаващ терапевтичен агент.

2. Nikolova, B., Peycheva, E., Mudrov, Ts., Dobрева, T., Matveev, M., Tsoneva, I. 2014, Current statement of electrochemotherapy in Bulgaria. Int. J. Bioautomation, 18(1), 31-44. SJR 0.134, Q3

Резюме Електрохимиотерапията е един бърз, лесен, ефективен и безопасен метод за лечение на пациенти с клинична и цитологична диагностика на кожни тумори като Carcinoma basocellulare, Carcinoma spinocellulare, Kaposi sarkoma и Mycosis fungoides в етап I (T1N0M0). Терапията се основава на временното образуване на пори на повърхността на клетъчната мембрана, резултат от прилагането на електрическо поле с подходящ интензитет и продължителност, чрез което цитостатичното лекарство блеомицин се въвежда в туморните клетки. Тази работа представя данни за последната версия на електропоратора и наскоро лекуваните пациенти по метода електрохимиотерапия.

3. Kostadinova, A., Handjiyska, P., Dimitrov, B., Nikolova, B., Tsoneva, I. 2014, The effect of electroporation on cells as a new possibility of medical treatment. Science&Technology, IV, 1, 1-7.

Резюме Един от многото аспекти на прилагането на електрическите импулси върху клетъчната мембрана е способността да се образуват временни пори. Това явление е известно като електропорация. Целта на това изследване е да се установи как електрическите импулси влияят върху жизнеспособността на клетките, контакта между клетките и интеграцията на клетките и реорганизацията на актиновия цитоскелет на различни епителни клетъчни линии, една от тях е злокачествена.

Показано е, че промените в адхезията, дължащи се на приложенията на електрическите импулси с различна електрическа интензивност, зависят от вида на злокачествеността на епителните клетки.

4. **Atanasova, S., Lazarova, D., Nikolova, B., Zhelev, Z., Tsoneva, I., Aoki, I., Bakalova, R. 2014, In vivo visualization of electro-assisted delivery of nanoparticles using optical imaging. Anticancer Res. 34, 5761-6258. IF 1.826, Q2**

Резюме Настоящото проучване е предназначено да изследва дали електропорацията може да улесни доставката на лекарства вътре в тумори, използвайки като модел полимерзоми, заредени с квантови точки (QD). Основната цел беше да се увеличи локалната концентрация на противоракови лекарства, като се избягват странични ефекти. Експериментите са проведени върху мишки с присаден рак на дебелото черво (Balb/c), използвайки Maestro EX Imaging System. Електропорацията улеснява доставката на наночастици вътре в тумора. Значителна разлика в интензитета на флуоресценцията между електропорирани и неелектропорирани мишки се наблюдава в областта на тумора дори 24 часа след третиране с наночастици. Данните показват, че електроасистираното доставяне на контролирани по размер дълго циркулиращи полимерзоми при рак е обещаваща терапевтична стратегия, особено за лечение на солидни тумори.

5. **Bakalova, R., Zhelev, Z., Lazarova, D., Nikolova, B., Atanasova, S., Zlateva, G., Aoki, I. 2015, Delivery of size-controlled long-circulating polymerzomes in solid tumors, visualized by quantum dots and optical imaging in vivo. Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 29, 1, 175-180. IF 0.373, Q4**

Резюме Настоящото изследване има за цел да изучи дали поли-йонните кухи везикули (полимерзоми), базирани на химически модифициран хитозан, са подходящи за пасивно насочване в тумори в контекста на приложението им като носители на лекарства. Експериментите са проведени върху мишки с присаден рак на дебелото черво. Мишките бяха подложени на анестезия и инжектирани интравенозно с водоразтворими наночастици: (1) QD705-белязани полимерзоми (среден размер »120 nm; разпределение на размера» 10%) или (2) естествен QD705. Оптичното изображение се извършва на Maestro EX 2.10 In Vivo Imaging System (възбуждащ филтър 435_480 nm; емисионен филтър 700 nm, longpass). В случая на QD705 флуоресценцията се появява в областта на тумора в рамките на 1 min след инжектирането и изчезва напълно в рамките на 60 min. На 30-ата минута в черния дроб се открива силен флуоресцентен сигнал. Визуализирането на тумор с помощта на QD705 се основава само на ангиогенезата. В случай на маркирани с QD705 полимерзоми, флуоресценцията се появи в туморната област веднага след инжектирането с отлична визуализация на кръвоносните съдове в цялото тяло. В рамките на 16 часа в областта на тумора беше открит силен флуоресцентен сигнал. Това показва, че маркираните с QD705 полимерзоми се доставят предимно в тумора поради тяхната дълга циркулация в кръвния поток и засилен ефект на пропускливост и задържане. В областта на черния дроб е открит много слаб флуоресцентен сигнал. Данните показват, че контролираните

по размер дълго циркулиращи полимерзоми са много обещаващи носители за доставяне на лекарства при солидни тумори, включително доставка на малки наночастици и контрастни вещества.

