

РЕЗЮМЕТА НА НАУЧНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК

на гл. ас. д-р Русина Лъчезарова Хазаросова,
кандидат за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“ в
област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление 4.3. Биологически науки (Биофизика)
към секция „Липид-белтъчни взаимодействия“,
Институт по Биофизика и Биомедицинско Инженерство,
Българска Академия на Науките,
обявен в ДВ бр. 69/16.08.2024 г.

Група от показатели В

Показател В4: Научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни база данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

1.[B4] Vitkova, V., Hazarosova, R., Antonova, K., Mitkova, D., Yordanova, V., Momchilova, A., Staneva, G., Resveratrol Stiffens 1-palmitoyl-2-oleoyl-snglycero-3-phosphocholine Bilayers, *Lecture Notes in Networks and Systems*, 1st International Symposium on Bioinformatics and Biomedicine, BioInfoMed 2020, Burgas, 374 LNNS, 363-371, 2022; (SJR₂₀₂₂=0.150, Q4)

DOI: 10.1007/978-3-030-96638-6_38;

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-96638-6_38

Резюме: В отговор на екзогенен стрес някои растителни видове синтезират фитоалексинът резвератрол (3, 5, 4'-трихидрокси-транс-стилбен). Открито в люспите и семената на червеното грозде, в червените вина, фъстъци и други хранителни вещества, това полифенолно съединение е признато за полезно за предотвратяване на оксидативни увреждания в човешкия организъм. Механизмът, чрез който резвератролът упражнява своите плейотропни ефекти, все още е неясен. В това проучване е изследвано влиянието му върху структурата, механиката и електричните свойства на биомиметични липидни системи, съставени от мононенаситения липид 1-палмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (POPC). Степента на хидратация на липидните молекули в бислоевите се оценява с помощта на Laurdan флуоресцентна спектроскопия на големи униламеларни везикули. В POPC везикулите е установена повишена липидна подреденост при всички концентрации на изследвания полифенол. Повишената липидна подреденост в POPC-съдържащия матрикс подкрепя хипотезата, че резвератролът може да се разглежда като “filler” (пълнител), разположен успоредно на липидните молекули. Анализ на термичните флукутации на формата на квазисферични гигантски униламеларни везикули се прилага за изследване на мембранната механика в присъствието на резвератрол. Измерен е по-висок модул на еластичност на огъване на POPC бислоеве

при увеличаване концентрацията на полифенола. Установено е, че при 200 $\mu\text{mol/L}$ резвератрол еластичността на огъване на мембраната нараства с близо 20% в сравнение със стойността ѝ в бидестилирана вода. Това откритие е в съответствие с резултатите от флуоресцентната спектроскопия, свидетелстващи за по-плътното пакетирание на РОРС молекулите, предизвикано от резвератрол. Докладваните резултати предоставят знания за ефекта на фитоалексина върху структурната организация на мембранните липиди, както и върху механичните свойства на бислоя. Разкриването на молекулната основа на взаимодействията резвератрол-мембрана помага за разработването на бъдещи приложения на полифенола в медицинската химия и фармакология.

2.[B4] Kostadinova, A., Staneva, G., Topouzova, T., Moyankova, D., Yordanova, V., Veleva, R., Nikolova, B., Momchilova, A., Djilianov, D., **Hazarosova, R.**, Myconoside Affects the Viability of Polarized Epithelial MDCKII Cell Line by Interacting with the Plasma Membrane and the Apical Junctional Complexes, *Separations*, 2022, 9(9), 239; (IF₂₀₂₂=3.344, Q3)
DOI: 10.3390/separations9090239;
<https://www.mdpi.com/2297-8739/9/9/239>

Резюме: Фенил гликозидът миконозид, извлечен от балканския ендемит *Haberlea rhodopensis*, има положителен ефект върху човешкото здраве, но точният молекулен механизъм на неговото действие все още е неизвестен. Клетъчната мембрана и свързаните с нея контактни комплекси са първите мишени на действие на едно екзогенно съединение. Нашата цел бе да проучим ефекта на миконозида върху мембранната организация и компонентите на цитоскелета, участващи в поддържане полярността на клетката в клетъчната линия MDCKII. Чрез флуоресцентна спектроскопия и микроскопия установихме, че при ниски концентрации миконозидът повишава жизнеспособността на клетките чрез повишаване на мембранната липидна подреденост и адхезивните контакти. Обратен ефект се наблюдава при високи дози миконозид. Ние предположихме, че морфологичните и физикохимични промени на анализиранияте клетъчни структури са пряко свързани с жизнеспособността на клетките и клетъчната апикално-базална полярност. Нашето откритие допринася за по-доброто разбиране на полезното приложение на фитохимикалът миконозид във фармакологията и медицината.