6. Nikolova, B., Atanasova, S., Mudrov, Tz., Tsoneva, I., Zhelev, Z., Bakalova, R., Aoki, I. 2015, Image guided Electro-assisted Drug Delivery: Comparison between Two Types of Electrodes. *Int. J. Bioautomation*, 19(2), 259-266. SJR 0.134, Q4

Резюме Техниките за лечение на рак, базирани на електропорация, в момента са обект на активни изследвания в областта на доставката на лекарства, оптимизиране на електрическите параметри и изясняване на точните механизми на молекулярно ниво. Настоящото проучване е предназначено да изследва точното *in vivo* преразпределение и устойчивост на наночастиците в туморната тъкан на мишки с присаден рак на дебелото черво след електропорация с два различни вида електроди. Целта на изследването е да се избегнат артефакти по време на електропорация поради натрупване на наночастици в околните неракови тъкани. Изолираните електроди са подходящи за лечение на триизмерни тумори и имат голям потенциал в тази област.

7. Kostadinova, A., Nikolova, B., Handjiyska, P., Berger, MR., Tsoneva, I. 2015, Combined effect of electroporation and miltefosine on keratinocyte cell line HaCaT, *Rom. Rep. Phys.* 67(3), 995-1003. IF 1.367, Q2

Резюме В това проучване ние изследвахме ефекта от комбинираното третиране на HaCaT – кератиноцитни клетки с електрически импулси (200–500V/cm) и алкилфосфолипида (ALP) милтефозин. Данните показват, че електропорацията в комбинация с милтефозин индуцира разрушаване на цитоскелета и увеличава пропускливостта на клетъчните монослоеви поради прекъсване на клетъчно-клетъчните контакти, което е документирано чрез флуоресцентно изобразяване на ZO-1 и целостта на актина. Това беше придружено с намаляване на жизнеспособността на клетките. Комбинацията от тези състояния може да се разглежда като метод за лечение на няколко вида рак на кожата или други патологични състояния, засягащи целостта на кожата.

8. Bakalova, R., Zhelev, Z., Nikolova, B., Murayama, S., Lazarova, D., Tsoneva, I., Aoki, I. 2015, Lymph node mapping using quantum dot-labeled polymersomes. *Gen. Phys. Biophys.* 34, 393-398. IF 0.892, Q3

Резюме Настоящото проучване е предназначено да изследва дали поли-йонните комплексни кучи везикули (полимерзоми), базирани на химически модифициран хитозан, са подходящи за картографиране на лимфни възли в контекста на тяхното приложение при разработването на тераностични наноразмерни системи за доставка на лекарства (нано-DDS). Експериментите са проведени върху голи мишки Balb/c (с присаден рак на дебелото черво). Мишките бяха подложени на анестезия и белязани с квантови точки (QD705) полимерзоми ($d \sim 120$ nm) бяха инжектирани интравенозно през опашната вена. Оптичното изображение се извършва на Maestro EX Imaging System (възбуждащ филтър: 435–480 nm; емисионен филтър: 700 nm). Силен

флуоресцентен сигнал, съответстващ на флуоресценцията QD705, беше открит в лимфните възли, както и в тумора. В областта на черния дроб е открит много слаб флуоресцентен сигнал. Полуживотът на белязаните с QD705 полимерзоми е 6 ± 2 часа в кръвния поток и 11 ± 3 часа в лимфните възли. Данните показват, че полимерзомите са много обещаващи носители за картографиране на лимфни възли, използващи QD като контрастно вещество. Те са полезна матрица за разработване на нано-формулировки с теранологични възможности.

9. Пехливанова, В., Кабаиванова, Л., Иванова, Ю., Николова, Б. Имунофлуоресцентно проследяване ефекта на полизахарид изолиран от щам *Rhodella reticulata* и/или електропорация върху реорганизацията на актиновия цитоскелет на ракови клетки. 5-6 май 2015, FOCOS 2015 Светлината в науката, МУ София, 451-455.

Резюме Морските организми са потенциални източници на високо биоактивни вторични метаболити, които могат да бъдат полезни за развитието на нови фармацевтични средства. В тази работа се изследва биологичния ефект на хетерополизахарид, изолиран от червеното микроводорасло щам *Rhodella reticulata*, върху туморната клетъчна A549, както самостоятелно, така и в комбинация с електропорация. Материали и методи: Проследява се промяната в жизнеспособността (пролиферативен тест) и морфологията (имунофлуоресцентно оцветяване цитоскелета) на клетките след самостоятелно третиране с хетерополизахарида и/или електрични импулси. Резултати: Доказва се, че действието на хетерополизахарида е дозово зависимо. Заключение: Тези резултати насочват интереса към полизахарида, като една субстанция с потенциален антитуморен ефект.

10. Атанасова, С., Николова, Б., Цонева, Я. Мураяма, Ш., Аоки, И., Желев, Ж., Бакалова, Р. Визуализиране на проникването и локализирането на флуоресцентни наночастици в тумори след електропорация: експериментални модели *in vivo*. 5-6 май 2015, FOCOS 2015 Светлината в науката, МУ София, 328-332.

Резюме Методите за лечение на тумори, базирани на електропорация, са обект на активно проучване, като интересите са насочени основно в следните направления: локално доставяне на антитуморни агенти, оптимизация на електрическите параметри и изясняване на точните механизми на молекулярно ниво (1). Целта на настоящото проучване е да се визуализират *in vivo* проникването, локализирането, както и фармакокинетиката на флуоресцентни наночастици, доставени пасивно или с помощта на електропорация в експериментални миши модели на тумори. Основната задача на изследването е да се направи оценка на възможностите за локално повишаване концентрацията на противоракови лекарствени средства в тумори, при комбинирано третиране с мултимодални наночастици и електропорация. Всички изследвания са проведени върху експериментални модели на колоректален карцином на мишки от линията Balb/c nude. Използвани са мултимодални моделни нанохидрогели, структурно базирани на квантови точки (quantum dot, QD) (2). Степента и кинетиката на проникване на наночастиците в раковите клетки, при наличие или отсъствие на

въздействие с електрични импулси, се визуализира с помощта на Maestro EX In Vivo Imaging System (флуоресцентна имиджинг система). Всички данни, получени в хода на изследването, показват една обещаваща терапевтична стратегия за лечение на солидни тумори, базирана на комбинираното приложение на дългоциркулиращи флуоресцентни наночастици и електропорация.

11. **Bakalova, R., Nikolova, B., Murayama, S., Atanasova, S., Zhelev, Zh., Aoki, I., Kato, M., Tsoneva, I., Saga, T. 2016, Passive and electro-assisted delivery of hydrogel nanoparticles in solid tumors, visualized by optical and magnetic resonance imaging in vivo. Anal. Bioanal. Chem. 408, 905–914. IF 3.431, Q1**

Резюме Настоящото изследване описва разработването на нанохидрогели, натоварени с QD705 и/или манган (QD705 @ Nanogel и QD705 @ Mn @ Nanogel), както и тяхното пасивно и електроасистирано доставяне в солидни тумори, визуализирано чрез флуоресцентно изображение и ядрено-магнитен резонанс (MRI) върху мишки с присаден рак на дебелото черво като модел. QD705 @ Nanogel се доставя пасивно предимно в тумора, който се визуализира *in vivo* и *ex vivo* с помощта на флуоресцентно изображение. Интензивността на флуоресценцията нараства постепенно в рамките на 30 минути след инжектирането, достига плато между 30 минути и 2 часа и постепенно намалява до изходното ниво в рамките на 24 часа. Интензивността на флуоресценцията в областта на тумора е около 2,5 пъти по-висока от фоновата флуоресценция. Много слаб флуоресцентен сигнал беше открит в областта на черния дроб, но не и в областта на бъбреците или пикочния мехур. Този резултат е в контраст с предишното ни проучване, което показва, че FITC @ Mn @ Nanogel не е влязъл в тумора и е бил открит бързо в бъбреците и пикочния мехур след *i.v.* инжекция [J. Mater. Chem. B 2013, 1, 4932–4938]. Установихме, че вграждането на твърд материал (като QD) в нанохидрогел променя физическите свойства на мекия материал (намалява размера и отрицателния заряд и променя формата) и променя неговата фармакодинамика. Електропорацията улеснява доставката на нанохидрогела в туморната тъкан, визуализирана чрез флуоресцентно изобразяване и ЯМР. Силен интензитет на сигнала е регистриран в областта на тумора малко след комбинираното лечение (QD @ Mn @ Nanogel + електропорация) и се наблюдава дори 48 часа след електропорацията. Данните показват по-ефективно проникване на наночастиците в тумора поради повишената пропускливост на кръвоносните съдове в електропорираната зона. Не е имало разкъсване на кръвоносни съдове след електропорация и не е имало артефакти на изображенията дължащи се на кървене.

12. **Nikolova, B., Borisova, E., Peycheva, E., Avramov, L., Tsoneva, I. 2016, Electrochemotherapy of skin cancer treatment results estimated by in vivo autofluorescence measurements. OAM-RC, 10, 5-6, 433-436. IF 0.470, Q3**

Резюме Електрохимиотерапията е ефективен метод за лечение на кожни тумори. За проследяване на ефектите от прилагането на електрохимиотерапията спектри на автофлуоресценция се вземат от лезията и околната здрава кожа, преди, непосредствено след лечението и при контролните прегледи. Пациентите се

проследяват през първата седмица след лечението и един месец по-късно. Тук докладвахме случая на 82-годишна жена с базално-клетъчен карцином, която се лекува с електрохимиотерапия и ефектът от лечението се проверява чрез метода на оптичната биопсия.