3.[B4] Kostadinova, A., **Hazarosova, R.**, Topouzova-Hristova, T., Moyankova, D., Yordanova, V., Veleva, R., Nikolova, B., Momchilova, A., Djilianov, D., Staneva, G., Myconoside Interacts with the Plasma Membranes and the Actin Cytoskeleton and Provokes Cytotoxicity in Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2022, 54(1), 31–43; (IF₂₀₂₂=3.853, Q2)
PMID: 34988784; DOI: 10.1007/s10863-021-09928-x;
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34988784/>

Резюме: Проучени са ефектите на фенил гликозида миконозид, извлечен от възкръсващото растение, балкански ендемит и реликт *Haberlea rhodopensis* върху

структурната организация на плазмената мембрана и актиновия цитоскелет. Тъй като плазмената мембрана е първа мишена на екзогенни биоактивни съединения, ние насочихме вниманието си към изясняване влиянието на миконозида върху мембранната липидна подреденост и актиновия цитоскелет в човешки белодробни аденокарциномни A549 клетки, използвайки флуоресцентна спектроскопия и микроскопски техники. Установихме, че ниската концентрация на миконозида (5 µg/ml) не променя клетъчната жизнеспособност, но е в състояние да повиши подредеността на липидите в плазмената мембрана на третираните клетки. По-високата концентрация на миконозида (20 µg/ml) инхибира клетъчната жизнеспособност чрез намаляване на липидната подреденост в плазмената мембрана и увреждане на актиновия цитоскелет. Предполагаме, че наблюдаваните промени в структурната организация на плазмената мембрана и актиновия цитоскелет са функционално свързани с жизнеспособността на клетките. Бяха използвани биомиметични мембрани, за да се докаже, че миконозидът е в състояние да реорганизира мембранните липиди чрез промяна във фракцията на домените, обогатени на сфингомиелин и холестерол. Така ние предлагаме възможен механизъм на действие на миконозида върху липидите на плазмената мембрана на A549 клетки, както и върху актиновите филаменти, за да обясним неговия цитотоксичен ефект при високата концентрация на миконозина.

4.[B4] Momchilova, A., Pankov, R., Staneva, G., Pankov, S., Krastev, P., Vassileva, E., **Hazarosova, R.**, Krastev, N., Robev, B., Nikolova, B., Pinkas, A., Resveratrol Affects Sphingolipid Metabolism in A549 Lung Adenocarcinoma Cells, *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18), 10870; (IF₂₀₂₂=5.6, Q1)
 PMID: 36142801; PMCID: PMC9505893; DOI: 10.3390/ijms231810870;
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9505893/>

Резюме: Резвератролът е естествено срещащ се полифенол, който има различни полезни ефекти, като противовъзпалителен, противотуморен, противосъстаряващ, антиоксидантен, невропротективен и други. Противораковата активност на резвератрола е свързана с промени в сфинголипидния метаболизъм. Ние анализирахме ефекта на резвератрола върху ензимите, отговорни за натрупването на двата сфинголипида с най-висока функционална активност – церамид (CER), стимулиращ апоптозата и сфингозин-1-фосфат (S1P), стимулиращ пролиферацията - в човешки белодробни аденокарциномни A549 клетки. Третирането с резвератрол индуцира повишаване на CER и сфингозин (SPH) и намаляване на сфингомиелин (SM) и S1P. Резултатите показаха, че най-често срещаният начин за натрупване на CER чрез индуцирана от сфингомиелиназата хидролиза на SM, не е отговорен за увеличаване на CER, въпреки намаляването на SM в плазмените мембрани на A549 клетки. Обаче, активността и експресията на CER синтаза б беше повишена в третирани с резвератрол клетки, което предполага, че CER се натрупва в резултат на стимулиран *de novo* синтез. Освен това, ензимът алкална церамидаза, отговорен за хидролизата на CER, не беше

променен, което предполага, че той не е свързан с промени в нивата на CER. Активността и експресията на ензима, поддържащ баланса между апоптоза и пролиферация, сфингозин киназа 1 (SK1), бяха намалени, което от своя страна доведе до намаляване на нивата на S1P в третирани с резвератрол белодробни аденокарциномни клетки. В допълнение, инкубирането на третирани с резвератрол A549 клетки с инхибиторите на SK1, DMS и финголимод, допълнително намали активността на SK1, без да засегне нейната експресия. Настоящите проучвания предоставят информация относно биохимичните процеси, лежащи в основата на влиянието на резвератрола върху метаболизма на сфинголипидите в белодробни ракови A549 клетки и разкриват възможности за комбинирано използване на полифеноли със специфични антипролиферативни агенти, които биха могли да послужат като основа за разработването на комплексни терапевтични стратегии.

5.[B4] Hazarsova, R., Momchilova, A., Vitkova, V., Yordanova, V., Kostadinova, A., Angelova, M.I., Tessier, C., Nuss, P., Staneva, G., Structural Changes Induced by Resveratrol in Monounsaturated and Polyunsaturated Phosphatidylcholine-Enriched Model Membranes, *Membranes*, 2023, 13(12), 909; PMID: 38132913; PMCID: PMC10744944; (IF₂₀₂₃= 4.2, Q2) DOI: 10.3390/membranes13120909; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38132913/>

Резюме: Смята се, че резвератролът (Resv) оказва благоприятно въздействие поради способността му да улавя свободни радикали. Този полифенол проявява антимикробни и противовъзпалителни свойства чрез механизми, които вероятно включват и взаимодействието му с клетъчната плазмемембрана. За изясняването на този проблем, изследвахме влиянието на резвератрола върху мембранната липидна подреденост и организация в големи униламеларни везикули, съставени от различни липиди и съотношения. Изследваните моделни мембрани са съставени от два вида фосфатидилхолинови (PC) молекули [палмитоил-докозахексаеноил фосфатидилхолин (PDPC) или палмитоил-олеоил фосфатидилхолин (POPC)], сфингомиелин (SM) и холестерол (Chol). Това изследване показва, че добавянето на резвератрол води до сложна мембранна реорганизация в зависимост от степента на ненаситеност на мастната киселина при *sn*-2 позиция и съотношенията Lipid/Resv и SM/Chol. Resv втвърдява POPC-съдържащите мембрани и повишава формирането на течно-подредени (L_o) домени в POPC/SM/Chol 40/40/20 смеси, като това повишаване е по-слабо изразено при съотношение 33/33/34. За разлика от това, при взаимодействие с PDPC/SM/Chol смесите Resv проявява бимодален ефект флуидизирайки или втвърдявайки мембраните по дозозависим начин. Формирането на L_o домени при добавяне на Resv става по следния бимодален начин на действие: размерът на L_o домени нараства при ниски концентрации на Resv; след това размерът на L_o домени намалява при по-високите концентрации. При този предполагаем бимодален ефект Resv действа като “spacer“ при ниски дози, с преход към “filler“ в липидния бислой. Ние предполагаем, че една от

ролите на Resv е да настрои липидната подреденост и организация на клетъчните плазмени мембрани, която е тясно свързана с важни клетъчни функции като мембранно сортиране и трафик.

6.[B4] Vitkova, V., Hazarsova, R., Valkova, I., Momchilova, A., Staneva, G., Glycerophospholipid Polyunsaturation Modulates Resveratrol Action on Biomimetic Membranes, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2024, 238:113922; (IF₂₀₂₄=5.71, Q1) PMID: 38678790; DOI: 10.1016/j.colsurfb.2024.113922; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38678790/>

Резюме: Фитоалексинът резвератрол получава все по-голямо внимание поради потенциала му да предотвратява окислителните увреждания в човешкия организъм. За да хвърлим повече светлина върху молекулните механизми на неговото взаимодействие с липидните мембрани, ние изследвахме влиянието на резвератрола върху организацията и механичните свойства на биомиметични липидни системи, съставени от синтетични фосфатидилхолини със смесени алифатни вериги и различна степен на ненаситеност при *sn*-2 позиция (1-палмитоил- 2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, POPC, и 1-палмитоил-2-докозахексаеноил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, PDPC). Измервания с високо чувствителна изотермична титруваща калориметрия показват по-силна спонтанна връзка на резвератрола с полиненаситени фосфатидилхолинови бислоеве в сравнение с мононенаситените в резултат на хидрофобни взаимодействия, конформационни промени на взаимодействащите видове и десолватация на молекулните повърхности. Това се подкрепя от резултатите от Laurdan спектроскопия на големи униламеларни везикули, предоставящи данни за хидратация на нивото на глицероловия гръбнак на глицерофосфолипидите. По-висока степен на липидна подреденост се установява в POPC мембраните в сравнение с PDPC. Докато при PDPC мембраните резвератролът главно повишава хидратацията, при POPC се установява нарастваща дехидратация при третиране с полифенола. Дехидратация на полиненаситените липидни бислоеве се установява само при най-високата концентрация на фитоалексина (резвератрол/липид 0,5 mol/mol) и е по-слабо изразена в сравнение с POPC мембраните. Ефектът на полифенола върху мембранната механика се изследва чрез анализ на термичните флуктуации на формата на квазисферични гигантски униламеларни везикули. Отчетена е значително различна тенденция в еластичността на огъване с увеличаване на концентрацията на резвератрола за двата изследвани вида фосфолипидни бислоеве. В присъствието на резвератрол POPC мембраните стават по-твърди, докато PDPC-съдържащите бислоеве показват омекване при по-ниски концентрации на полифенола, последван от леко повишаване без втвърдяване на бислоя дори при най-високата концентрация на резвератрола. Новите данни за структурната организация и мембранните свойства на третираните с резвератрол фосфатидилхолинови мембрани могат да подкрепят развитието на бъдещи приложения на полифенола в медицинската химия.

Група от показатели Г

Показател Г7: Научни публикации в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

1.[Г7] Pankov, R., Markovska, T., **Hazarosova, R.**, Antonov, P., Ivanova L., Momchilova A., Cholesterol Distribution in Plasma Membranes of $\beta 1$ Integrin-expressing and $\beta 1$ Integrin-deficient Fibroblasts, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2005, 442(2), 160-168; (IF₂₀₀₅=3.165, Q1)

PMID: 16165083; DOI: 10.1016/j.abb.2005.08.003;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16165083/>

Резюме: Ефектът на интегриновите рецептори върху нивото и трансмембранната локализация на холестерола е изследван в $\beta 1$ интегрин-експресиращи ($\beta 1$) и $\beta 1$ интегрин-дефицитни ($\beta 1$ нулеви) клетки. Ние установихме, че съдържанието на специфични компоненти на рафта - холестерол, сфингомиелин и кавеолин - е повишено в интегрин-експресиращите клетки. Присъствието на интегрин повлиява също и трансмембранното разпределение на холестерола – установено е по-високо проценто съдържание във външния монослой на плазмената мембрана на $\beta 1$ в сравнение с $\beta 1$ нулевите клетки. Намаляването на сфингомиелин редуцира наличието на холестерол във външния мембранен монослой на двете клетъчни линии, но разликите в асиметрията на холестерола, наблюдавани между $\beta 1$ и $\beta 1$ нулеви клетки преди третиране със сфингомиелиназа, се запазват. Тези открития предполагат, че интегриновите рецептори влияят върху неравномерното трансмембранно разпределение на холестерола. И накрая, по-висок процент детергент-устойчиви мембрани беше получен от $\beta 1$ интегрин-експресиращи клетки, което предполага, че присъствието на тези рецептори в мембраните е повлияло на образуването и/или стабилизирането на липидни домени от вида „rafts“.