13. Kabaivanova, L., Ivanova, J., Pehlivanova, V., Nikolova, B. 2016, Specific antitumor effect of the combined action of algal heteropolysaccharide and electroporation. Int. J. Bioautomation, 20(3), 407-416. SJR 0.228, Q3

Резюме Морските организми са потенциални източници на силно биоактивни вторични метаболити, които биха могли да са полезни при разработването на нови фармацевтични агенти. В това проучване се оценява биологичният ефект на лиофилизиран хетерополизахарид, изолиран и пречистен от червената микроводорасли *Rhodella reticulata* щам с помощта на електропорация. Два различни типа клетки - туморни и нетуморни се третират с хетерополизахарид самостоятелно или заедно с прилагане на електропорация. Ефектът от лечението се оценява паралелно: с тест за пролиферация за оценка на жизнеспособността на клетките и с оцветяване с имунофлуоресцентен цитоскелет за установяване на промени в морфологията. Представени са доказателства за намаляване на специфичната жизнеспособност на клетъчната линия (70% от контролата в случай на лечение на ракови клетъчни линии и само 30% в нетуморни клетки) по зависимост от дозата начин. Тези открития ще предизвикат допълнителен интерес към хетерополизахарида като ново противораково лекарство, подходящо за клинични изпитвания.

14. Atanasova, S., Nikolova, B., Muraizama, Sh., Stoyanova, E., Tsoneva, I., Zhelev, Zh., Aoki, I., Bakalova, R. 2016, Electroinduced delivery of hydrogel nanoparticles in Colon 26 cells, visualized by confocal fluorescence system. Anticancer res. 36, 9, 4601-4606. IF 1.937, Q2

Резюме Контекст: Наномасщабните системи за доставка на лекарства (nano-DDS) са подложени на интензивно разследване. Наноплатформите са разработени за специфично приложение на малки молекули, лекарства, гени, контрастни вещества [квантови точки (QD)] както *in vivo*, така и *in vitro*. Електропорацията е биофизичен феномен, който се състои в прилагането на външни електрически импулси върху клетъчната мембрана. Целта на това проучване беше да се изследва електро-подпомогнатата интернализация на клетъчните линии на Colon 26 на QD и натоварени с QD нанохидрогели (полимерзоми), визуализирани чрез конфокална микроскопия и тяхното влияние върху жизнеспособността на клетките. Материали и методи: Експериментите са проведени върху ракова клетъчна линия Colon 26, като се използва конфокална флуоресцентна образна система и тест за жизнеспособност на клетките. Резултати: Електропорацията улеснява доставката на наночастици *in vivo*. Демонстрирахме повишено зависимо от напрежението доставяне на наночастици в клетки след електрообработка, без значително намаляване на жизнеспособността на клетките. Заключение: Доставката и задържането на полимерзомите *in vitro* е обещаващ инструмент за бъдещи стратегии за лечение на рак и наномедицина.

- 15. Bakalova, R., Zhelev, Z., Shibata, S., Nikolova, B., Aoki, I., Higashi, T. 2017, Impressive Suppression of Colon Cancer Growth by Triple Combination SN38/EF24/Melatonin: “Oncogenic” Versus “Onco-Suppressive” Reactive Oxygen Species. Anticancer res. 37 (10) 5449-5458. IF 1.865, Q2**

Резюме Проучването има за цел да изследва ефекта на многоцелевите комбинации (SN38 / EF24; SN38 / EF24 / мелатонин) върху растежа на рак на дебелото черво при опитни животни и тяхното въздействие върху съотношението „онкогенни“ / „онкосупресивни“ реактивни кислородни видове (ROS) - решаващ фактор за задействане на канцерогенезата, както и за разработване на ефективни терапевтични стратегии. Експериментите са проведени върху мишки с присаден рак на дебелото черво - нетретирани, третирани със SN38 / EF24 и SN38 / EF24 / мелатонин в рамките на 22 дни. Балансът между различните видове ROS се измерва *in vivo* чрез усилено с нитроксид магнитно резонансно изображение (MRI), както и върху изолирани тъканни проби чрез конвенционални аналитични тестове. И двете комбинации значително потискат растежа на тумора. Впечатляващ противораков ефект се наблюдава при мишки, лекувани с SN38 / EF24 / мелатонин - почти пълно унищожаване на тумора. И двата вида ROS (супероксид и хидропероксиди) са били повишени при рак, но данните от ЯМР предполагат, че съотношението между тях има тенденция към супероксид. SN38 / EF24 2 намалява нивото на супероксида, но не влияе върху нивото на хидропероксидите в раковата тъкан, докато SN38 / EF24 / мелатонинът намалява нивото на супероксид под контрола и повишава значително нивото на хидропероксидите. Най-важните наблюдения са, че: (i) ракът на дебелото черво се характеризира с порочен кръг, който осигурява трайно доминиране на „онкогенните“ ROS (като супероксид) над „onco-suppressive“ ROS (като водороден прекис); (ii) противораковият ефект на тройната комбинация EF24 / SN38 / мелатонин е бил придружен от намаляване на „онкогенните“ и увеличаване на „онко-супресивните“ ROS; (iii) съотношението между двата вида ROS може да бъде нова онкоцел за комбинирана терапия; и (iv) ЯМР с повишен нитроксид е ценен инструмент за анализ на това съотношение.