2.[Г7] Topouzova-Hristova, T., **Hazarosova, R.**, Bandreva, B., Stephanova, E., Halothane does not Directly Interact with Genome DNA of A549 Cells, *Folia Biol (Praha)*, 2007, 53(5), 176-82; (IF₂₀₀₇=0.596, Q3)

PMID: 17976308;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17976308/>

Резюме: Въпреки че инхалационните анестетици се използват често в клиничната практика, техните токсични ефекти върху белодробните клетки все още не са добре проучени. Предишни изследвания показват силен генотоксичен ефект на някои

инхалационни анестетици, прилагани в клинично значими концентрации. Целта на настоящото изследване беше да се оцени степента на увреждане на ДНК, ядрените аномалии и възможността на човешки A549 клетки да се възстановят след третиране с халотан при по-ниски концентрации. Получените данни показват, че дори по-ниските концентрации на халотан могат да предизвикат увреждане на ДНК, въпреки че анестетикът не взаимодейства директно с ДНК. Установихме, че необратимото увреждане на клетъчния геном започва при концентрация едва 1.5 mM. Част от клетъчната популация показва някои характеристики на стрес-индуцирана апоптоза, определяйки тази концентрация като праг за клетъчно оцеляване. Предполагаме, че вътреклетъчният сигнален път запуска токсичните ефекти на халотана.

3.[Г7] Stephanova, E., Topouzova-Hristova, T., **Hazarosova, R.**, Moskova, V., Halothane-induced Alterations in Cellular Structure and Proliferation of A549 Cells, *Tissue and Cell*, 2008, 40(6), 397-404; (IF₂₀₀₈=0.738, Q2)

PMID: 18508102; DOI: 10.1016/j.tice.2008.04.001;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18508102/>

Резюме: Генотоксичността, цитотоксичността или тератогенността са сред най-известните вредни ефекти на летливите анестетици. Целта на настоящата работа е да се проучат структурните промени, пролиферативната активност и възможността на алвеоларните A549 клетки да се възстановят след *in vitro* третиране с халотан в концентрации 1.5 и 2.1 mM. Нашите данни показаха значително намаляване на жизнеспособността, потискане на митотичната активност с повече от 60%, като тези промени са придружени от нарушения на ядрените и ядръцевите структури. Най-изявен отрицателен ефект бе разрушаването на ламеларните телца, които са основните органели за съхранение на белодробния сърфактант, съществен за физиологията на белите дробове. В заключение, халотанът, приложен при клинично значими концентрации, проявява генотоксичен и цитотоксичен ефект върху алвеоларните клетки *in vitro*, най-вероятно в резултат на стрес-индуцирана апоптоза, като повлиява функциите на белия дроб.

4.[Г7] Lupanova, T., **Hazarosova, R.**, Georgieva, R., Momchilova, A., Staneva, G., Effect of palmitoyl-oxovaleroyl phosphatidylcholine on raft-like domain formation in giant unilamellar vesicles, *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences*, 2012, 65(12), 1691-1694; (IF₂₀₁₂= 0.284, Q2)

ISSN: 13101331;

https://www.researchgate.net/publication/288237321_Effect_of_palmitoyl-oxovaleroyl_phosphatidylcholine_on_raft-like_domain_formation_in_giant_unilamellar_vesicles

Резюме: Влиянието на окисления фосфолипид палмитоил-оксовалероил-фосфохолин (POVPC) върху мембранната латерална организация беше изследвано с помощта на флуоресцентна микроскопия. Гигантски униламеларни везикули (GUVs), съставени от палмитоил-докозахексаеноил-фосфохолин (PDPC)/яйчен сфингомиелин (eggSM)/холстерол (CHOL) смеси бяха използвани като моделна система, имитираща

клетъчните рафтове в биологичните мембрани. Ефектът на POVPC върху формирането на домени от вида „rafts“ беше изследван. PDPC/SM/CHOL смесите показаха течно-неподредено (L_d)/течно-подредено (L_o) фазово разделяне в широк температурен диапазон, от 66°C до 24°C. Присъствието на POVPC повиши температурата на формиране на домени от вида „rafts“ и фракцията на L_o фазата. POVPC също така индуцира пъпкуване на L_d домени.

5.[Г7] Yordanova, V., Staneva, G., Vitkova, V., Angelova, M., Kostadinova, A., Benkova, D., Veleva, R., Nesheva, A., **Hazarosova, R.**, Biomimetic Vesicles as a Tool to Reveal the Physicochemical Membrane Changes Induced by Oxidised Lipids, *Oxidation Communications*, 2020, 43(4), 678 – 687; (SJR₂₀₂₀=0.224, Q3); ISSN: 02094541;

<https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aged%3A13%3A26365613/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aged%3A147990808&crl=c>

Резюме: Доказано е, че окисението на липидите повлиява всички клетъчни процеси. Обаче, на молекулно ниво влиянието на окислените липиди върху структурата и функцията на клетъчните мембрани остава до голяма степен неизяснено. Формирането на мембранни липидни домени (rafts) в клетките привлече повече внимание поради тяхното участие в мембранно свързани процеси. В моделни мембрани домените от вида „rafts“ са в течно-подредена (L_o) фаза, обогатени на сфингомиелин (SM) и холестерол (Chol), заобиколени от непрекъсната течно-неподредена (L_d) фаза, съставена главно от ненаситени фосфатидилхолинови (PC) молекули. В настоящото проучване изследвахме ефекта на окисления липид 1-палмитоил-2-(5'-оксо-валероил)-sn-глицеро-3-фосфохолин (POVPC) върху липидната подреденост в трикомпонентна PC/SM/Chol липидна смес (модел на L_o/L_d фазово съвместно съществуване) чрез използване на биофизичния експериментален метод Laurdan флуоресцентна спектроскопия на големи униламеларни везикули (LUVs). Глицерофосфохолините 1-палмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (POPC) и 1-палмитоил-2-докозахексаеноил-sn-глицеро-3-фосфохолин (PDPC) бяха използвани за изследване на физикохимичните промени в мембранната латерална организация, индуцирани от POVPC като функция на степента на ненаситеност на мастната киселина при sn-2 позиция в молекулата на PC. Установихме, че POVPC индуцира по-големи структурни мембранни промени в мононенаситения (POPC) липиден матрикс в сравнение с полиненаситения (PDPC) такъв. Еластичността на огъване на обогатените с POVPC мембрани беше изследван чрез флукуационна спектроскопия на гигантски униламеларни везикули (GUVs), свидетелстваща за силния „омекотяващ“ ефект на окисления липид върху мононенаситените (POPC) мембрани. Получените резултати могат да разкрият молекулните механизми на действие на POVPC върху 2D и 3D мембранно ремоделиране.

6.[Г7] Kostadinova, A., Staneva, G., Benkova, D., Yordanova, V., **Hazarosova, R.**, Veleva, R., Nesheva, A., Momchilova, A., Yankova, R., Elzorkany, H., Elshoky, H., Interactions of Chitosan-based Nanoparticles with Bio-inspired Membranes, *Oxidation Communications*, 2021, 44(1), 63-71;

(SJR₂₀₂₁=0.224, Q3)

DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133983;

<https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A4%3A26365636/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A149752237&cr=f>

Резюме: Хитозанът е естествен кополимер, получен от деацетилирането на хитин. Поради специфичните си физикохимични свойства, хитозанът е идеален материал за използване в биоинженерството и биомедицината.

В това проучване ние демонстрирахме как хитозанът е в състояние да повлияе на липидната подреденост и организация в биомиметични мембрани. Формирахме големи униламеларни везикули (LUVs), съставени от различни липиди и техните смеси, имитиращи липидната архитектура на плазмените мембрани на бозайниците. Липидната подреденост беше изследвана чрез Laurdan флуоресцентна спектроскопия при физиологична температура. Изследвахме LUVs, съставени от яйчен фосфатидилхолин (ePC), представляващи липиден бислои в течно-неподредена фаза (L_d), яйчен сфингомиелин (eSM)/холестерол (Chol) в течно-подредена фаза (L_o) и ePC/eSM/Chol смеси в L_d/L_o фазово коществуване. Трикомпонентната смес имитира организацията на плазмената мембрана и образуването на домени от вида „rafts“ с различни размери. Известно е, че мембранните рафтове участват във важни клетъчни физиологични процеси. LUVs бяха третирани с различни концентрации на хитозан и липидната подреденост беше оценена чрез Laurdan флуоресцентна спектроскопия. Взаимодействието на хитозана с липидните мембрани индуцира повишаване на липидната подреденост, независимо от липидното фазово състояние. Най-голямо повишаване на липидната подреденост бе наблюдавано при L_d фазите, докато най-малко такова е установено при L_o фазата. Ние предложихме молекулни механизми на взаимодействие на хитозана с основните липидни класове и тяхното фазово състояние.

7.[Г7] Yordanova, V., Staneva, G., Angelova, M., Vitkova, V., Kostadinova, A., Benkova, D., Veleva, R., **Hazarosova, R.**, Modelling of Molecular Mechanisms of Membrane Domain Formation during the Oxidative Stress: Effect of Palmitoyl-oxoaleroyl-phosphatidylcholine, *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 2021, 74(1), 78-87;

(IF₂₀₂₁=0.343, Q2)

ISSN: 13101331; DOI: 10.7546/CRABS.2021.01.10;

https://www.researchgate.net/publication/354254510_Modelling_of_molecular_mechanisms_of_membrane_domain_formation_during_the_oxidative_stress_Effect_of_palmitoyloxoaleroyl-phosphatidylcholine