- 16. Semkova, S., Nikolova, B., Zhelev, Zh., Tsoneva, I., Aoki, I., Bakalova. R. 2018, Loading efficiency of polymersomes with contrast agents and their intracellular delivery: Quantum dots versus organic dyes. Anticancer res. 38(2): 825-831. IF:1.935, Q2**

Резюме Цел: контрастните наноносители като системи за доставка на лекарства, способни на селективно доставяне до ракови клетки и солидни тумори, са от съществено значение за разработването на нови диагностични и терапевтични стратегии. Настоящото проучване има за цел да изследва ефективността на зареждане на полимерзоми на основата на хитозан с флуоресцентни контрастни вещества [квантови точки (QD) и конвенционални органични багрила] и възможността за контролиране на тяхното освобождаване от полимерната матрица в клетките чрез химически модификации и електропорация. Материали и методи: Всички изследвани флуорофори се задържат в полимерната глобула чрез електростатично и хидрофилно-

хидрофобно взаимодействие, без конюгация с полимера. Флуорофорно заредените полимерзоми се охарактеризират с динамично разсейване на светлината, титруване на зета-потенциал и флуоресцентна спектроскопия. Освобождаването на флуорофор от полимерзомите, пасивно или след електропорация, се открива чрез 5-стъпкова спин-ултрафилтрация, комбинирана с флуоресцентна спектроскопия на горната фаза (супернатанта) на филтърната единица. Пасивното вътреклетъчно доставяне на наночастиците до HeLa клетки беше открито чрез флуоресцентна конфокална микроскопия. Резултати: QD се задържат плътно и непрекъснато в полимерната матрица, докато органичните флуорофори [флуоресцеин изотиоцианат (FITC), FITC-dextran10 000 и FITC-декстран70 000] се освобождават бързо от полимерзомите. Детергентът Brij значително увеличи задържането на FITC-декстран 10 000 в полимерната глобула. Електропорацията до 1000 V/cm не предизвиква освобождаване на QD от полимерзомите, но ускорява освобождаването на FITC-декстран 10 000 Brij от полимерната матрица. Импулсите с високо напрежение (над 750 V/cm) също предизвикват фрагментация или агрегация на наночастиците. QD-маркираните полимерзоми проникват пасивно в раковите клетки след 24-часова инкубация. Заключение: Резултатите предполагат, че маркираните с QD полимерзоми са подходящи флуоресцентни сонди и система за доставка на нанолечества с големи възможности за проследяване за *in vitro* и *in vivo* приложения. Освен това зареждането на полимерзоми с органични багрила с различни молекулни тегла (като FITC-dextrans) е прост модел за визуализиране и прогнозиране на скоростта на освобождаване на малки органични молекули (например конвенционални лекарства, други контрасти, стабилизатори и добавки) от полимерната матрица.

17. Ivanova, D., Zhelev, Z., Getsov, P., Nikolova, B. Aoki, I., Higashi, T., Bakalova, R. 2018, Vitamin K: Redox-modulation, prevention of mitochondrial dysfunction and anticancer effect. Redox Biology, 16, 352-358. IF:7.793, Q1

Резюме Това ревю е насочено към редокс-модулиращите свойства и противораковия ефект на витамин К. Концепцията е фокусирана върху два аспекта: (i) редокс-цикъл на витамин К и неговия ефект върху калциевата хомеостаза, „онкогенни“ и „онко-потискащи“ реактивни кислородни видове и специфичната индукция на оксидативен стрес при рак; (ii) витамин К плюс С като мощна редокс система, която образува байпас между митохондриалните комплекси II и III и по този начин предотвратява митохондриалната дисфункция, възстановява окислителното фосфорилиране и аеробна гликолиза, модулира редокс състоянието на ендогенните редокс двойки, елиминира хипоксична среда на раковите клетки и предизвиква клетъчна смърт. Анализираните данни показват, че витамин С&К може да сенсibiliзира раковите клетки към конвенционалната химиотерапия, което позволява постигане на по-ниска ефективна доза от лекарството и минимизиране на вредните странични ефекти. Ревюто е предназначено за широка аудитория читатели - от студенти до специалисти в областта.

18. Николова, Б. Цонева, Я., Христова-Панушева, К., Кръстева, Н. 2018, Актуални изследвания в областта на електроиндуцираните явления и адхезивното поведение на клетките. Списание на БАН, 3, 29-35.

Резюме Въздействието на външно електрично поле може да предизвика значителни биохимични или физиологични промени в отделни клетки, тъкани или органи. През последните години то намира все по-широко биомедицинско приложение в тъканното инженерство, регенеративната и репродуктивната медицина, за електротрансфекция и електротрансформация на клетки, електросливане, стерилизация, изработването на ДНК ваксини, както и при лечение на някои генетични заболявания и тумори. Тъканното инженерство и регенеративната медицина, от своя страна, са силно зависими от взаимодействието на клетките с биоматериалите. От адхезивното поведение на клетките могат да се направят важни изводи за биосъвместимостта и бъдещето приложение на изследвания материал. Ето защо за нуждите на тъканното инженерство и регенеративната медицина са необходими задълбочени изследвания както върху поведението на клетките при контакт с биоматериалите, така и под въздействието на външно електрично поле.