Резюме: Изследването е фокусирано върху ефекта на окисления липид 1-палмитоил-2-(5'-оксо-валероил)-sn-глицеро-3-фосфохолин (POVPC) върху физикохимичните свойства на моделни мембрани, използвайки два биофизични експериментални методи: флуоресцентна видеомикроскопия и флуоресцентна спектроскопия. Два вида трикомпонентни смеси, съставени от сфингомиелин (SM), холестерол (Chol) и съответно 1-палмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (POPC) или 1-палмитоил-2 докозахексаеноил-sn-глицеро-3 -фосфохолин (PDPC) бяха използвани като моделни системи, имитиращи липидния състав на специализирани клетъчни мембранни домени, наречени рафтове. Мононенаситеният

POPC и полиненаситеният PDPC позволяват да се разкрият ефектите от степента на ненаситеност при *sn*-2 позиция във фосфатидилхолин (PC) видове. Флуоресцентната микроскопия показва разлика в ефекта на POVPC върху формирането на домени от вида „rafts“ в POPC/SM/Chol и PDPC/SM/Chol смесите. В PDPC смесите окисленият липид повишава температурата на L_o (течно-подредено)/L_d (течно-неподредено) фазово разделяне в микрометричната скала, докато в POPC-съдържащите, POVPC премахва фазовото разделяне. Резултатите от флуоресцентна спектроскопия, даваща информация за L_o/L_d фазово разделяне в нанометричната скала, показват, че POVPC насърчава образуването на домени от вида „rafts“ по по-силен дозозависим начин в мононенаситения липиден матрикс в сравнение с полиненаситения такъв. Флукуационната спектроскопия разкрива силното „омекотяване“ на POPC бислоевите при добавяне само на 5 mol% POVPC. Ние установихме, че окисленият липид, POVPC, предизвиква по-големи структурни промени в мембранната организация на мононенаситения липиден матрикс. По този начин резултатите показват структурно защитна роля на докозахексаеновата киселина срещу присъствието на окисления липид.

8.[Г7] Yordanova, V., Hazarosova, R., Vitkova, V., Kostadinova, A., Angelova, M., Momchilova, A., Krastev, P., Staneva, G., Oxidized Lipids Control Lipid Order and Phospholipase A2 Activity in Model Membranes, *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 2022, 75(4), 581-589; (IF₂₀₂₂=0.326, Q3)
ISSN: 13101331; DOI: 10.7546/CRABS.2022.04.13;
<https://www.proceedings.bas.bg/index.php/cr/article/view/68>

Резюме: Оксидативният стрес е важен етиологичен фактор в патогенезата на различни заболявания. Образуването на окислени фосфолипиди *in vivo* индуцира мембранно ремоделиране с директни патологични последици с елемент на възпаление. Секреторните фосфолипази A2 (sPLA2) участват в регулирането на възпалението и имунния отговор. Тяхната активност е силно зависима от състава, структурата и организацията на липидната мембрана. Изследвано е влиянието на окислени фосфатидилхолини (OxPC) върху мембранната липидна подреденост и активността на sPLA2. Ефектите на два от най-физиологично активните OxPC, 1-палмитоил-2-(5'-оксо-валероил)-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (POVPC) и 1-палмитоил-2-глутароил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (PGPC) бяха сравнени, използвайки 1-палмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (POPC) везикули. И двата OxPC намаляват подредеността на мембранните липиди и активността на sPLA2 при физиологична температура. Освен това, тези промени зависят от химичната природа на окислените вериги.

9.[Г7] Vitkova, V., Staneva, G., Hazarosova, R., Georgieva, S. I., Valkova, I., Antonova, K., Todorov, P., Valorphins Alter Physicochemical Characteristics of Phosphatidylcholine Membranes: Datasets on Lipid Packing, Bending Rigidity, Specific Electrical Capacitance, Dipole Potential, Vesicle Size, *Data in Brief*, 2022, 45, 108716; (IF₂₀₂₂=1.38, Q4)

PMID: 36426033; PMCID: PMC9679672; DOI: 10.1016/j.dib.2022.108716;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36426033/>

Резюме: Ендогенните хеморфини се изследват интензивно като терапевтични средства в неврофармакологията, а също и като биомаркери при регулиране на настроението, възпалението и онкологията. Събраният тук набор от данни описва физикохимичните параметри на 1-палмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин мембрани в присъствието на VV хеморфин-5 (Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln) и аналози, модифициран в позиция 1 и 7 с естествената аминокиселина изолевцин или непротеиногенните 2-аминоизомаслена, 2,3-диаминопропанова или 2,4-диаминобутанова аминокиселини. Тези пептиди са предварително проверени за ноцицептивна активност. Настоящата публикация съдържа данни от Laurdan- и di-8-ANEPPS флуоресцентна спектроскопия на големи униламеларни везикули (LUV), предоставящи информация за степента на хидратация и диполния потенциал на липидните бислоеве в присъствието на VV-хеморфин-5 аналози. Подредеността на липидите е налична от профилите на интензитета на Laurdan и набора от данни от общата поляризация. Данните от съотношението между флуоресцентните интензитети на багрилото di-8-ANEPPS осигуряват стойностите на диполния потенциал на фосфатидилхолин-валорфин мембрани. Размерът на везикулите и включения набор от данни от електрофоретичната мобилност се отнасят до ефекта на валорфините върху разпределението на POPC LUVs по размер и техния ζ -потенциал. Изследването на физикохимичните свойства на пептидите, като дифузионни коефициенти и хетерогенна скоростна константа, е свързано с изясняване на транспортните механизми в живите клетки. Представени са волтаметрични данни на валорфини заедно с квадратно-вълнови волтамограми на изследваните пептиди за изчисляване на техните скоростни константи на хетерогенен електронен трансфер. Набор от данни от анализа на термичните флуктуации на формата на квазисферични „гигантски“ униламеларни везикули (GUV) предоставя информация за количествено определяне влиянието на инкорпорирания хеморфин върху еластичността на огъване на мембраната. Представени са данни от изотермична титруваща калориметрия върху термодинамиката на пептид-липидните взаимодействия и афинитета на свързване на аналози на валорфин с фосфатидилхолиновите мембрани. Данните от честотно-зависимата деформация на GUVs с променливо електрично поле са включени заедно със стойностите на специфичния електричен капацитет на POPC-валорфин мембрани. Наборът от данни, докладвани в тази публикация, може да лежи в основата на формулирането и прилагането на пептид-базирани стратегии във фармакологията и биомедицината.