19. Kadinov, B., Nikolova, B., Semkova, S., Kabaivanova, Tsoneva, I., Dimitrova, D., 2021, Trehalose lipid biosurfactant reduced cancer viability, but not affected the isometric concentration of rat mesenteric arteries in vitro. Int. J. Bioautom. 24, 1, 79-86. SJR (Scopus):0.242, Q3.

Резюме Биосърфактантът от трехалозен липид от щама *Nocardia farcinica* е вещество с естествен произход, прижаващо мощна противоракова активност. Нарастващият интерес към модалността на лечението на рака, базирана на естествени вещества, изисква проучване на възможните неблагоприятни ефекти на тези вещества, включително ефектите върху съдовата система. Следователно настоящото проучване е предназначено да изследва ефекта на липида от трехалоза върху изометричната контракция на изолирани мезентериални артерии от плъхове. Съкратителните отговори на артериите под действие на трехалозен липид бяха изследвани с помощта на телена миография за малки кръвоносни съдове. Бяха изследвани изометричните контракции на мезентериални артериални пръстени на плъхове с непокътнат ендотел. Ефектът на този биосърфактант е оценен в артерии, предварително контрактирани с 42 mM KCl като съдов деполяризиращ стимул на гладката мускулатура на съдовете. Резултатите показаха, че липидът от трехалоза (75 μ M) не успява да промени високите K⁺ - индуцирани контракции. Наблюдаваната липса на ефект на биосурфактанта трехалоза върху контрактилитета на мезентериалните артерии на плъхове in vitro заедно с установяване на намалена жизнеспособност на раковите клетки го прави подходящ за потенциално медицинско приложение.

20. Nikolova B., Semkova, S., Tsoneva, I., Antov, G., Ivanova, J., Vasileva, I., Kardaleva, P., Stoineva, I., Christova, N., Nacheva, L., Kabaivanova, L. 2019, **Characterization and potential antitumor effect of a heteropolysaccharide produced by the red alga *Porphyridium sordidum*. ENG LIFE SCI. Special Issue: Plant Cells and Algae in Bioreactors, 2019, 978-985, IF 1.934, Q2.**

Резюме Като се има предвид нарастващата тенденция на честотата на раковите заболявания на различни органи, спешно са необходими ефективни терапии за контрол

на злокачествените заболявания при човека. Въпреки това, почти всички лекарства за химиотерапия, които понастоящем се предлагат на пазара, причиняват сериозни странични ефекти. За щастие, няколко проучвания показват, че нетоксични биологични макромолекули, включително полизахариди от водорасли, притежават противоракови свойства или могат да увеличат ефикасността на конвенционалните химиотерапевтични лекарства. Полизахаридите са характерни вторични метаболити на много водорасли. Ефикасността на действие на полизахаридите върху нормалните и раковите клетки не е добре проучена, но нашите изследвания доказват специфичен за клетките ефект на новоизолиран извънклетъчен полизахарид от червените микроводорасли: *Porphyridium sordidum*. Изследваното вещество е съставено от захарите: ксилоза: глюкоза: галактоза: маноза: рамноза в моларно съотношение 1: 0,52: 0,44: 0,31. Използвана е обратима електропорация за увеличаване на транспорта през плазмената мембрана в тестваните туморни клетки на рак на гърдата (MCF-7 и MDA-MB231). Прилагането на 75 µg/ml полизахарид в комбинация с 200 V/cm електропорация индуцира 40% намаляване на жизнеспособността на клетките MDA-MB231 и промени в морфологията на клетките, докато контролните клетки (MCF10A) остават с нормална морфология и поддържат жизненост.

21. **Nikolova, B., Antov, G., Semkova, S., Tsoneva, I., Christova, N., Nacheva, L., Kardaleva, P., Angelova, S., Stoineva, I., Ivanova, J., Vasileva, I., Kabaivanova, L. 2020, Bacterial Natural Disaccharide (Trehalose Tetraester): Molecular Modeling and in Vitro Study of Anticancer Activity on Breast Cancer Cells. Polymers, 12(2), 499. IF 4.329, Q1.**