10.[Г7] Vitkova, V., Staneva, G., **Hazarosova, R.**, Georgieva, S. I., Valkova, I., Antonova, K., Todorov, P., Interaction of New VV-hemorphin-5 analogues with Cell Membrane Models, *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2022, 220, 112896; (IF₂₀₂₂=5.88, Q1)

PMID: 36270140 DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112896;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36270140/>

Резюме: Нови аналози на ендогенния хептапептид VV-хеморфин-5 (валорфин),

синтезирани чрез аминокиселинна замяна, позволяват модулиране на пептидната активност *in vivo*. Изследването на индуцираните от хеморфин промени във физикохимичните параметри на липидните бислоеве разкрива мембранно-медираните механизми на взаимодействие с клетките и субклетъчните структури. Изследвахме ефекта на модифицираните валорфини с ноцицептивна активност върху структурата, механичните и електрични свойства на моделни липидни мембрани. По-нисък модул на огъване и по-висок специфичен капацитет на фосфатидилхолиновите бислоеве бяха установени в присъствието на VV-хеморфин-5 аналози. Константите на разпределение на пептида за прехвърляне от водния разтвор в мембраната се определят чрез изотермична титруваща калориметрия. Установено бе, че включването на непротеиногенни киселини с различен брой метиленови групи води до промени в свързването на хеморфина с мембраната. Най-висок афинитет към мембраната бе установен при производно на хеморфин с дозо-зависими променливи ефекти върху висцералната ноцицепция при мишки. Аналогът на валорфин с най-силно изразен антиноцицептивен ефект *in vivo* индуцира най-голяма промяна в диполния и зета потенциала, без да повлиява значително липидното пакетиране на нивото на глицерола във фосфатидилхолиновите бислоеве.

11.[Г7] Ivanova, I., Toshkovska, R., Yocheva, L., Benkova, D., Yordanova, V., Nesheva, A., **Hazarosova, R.**, Staneva, G., Kostadinova, A., Stress Response of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Induced by Metal and Non-metal Nanoparticles. In Search of Smart Antimicrobial Agents, *Lecture Notes in Networks and Systems*, 2nd International Symposium on Bioinformatics and Biomedicine, BioInfoMed 2022, Burgas, 658 LNNS, 147-155, 2023; (SJR₂₀₂₃=0.150, Q4)

DOI: 10.1007/978-3-031-31069-0_15;

https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-31069-0_15

Резюме: Нарастващата резистентност на патогените към редица антибиотици е била обект на много изследователски доклади от Европейската мрежа за наблюдение на антибиотичната резистентност (Ears-Net) и Световната здравна организация (СЗО). Целта на тази работа е да се изследват ефектите на дисперсии на наноматериали като селен (Se), злато (Au), железен оксид (Fe₂O₃), силициев диоксид (SiO₂) и графенов оксид (GO) върху бактерии като *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* и два щам на *Escherichia coli*. Използвани са два класически дифузионни тестове в агарова среда за изследване на антибактериалния ефект на наночастиците (NPs): spot тест и ямково-дифузионен. Тестваните наночастици показват активност срещу Грам-положителни бактерии в концентрации между 3,0 и 1,5 mg/mL, но не са активни срещу Грам-отрицателни бактерии като *E. coli*. Сред тестваните наноматериали Se NPs проявяват най-силен антимикробен ефект. Златните наночастици с поливинилпиролон (Au-PVP NP) се оказват по-активни срещу тестваните бактерии, отколкото чистите AuNP. По-ниските концентрации (1,0 mg/mL и 0,5 mg/mL) на Se, GO и двата типа златни наночастици не показва активност срещу всички тествани микроорганизми. При Fe₂O₃ и SiO₂ NPs не

наблюдавахме ефект върху нито едни от тестваните бактерии в споменатите концентрации.

В заключение, най-активни спрямо тестваните бактерии се оказват Se NPs, следвани от Au-PVP и Au NPs. GO NP също проявяват известен антимикробен ефект, особено върху *V. cereus*.

12.[Г7] Yordanova, V., Staneva, G., Krastev, P., Markovska, T., Marinovska, A., Kostadinova, A., **Hazarosova, R.**, Momchilova, A., Lipid Order of Membranes Isolated from Erythrocytes of Patients with Coronary Artery Disease: Correlation with Biochemical Parameters, *Lecture Notes in Networks and Systems*, 2nd International Symposium on Bioinformatics and Biomedicine, BioInfoMed 2022, Burgas, 658 LNNS, 134-146, 2023, (SJR₂₀₂₃=0.150, Q4)
ISSN: 23673370, ISBN: 978-303131068-3; DOI: 10.1007/978-3-031-31069-0_14;
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-31069-0_14

Резюме: Коронарната артериална болест (CAD) е здравословен проблем, който се характеризира с неспособност на артериите да снабдяват миокарда с достатъчно кръв, което засяга неговата функция и води до сериозни патологични промени. Развитието на CAD се причинява от натрупване на плаки по вътрешните стени на коронарните артерии. Липидите в плазмата и в червените кръвни клетки участват в образуването на плаки. В това проучване беше определен съставът на мастните киселини (FA) в кръвната плазма и в мембрани, изолирани от еритроцити на лекувани срещу CAD пациенти и здрави контроли. Установено бе по-високо съотношение наситени/ненаситени FA в мембраните на еритроцитни сенки на пациентите в сравнение с контролите. Освен това, нивата на триглицеридите (TG) на пациентите с CAD също бяха по-високи в сравнение с контролната група. Не беше наблюдава разлика в нивата на общия холестерол и LDL-холестерола между пациентите и контролната група. Неочаквано, въпреки наблюдаваното по-високо ниво на наситени FA в еритроцитните мембрани, беше установена по-ниска мембранна липидна подреденост за CAD групата в сравнение с контролната. Нашите резултати предполагат, че серумните TG управляват по-значително подредеността на липидите в мембраните на еритроцитните сенки на CAD, отколкото съотношението наситени/ненаситени FA. Това откритие е в съответствие с литературните данни, показващи обратна връзка между нивата на TG и липидната анизотропия в моделни и еритроцитни мембрани. Настоящото проучване предполага, че лечението на CAD е в състояние да намали подредеността на липидите в еритроцитната мембрана, докато по-високите нива на TGs в кръвния серум и наситените FAs в еритроцитните мембрани все още представляват критичен потенциален риск за пациенти с CAD в сравнение със здрави индивиди.

13.[Г7] Yordanova, V., **Hazarosova, R.**, Vitkova, V., Momchilova, A., Robev, B., Nikolova, B.,

Krastev, P., Nuss, P., Angelova, M.I., Staneva, G., Impact of Truncated Oxidized Phosphatidylcholines on Phospholipase A2 Activity in Mono- and Polyunsaturated Biomimetic Vesicles, *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13), 11166; (IF₂₀₂₃=5.6, Q1) PMID: 37446342; PMCID: PMC10342369;

DOI: 10.3390/ijms241311166;

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37446342/>

Резюме: Взаимодействието между възпалителни и редокс процеси е повсеместен и критичен феномен в клетъчната биология, който включва множество биологични фактори. Сред тях, секреторните фосфолипази А2 (sPLA2), които катализират хидролизата на *sn*-2 естерната връзка на фосфолипидите са ключови играчи. Те могат да взаимодействат с или да бъдат модулирани от присъствието на окислени фосфатидилхолини (ОхРСs, със скъсени вериги при *sn*-2 позиция на глицерола), получени при оксидативен стрес от фосфатидилхолин (РС). Настоящото изследване проучи това важно, но рядко разглеждано, модулиране на sPLA2, предизвикано от промените в биофизичните свойства на РС везикули, включващи различни съотношения ОхРС/моно- или полиненаситени РС. Като най-физиологично активни ОхРС, 1-палмитоил-2-(5'-оксо-валероил)-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (POVPC) и 1-палмитоил-2-глутарил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (PGPC) бяха избрани за тава проучване. Използвайки флуоресцентни спектроскопски методи, ние сравнихме ефекта на ОхРСs върху липидната подреденост, както и активността на sPLA2 в големи униламеларни везикули (LUVs), съставени от мононенаситения [1-палмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (POPC)] или полиненаситения [1-палмитоил-2-докозахексаеноил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (PDPC)] РС при физиологична температура. Ефектът на ОхРСs върху размера на везикулите също беше оценен както в моно-, така и в полиненаситените РС матрикси. Резултати: ОхРСs намаляват мембранната липидна подреденост в POPC и PDPC смеси като PGPC индуцира много по-голямо намаляване в сравнение с POVPC, което показва, че разликата се осъществява на нивото на глицерола. В сравнение с POPC, PDPC е в състояние да инхибира sPLA2 активност, показвайки защитен ефект срещу ензимната хидролиза. Освен това активността на sPLA2 към неговите РС субстрати се модулира от наличието на ОхРС в мембраната. POVPC намалява активността на sPLA2, което предполага противовъзпалителни свойства на този окислен липид. Интересното е, че PGPC има двойствен и противоположен ефект, както инхибиращ така и засилващ активността на sPLA2, в зависимост от протокола за смесване на липидите. Тази разлика може да е резултат от химичните свойства на свободния край на веригата в *sn*-2 позиция (алдехидна група за POVPC и карбоксилна група за PGPC), които са съответно цвитерийонни или анионни при хидратиране при физиологични условия.