Резюме Изолирането и характеризирането на нови биологично активни вещества, действащи върху раковите клетки, е важен въпрос на фундаменталните изследвания в биомедицината. Трехалозният липид се изолира от щама *Rhodococcus wratislaviensis* и се пречиства чрез течна хроматография. Ефектът от трехалозния липид върху клетъчната жизнеспособност и миграцията, заедно с анализи за образуване на колонии, бяха извършени върху два типа рак на гърдата (MCF7 - ниско метастатичен; MDA-MB231 - високо метастатичен) и една „нормална“ (MCF10A) клетъчни линии. Проведено е молекулярно моделиране, което детайлизира структурата на неутралната и анионната форма (по-стабилна при физиологично pH) на тетраестера. Определени са и предварителните размери на хидрофилната (7,5 Å) и хидрофобната (12,5 Å) части на молекулата. По този начин използваният трехалозен липид трябва да взаимодейства като единична молекула. Установено е, че промените в морфологията, адхезията, жизнеспособността, миграцията и възможността за образуване на колонии в раковите клетъчни линии, индуцирани след третиране с трехалозен липид, зависят от дозата и времето. Въз основа на теоретичните изчисления беше предложен възможен механизъм на действие основаващ се на мембранна асиметрия между външния и вътрешния монослой на бислоя, водещ до образуването на ендозома. Първоначалните данни предполагат механизъм на противотуморна активност на пречистения трехалозен липид и неговия потенциал за биомедицинско приложение.

22. **Nikolova, B., Semkova, S., Tsoneva, I., Stoyanova, E., Lefterov, P., Lazarova, D., Zhelev, Zh., Aoki, I., Higashi, T., Bakalova, R. 2020, Redox-related molecular mechanism of sensitizing colon cancer cells to camptothecin analog SN38. Anticancer res. 40 (9) 5159-5170. IF 2.480, Q2**

Резюме Целта на това проучване е да изясни възможността за сенсибилизация на раковите клетки на дебелото черво към химиотерапевтичното лекарство SN38 и да се изследва неговия механизъм на действие след комбинирано третиране с електропорация (EP). Материали и методи: Клетките се третират със SN38, EP и тяхната комбинация в продължение на 24/48 часа. Жизнеспособността на клетките, целостта на актиновия цитоскелет, митохондриалният супероксид, хидропероксиди, общ глутатион, експресия на фосфатидилсерин, увреждания на ДНК и експресия на мембранни ABC транспортери бяха анализирани с помощта на конвенционални аналитични тестове. Резултати: Комбинацията от EP и SN38 повлиява жизнеспособността на клетките и целостта на цитоскелета. Този ефект е придружен от: (i) високо производство на вътреклетъчен супероксид и хидропероксиди и изчерпване на глутатиона; (ii) повишено увреждане на ДНК и апоптотична / фероптотична клетъчна смърт; (iii) промени в експресията на мембранни ABC транспортери - регулиране на SLC01B1 и задържане на SN38 в клетките. Заключение: Противораковият ефект на комбинираното лечение на SN38 и EP е свързан с промени в редокс-хомеостазата на раковите клетки, водещи до клетъчна смърт чрез апоптоза и / или фероптоза. По този начин електропорацията има потенциал да увеличи чувствителността на раковите клетки към конвенционалната противоракова терапия със SN38.

23. **Dimov, S., Mavrova, A., Yancheva, D., Nikolova, B., Tsoneva, I. 2021, Thieno [2,3-d] pyrimidin-4(3H)-one Derivatives of Benzimidazole as Potential Anti-Breast Cancer (MDA-MB-231, MCF-7) Agents. Anti-cancer Agents Med Chem. 21(11), 1441–1450, IF 2.505, Q3.**

Резюме Целта на това проучване е синтезът на някои нови тиенопиримидинови производни на 1,3-дизаместени бензимидазоли и оценката на тяхната цитотоксичност срещу MDA-MB-231, MCF-7 и 3T3 клетъчни линии. Предистория: Свърхекспресията или мутационното активиране на ТК рецепторите EGFR и HER2 / neu е характерно за туморите. Установено е, че някои тиено [2,3-d] пиримидини проявяват по-добра инхибиторна активност срещу рецептора на епидермален растежен фактор (EGFR / ErbB-2) тирозин киназа в сравнение с аминоксиназолините. Активността на рака на гърдата към MDA-MB-231 и MCF-7 клетъчни линии чрез инхибиране на EGFR е разкрита от нов 2-арилбензимидазол. Това мотивира синтеза на нови тиенопиримидини, притежаващи бензимидазолови фрагменти, за да се оцени тяхната цитотоксичност към гореспоменатите клетъчни линии. Цел: Целите на изследването бяха да се проектират и синтезират нова серия от тиено [2,3-d] пиримидини, съдържащи биологично активни части, като 1,3-дизаместен бензимидазолов хетероцикл, структурно подобен на диарилни уреи, за да се оцени тяхната цитотоксичност срещу MDA-MB-231 и MCF-7 клетъчни линии на рак на гърдата.

Методи: N, N-дизаместените бензимидазол-2-он карбонитрили се синтезират чрез добавяне на Aza-Michael и се използват като прекурсори за генериране на някои от новите тиено [2,3-d] пиримидини в кисела среда. Взаимодействието на хлороетил-2-тиенопиримидините, 2-амино-бензимидазол и бензимидазол-2-он нитрили при условия на катализа на твърдо течно пренасяне водят до нови тиенопиримидини. МТТ анализ за оцеляване на клетките беше извършен, за да се оцени цитотоксичността на тестваните съединения. Проведено е флуоресцентно проучване, за да се изяснят някои аспекти на механизма на действие. Резултати: Ефектите на девет синтезирани съединения бяха изследвани към клетъчни линии MDA-MB-231, MCF-7 и 3T3. Тиено [2,3-d] пиримидин-4-он 16 (IC₅₀ - 0,058 µM) и 21 (IC₅₀ - 0,029 µM) притежават висока цитотоксичност срещу MDA-MB-231 клетки след 24 часа. Най-цитотоксичните съединения срещу MCF-7 клетки на рак на гърдата е съединение 21 (IC₅₀ - 0.074 µM), разкриващо по-ниска цитотоксичност срещу миши фибробластни 3T3 клетки с IC₅₀ - 0.20 µM. Извършен е анализ на SAR. Проведено е флуоресцентно изследване на лечението на MDA-MB клетки със съединение 21, за да се изяснят някои аспекти на механизма на действие. Заключение: Връзката между цитотоксичността на съединения 14 и 20 срещу клетки MCF-7 и 3T3 може да предполага подобен механизъм на действие. Антитуморният потенциал на тестваните съединения доказва необходимостта от по-нататъшни изследвания, за да се оцени точният път на инхибиране в клетъчните процеси. Изследването на флуоресценция за лечение на MDA-MB клетки със съединение 21 показва бърз процес на апоптоза.

24. Semkova, S., Antov, G., Iliev, I., Lefterov, P., Christova, N., Nacheva, L., Stoineva, I., Kabaivanova, L., Tsoneva, I., Staneva, G., Nikolova, B. 2021 Rhamnolipid biosurfactants - possible natural anticancer agents and autophagy inhibitors. Separations, Separations 2021, 8, 92. <https://doi.org/10.3390/separations8070092>, IF 2.777, Q2.

Резюме Предистория/цел: Редица биологично активни вещества са доказани като алтернатива на конвенционалните противоракови лекарства. Целта на изследването е *in vitro* изследване на противораковата активност на моно- и ди-Rhamnolipids (RL-1 и RL-2) срещу рак на гърдата при човека. В допълнение се анализира комбинацията с цисплатина. Материали и методи: Клетъчните линии на гърдата (MCF-10A, MCF-7 и MDA-MB-231) се третират с RL и в комбинация с цисплатина. Жизнеспособността се анализира с използване на МТТ анализ и изследването на автофагията се извършва чрез оцветяване с акридиново оранжево. Резултати: За разлика от здравите клетки и двете тествани ракови линии показват чувствителност към третирнето с RL. Този ефект е придружен от влияние върху свързания с автофагията процес на образуване на киселини структури. Само за тройно-негативната клетъчна линия на рак на гърдата (MDA-MB-231) се наблюдава синергичният ефект на комбинираното лечение (10 µM цисплатина и 1 µg/ml RL-2). Заключение: Въз основа на проучвания за реорганизация на мембранни модели в присъствието на RL и данни за по-голямо количество липидни рафтове в мембраните на раковите клетки, отколкото в не-туморогенните, ние предлагаме възможен механизъм на ремоделиране на мембраната чрез образуване на

ендозоми. Накратко, за да има синергичен ефект, е необходимо да имаме и цисплатина и RL-2, тъй като RL-2 е молекула, предизвикваща положително изкривяване на мембраната.

25. Dimitrova, D.Z., Nikolova, B., Bogoeva, V., Tsoneva, I., Dimitrov, S., Kadinov, B. 2021, Do Mistletoe (*Viscum album* L.) Lectins Influence Isometric Contraction of Non-diseased Human Mesenteric Arteries ex vivo? Int. J. Bioautom. 25(1), 41–52. Q4

Резюме Лектините от имел (*Viscum album* L., VA) (MLs) са растителни лектини с мощна противоракова активност. Въпреки широкото използване на VA екстракти за лечение на рак, ефектите на пречистените MLs върху човешката васкулатура по отношение на възможния страничен ефект на лектина все още не са докладвани. Настоящото проучване имаше за цел да изследва изометрични контракции на изолирани човешки мезентериални артерии по време на приложението на MLs. Контрактилната реакция на артериите беше изследвана с помощта на миограф Mulvaney-Halpern и изометричните контракции при лечение с MLs бяха изследвани в артериални сегменти или с неповътнат ендотел, или след отстраняване на ендотел. Освен това ефектът на лектина се оценява в артериални препарати при базално напрежение, в артерии, предварително контрактирани с 42 mM KCl като деполяризиращ стимул или ендотелин-1 (ET-1) като мощен рецепторен агонист на съдовата контракция на гладката мускулатура. Резултатите показаха, че MLs (1 до 100 nM) не успяват да повлияят на високите K⁺-индуцирани контракции както на ендотел-интактни, така и на ендотел-денудирани артерии. Контракциите на тъканни препарати без ендотел в базален тонус или след лечение с ET-1 (1 nM) също не са били засегнати от прилагането на MLs. Наблюдаваният лек ефект на ML върху съкратимостта на човешката васкулатура може потенциално да бъде от полза при базирана на MLs противоракова терапия без съдови странични ефекти.